UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI,

FACULTATEA DE INGINERIE CHIMICĂ ȘI PROTECȚIA MEDIULUI "CRISTOFOR SIMIONESCU"

MEMBRANE POLIMERICE BIOCOMPOZITE DE TIP HIDROGEL PE BAZĂ DE FIBRE ELECTROFILATE CU ACȚIUNE ANTIMICROBIANĂ

-Rezumat teză de doctorat-

doctorand Codrin-Paul FUIOAGĂ

Conducător științific

Prof. Univ. Habil. Dr. Ing. Leonard Ionuț ATANASE

Iași - 2026

INTRODUCERE

Dezvoltarea sistemelor avansate de livrare controlată a medicamentelor reprezintă una dintre direcțiile esențiale de cercetare din ingineria biomedicală și medicina regenerativă, având drept scop creșterea eficienței terapeutice și reducerea efectelor adverse asociate administrării convenționale a compușilor bioactivi. În acest context, sistemele biocompozite bazate pe hidrogeluri și nanofibre electrofilate au atras un interes deosebit datorită versatilității lor structurale și funcționale, precum și capacității de a reproduce caracteristicile mediului extracelular și de a susține procesele de regenerare tisulară.

Hidrogelurile pe bază de polimeri naturali, precum acidul hialuronic și alginatul, se remarcă prin biocompatibilitate, biodegradabilitate și capacitatea ridicată de retenție a apei, ceea ce le recomandă pentru aplicații în vindecarea rănilor și ingineria tisulară. Integrarea acestora cu nanofibre electrofilate permite obținerea unor sisteme hibride cu proprietăți îmbunătățite, capabile să ofere suport structural și să asigure eliberarea controlată a compușilor terapeutici. În mod special, utilizarea nanofibrelor încărcate cu curcumină, recunoscută pentru proprietățile sale antiinflamatoare, antioxidante și antimicrobiene, deschide perspective importante pentru dezvoltarea unor terapii eficiente și sigure. De asemenea, incorporarea nanoparticulelor de oxid de zinc conferă materialelor proprietăți antimicrobiene suplimentare, esențiale în prevenirea infecțiilor, mai ales în cazul rănilor cronice și al arsurilor. Capacitatea acestor sisteme de a răspunde la stimuli de mediu, precum variațiile de pH, permite adaptarea profilului de eliberare la particularitățile microambientului patologic.

Rezultatele obținute până în prezent demonstrează că aceste biocompozite prezintă proprietăți fizico-chimice și biologice adecvate aplicațiilor biomedicale, precum dimensiuni nanometrice, grad ridicat de umflare, eliberare controlată a substanțelor active, biocompatibilitate și activitate antimicrobiană. În plus, încapsularea curcuminei reduce citotoxicitatea asociată formei sale libere, menținând în același timp eficiența terapeutică, ceea ce confirmă potențialul acestor sisteme ca vectori eficienți de livrare a medicamentelor.

Cu toate acestea, există încă provocări semnificative legate de optimizarea materialelor, scalarea proceselor de fabricație și transpunerea rezultatelor experimentale în aplicații clinice. Aceste aspecte impun o abordare interdisciplinară, care să integreze cunoștințe din știința materialelor, chimie, biologie și medicină.

În acest cadru, prezenta teză își propune dezvoltarea și caracterizarea unor hidrogeluri biocompozite pe bază de acid hialuronic, poli(alcool vinilic) și alginat, integrate cu nanofibre electrofilate încărcate cu curcumină și nanoparticule de oxid de zinc, pentru obținerea unor sisteme eficiente de eliberare controlată a medicamentelor, cu aplicații în vindecarea rănilor și regenerarea tisulară. Studiul urmărește atât evaluarea proprietăților fizico-chimice și morfologice ale materialelor obținute, cât și investigarea comportamentului lor biologic, în vederea identificării unor soluții viabile pentru aplicații biomedicale avansate.

Manuscrisul este structurat în două părți distincte: studiul bibliografic și contribuțiile originale. Prima parte este dedicată analizei literaturii de specialitate și abordează tehnicile electrodinamice de obținere a nanofibrelor, cele mai recente cercetări privind filmele biocompozite pe bază de hidrogeluri cu aplicații medicale și particularitățile acestor sisteme. Cea de-a doua parte prezintă contribuțiile personale și include descrierea materialelor și metodelor utilizate, rezultatele originale privind obținerea și caracterizarea fizico-chimică și biologică a nanofibrelor electrofilate în absența și prezența curcuminei, precum și prepararea și caracterizarea hidrogelurilor biocompozite pe bază de fibre electrofilate, inclusiv evaluarea activității lor antimicrobiene în prezența nanoparticulelor de oxid de zinc. Concluziile parțiale sunt prezentate la finalul fiecărui capitol, iar lucrarea se încheie cu concluziile generale și perspectivele de dezvoltare viitoare, pe parcursul a 141 de pagini.

CAPITOLUL I

Tehnici electrodinamice pentru obținerea nanofibrelor

Tehnicile electrohidrodinamice reprezintă metode avansate și versatile pentru imobilizarea și încapsularea agenților bioactivi, contribuind semnificativ la dezvoltarea unor sisteme de livrare controlată cu stabilitate crescută, protecție eficientă a compușilor activi și profiluri de eliberare adaptabile. Integrarea acestor tehnologii cu metode moderne de biofabricare, precum bioprintarea 3D și hibridizarea electrofilare–hidrogel, oferă posibilitatea unui control spațial superior asupra distribuției medicamentelor și a proprietăților mecanice ale materialelor rezultate.

În mod special, combinarea electrofilării prin topire cu chimia hidrogelurilor și funcționalizarea nanofibrelor deschide noi perspective pentru obținerea unor structuri ierarhice complexe, capabile să reproducă fidel matricea extracelulară naturală și să susțină atât

regenerarea tisulară, cât și eliberarea controlată și dinamică a agenților terapeutici. Aceste platforme inovatoare permit realizarea unor arhitecturi personalizate, multi-material, adaptate nevoilor fiecărui pacient și capabile să integreze simultan suport structural, semnalizare bioactivă și control spațio-temporal al terapiei.

Cu toate acestea, în ciuda progreselor semnificative raportate în literatură, sunt necesare cercetări suplimentare pentru clarificarea mecanismelor implicate și pentru stabilirea unor corelații clare între parametrii compoziționali, condițiile de procesare electrohidrodinamică și caracteristicile structurale și funcționale ale sistemelor obținute. Aceste direcții vor fi esențiale pentru optimizarea performanței și pentru facilitarea tranziției acestor tehnologii către aplicații clinice reale.

CAPITOLUL II

Filme biocompozite pe bază de hidrogeluri cu aplicaţii medicale

Filmele biocompozite reprezintă o nouă generație de materiale avansate, obținute prin combinarea polimerilor biodegradabili naturali și/sau sintetici cu diverse tipuri de nanoparticule, ceea ce le conferă proprietăți fizice, chimice și mecanice superioare materialelor de bază. Datorită caracteristicilor precum nontoxicitatea, elasticitatea, bioadezivitatea, biocompatibilitatea și activitatea antibacteriană, aceste sisteme prezintă un potențial ridicat pentru aplicații biomedicale, în special atunci când sunt proiectate din componente stabile și compatibile cu mediul biologic. Aceste progrese creează premisele dezvoltării unor sisteme complexe de administrare a medicamentelor, capabile să încorporeze și să elibereze simultan mai mulți agenți terapeutici, sporind astfel eficiența tratamentelor.

Dezvoltarea compozitelor hibride constituie un pas important în evoluția științei materialelor pentru aplicații biomedicale, oferind soluții inovatoare pentru depășirea limitărilor asociate sistemelor monocomponente. Prin integrarea strategică a biopolimerilor cu materiale de umplutură funcționale, au fost obținute structuri versatile, cu proprietăți reglabile, adaptabile unor aplicații diverse, de la regenerarea tisulară până la sisteme inteligente de eliberare controlată a medicamentelor.

Un avantaj major al acestor biocompozite hibride constă în multifuncționalitatea lor, rezultată din efectul sinergic al componentelor organice și anorganice. Astfel, nanoparticulele metalice conferă proprietăți antimicrobiene și conductive, în timp ce materialele ceramice

contribuie la îmbunătățirea stabilității mecanice și a osteoconductivității. Această combinație permite dezvoltarea unor platforme performante, capabile să prevină infecțiile și să stimuleze simultan regenerarea tisulară, deschizând perspective promițătoare pentru viitoarele terapii avansate și medicina personalizată.

CAPITOLUL III

Materiale compozite pe bază de fibre electrofilate imobilizate în hidrogeluri

Hidrogelurile compozite reprezintă o clasă inovatoare de materiale multifuncționale, dezvoltate pentru a răspunde cererii tot mai mari de soluții inteligente în domeniul biomedical. Prin integrarea polimerilor hidrofili cu aditivi bioactivi și nanostructuri funcționale, aceste sisteme oferă proprietăți personalizabile, precum rezistență mecanică superioară, capacitate ridicată de umflare și funcționalitate biologică avansată. Datorită capacității lor de a imita structura țesuturilor biologice, de a susține eliberarea controlată a medicamentelor și de a favoriza regenerarea tisulară, hidrogelurile compozite s-au impus ca platforme esențiale în medicina regenerativă, vindecarea rănilor și ingineria tisulară.

Rezultatele recente demonstrează eficiența acestor materiale în dezvoltarea de pansamente și sisteme terapeutice avansate, capabile să combine proprietăți hidrofile, efecte antiinflamatorii și activitate antimicrobiană cu biocompatibilitate excelentă și lipsa citotoxicității. Integrarea nanofibrelor electrofilate în structurile hidrogelurilor extinde considerabil versatilitatea acestora, permițând obținerea unor compozite cu arhitecturi complexe și profiluri de eliberare controlată, ajustabile prin selecția materialelor, densitatea de reticulare și răspunsul la stimuli de mediu, precum variațiile de pH sau temperatură.

Sistemele compozite hidrogel–nanofibre oferă perspective promițătoare pentru numeroase aplicații biomedicale, inclusiv terapia localizată a cancerului, regenerarea osoasă, tratamentul rănilor cronice și dezvoltarea depozitelor implantabile de medicamente. Controlul precis asupra încărcării și eliberării compușilor terapeutici le face deosebit de atractive pentru medicina personalizată și terapiile regenerative.

În viitor, dezvoltarea acestor sisteme se va orienta către integrarea unor funcționalități suplimentare, precum combinarea administrării de medicamente cu biosenzorizarea, pentru monitorizare în timp real și dozare adaptivă. Cu toate acestea, provocările legate de scalarea producției, menținerea reproductibilității, stabilitatea pe termen lung a medicamentelor

încapsulate și conformarea la cerințele de reglementare rămân aspecte esențiale. Depășirea acestora necesită o colaborare interdisciplinară strânsă între specialiști în știința materialelor, inginerie biomedicală și medicină clinică, pentru a facilita tranziția acestor tehnologii din laborator către aplicații clinice reale.

CAPITOLUL IV

Materiale, tehnici de lucru și metode de caracterizare

Prezentul capitol descrie materialele utilizate, tehnicile experimentale aplicate și metodele de caracterizare adoptate în cadrul cercetării legate de prepararea și caracterizarea fizico-chimică și biologică a nanofibrelor electrofilate, dar și a hidrogelurilor complexe atât în prezența principiilor active cât și în absența lor, evidențiind rolul acestora în atingerea obiectivelor propuse. Selecția materialelor, alegerea procedurilor de lucru și utilizarea metodelor de analiză au fost realizate astfel încât să asigure reproductibilitatea rezultatelor și relevanța științifică a investigațiilor efectuate. Sunt prezentate în mod sistematic etapele experimentale, condițiile de lucru și instrumentele de caracterizare folosite pentru evaluarea proprietăților probelor studiate.

CAPITOLUL V

Prepararea și caracterizarea fibrelor electrofilate încărcate cu curcumină pe bază de poli (alcool vinilic) și alginat de sodiu

5.1. Introducere

Obiectivul general al prezentului studiu a constat în prepararea, prin electrofilare coaxială, a unui nou tip de nanofibre încărcate cu curcumină (CRC) pe bază de poli (vinil alcool) (PAV), alginat de sodiu (AG) și [4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinium clorură] (DMT-MM), ultimul fiind utilizat ca activator al reacției de reticulare. Schema generală este prezentată în Figura V.1 iar programul experimental în Tabelul V.1.

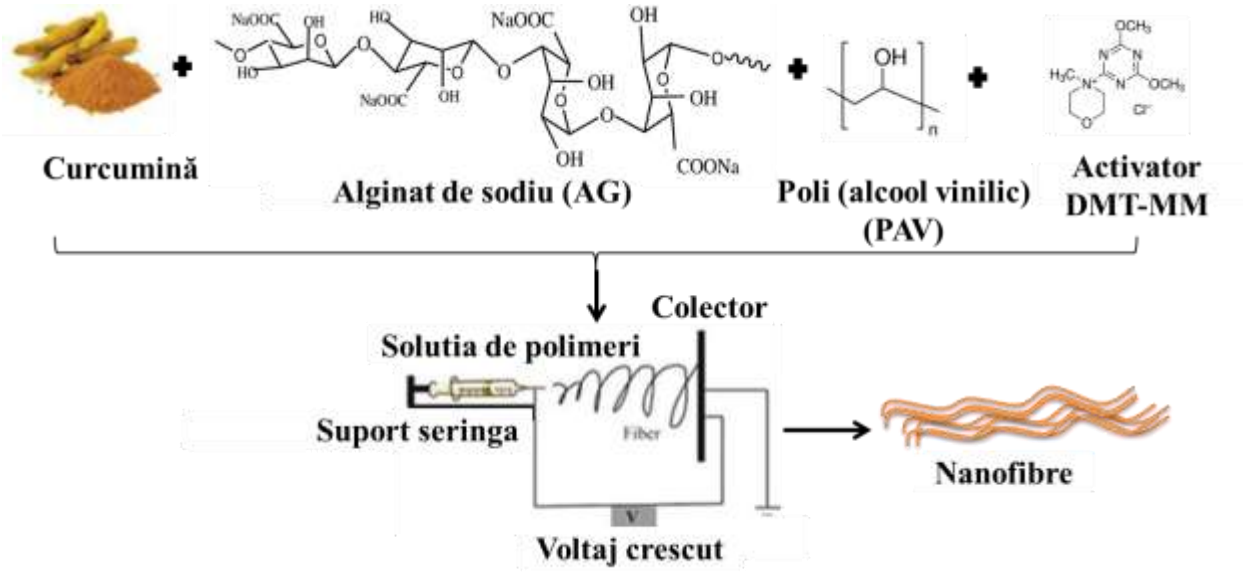


Figura V.1. Reprezentarea schematică a metodei de preparare a nanofibrelor electrofilate

Tabelul V.1. Programul experimental utilizat pentru obţinerea nanofibrelor electrofilate

Codul probelor*	Raportul PAV/AG (mg/mg)	Raportul alginat/ DMT-MM (mol/mol)	Curcumină (mg)
P-1**	100/0	-	0
P-2**	100/0	-	0
P-3**	100/0	-	0
P-4**	100/0	-	0
P-5**	100/0	-	0
PA-1	90/10	-	0
PA-2	80/20	-	0
PA-3	70/30	-	0
PA-4	50/50	-	0
PAA-1	90/10	1/1	0
PAA-2	90/10	1/2	0
PAA-3	90/10	1/3	0
PAA-4	80/20	1/3	0
PAAC-1	90/10	1/1	0,05
PAAC-2	90/10	1/2	0,05
PAAC-3	90/10	1/3	0,05

* P - nanofibre pe baza de PAV, PA - nanofibre pe bază de PAV și AG, PAA - nanofibre pe bază de PAV și AG în prezența activatorului, PAAC - nanofibre pe bază de PAV, AG și activator preparate prin electrofilare co-axială utilizând ca miez o soluție de Curcumina/PAV (0.05mg Curcumina/1mg PAV); **probele P1-P1 au parametri de electrofilare diferiți conform **Tabelului IV.1**.

În acest studiu au fost selectați doi polimeri pentru obținerea nanofibrelor electrofilate: un polimer natural, alginatul de sodiu (AG), și un polimer sintetic, poli(alcool vinilic) (PAV). Alginatul de sodiu este recunoscut pentru biocompatibilitatea, biodegradabilitatea și lipsa sa de

toxicitate, fiind utilizat frecvent în aplicații biomedicale precum vindecarea rănilor, livrarea controlată a medicamentelor și ingineria tisulară. Totuși, electrofilarea sa este limitată de structura rigidă și de lipsa încurcăturilor moleculare, ceea ce face dificilă obținerea unor nanofibre continue și uniforme din soluții pure.

Pentru a depăși aceste limitări, PAV a fost utilizat ca agent de susținere a procesului de electrofilare, datorită capacității sale de a favoriza încurcăturile moleculare, de a îmbunătăți proprietățile mecanice și de a contribui la formarea unor nanofibre uniforme. De asemenea, PAV este biodegradabil, solubil în apă și biocompatibil, fiind frecvent utilizat în formulări biomedicale pentru optimizarea caracteristicilor materialelor compozite. Studiile anterioare au demonstrat că structurile nanofibroase AG/PAV sunt promițătoare pentru aplicații precum ingineria țesutului cutanat, pansamente pentru răni și regenerarea osoasă, iar combinația dintre cei doi polimeri îmbunătățește semnificativ procesabilitatea și performanțele finale ale materialului.

Originalitatea prezentului studiu constă în utilizarea activatorului DMT-MM, care favorizează reacția de esterificare dintre AG și PAV, conducând la obținerea unor nanofibre mai bine individualizate, cu dimensiuni reduse, stabilitate crescută în medii biologice și toxicitate redusă comparativ cu agenții convenționali de reticulare. Un alt element inovator îl reprezintă obținerea nanofibrelor prin electrofilare coaxială, utilizând curcumina în nucleu și soluția polimerică în stratul exterior, strategie care asigură protecția compusului activ și o stabilitate superioară.

Rezultatele obținute indică faptul că aceste nanofibre prezintă un potențial ridicat pentru aplicații biomedicale, datorită capacității eficiente de eliberare controlată a curcuminei, hemocompatibilității ridicate și lipsei de toxicitate, recomandându-le ca sisteme promițătoare pentru terapii avansate și regenerare tisulară.

5.2. Rezultate și discuții

Spectrele FT-IR ale curcuminei libere (CRC), nanofibrelor fără CRC (PAA-1) și nanofibrelor cu CRC (PAAC-2), prezentate în **Figura V.2**, au confirmat atât reacția între AG și PAV, cât și prezența CRC în nanofibrele obținute. Picurile caracteristice ale alginatului la 1595 cm^{-1} (legătura C=O) și cele caracteristice ale PAV la aproximativ 3290 cm^{-1} (vibrații O-H) și 1721 cm^{-1} (grupul C=O) pot fi observate în spectrele FT-IR. Picul intens observat la 3288 cm^{-1} în spectrele mostrelor PAA-1 și PAAC-2 este atribuit grupării hidroxil (OH).

În spectrele nanofibrelor PAA-1 și PAAC-2, se observă o deplasare a picurilor de la 3290 cm^{-1} la 3288 cm^{-1} și 3260 cm^{-1} din cauza legăturilor de hidrogen.

Picurile din regiunea 1700 cm^{-1} - 1735 cm^{-1} și 1250 cm^{-1} corespunzătoare grupurilor C=O și C-O dezvăluie prezența grupărilor ester formate între AG și PAV. De asemenea, s-a observat o scădere a intensității picului de la 1721 cm^{-1} și deplasarea acestuia la 1710 cm^{-1}. Toate acestea confirmă interacțiunea dintre AG și PAV.

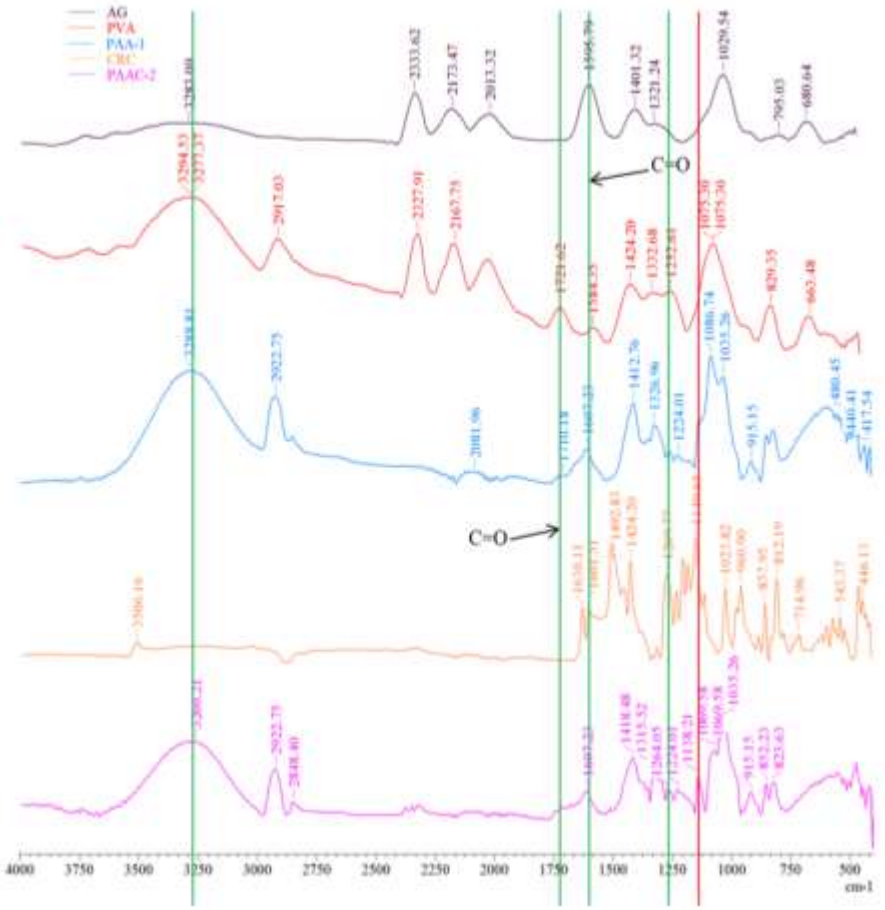


Figura V.2. Spectre FT-IR pentru CRC simplu, nanofibre fără CRC (PAA-1) și nanofibre cu CRC (PAAC-2)

Apariția în spectrul probei PAAC-2 a picului caracteristic grupului fenolic (C-O) la 1269 cm^{-1}, precum și deplasarea vârfului de la 1149 cm^{-1} în spectrul CRC la 1138 cm^{-1} în spectrul probei PAAC-2 confirmă prezența CRC în nanofibrele de tip PAAC-2.

Morfologia, structura și diametrul nanofibrelor obținute au fost investigate prin microscopie electronică de baleiaj (MEB), iar rezultatele obținute sunt prezentate în **Figurile**

V.4, V.5 și **V.6.**

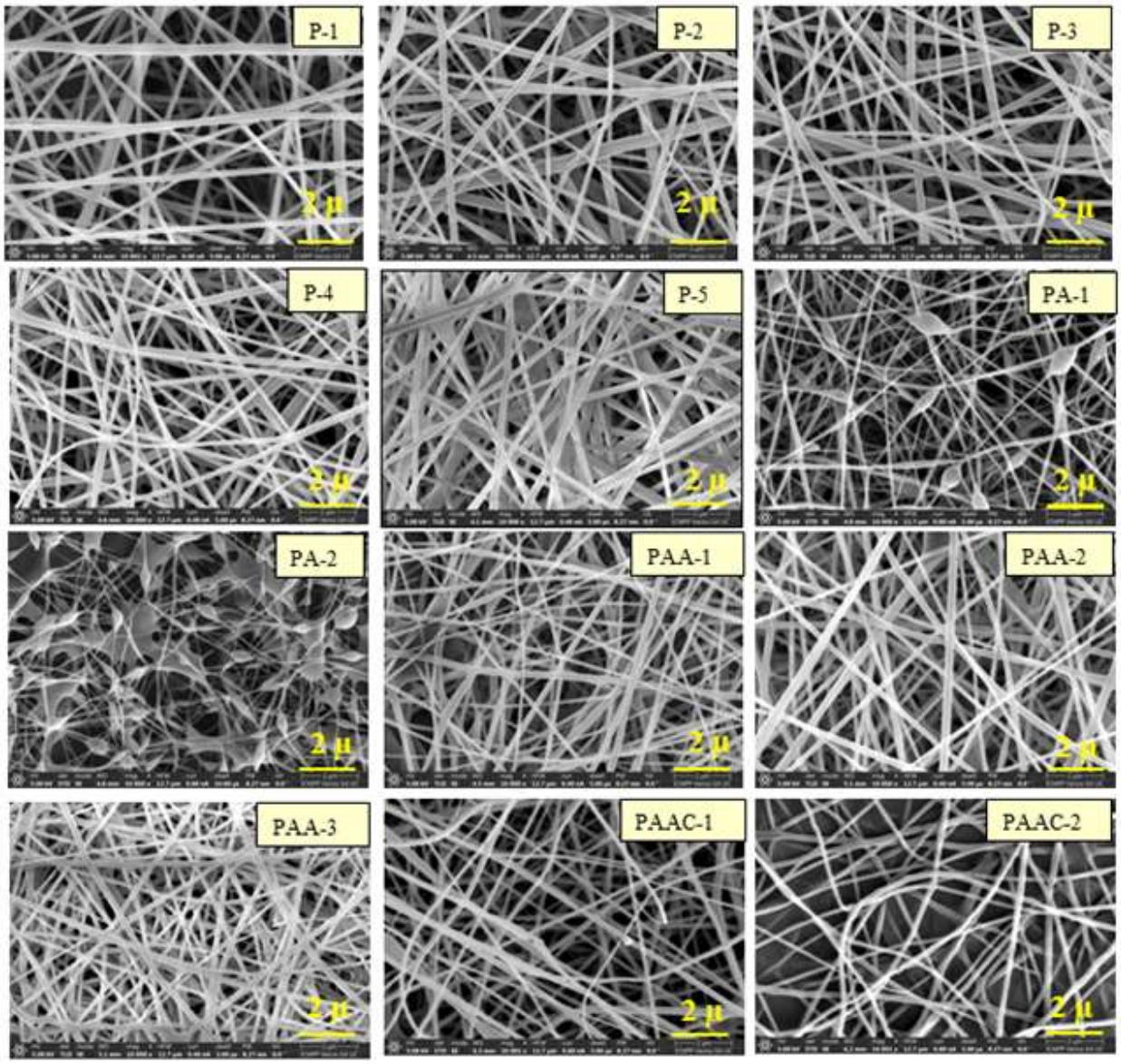


Figura V.4. Imagini MEB ale nanofibrelor

Diametrul mediu al nanofibrelor a variat între 140 și 200 nm. Pentru a calcula diametrul mediu ilustrat în **Figura V.4** și **Figura V.5**, a fost utilizat programul ImageJ, avându-se în vedere un număr de 50 de nanofibre. Se poate observa că nanofibrele de control, obținute doar din PAV (P1-P5), prezintă o distribuție relativ uniformă, fără bead-uri (perle), cel mai probabil datorită vâscozității mai mari a soluției polimerice. Adăugarea AG în sistem (mostre PA-1 și PA-2) și scăderea cantității de PAV au dus la o creștere a numărului de perle. Acest comportament

poate fi datorat scăderii vâscozității soluției polimerice. Este important de menționat că după adăugarea activatorului în sistem (mostre PAA-1, PAA-2, PAA-3), nu au fost observate perle.

După adăugarea activatorului, are loc o reacție de esterificare a grupărilor carboxilice din AG cu grupările hidroxil din PAV, ceea ce duce la o soluție mai vâscoasă și, prin urmare, la dispariția perlelor. Pentru obținerea de nanofibre netede, s-a constatat că raportul cel mai favorabil între PAV/AG a fost de 90/10, wt/wt, iar, în consecință, pentru încărcarea CRC acest raport a fost punctul de plecare pentru pregătirea probelor PAAC-1 și PAAC-2. Pentru a optimiza diametrul nanofibrelor și a evita lipirea structurilor de nanofibre între ele, au fost aplicate diferite voltaje care au variat între 25 și 30 kV.

Studiile de degradare (**Figura V.6**) au fost realizate în soluție de PBS (pH = 7,4 și pH = 5,4) la 37 ± 1°C și 40 ± 1°C pe următoarele probe de nanofibre: P-1; PAA-2; PAAC-1; PAAC-2.

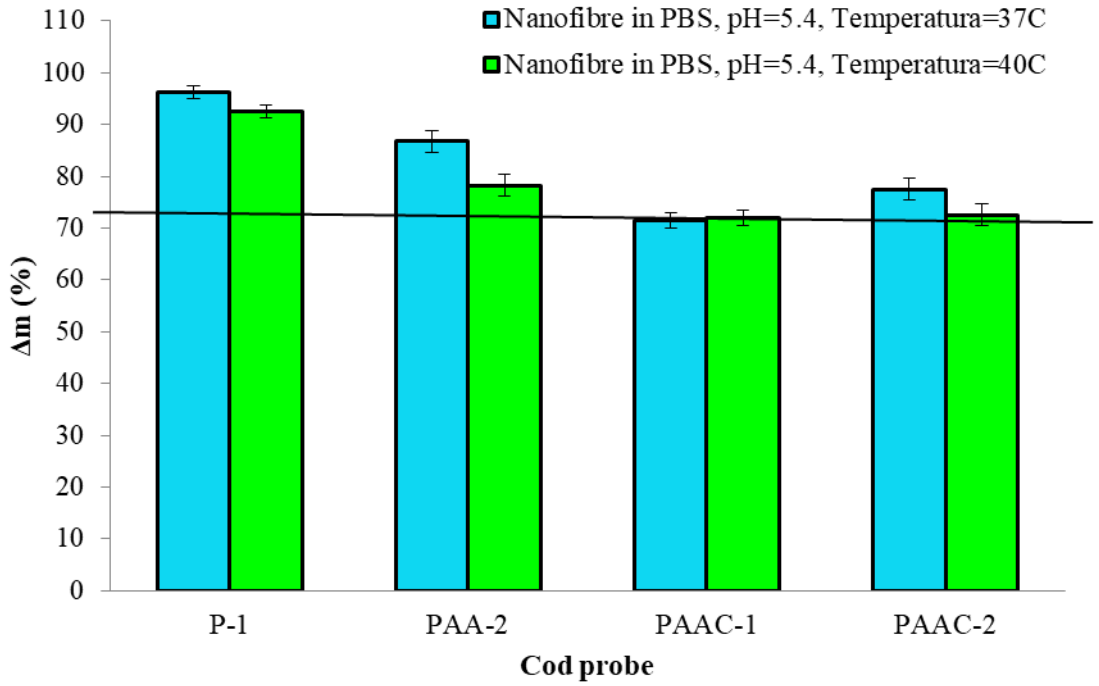


Figura V.6. Influenţa temperaturii asupra gradului de biodegradare a nanofibrelor în soluţie PBS (pH=5,4)

Evaluarea degradării nanofibrelor a fost realizată pe parcursul a 7 zile, utilizând soluție PBS reîmprospătată zilnic, iar gradul de degradare a fost determinat prin pierderea în greutate raportată la masa inițială a probelor. Rezultatele au evidențiat o rată de degradare cuprinsă între

49% și 96%, influențată semnificativ de prezența curcuminei, de valoarea pH-ului și de temperatură.

S-a observat că includerea curcuminei în structura nanofibrelor reduce gradul de biodegradare, efect atribuit formării legăturilor de hidrogen între compusul activ și matricea polimerică, ceea ce conferă o stabilitate structurală mai mare. De asemenea, degradarea a fost mai redusă la pH 7,4 comparativ cu pH 5,4. Acest comportament se explică prin faptul că, la pH fiziologic, grupările carboxilice ale alginatului sunt ionizate, favorizând interacțiuni electrostatice și ionice care stabilizează rețeaua polimerică și limitează absorbția excesivă de apă. În schimb, în mediu acid, protonarea acestor grupări reduce repulsia electrostatică, favorizează compactarea lanțurilor și accelerează hidroliza acidă, ceea ce conduce la o degradare mai rapidă. Totodată, stabilitatea PAV este afectată în mediu acid, iar absorbția crescută de apă favorizează difuzia acesteia în nanofibre și intensifică procesul degradativ.

Analiza influenței temperaturii a arătat un comportament diferențiat în funcție de pH, sugerând existența unor mecanisme distincte de degradare. La pH 5,4, degradarea mai accentuată la 37°C comparativ cu 40°C poate fi explicată printr-o posibilă reorganizare structurală a PAV la temperatură mai ridicată, prin creșterea cristalinității și întărirea legăturilor de hidrogen, ceea ce reduce accesibilitatea mediului acid în rețea. În schimb, la pH 7,4, creșterea temperaturii la 40°C determină o mobilitate mai mare a lanțurilor polimerice și intensifică difuzia apei și a ionilor, accelerând astfel degradarea. Aceste rezultate demonstrează că stabilitatea nanofibrelor este controlată de interacțiunea complexă dintre compoziția materialului, condițiile de mediu și structura rețelei polimerice.

Gradul de umflare al nanofibrelor încărcate cu CRC (PAAC-3) a fost investigat în soluții PBS (pH=7,4 și 5,4). La pH=7,4 gradul de umflare a fost de aproximativ 297%, în timp ce la pH=5,4 a fost de aproximativ 326%. Punctul izoelectric (PZC) al PAAC-3, determinat prin adăugarea de sare ($NaNO_3$ – 0,1M) [234], a fost de aproximativ 7,1. **Figura V.8.** arată o umflare rapidă în prima jumătate de oră, urmată de o stabilizare până la 180 de minute.

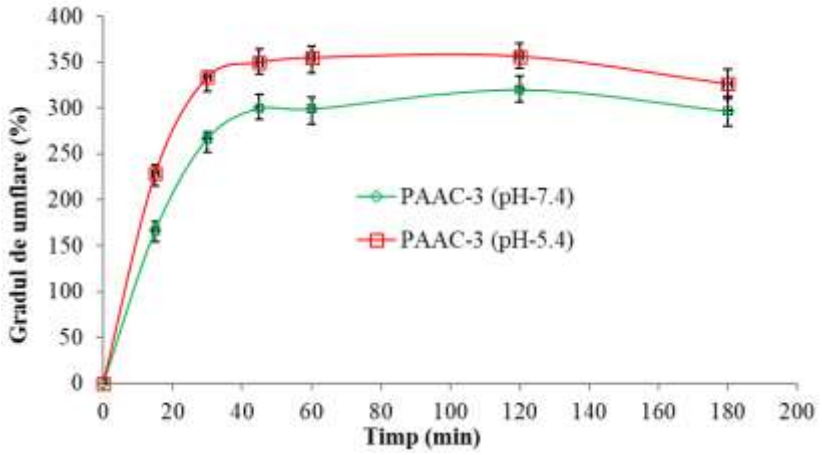


Figura V.8. Gradul de umflare al nanofibrelor PAAC-3 în soluții cu pH=7.4 și pH=5.4

Capacitatea de umflare a nanofibrelor în soluția cu pH = 5,4 este mai mare decât în soluțiile cu pH = 7,4. La pH = 5,4 are loc protonarea grupărilor carboxilice și hidroliza acidă ceea ce poate conduce la începerea degradării. Acest comportament poate duce la acumularea mai ușoară a moleculelor de apă în rețeaua polimerică. În consecință, are loc difuzia apei în nanofibre ceea ce conduce la creșterea gradului de umflare.

Profilele de eliberare *in vitro* ale CRC din proba de nanofibre PAAC-3 în soluție PBS la pH = 7,4 și 5,4 sunt prezentate în **Figura V.10**. Cantitatea de CRC încărcată în nanofibre a fost de aproximativ 0,045 mg CRC/1 mg nanofibre. Conform rezultatelor obținute, s-a constatat că eliberarea medicamentului în soluția PBS la pH = 7,4 a fost mai mică decât la pH = 5,4. Acest comportament este similar cu cel întâlnit în cazul testului de umflare.

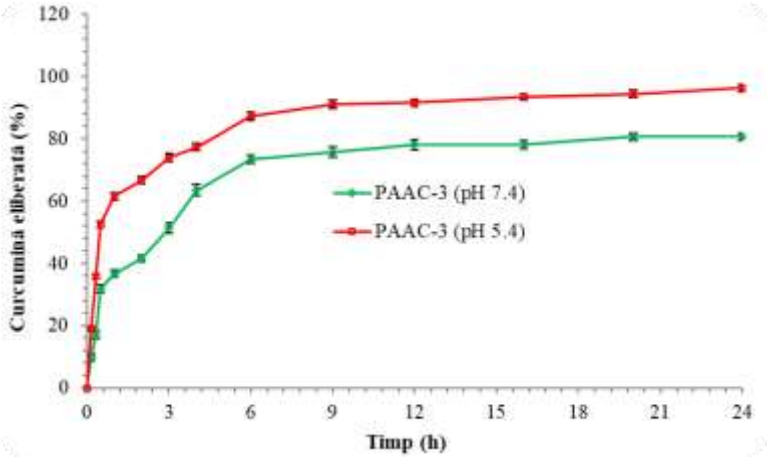


Figura V.10. Gradul de eliberare *in vitro* a CRC din nanofibrele PAAC-3 în soluții PBS (pH = 7,4, pH = 5,4)

Eficiența eliberării CRC din nanofibre prin membrana de celuloză la pH = 7,4 a fost de

aproximativ 81%, în timp ce eficiența eliberării CRC din nanofibre la pH = 5,4 a fost de aproximativ 96%.

Nanofibrele au fost evaluate privind capacitatea lor de a provoca liza eritrocitelor umane, iar rezultatele sunt prezentate în **Figura V.11**.

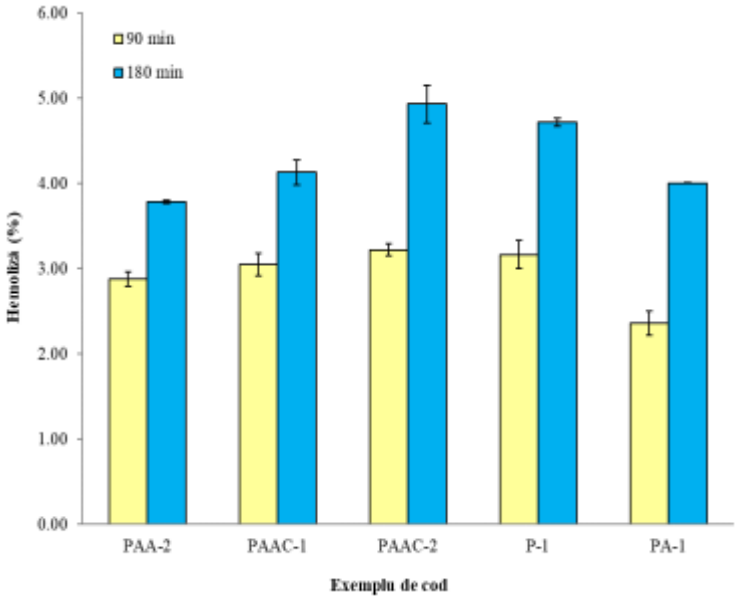


Figura V.11. Rezultatele testului de hemoliză al nanofibrelor cu și fără CRC încorporată

Rezultatele obținute au arătat că toate probele analizate au o bună compatibilitate cu sângele, care se încadrează în limitele normale (mai mici de 5% comparativ cu proba de control pozitiv), valorile fiind între 2,36% și 3,22% după primele 90 de minute de contact. După 180 de minute de tratament, gradul de liza a eritrocitelor a crescut la valori cuprinse între 3,78% și 4,93%.

Experimentele *in vitro* au avut ca obiectiv evaluarea gradului de toxicitate al unor nanofibre cu și fără curcumina încorporată, dar și a CRC libere cu o durată de tratament 48 de ore, pe linia celulară de fibroblași pulmonari de hamster chinezesc V79-4, celule aderente, rezultatele fiind redate în **Figura V.12**.

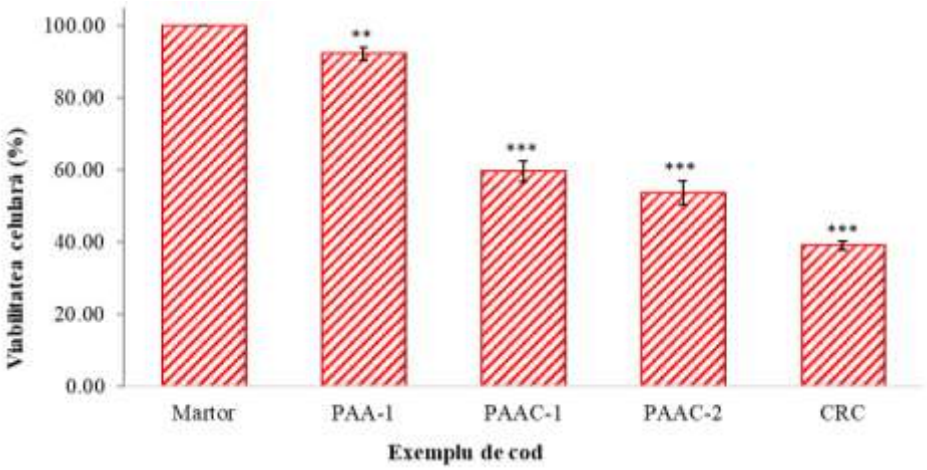


Figura V.12. Viabilitatea celulelor V79-4 după 48 de ore de tratament cu nanofibre și CRC (valorile sunt exprimate ca medie ± SE; *p<0.01, **p<0.001)

Tratamentul cu nanofibre PAA-1 a dus la scăderi minore ale viabilității celulare (92,35%) comparativ cu controlul netratat, fiind practic netoxic. Diminuări ceva mai accentuate ale viabilității celulelor V79-4 s-au constatat după tratamentul cu cele două tipuri de nanofibre care conțin CRC, fiind consemnate valori ale viabilității celulare de 59,66% pentru proba PAAC-1 și 53,72% pentru PAAC-2).

Nanofibrele neîncărcate (PAA-1) nu afectează morfologia celulelor, aspectul general fiind comparabil cu cel al controlului. Principalele modificări constau în reducerea aderenței celulelor prin pierderea contactului intercelular sau alungirea pseudopodelor.

Testul de iritabilitate al biomaterialelor este un aspect critic de luat în considerare, deoarece poate afecta eficacitatea pansamentului și procesul de vindecare. Pentru testul de iritabilitate s-au utilizat nanofibre fără curcumină (proba P-1 și PAA-2) și nanofibre cu curcumină (PAAC-2). În ceea ce privește probele testate, după cum se observă în **Figura V.14.**, nanofibrele fără CRC (P-1 și PAA-2) au evidențiat o viabilitate de 89,96±1,45% respectiv 79,12±2,44%. În cazul nanofibrelor cu curcumină de tip PAAC-2, s-a stabilit o viabilitate de 63,45±1,45%.

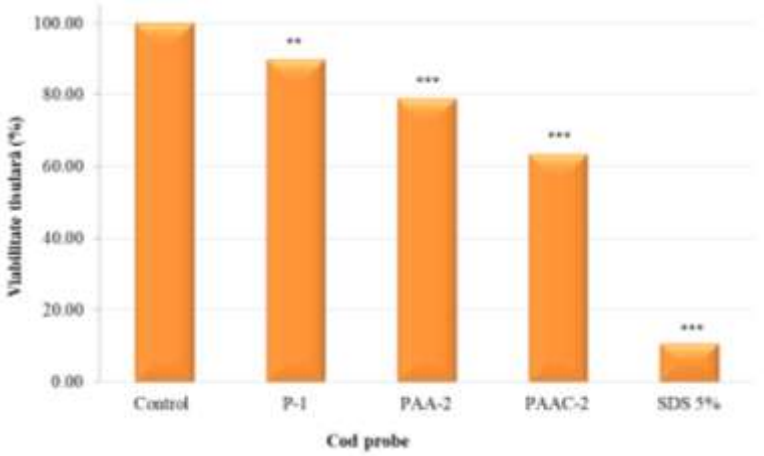


Figura V.14. Viabilitatea țesuturilor EpiSkin™ după tratamentul timp de 42 de minute cu unele nanofibre evaluate prin testul MTT și exprimate ca procent din controlul negativ. Barele de eroare reprezintă media erorilor standard (MES), iar nivelul de semnificație a fost stabilit la $p<0,01$

5.4. Concluzii

Nanofibrele electrofilate încărcate cu curcumină au fost obținute prin electrofilare coaxială, utilizând PAV/CRC ca nucleu și PAV/AG ca înveliș, iar reticularea a fost îmbunătățită cu ajutorul unui activator specific. Analizele FT-IR și XRD au confirmat reacția dintre componente, încărcarea cu curcumină și reducerea caracterului cristalin, ceea ce favorizează o distribuție amorfă a curcuminei. Imaginile SEM au evidențiat nanofibre cu diametre sub 200 nm.

Nanofibrele au prezentat un grad ridicat de umflare și o eficiență crescută de eliberare a curcuminei, mai ales în mediu acid (pH 5,4), demonstrând un comportament sensibil la pH și potrivit pentru eliberare controlată. Testele biologice au arătat că nanofibrele sunt hemocompatibile și netoxice în forma neîncărcată, iar încărcarea cu curcumină reduce toxicitatea comparativ cu curcumina liberă.

Analizele morfologice au indicat că nanofibrele neîncărcate nu afectează celulele, în timp ce cele încărcate induc modificări celulare specifice, mai accentuate pentru sistemul PAAC-2. Curcumina liberă a provocat moarte celulară semnificativă din cauza agregării și blocării schimburilor metabolice.

În concluzie, nanofibrele PAV/AG încărcate cu curcumină reprezintă un sistem promițător pentru eliberare controlată și aplicații biomedicale, fiind necesare studii suplimentare in vitro, in vivo și, ulterior, clinice pentru validarea potențialului lor terapeutic.

CAPITOLUL VI

Hidrogeluri biocompozite complexe cu activitate antimicrobiană

6.1 Introducere

Hidrogelurile polimerice sunt considerate pansamente eficiente datorită capacității lor de a absorbi exudatele, de a preveni contaminarea bacteriană și de a crea un mediu favorabil regenerării tisulare. Dintre biopolimerii utilizați, acidul hialuronic (HA) și alginatul (AG) sunt deosebit de importanți datorită biocompatibilității, biodegradabilității și rolului lor în regenerarea țesuturilor.

În acest studiu au fost dezvoltate nanofibre electrofilate de tip miez-înveliș, obținute din poli(alcool vinilic) (PAV) și alginat, încărcate cu curcumină (CRC), un compus cu proprietăți antiinflamatorii, antioxidante și antimicrobiene. PAV a fost utilizat pentru a facilita formarea unor fibre uniforme, iar un activator special a fost folosit pentru reticulare, evitând toxicitatea agenților convenționali. De asemenea, nanoparticulele de oxid de zinc (ZnO) au fost integrate în matricea hidrogelului pentru a conferi proprietăți antimicrobiene suplimentare și pentru a susține regenerarea tisulară.

Scopul principal al cercetării a fost obținerea unui hidrogel biocompozit inovator, capabil să imite matricea extracelulară, să absoarbă exudatele, să ofere activitate antimicrobiană și antiinflamatorie și să permită eliberarea controlată a curcuminei pentru accelerarea vindecării rănilor. Reprezentarea schematică a acestui obiectiv este prezentată în **Figura VI.1** iar programul experimental în **Tabelul VI.1**.

Materialele obținute au fost caracterizate structural și morfologic prin FTIR și microscopie electronică, iar proprietățile funcționale au fost evaluate prin teste de umflare, eliberare și permeabilitate a curcuminei, biodegradabilitate, hemocompatibilitate, viabilitate celulară, activitate antimicrobiană și iritabilitate in vitro. Rezultatele sugerează un potențial ridicat al acestor biocompozite pentru aplicații avansate în tratamentul rănilor și regenerarea pielii.

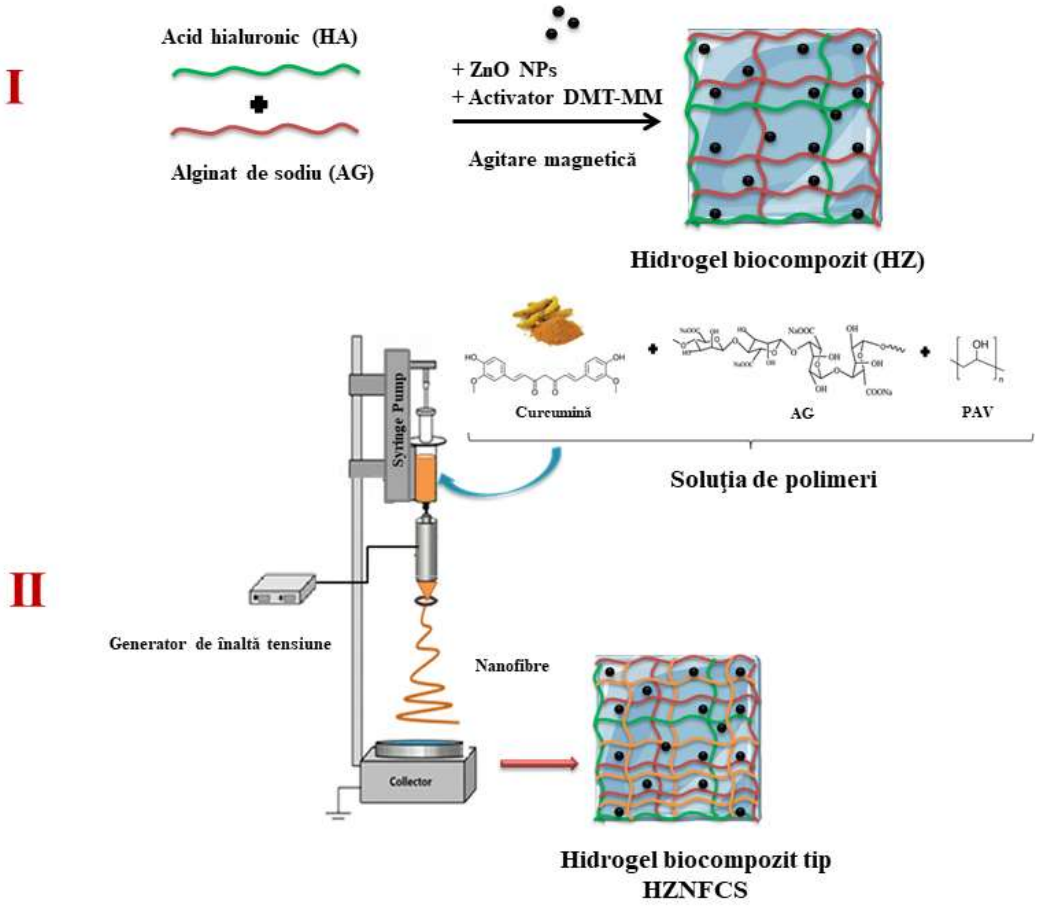


Figura VI.1. Reprezentarea schematică a metodei de preparare a hidrogelurilor biocompozite

Tabelul VI.1. Programul experimental utilizat pentru obținerea hidrogelurilor

Cod proba	AG/HA (mg/mg)	NPs ZnO (%)	Nanofibre PAA-2	Nanofibre PAAC-2
HZ-1	90/10	-		
HZNFS-1	90/10	4	+	-
HZNFS-2	80/20	4	+	-
HZNFS-3	90/10	5	+	-
HZNFS-4	80/20	5	+	-
HZNFCS-1	90/10	4	-	+
HZNFCS-2	80/20	4	-	+
HZNFCS-3	90/10	5	-	+
HZNFCS-4	80/20	5	-	+

6.2. Rezultate și discuții

Spectrele FT-IR prezentate în **Figura VI.2**. confirmă atât reacția dintre cele doi polimeri, cât și prezența CRC în nanofibre, dar și în hidrogelurile biocompozite.

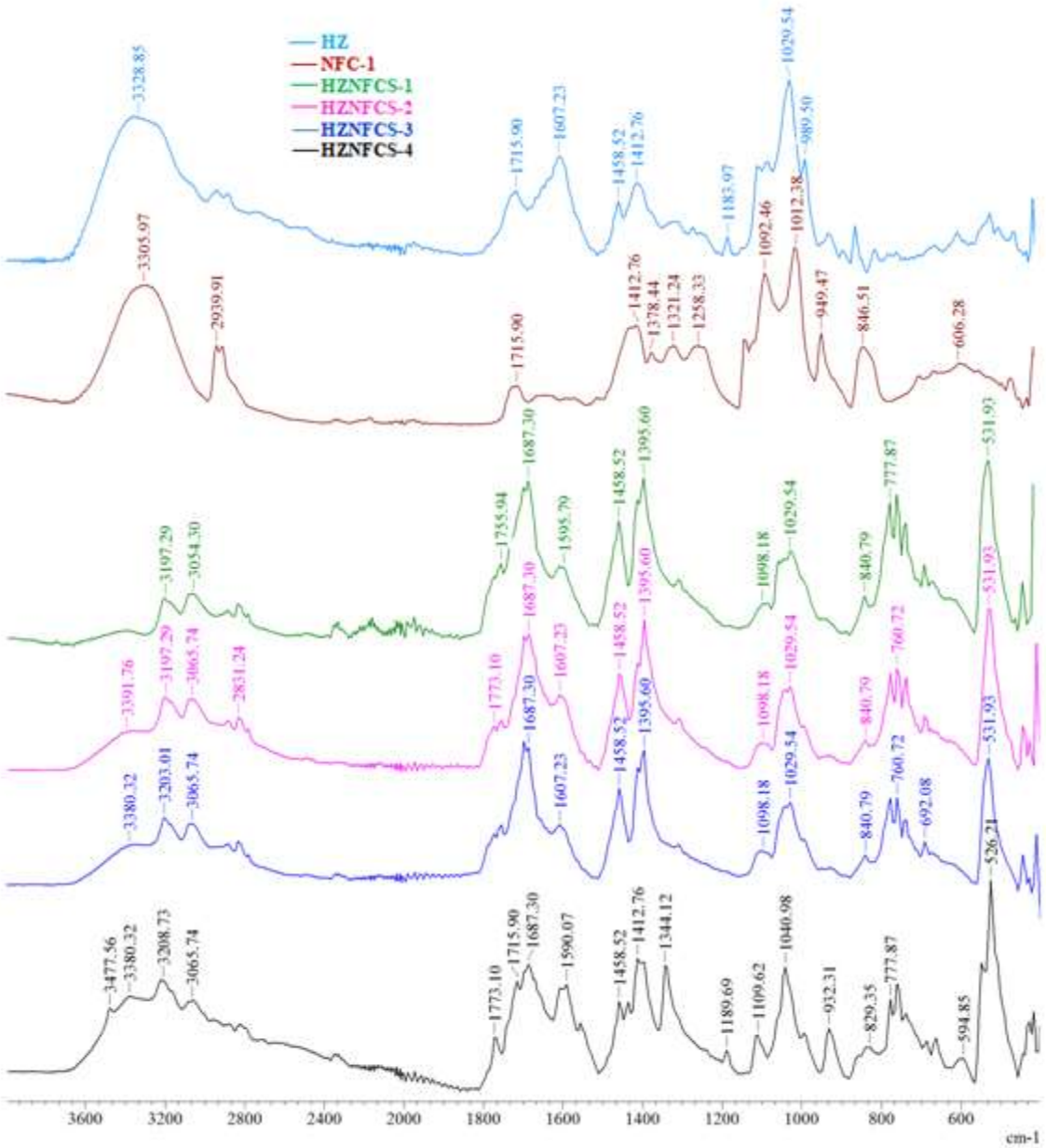


Figura VI.2. Spectrele FT-IR ale nanofibrelor cu CRC (NFC-1), hidrogelurilor cu nanoparticule de ZnO (HZ) și hidrogelurilor biocompozite conținând nanoparticule de ZnO și nanofibre încărcate cu CRC (HZNFCS)

Analiza FT-IR a evidențiat prezența grupărilor caracteristice componentelor din nanofibre și hidrogelurile biocompozite. Banda largă observată între 3000–3500 cm^{-1} este atribuită vibrațiilor de întindere ale grupărilor hidroxil (-O-H), iar semnalele specifice legăturilor

C-H aromatice ale curcuminei, identificate în jurul valorilor de 3054–3065 cm^{-1} în hidrogelurile biocompozite, confirmă încorporarea nanofibrelor și a curcuminei în structura acestora.

Apariția benzilor de absorbție între 1590–1773 cm^{-1} confirmă formarea legăturilor esterice dintre alginat și acidul hialuronic în prezența activatorului DM-TMM, demonstrând reticularea rețelei polimerice. Benzile identificate la 1029–1040 cm^{-1} sunt asociate legăturilor C-C și C-O, iar semnalele din jurul valorilor 1458–1607 cm^{-1} corespund vibrațiilor simetrice și asimetrice ale anionului carboxilat din alginat, deplasarea acestora indicând interacțiuni electrostatice cu ionii de calciu.

De asemenea, prezența nanoparticulelor de oxid de zinc în hidrogeluri a fost confirmată prin benzile de absorbție caracteristice de la aproximativ 777 cm^{-1} și 731 cm^{-1}, corespunzătoare vibrațiilor de întindere Zn–O. Aceste rezultate confirmă structura biocompozită dorită și sunt în concordanță cu datele raportate în literatura de specialitate.

Microscopia electronică de baleiaj (MEB) a fost utilizată pentru a determina morfologia și structura hidrogelurilor biocompozite. **Figurile VI.3**, **VI.4** și **VI.5** prezintă micrografiile hidrogelurilor în secțiune transversală și la suprafață.

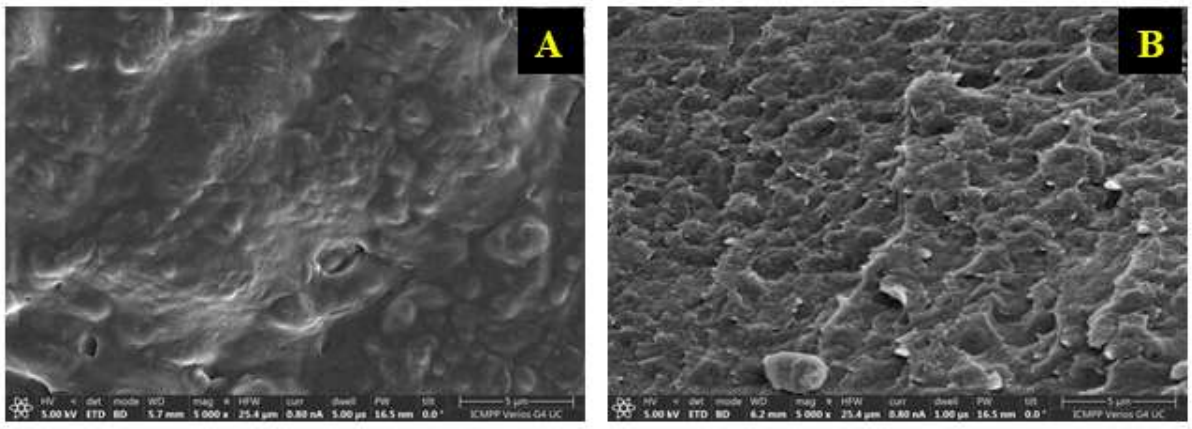


Figura VI.3. Micrografii MEB de suprafață (A) și în secțiune transversală (B) ale hidrogelurilor biocompozite fără nanofibre conținând 4% nanoparticule de ZnO (HZ)

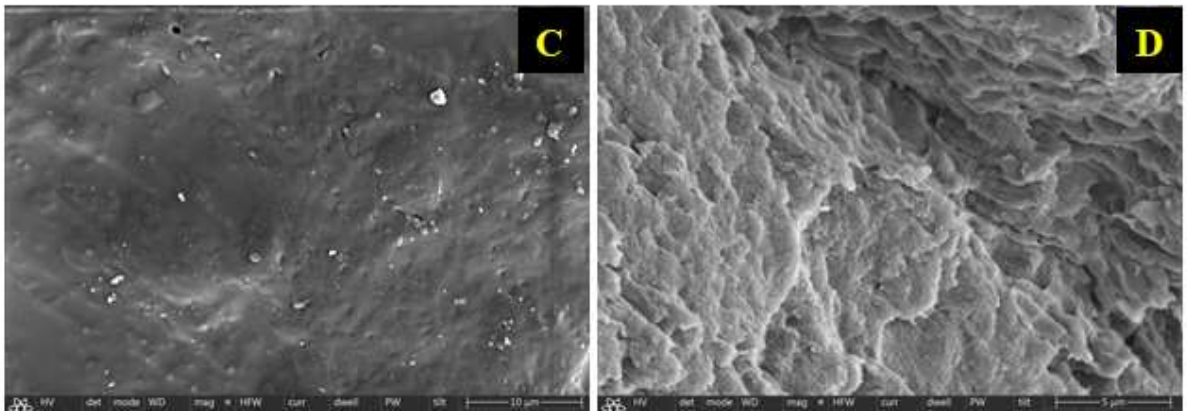


Figura VI.4. Micrografii MEB de suprafață (C) și în secțiune transversală (D) ale hidrogelurilor biocompozite cu un raport masic intre AG si HA de 90 mg/10 mg, conținând 4% nanoparticule de ZnO și nanofibre fără curcumină (HZNFS-1)

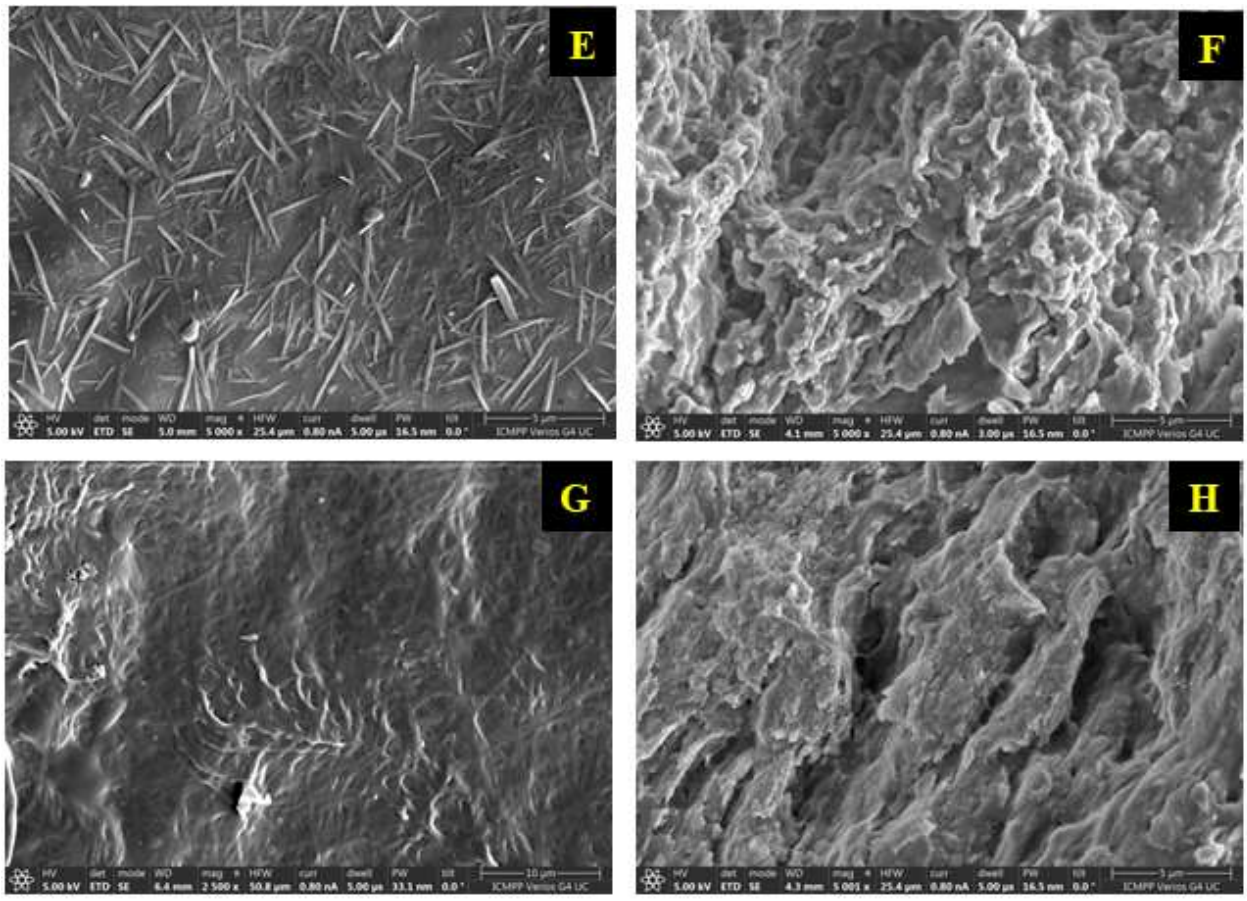


Figura VI.5. Micrografii MEB de suprafață (E) și în secțiune transversală (F) ale hidrogelurilor biocompozite (raport de masă AG/HA de 90/10), conținând 5% nanoparticule de

ZnO și nanofibre cu curcumină (HZNFCS-3); micrografii de suprafață (G) și micrografii MEB în secțiune transversală (H) ale hidrogelurilor biocompozite (raport de masă AG/HA de 80/20), conținând 5% nanoparticule de ZnO și nanofibre cu curcumină (HZNFCS-4)

Din imaginile de mai sus, se poate observa că toate cele trei tipuri de hidrogeluri sunt poroase, iar porii au o formă și o dimensiune neuniforme. Porozitatea poate fi atribuită nanoparticulelor de ZnO.

Comportamentul la umflare al hidrogelurilor obținute a fost investigat în soluții PBS (pH=7,4 și pH=5,4), iar rezultatele sunt prezentate în **Figura VI.6** și **Figura VI.7**.

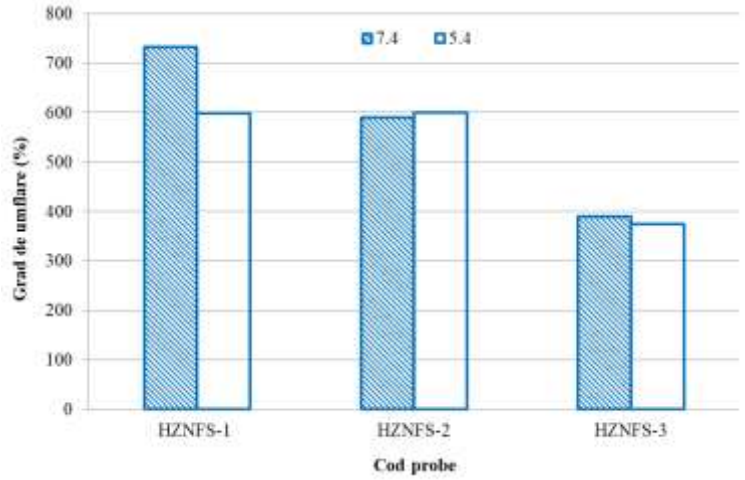


Figura VI.6. Gradul de umflare după 24 de ore a hidrogelurilor biocompozite conținând nanoparticule de ZnO și fără curcumină la pH=7,4 și pH=5,4

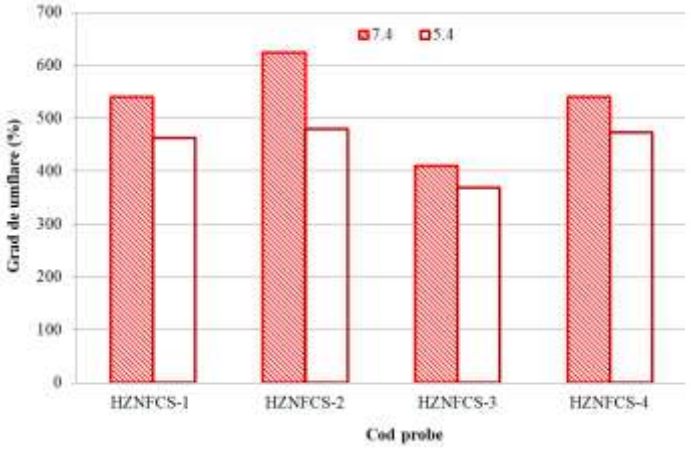


Figura VI.7. Gradul de umflare după 24 de ore a hidrogelurilor biocompozite conținând nanoparticule de ZnO și nanofibre încărcate cu CRC la pH=7,4 și pH=5,4

Rezultatele au arătat că hidrogelurile prezintă un grad de umflare ușor mai mare la pH 7,4 comparativ cu pH 5,4. Hidrogelurile care conțin nanoparticule de ZnO și nanofibre fără curcumină au înregistrat valori ale umflării între 390–734% la pH 7,4 și 375–600% la pH 5,4, în timp ce hidrogelurile cu nanofibre încărcate cu curcumină și ZnO au prezentat valori între 409–623% la pH 7,4 și 369–479% la pH 5,4.

Gradul mai ridicat de umflare în mediu alcalin este explicat prin ionizarea grupărilor carboxilice și formarea grupărilor carboxilat, care generează respingeri electrostatice și facilitează pătrunderea apei în rețeaua polimerică. Creșterea raportului dintre cei doi polimeri a dus la o umflare mai mare, datorită numărului crescut de grupări carboxil furnizate de acidul hialuronic, ceea ce favorizează formarea grupărilor carboxilat.

În schimb, creșterea cantității de activator a determinat scăderea gradului de umflare, ca urmare a creșterii densității de reticulare și a consolidării rețelei polimerice. De asemenea, nanoparticulele de ZnO au redus umflarea prin ocuparea spațiului liber din structura hidrogelului, limitând difuzia apei în interiorul matricei polimerice.

Eliberarea *in vitro* și permeabilitatea CRC din hidrogelurile biocompozite de tip HZ-NFC au fost efectuate folosind celule de difuzie Franz statice (Copley sistem cu celule de difuzie verticală). Pentru acest test s-au folosit două tipuri de membrane: membrana artificială de celuloză și membrana Strat-M.

După cum se arată în **Figurile VI.8** și **VI.9**, o creștere a cantității de nanoparticule de ZnO din hidrogeluri induce o scădere a gradului de eliberare a CRC. Cu toate acestea, după un efect de explozie (burst effect) în timpul primelor 10 minute, cantitatea de CRC eliberată a fost controlată în timp. Mai mult, eliberarea la pH = 7,4 a fost puțin mai mare decât cea la pH=5,4.

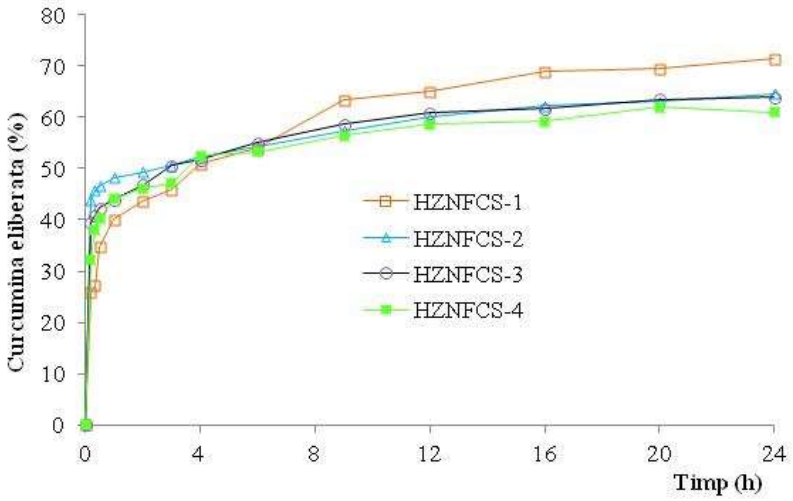


Figura VI.8. Cinetica de eliberare *in vitro* a curcuminei din hidrogelurile biocompozite și din proba de nanofibre (NFC-1) în soluție tampon fosfat (pH = 7,4) utilizând membrana artificială de celuloză

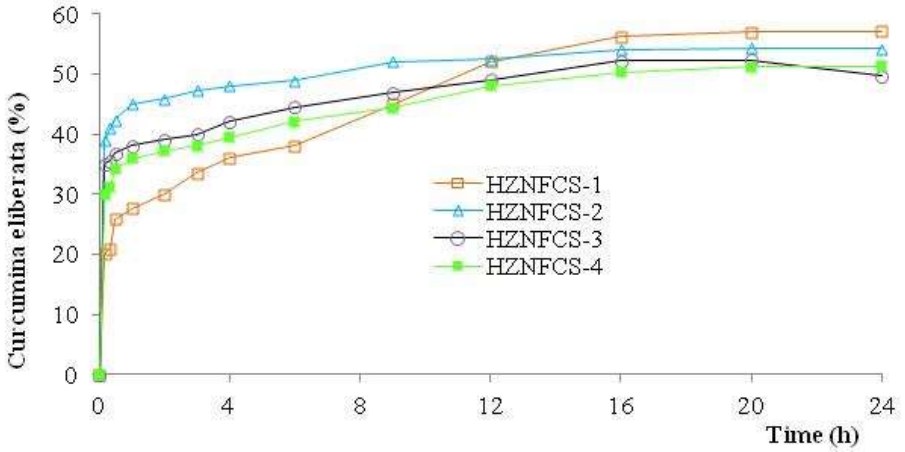


Figura VI.9. Cinetica de eliberare *in vitro* a curcuminei din hidrogelurile biocompozite și din proba de nanofibre (NFC-1) în soluție tampon fosfat (pH = 5,4) utilizând membrana artificială de celuloză

În urma rezultatelor obținute, s-a constatat că o creștere a cantității de ZnO NPs din hidrogeluri a dus la o scădere a gradului de eliberare/permeabilitate a curcuminei prin membrana separatoare. În primele 10 minute are loc o eliberare rapidă, apoi curcumina a fost eliberată controlat în timp, până la 24h. Mai mult, s-a constatat că eliberarea la pH=7,4 a fost puțin mai crescută decât la 5,4.

O cerință obligatorie pentru hidrogelurile cu aplicații în ingineria tisulară este biodegradarea controlabilă în timp. Rata de degradare a fost determinată ca pierdere în greutate în raport cu greutatea inițială a probei. Modificările de greutate ale hidrogelurilor biocompozite în mediu slab alcalin (pH=7,4) și mediu slab acid (pH=5,4) au fost monitorizate pe o perioadă de 7 zile la 37°C şi 40°C, așa cum este ilustrat în **Figura VI.12** şi **Figura VI.13**.

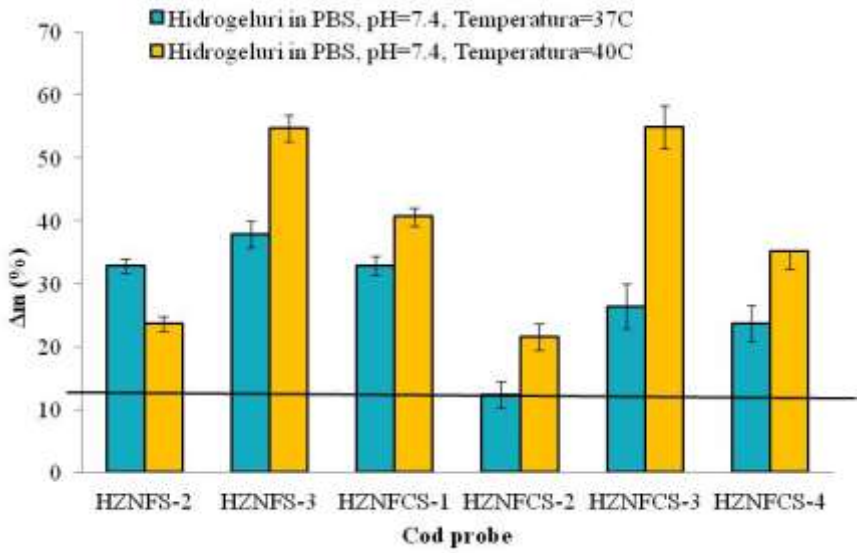


Figura VI.12. Influența temperaturii asupra gradului de biodegradare a hidrogelurilor în soluție de PBS (pH=7,4)

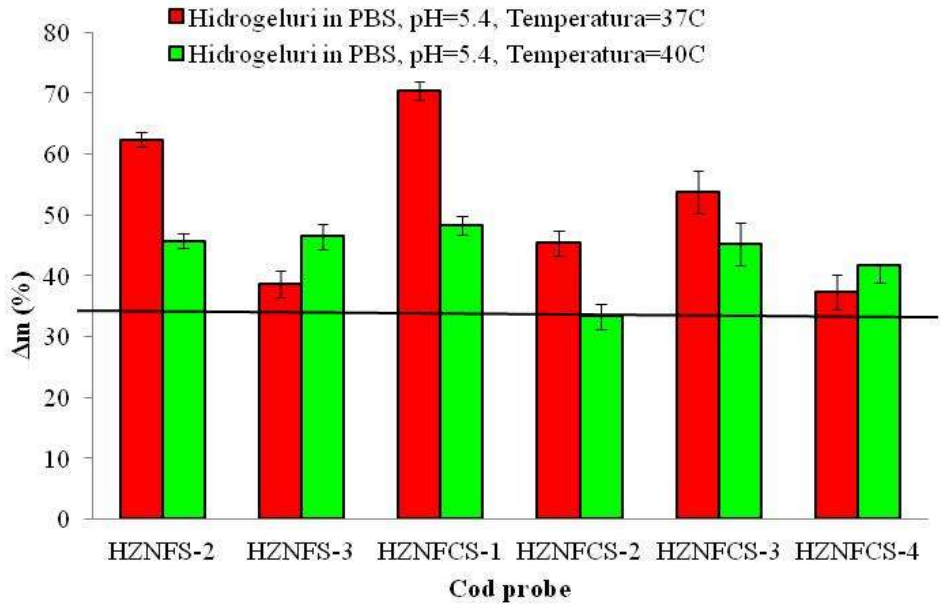


Figura VI.13. Influența temperaturii asupra gradului de biodegradare a hidrogelurilor în soluție de PBS (pH=5,4)

Rezultatele obținute arată că rata de degradare a fost mai mare la pH=7,4 decât la pH=5,4. Rata de degradare a hidrogelurilor în mediu slab alcalin (pH=7,4) a variat între 37% și 70%, în timp ce în mediu slab acid (pH=5,4) pierderea de masă a variat între 12% și 54%.

Pentru evaluarea *in vitro* a efectelor hidrogelurilor de tip HZ-NFC asupra sângelui a fost efectuat testul de hemoliză (**Figura VI.14**) și testul de hemocompatibilitate care include timpul de

protrombină (PT), Index Quick (IQ) și Raportul normalizat internațional (INR) (**Tabelul VI.1**).

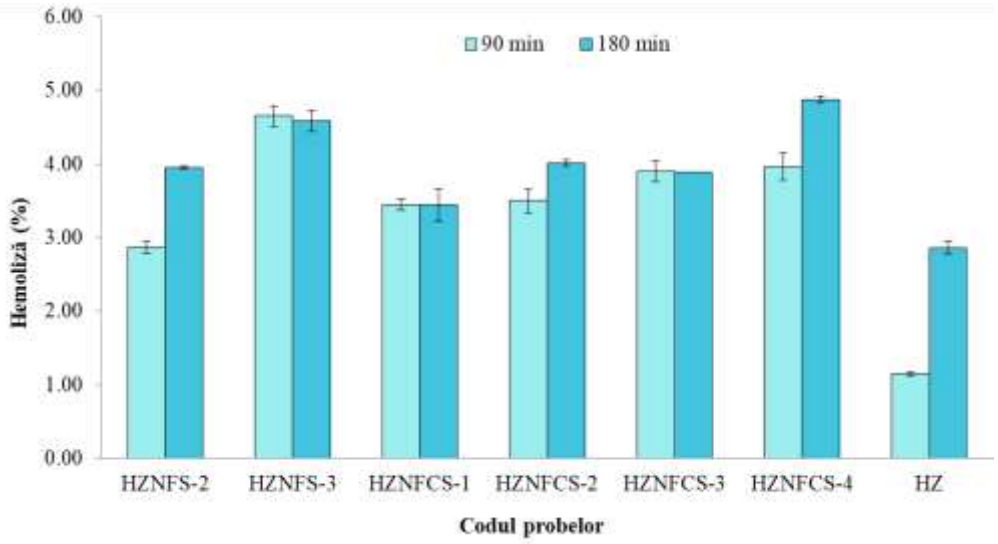


Figura VI.14. Rezultatele testului de hemoliză a hidrogelurilor

Valorile hemolizei au variat între 1,15% și 4,66% după primele 90 de minute de contact. O ușoară creștere a fost observată după 180 de minute, când gradul de liză a eritrocitelor a crescut până la o valoare maximă de 4,88%. Această creștere a fost observată în special în cazul hidrogelurilor cu o cantitate mai mare de nanoparticule de ZnO. Rezultatele obţinute au pus în evidenţă faptul că toate probele analizate prezintă o bună compatibilitate cu mediul sangvin, care se încadrează în limitele normale (< 5% comparativ cu proba control pozitiv), aşadar probele obținute pot fi considerate hemocompatibile.

Experimentele *in vitro* au avut ca obiectiv evaluarea gradului de toxicitate a probelor obținute, pe o durată de tratament 48 de ore, pe linia celulară de fibroblaști V79-4, celule aderente, rezultatele fiind redate în **Tabelul VI.2**.

Tabelul VI.2. Viabilitatea celulelor V79-4 evaluată prin testul MTT

Proba	Viabilitate (%)	Semnificație statistică
Martor	100±0,00	
HZ	94,51±2,64	NS
HZNFS-1	88,12±1,11	***
HZNFS-4	82,05±0,85	***
HZNFCS-1	68,13±2,95	***
HZNFCS-2	65,77±3,46	***
HZNFCS-3	65,40±2,32	***

HZNFCS-4	64,71±2,08	***
PA-2	92,35±1,82	**
PAAC-1	59,66±2,89	***
PAAC-2	53,72±3,28	***
CRC	39,09±3,39	***
ZnO	64,50±1,27	***

Valorile sunt exprimate ca medie ± SE, NS - nesemnificativ; ***p<0,001

Tratamentul cu HZ a avut un impact nesemnificativ asupra viabilității celulare, procentul de celule vii (94,5%) fiind apropiat de cel al controlului netratat (100%). O scădere puțin mai pronunțată a viabilității celulelor V79-4 a fost constatată după tratamentul cu probele HZNFS-1 și HZNFS-4, cu valori ale viabilității celulare de 88,1% și, respectiv, 82,1%. Cu toate acestea, acești compuși sunt netoxici, deoarece valorile viabilității celulare sunt mai mari de 80%.

Tratamentul de 48 ore cu nanofibrele simple PA-2 a condus la diminuări minore (92,35%) ale viabilității celulare față de martorul netratat, fiind practic non-toxice. Situația se schimbă când în aceste nanofibre este încorporată curcumina, fiind înregistrate valori reduse ale viabilității celulare, de 59,66% (PAAC-1) și respectiv 53,72% (PAAC-2), ceea ce conduce la încadrarea lor în categoria compușilor moderat citotoxici, cu valori ale viabilității celulare cuprinse între 40 și 60%. Totuși, trebuie remarcat faptul că față de CRC liberă viabilitatea celulară e mult îmbunătățită prin încorporarea acesteia în nanofibre.

Tratamentul cu nanoparticule de ZnO în cantitate echivalentă cu cea utilizată în hidrogeluri, a fost urmat de înregistrarea unui procent de celule vii de 64,5%, comparativ cu controlul, ceea ce, conform ISO 10993-5, corespunde unui efect citotoxic slab, cu valori ale viabilității celulare între 60 și 80%. În mod similar, o scădere semnificativă statistic a viabilității celulare a fost observată pentru hidrogelurile biocompozite care conțin nanoparticule de ZnO și nanofibre încărcate cu curcumină. Proporțiile de celule vii au fost de 68,1% (HZNFCS-1), 65,8% (HZNFCS-2), 65,4% (HZNFCS-3) și 64,7% (HZNFCS-4), ceea ce a plasat acești compuși în grupul slab citotoxic, cu valori ale viabilității celulare între 60 și 80%.

Pentru testarea viabilității celulare s-au utilizat hidrogeluri simple de tip HZ, nanofibre încărcate cu curcumină (PAAC-2), hidrogeluri biocompozite de tip HZNFS-1 cu fibre fără curcumină și HZNFSC-1 care conțin nanofibre cu curcumină și ZnO NPs (**Figura VI.15**).

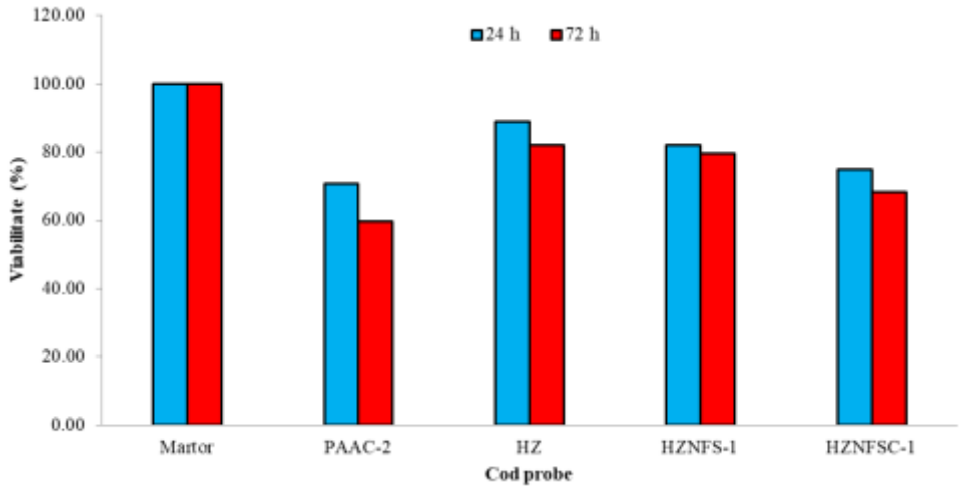


Figura VI.15. Rezultate viabilitate celulară - după 24 h și 72 h de incubare a celulelor fibroblaste în prezenţa materialelor supuse testării

Evaluarea biocompatibilității materialelor obținute s-a realizat cu ajutorul testului de iritabilitate *in vitro* utilizând modelul EpiSkin™ Small care imită, din punct de vedere histologic, epiderma umană *in vivo*.

În ceea ce privește probele de testat, așa cum este ilustrat în **Figura VI.17**, hidrogelurile biocompozite care conțin nanoparticule de ZnO (ZH) au prezentat o viabilitate de 91 ± 2,44%.

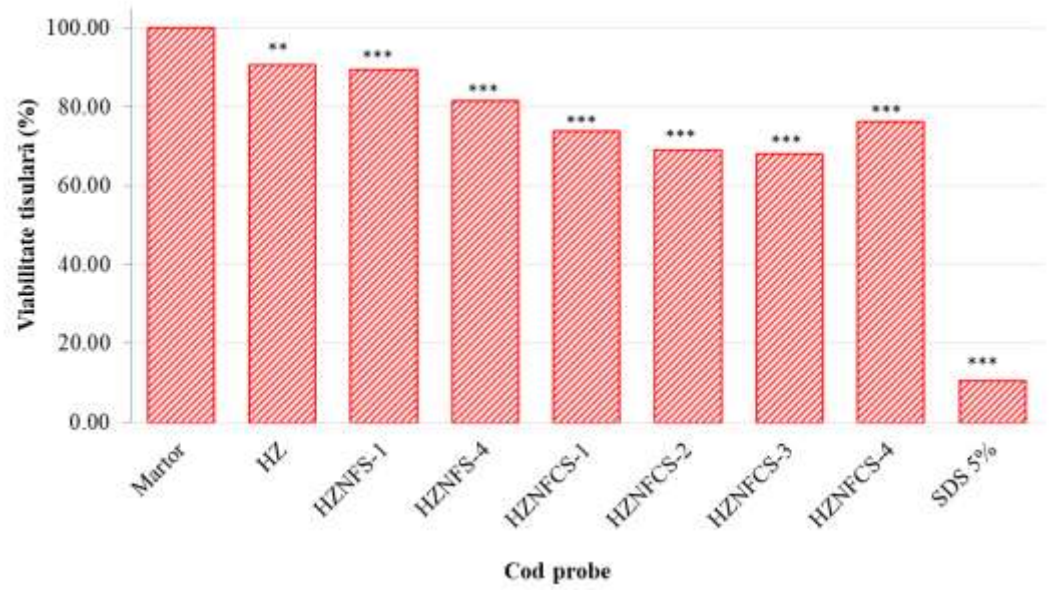


Figura VI.17. Viabilitatea țesuturilor EpiSkin™ după 42 de minute de tratament cu unele nanofibre a fost evaluată prin testul MTT și este exprimată ca procent din controlul negativ. Barele de eroare reprezintă eroarea standard medie (SEM), iar nivelul de semnificație a fost stabilit la $p<0,01$

Viabilitatea hidrogelurilor biocompozite care conțin nanofibre de ZnO și nanofibre goale (HZNFS-1 și HZNFS-4) a fost de 90±1,1% și respectiv 82±1,45%. În cazul hidrogelurilor biocompozite care conțin nanofibre de ZnO și nanofibre încărcate cu CRC (HZNFCS-1, HZNFCS-2, HZNFCS-3 și HZNFCS-4), viabilitatea a variat între 68% și 76%. Comparativ cu cele ale celorlalte materiale studiate, hidrogelurile care conțin nanofibre încărcate cu CRC au avut o viabilitate mai scăzută. Rezultatele au confirmat biocompatibilitatea tuturor probelor testate cu pielea umană, viabilitatea țesuturilor fiind mai mare de 50%, conform clasificării protocolului.

Activitatea antimicrobiană a hidrogelurilor biocompozite a fost testată pe trei tipuri de hidrogeluri și anume:

- hidrogeluri control HZ,
- hidrogeluri biocompozite care conțin nanoparticule de ZnO și nanofibre goale (HZNFS-1 și HZNFS-4),
- hidrogeluri biocompozite care conțin nanoparticule de ZnO și nanofibre încărcate cu curcumină (HZNFCS-1, HZNFCS-2, HZNFCS-3 și HZNFCS-4).

Rezultatele obținute sunt prezentate în **Figura VI.18** și **Tabelul VI.3**.



Figura VI.18. Activitatea antibacteriană împotriva *S. aureus*

Tabelul VI.3. Diametre de inhibiție pentru probele analizate împotriva *Staphyloccocus aureus*

Probe	Abreviere	*Staphyloccocus Aureus*
HZ (Control)	C	8
HZNFS-1	A	17
HZNFS-4	B	19
HZNFCS-1	D	15
HZNFCS-2	E	17
HZNFCS-3	F	17
HZNFCS-4	G	16

Toate hidrogelurile testate au arătat o activitate antimicrobiană bună împotriva bacteriilor gram-pozitive (*S. aureus*). După cum era de așteptat, hidrogelurile cu un conținut mai mare de nanoparticule de ZnO au avut o activitate antimicrobiană mai mare [271]. Introducerea curcuminei în sistem nu a produs schimbari în ceea ce privește activitatea antimicrobiană.

În acest studiu au fost dezvoltate și caracterizate hidrogeluri biocompozite pe bază de acid hialuronic și acid alginic, cu nanoparticule de ZnO și nanofibre electrofilate încărcate cu curcumină, utilizând DMT-MM ca agent de reticulare pentru formarea legăturilor esterice. Analizele FT-IR au confirmat reacția dintre polimeri și prezența curcuminei, iar micrografiile MEB au evidențiat clar nanofibrele pe suprafața hidrogelurilor.

Proprietățile de umflare au fost influențate de cantitatea de nanoparticule ZnO și de prezența nanofibrelor, iar eficiența de eliberare a curcuminei a variat între 60% și 71% la pH 7,4, fiind mai redusă la pH 5,4. Materialele obținute au demonstrat biodegradabilitate și hemocompatibilitate ridicată. Testele biologice au arătat că hidrogelurile sunt netoxice, iar nanofibrele încărcate cu curcumină prezintă doar o citotoxicitate moderată, toate probele fiind biocompatibile cu pielea umană.

În plus, hidrogelurile au prezentat activitate antimicrobiană eficientă împotriva *S. aureus,* sugerând un potențial ridicat în accelerarea vindecării rănilor și regenerarea pielii. Rezultatele confirmă contribuția acestui proiect la dezvoltarea ingineriei tisulare prin obținerea unor hidrogeluri biocompozite antibacteriene, ușor de preparat și reproductibile, cu aplicabilitate promițătoare în tratamentul rănilor provocate de arsuri.

CONCLUZII GENERALE

Cercetările efectuate în timpul acestei teze de doctorat au avut ca scop principal obţinerea unor hidrogeluri hibride complexe pe bază de nanofibre electrofilate obţinute din alginat şi PAV şi încărcate cu principii active. Aplicabilitatea principală a acestor siteme fiind pentru tratamentul rănilor datorită acţiunii antimicrobiene a nanoparticulelor de Zn.

În ansamblu, sistemele biocompozite hidrogel–nanofibre reprezintă o platformă avansată și extrem de versatilă pentru aplicații biomedicale, combinând avantajele structurale și funcționale ale ambelor componente. Aceste sisteme permit o încărcare eficientă și o eliberare controlată a agenților bioactivi, demonstrând capacitatea de a răspunde la stimuli de mediu, precum variațiile de pH.

Studiile efectuate s-au concretizat cu obţinerea de rezultate originale iar concluziile generale sunt prezentate în cele ce urmează:

✓ sistemele biocompozite hidrogel–nanofibre reprezintă platforme avansate pentru livrarea controlată a medicamentelor, cu aplicații în vindecarea rănilor și regenerarea tisulară;

✓ versatilitatea structurală permite încărcarea medicamentelor atât în nanofibre, cât și în hidrogel, generând profiluri de eliberare reglabile și sensibile la stimuli (ex. pH);

✓ nanofibrele electrofilate încărcate cu curcumină prezintă dimensiuni nanometrice (< 200 nm), structură amorfă și capacitate ridicată de umflare, favorabile eliberării eficiente a substanței active;

✓ eliberarea curcuminei este dependentă de pH, fiind mai accentuată în mediu acid, ceea ce susține utilizarea în aplicații țintite (ex. tumori, răni);

✓ încapsularea curcuminei în nanofibre reduce citotoxicitatea comparativ cu forma liberă, menținând efectele terapeutice;

✓ nanofibrele neîncărcate sunt biocompatibile și nu induc modificări morfologice celulare semnificative;

✓ integrarea nanofibrelor în hidrogeluri pe bază de acid hialuronic și alginat duce la materiale multifuncționale cu proprietăți îmbunătățite;

✓ hidrogelurile biocompozite obținute sunt biodegradabile, hemocompatibile și prezintă activitate antimicrobiană (ex. împotriva *S. aureus*);

✓ prezența nanoparticulelor de ZnO și a nanofibrelor influențează comportamentul la

umflare și profilul de eliberare a medicamentului;

✓ sistemele dezvoltate induc un răspuns biologic controlat, variind de la netoxic la moderat citotoxic, în funcție de compoziție;

✓ materialele studiate au potențial semnificativ pentru accelerarea vindecării rănilor, în special a arsurilor, reducând efectele adverse ale tratamentelor convenționale;

✓ rezultatele confirmă contribuția acestor sisteme la dezvoltarea ingineriei tisulare și medicinei regenerative;

✓ există provocări în ceea ce privește scalarea producției, reproductibilitatea, stabilitatea pe termen lung și reglementarea produselor;

✓ dezvoltările viitoare ar trebui să vizeze sisteme multifuncționale (ex. livrare + biosenzorizare) și validarea prin studii *in vitro* și *in vivo*;

✓ colaborarea interdisciplinară este esențială pentru transpunerea eficientă a acestor materiale din laborator în aplicații clinice.

PERSPECTIVE

- Dezvoltarea unor sisteme biocompozite hidrogel–nanofibre cu funcționalități integrate, care să permită nu doar eliberarea controlată a agenților bioactivi, ci și monitorizarea în timp real a parametrilor fiziologici, în vederea realizării unor strategii terapeutice adaptive.
- Optimizarea compoziției și arhitecturii sistemelor PAV/AG încărcate cu curcumină și nanoparticule de ZnO, în scopul obținerii unor profiluri de eliberare fin reglabile, corelate cu condițiile microambientului patologic (ex. variații de pH caracteristice țesuturilor inflamate sau tumorale).
- Extinderea studiilor asupra co-încărcării multiple de agenți bioactivi, pentru a obține efecte terapeutice sinergice (antimicrobiene, antiinflamatoare și anticancerigene), menținând în același timp biocompatibilitatea sistemelor.
- Investigarea aprofundată a interacțiunilor material–celulă–țesut, în vederea elucidării mecanismelor responsabile de modularea citotoxicității și a proceselor de regenerare tisulară, evidențiate în studiile preliminare.
- Validarea performanțelor biologice ale sistemelor dezvoltate prin utilizarea unor modele *in vitro* avansate (ex. culturi celulare tridimensionale), urmate de studii *in vivo* pe modele animale relevante pentru vindecarea rănilor și regenerarea tisulară.
- Adaptarea acestor sisteme pentru aplicații clinice specifice, în special în tratamentul rănilor cronice și al arsurilor, unde rezultatele obținute indică un potențial semnificativ de accelerare a vindecării și de reducere a riscului infecțios.
- Dezvoltarea unor tehnologii de fabricație scalabile și reproductibile, care să permită transferul eficient al acestor materiale din laborator către producția industrială, fără compromiterea proprietăților fizico-chimice și biologice.
- Îmbunătățirea stabilității pe termen lung a curcuminei și a altor agenți bioactivi încorporați, în vederea asigurării unei eficiențe terapeutice constante pe durata depozitării și utilizării.
- Explorarea utilizării unor nanoparticule funcționale suplimentare sau a unor stimuli externi (ex. temperatură, lumină) pentru dezvoltarea unor sisteme cu eliberare controlată activabilă, complementară răspunsului pasiv la pH.
- Alinierea strategiilor de dezvoltare la cerințele de reglementare pentru produse combinate, prin implementarea unor protocoale standardizate de caracterizare, testare și evaluare a biocompatibilității.

- Consolidarea colaborării interdisciplinare între domeniile științei materialelor, ingineriei biomedicale și medicinei clinice, în vederea facilitării translației acestor sisteme către aplicații clinice reale.