



**UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI DIN CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE CHIMIE ȘI INGINERIE CHIMICĂ
DEPARTAMENTUL DE INGINERIE CHIMICĂ
CENTRUL DE CERCETARE ÎN CHIMIE FIZICĂ**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**PREPARAREA ȘI CARACTERIZAREA UNOR
NANOHIIDROXIAPATITE DOPATE CU DIVERȘI
COMPUȘI BIOLOGIC ACTIVI CU APLICAȚII
BIOMEDICALE**

DOCTORAND: Reka BALINT

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:

UNIV. PROF. DR. Maria TOMOAI A-COTIȘEL

CLUJ-NAPOCA

2021



**UNIVERSITATEA BABEŞ-BOLYAI DIN CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE CHIMIE ŞI INGINERIE CHIMICĂ
DEPARTAMENTUL DE INGINERIE CHIMICĂ
CENTRUL DE CERCETARE ÎN CHIMIE FIZICĂ**

**PREPARAREA ŞI CARACTERIZAREA UNOR
NANOHIIDROXIAPATITE DOPATE CU DIVERŞI
COMPUŞI BIOLOGIC ACTIVI CU APLICAŢII
BIOMEDICALE**

REZUMATUL TEZEI DE OCTORAT

CUPRINS

INTRODUCERE	VI
1. Îmbunătățirea consolidării osoase cu ajutorul undelor electromagnetice scurte pulsatile de înaltă frecvență și a implanturilor de titan acoperite cu compozit biomimetic încorporat în matricea PLA: evaluare in vivo	1
Rezumat.....	1
1.1. Introducere	2
1.2. Secțiunea experimentală	5
1.2.1. Materiale și prepararea probelor.....	5
1.2.2. Tijele de titan	5
1.2.3. Prepararea nanomaterialului ms-HAP / COL.....	6
1.2.4. Acoperirea cu HAPc a implanturilor de titan.....	7
1.3. Metode de caracterizare a compozitelor.....	7
1.3.1. Difrakție de raze X (XRD).....	7
1.3.2. Microscopie electronică de transmisie de înaltă rezoluție (HR-TEM).....	7
1.3.3. Microscopie electronică de baleiaj (SEM).....	8
1.3.4. Microscopie de forță atomică (AFM).....	10
1.3.5. Protocolul studiului.....	10
1.3.6. Proceduri chirurgicale.....	10
1.3.7. Determinarea markerilor osoși.....	11
1.3.8. Evaluare histologică. Colorarea cu hematoxilină și eozină (H&E).....	11
1.3.9. Micro-tomografie computerizată (CT)	12
1.3.10. Test de încovoiere în trei puncte.....	12
1.3.11. Analiza statistică.....	12
1.4. Rezultate.....	13
1.4.1. XRD.....	13
1.4.2. Morfologia și structura suprafeței.....	13
1.4.3. Studii pe animale.....	14
1.4.4. Concentrația markerilor osoși.....	14
1.4.5. Micro-tomografia computerizată.....	15
1.4.6. Încercări de încovoiere în trei puncte.....	17
1.4.7. Analiza histologică.....	19
1.5. Discuții.....	21
1.6. Concluzii.....	28
1.7. Bibliografie.....	29
2. Biocompatibilitatea implanturilor de titan acoperite cu biocompozit într-un model de fractură femurală de șobolan	37
Rezumat.....	37
2.1. Introducere.....	38
2.2. Rezultate și discuții.....	39
2.2.1. Morfologia superficială a implanturilor de titan acoperite cu biocompozit HAPc.....	39
2.2.2. Markerii osoși: fosfataza alcalină și osteocalcina.....	41
2.2.3. Rezultate Micro-CT.....	42
2.2.4. Rezultate histologice.....	43
2.3. Concluzii.....	48
2.4. Secțiunea experimentală.....	48
2.4.1. Materiale, prepararea și caracterizarea probelor.....	48
2.4.2. Protocolul studiului.....	49
2.4.3. Proceduri chirurgicale.....	49
2.4.4. Fosfataza alcalină și osteocalcina.....	49
2.4.5. Micro-CT.....	50
2.4.6. Evaluarea histologică.....	50
2.4.7. Analiza statistică.....	50
2.5. Bibliografie.....	51

3. Comportamentul unor hidroxiapatite multisubstituite în apă și fluidul corporal simulat	57
Rezumat.....	57
3.1. Introducere.....	57
3.2. Rezultate și discuții.....	58
3.2.1. Caracterizarea structurală și morfologică.....	59
3.2.2. Comportarea în apă.....	62
3.2.3. Comportarea în SBF.....	63
3.3. Concluzii.....	65
3.4. Secțiunea experimentală.....	65
3.4.1. Prepararea probelor.....	65
3.4.2. Caracterizarea probelor.....	66
3.4.3. Teste de eliberare a elementelor.....	67
3.5. Bibliografie.....	67
4. Modelul Higuchi aplicat la eliberarea de ioni din hidroxiapatite	73
Rezumat.....	73
4.1. Introducere.....	74
4.2. Rezultate și discuții.....	75
4.3. Concluzii.....	83
4.4. Secțiunea experimentală.....	83
4.5. Bibliografie.....	84
5. Activitatea antibacteriană a nanoparticulelor de argint obținute prin co-reducere cu citrat de sodiu și acid tanic	90
Rezumat.....	90
5.1. Introducere.....	90
5.2. Rezultate și discuții.....	91
5.2.1. Spectre UV-VIZ.....	92
5.2.2. Imagini STEM.....	94
5.2.3. Activitatea antimicrobiană.....	97
5.3. Concluzii.....	99
5.4. Secțiunea experimentală.....	99
5.4.1. Sinteza nanoparticulelor de argint (AgNP).....	99
5.4.2. Măsurători și instrumente.....	100
5.5. Bibliografie.....	101
6. Interacțiunea nanoparticulelor de argint cu vancomicină: un studiu UV-VIS	107
Rezumat.....	107
6.1. Introducere.....	107
6.2. Rezultate și discuții.....	108
6.3. Concluzii.....	112
6.4. Secțiunea experimentală.....	113
6.4.1. Sinteza nanoparticulelor de argint.....	113
6.4.2. Interacțiunea AgNP cu vancomicină.....	114
6.5. Bibliografie.....	114
7. Structuri nanocompozite biomimetice proiectate pentru acoperirea implanturilor ortopedice: cercetare AFM	119
Rezumat.....	119
7.1. Introducere.....	120
7.2. Rezultate și discuții.....	121
7.3. Concluzii.....	133
7.4. Secțiunea experimentală.....	134
7.4.1. Pregătirea probelor de titan.....	134
7.4.2. Pregătirea dispersiilor pentru acoperiri.....	134
7.4.3. Acoperire.....	135
7.4.4. Difracție de raze X (XRD).....	135

7.4.5. Microscopia AFM.....	135
7.5. Bibliografie.....	136
8. Concluzii generale	142
9. Bibliografie selectivă	146
10. Activitate de cercetare științifică	165
10.1. Listă Articole publicate	165
10.2. Listă Comunicări la conferințe și simpozioane	167
10.3. Listă Proiecte de cercetare științifică.....	169
10.4. Membră în Centrul de Cercetare Științifică	170

Cuvinte cheie

hidroxiapatită stoichiometrică, hidroxiapatită multisubstituită, magneziu, zinc, siliciu, stronțiu, nanoparticule de argint, vancomicină, colagen, PLA, XRD, SEM-EDX, AFM, implanturi de Ti, implanturi de Ti acoperite cu compozite biomimetice, biocompatibilitate, activitate antimicrobiană, model *in vivo* pe șobolan, fractură femurală, ALP, OCN, analiză histologică, micro-CT, proprietăți mecanice, formarea osului nou, vindecarea fracturii.

Introducere

Înlocuirea oaselor deteriorate și repararea oaselor fracturate sunt cele mai controversate metode de regenerare osoasă în chirurgia ortopedică. Pentru aplicații medicale, este necesar să se dezvolte materiale de sinteză care să imită compoziția chimică și structura osului natural și să favorizeze vindecarea mai rapidă, cu efecte secundare minime. Sistemul osos al corpului uman este unul dintre cele mai mari organe, care îndeplinește funcțiile de mișcare, suport, absorbție de minerale și protecție. De asemenea, are capacitatea de a se remodela și auto-vindecă, ceea ce înseamnă absorbția țesutului osos vechi sau deteriorat care se află la aceeași interfață în care osteoblastele produc os nou sănătos pentru a înlocui osul resorbit. Cu toate acestea, în cazurile critice în care osul este grav deteriorat, auto-vindecarea nu este suficientă. Prin urmare, trebuie dezvoltate biomateriale capabile să substituie sau să regenereze țesutul osos afectat.

În fond, ingineria țesutului osos pare să rezolve aceste probleme utilizând o combinație de diferite abordări multidisciplinare pentru a îmbunătăți sau înlocui țesutul osos deteriorat. În ultimii ani, datorită dezvoltării tehnologiei de inginerie tisulară, ingineria țesutului osos a devenit o abordare optimistă pentru repararea fracturilor osoase și a defectelor osoase. Biomateriale pentru substitute osoase și pentru acoperirea implanturilor metalice sau ca scafolduri pentru culturi de celule au fost dezvoltate în această teză [1-14] și joacă un rol crucial în ingineria țesutului osos. Scopul lor este de a imita compoziția, structura și funcția osului natural și de a oferi un mediu tridimensional (3D) pentru a avea proprietăți fizice adecvate pentru repararea oaselor, promovând adeziunea, proliferarea și diferențierea celulelor osteoblaste *in vivo* [5,6].

Un biomaterial nanostructurat ideal, denumit și material biomedical, ar trebui să fie biodegradabil, bioactiv, biocompatibil și osteoconductiv sau mai ales osteoinductiv *in vivo*, dovedind formarea și asigurând totodată creșterea osului nou. Scopul acestei lucrări a fost de a proiecta, prepara și caracteriza nanohidroxiapatite sintetice, nano HAP, care sunt componente importante ale osului natural [1-14], dopate cu diverși compuși biologic activi, precum colagenul (COL, o altă componentă esențială a osului) și medicamente (de ex. antibiotice, cum ar fi vancomicina și nanoparticule de argint, AgNP, pentru a proteja împotriva infecțiilor [6,8] toate în comun capabile să dezvolte nanomateriale inovatoare cu funcții biologice îmbunătățite pentru substitute osoase și pentru acoperirea implanturilor metalice cu potențiale aplicații medicale, pentru repararea biologică a oaselor, vindecarea potențată a fracturilor osoase și regenerarea osoasă [7, 9, 12, 14].

Datorită variatelor cerințe de biomateriale nanostructurate sintetice, cum ar fi nano-hidroxiapatite multi-dopate cu elemente fiziologice esențiale, cum ar fi Mg Zn, și Si, în lucrarea de față, au fost, de asemenea, dezvoltate hidroxiapatite multi-substituite, notate ms-HAP sau HAPc, pentru a amplifica regenerarea osoasă [1-14].

Abordările multidisciplinare dezvoltate în această lucrare pot fi aplicate pentru regenerarea osoasă și vor face pași importanți în viitorul apropiat în ceea ce privește exploatarea biomaterialelor noi și a noilor strategii privind integrarea nanotehnologiei, în știința celulelor stem pentru regenerarea țesutului osos, ajutând populația cu risc, cum ar fi pacienții cu osteoporoză.

Proiectarea, sinteza și caracterizarea fizico-chimică, precum și comportamentul lor biologic au fost cercetate cu atenție în această teză de doctorat sub conducerea Prof. Univ. dr. Maria Tomoaia-Cotișel, directorul Centrului de Cercetare în Chimie Fizică, CECHIF, al Universității Babeș-Bolyai din Cluj-Napoca. Rezultatele obținute în această teză de doctorat fac parte din realizările semnificative obținute în ultimul deceniu în centrul CECHIF, inclusiv studii *in vivo* folosind modelul de șobolan al fracturii femurale.

Capitolul I [7] are drept obiectiv investigarea *biomaterialelor nanostructurate* realizate în cercetarea doctorală, materiale *compozite biomimetice nanostructurate*, cuprinzând trei componente: nanoparticule de HAPc funcționalizate cu COL coroaă (nanoparticule core/shell), încorporate în acid polilactic, PLA, rezultând acoperiri poroase HAPc-COL@PLA pe implanturi de Ti. În final, aceste compozite au fost acoperite cu fibre de COL autoasamblate, rezultând materiale biomimetice HAPc-COL@PLA/COL [7]. Adăugarea de colagen la materialul de acoperire poroasă de HAPc-COL@PLA a mărit rezistența mecanică a compozitului, cauzând o reducere în porozitatea acestuia. Materialele au fost obținute prin metoda de acoperire prin scufundare cu auto-asamblare pe implanturi de Ti. Materialele au fost caracterizate prin metode și tehnici de top și anume XRD, TEM, SEM, EDX, AFM (Figura 1), și metode de determinare a proprietăților mecanice (Figura 5, Tabelul 1) a implantelor folosite. Materialele au fost studiate *in vivo*, pe un *model al fracturii femurale pe șobolan* și reprezintă o **premieră în comunitatea științifică internațională**.

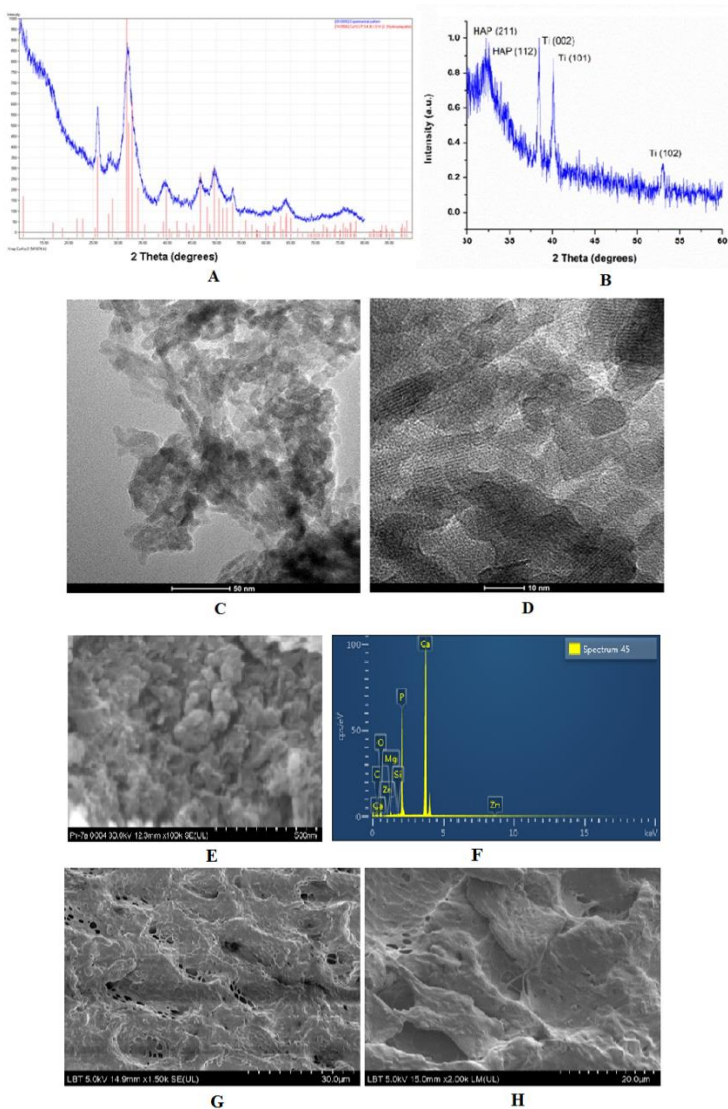


Figura 2. Spectru XRD pentru pulberea liofilizată ms-HAP/COL (A) și pentru compozitul HAPc (adică, acoperirea ms-HAP/COL@PLA/COL) pe suprafața Ti (B); Imagini HR-TEM (C, D) forme de nanoparticule HAP / COL; imagine SEM (E) și spectrul EDX pentru aceeași zonă (F) pentru HAP/COL; imagini SEM (G, H) ale suprafeței acoperirii de HAPc pe Ti

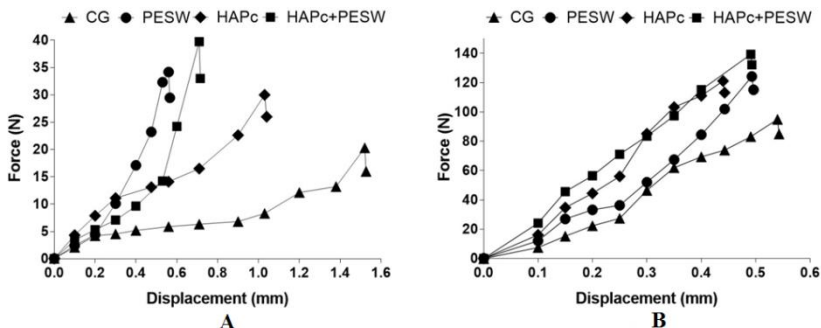


Figura 5. Curbe de deplasare - forță pentru testele de încovoiere în 3 puncte efectuate pe femurul explantat de șobolani: (A) la 2 săptămâni după implantare și (B) la 8 săptămâni după implantare.

Tabelul 1. Valorile măsurate ale forței de rupere și deplasarea corespunzătoare în timpul încercărilor de încovoiere în trei puncte.

Grup		CG	PESW	HAPc	HAPc+PESW
Forța de rupere[N]	2 săpt.	20 ± 5	34 ± 4	30 ± 4	40 ± 5
	8 săpt.	95 ± 9	124 ± 6	121 ± 8	139 ± 8
Deplasarea finală [mm]	2 săpt.	1,5 ± 0,3	0,6 ± 0,2	1,0 ± 0,3	0,7 ± 0,1
	8 săpt.	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,1

Abrevieri: CG = grup de control; PESW = unde electromagnetice scurte pulsatile; HAPc = implanturi de titan acoperite cu hidroxiapatită multi-substituită și collagen; HAPc + PESW = implanturi de titan acoperite cu hidroxiapatită multi-substituită și collagen și cu unde scurte electromagnetice pulsatile; N = newton; mm = milimetru.

Se prezintă rezultatele referitoare la îmbunătățirea consolidării osoase cu ajutorul undelor electromagnetice scurte pulsatile de înaltă frecvență și a implanturilor de titan acoperite cu compozit biomimetic încorporat în matricea PLA: evaluare *in vivo*. Această cercetare demonstrează importanța căptușirilor biomimetice depuse pe implanturile de titan în vindecarea rapidă a fracturilor femurale în modelul pe șobolan. Cercetările multidisciplinare realizate cuprind determinarea markerilor osoși: fosfataza alcalină și osteocalcina, la diferiți timpi de implantare în animale (la 2,4 și respectiv 8 săptămâni); se folosește tehnica de micro-tomografie computerizată (micro-CT), și analiza histologică și se evidențiază vindecarea rapidă a fracturilor femurale la șobolan.

Capitolul 2 [9] raportează *Biocompatibilitatea implanturilor de titan acoperite cu biocompozit într-un model de fractură femurală de șobolan* și se demonstrează *in vivo* osteointegrarea acoperirii biomimetice de pe implanturile de Ti cu osul natural gazdă. Se folosesc măsurători de biofizica markerilor osoși: fosfataza alcalină și osteocalcina (Figura 2, Tabelul 1), precum și micro- CT (Tabelul 2) și analiza histologică (Figura 3). Acestea demonstrează osteointegrarea formarea osului trabecular și a osului compact – facilitată de *structurile biomimetice proiectate și dezvoltate* în această teză de doctorat

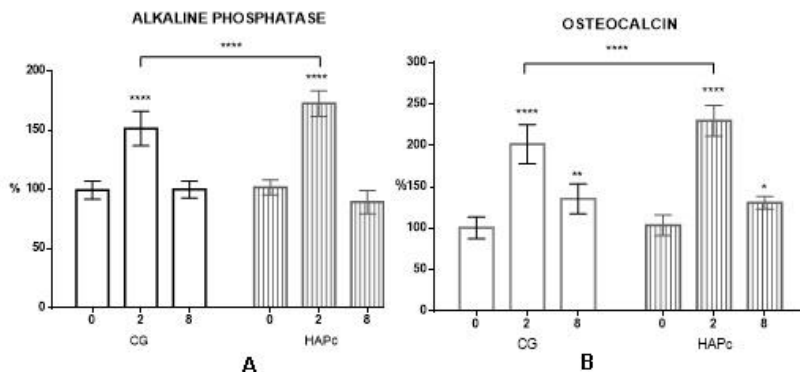


Figura 2. Markeri osoși, fosfataza alcalină (A) și osteocalcina (B), concentrația în ser inițială la timpul zero, la două și opt săptămâni după operație; *statistic semnificativ $p < 0,05$; ** statistic semnificativ $p < 0,01$; *** statistic semnificativ $p < 0,001$; **** statistic semnificativ $p < 0,0001$

Tabelul 1. Markeri osoși, fosfataza alcalină (ALP) și osteocalcina (OCN), concentrația în ser inițială (0 săptămâni), la două și opt săptămâni post-operatoriu; * statistic semnificativ $p < 0,05$; ** statistic semnificativ $p < 0,01$; *** statistic semnificativ $p < 0,001$; **** statistic semnificativ $p < 0,0001$

Grupa de șobolani		CG	HAPc
ALP (%)	0 săptămâni	100 ± 13	102 ± 6
	2 săptămâni	152 ± 14****	173 ± 10****
	8 săptămâni	100 ± 7	89 ± 8
OCN (%)	0 săptămâni	100 ± 15	104 ± 13
	2 săptămâni	202 ± 24****	230 ± 18****
	8 săptămâni	136 ± 18**	131 ± 8*

Tabelul 2. Osteointegrarea implantului evaluată prin micro-CT; volum osos/ volum total (BV/TV) și numărul trabecular mediu (Tb.N); * $p < 0,05$: grupa HAPc față de CG.

Grupa de șobolani	CG	HAPc
BV/TV(%)	25,5±4,3	38,8±5,4*
Tb.N (1/mm)	154±18	180±18*

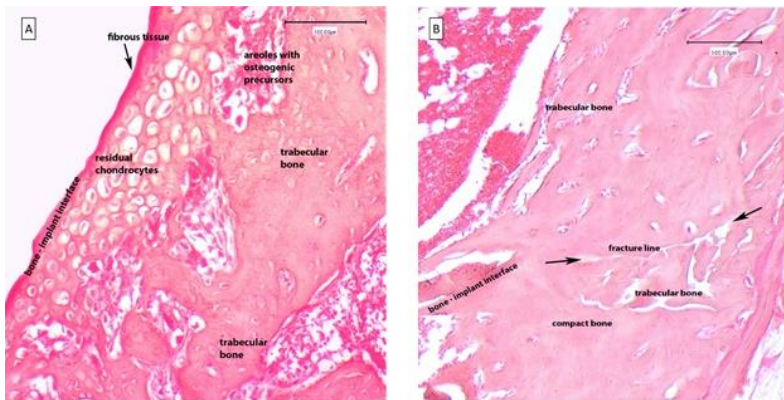


Figura 3. Imagini de microscopie optică ale lamelelor colorate cu H&E cu probe de țesut la interfața de lângă locul fracturii, la opt săptămâni după implantare. (A): grupa de control a revelat țesut fibros în apropierea implantului intramedular de Ti și țesut rezidual cartilajinos, indicând o tranziție de la precursori cartilajinoși la formarea incipientă de trabecule osoase. (B): Grupa HAPc a prezentat în jurul implanturilor HAPc Ti trabecule osoase bine definite, os compact cu dispoziție lamelară a matricii osoase și osteocite în jurul canalelor Havers, cu osteoblaste măgănind suprafața lor și o delimitare netă a areolei dintre trabeculae și zonele de depunere a osului lamelar compact.

Capitolul 3 continuă prin a explora *Comportamentul unor hidroxiapatite multisubstituie în apă și fluidul corporal simulat*. SBF, pentru a determina profilurile de eliberare a ionilor din aceste hidroxiapatite substituie [3]. Se sintetizează și se caracterizează nano-HAP substituie cu Mg, Zn, Sr și Si și se demonstrează că substituie cu elemente esențiale în structura de HAP conduce la o eliberare controlată a ionilor constituenți ai rețelei de HAP, în funcție de cantitatea de element dopant. În timp ce în apă se observă eliberarea ionilor constituenți (Figura 6), în SBF acest proces este contracarat de absorbția de Ca, Mg și P din soluție (Figura 7). Eliberarea îndelungată observată pentru elementele fiziologice valoroase conținute în hidroxiapatite multisubstituie evidențiază un viitor promițător al acestor biomateriale în scopuri biomedicale.

Magneziul găsește în oase și dinți. El este implicat în creșterea și remodelarea oaselor activând celulele osteoblaste. Deficitul de magneziu este legat de apariția osteoporoziei. *Zincul* inhibă osteoclastele și intensifică răspunsul celulelor osteoblaste. Au fost semnalate și efecte anti-inflamatorii și antimicrobiene ale a HAP substituie cu zinc. *Stronțul* este cunoscut pentru acțiunea sa în ceea ce privește regenerarea osoasă prin creșterea activității osteoblastelor și diminuarea

resorbției osoase prin acțiunea asupra osteoclastelor. Ranelatul de stronțiu este utilizat din ce în ce mai mult în tratamentul osteoporozei. *Siliciul* este și el implicat în bioactivitatea osteoblastelor.

Pentru sinteza hidroxiapatitelor s-a preparat o soluție conținând cationii și una conținând anionii. Soluția de cationi 0,25 M a conținut Ca^{2+} și, în plus, pentru HAP complexe: Mg^{2+} , Zn^{2+} și Sr^{2+} , în conformitate cu compoziția care trebuia obținută. Aceasta a fost preparată prin dizolvarea în apă ultrapură a azotaților: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ și $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$. Soluția de anioni 0,15 M conținea PO_4^{3-} și (pentru HAP complexe) SiO_4^{4-} . Soluția a fost obținută din hidrogen-fosfat de diamoniu, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ și ortosilicat de tetraetil, TEOS, $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ (98%) în raport adecvat. pH-ul de lucru a fost de 11,5, fixat prin adăugarea unei soluții de amoniac de 25%. Soluțiile în volume egale s-au amestecat rapid la temperatura camerei, (22°C), folosind o pompă peristaltică și un reactor de impact de tip „Y” pentru cele două fluxuri de lichid. Suspensia obținută a fost maturată în două etape: la 22°C timp de 24 de ore și la 70 °C, pentru alte 24 de ore, sub agitare intermitentă. Precipitatul final a fost filtrat și spălat în mod repetat cu apă ultrapură, la temperatura camerei, până la eliminarea nitratiilor. Procesul de uscarea s-a efectuat prin liofilizare urmată apoi de etapa de calcinare la 300 °C timp de o oră și dezintegrarea probei într-o moară cu bile pentru a obține o pulbere fină.

Prezența rețelei de HAP ca fază cristalină unică a fost stabilită prin XRD și prin spectroscopie FTIR. Compoziția chimică a fost confirmată de SEM-EDX. Imagistica TEM, SEM și AFM au arătat morfologia acestor biomateriale. Eliberarea elementelor în apă și în fluidul corporal simulat (SBF) a fost monitorizată în timp, de la 1 la 90 de zile, prin utilizarea spectrometriei de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES).

Au fost măsurate cantitățile de Ca, P, Si și Mg în soluții după imersarea a 0,15g din fiecare probă în 15 ml apă ultrapură, respectiv în lichid corporal simulat Kokubo (SBF) și incubare la 37°C în fiole închise separate pentru fiecare probă/zi. După 1, 3, 7, 14, 21, 30, 60 și 90 de zile, supernatantul (după centrifugare) a fost filtrat. Pentru calibrare, soluțiile standard cu mai multe elemente au fost preparate prin diluarea soluțiilor-stoc multi-element de 1000 mg/L Merck IV. Conținutul de Zn în faza apoasă a fost sub limita de detecție pentru toate probele.

La eliberarea ioilor în apă (Figura 6), pentru hidroxiapatitele substituite, cantitatea de Ca eliberată este mai mare decât de la HAP pur și foarte asemănătoare pentru toate hidroxiapatitele complexe. Raportul P/Ca în soluție este mai mare decât în eșantioanele solide, ceea ce indică un proces de dizolvare incongruent. Cantitatea de Mg trecută în faza apoasă este disproporționat de ridicată în comparație cu conținutul său din probele solide. Este mai scăzută pentru eșantioanele HAPc-Sr, denotând o stabilizare a HAP complex prin prezența simultană a Mg și Sr. Eliberarea Sr, Figura 6d, crește lent în timp. Este mai mare pentru un conținut de Sr mai mare în proba solidă. Conținutul de Si în soluții, Figura 6e, este aproape constant în timp după prima zi. Este cel mai mare pentru HAPc și scade odată cu creșterea conținutului de Sr.

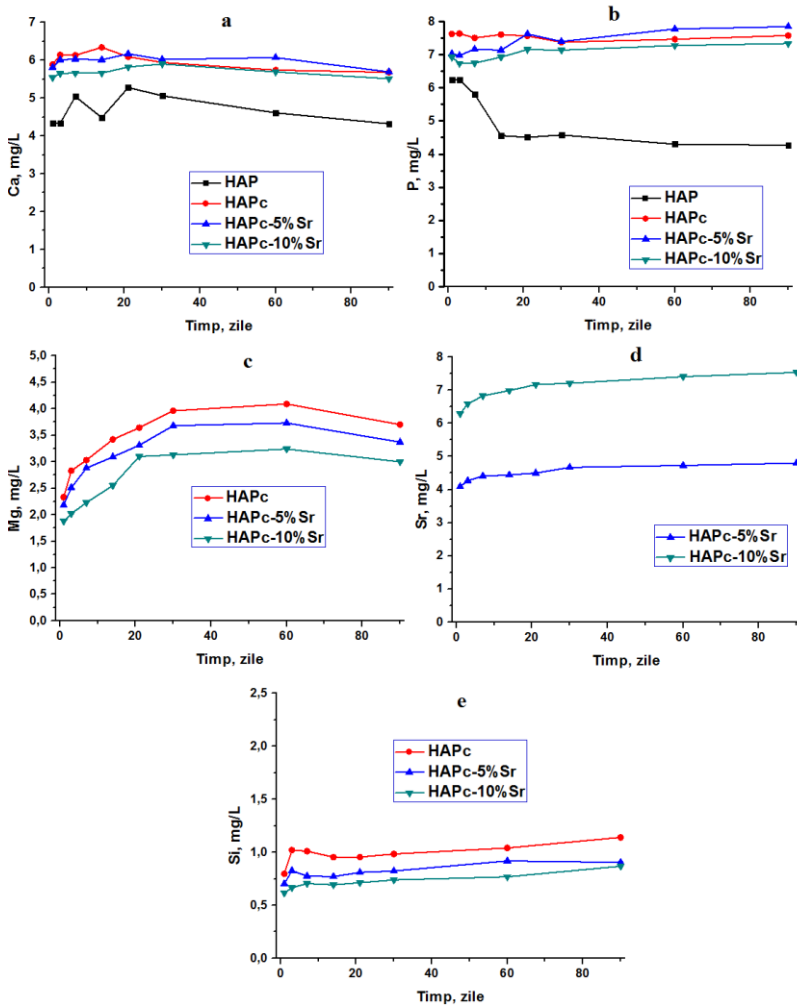


Figura 6. Eliberarea ionilor în apă după imersia probelor de hidroxiapatite timp de 1 - 90 de zile: a) calciu, b) fosfor, c) magneziu, d) stronțiu și e) siliciu.

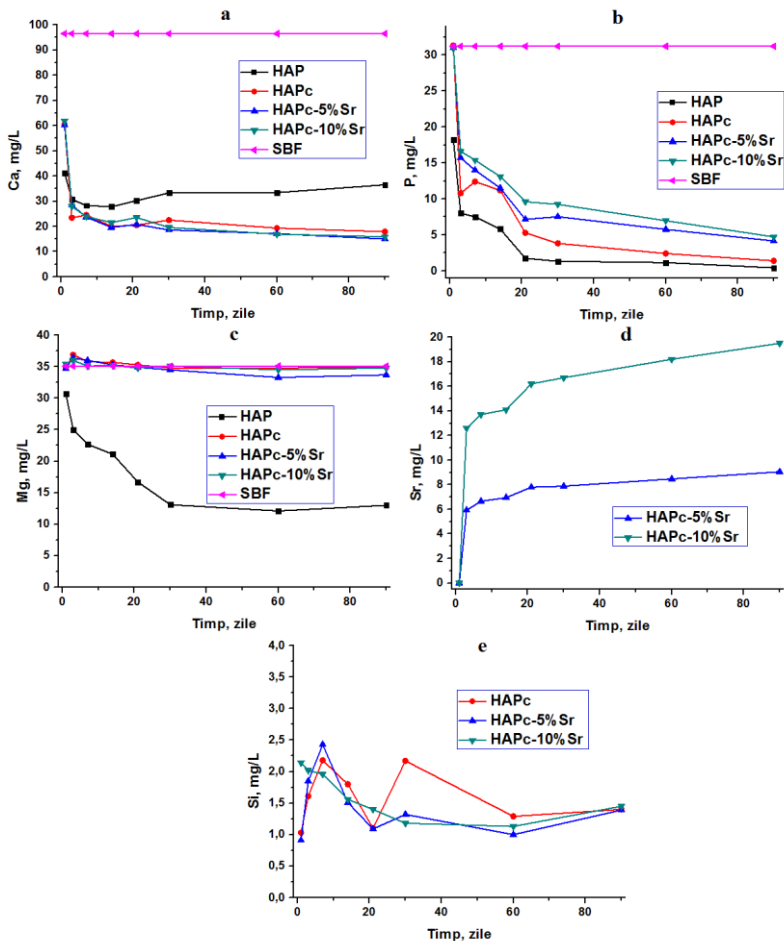


Figura 7. Conținutul de ioni în SBF după imersia probelor de hidroxiapatite timp de 1 zi până la 90 de zile: a) calciu, b) fosfor, c) magneziu, d) stronțiu și e) siliciu.

Capitolul 4. Prezintă *Modelul Higuchi aplicat la eliberarea de ioni din hidroxiapatite* [10] și continuă cercetarea eliberării de ioni din nano HAP tetra-substituite cu Mg, Zn, Sr și Si în apă și SBF. În condiții statice și dinamice simulate. Rezultatele determinărilor experimentale de eliberare a ionilor au fost interpretate teoretic printr-un model cinetic Higuchi bazat pe difuzie. Prin reprezentarea cantităților de ioni eliberați în funcție de rădăcina pătrată a timpului s-a verificat

aplicabilitatea ecuației lui Higuchi (de ex. Figura 2) pentru condiții dinamice simulate.

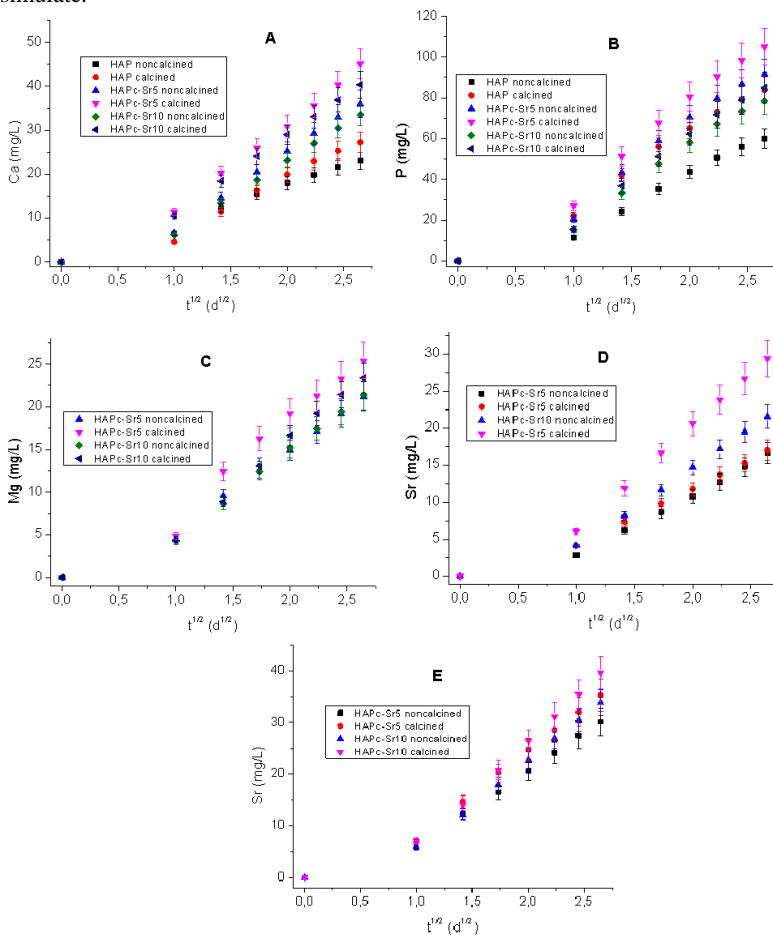


Figura 2. Cantitatea cumulată de ioni eliberați în funcție de timp^{1/2} (zile^{1/2}) pentru 7 zile în condiții dinamice simulate din probe necalcinate și calcinate de HAP, HAPc-5%Sr și HAPc-10%Sr. Eliberare în apă de Ca²⁺ (A), P (ioni fosfat, B), Mg²⁺ (C), Sr²⁺ (D), și Sr²⁺ în SBF (E). Barele verticale reprezintă abaterile standard ale valorilor măsurate.

Comportarea hidroxiapatitei stoechiometrice sintetizate (HAP): Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ și a două hidroxiapatite multisubstituite (ms-HAP), ambele conținând 1,5 % gr. Mg, 0,2 % Zn, 0,2 % Si și cantități diferite de Sr: HAPc-5%Sr, respectiv HAPc-10%Sr, la imersie în apă și în fluid corporal simulat (SBF) a fost

cercetată de noi recent [1, 3, 4, 5, 10]. Formulele teoretice pentru materialele ms-HAP sunt: $\text{Ca}_{8.76}\text{Mg}_{0.63}\text{Zn}_{0.03}\text{Sr}_{0.58}(\text{PO}_4)_{5.93}(\text{SiO}_4)_{0.07}(\text{OH})_{1.93}$ pentru HAPc-5%Sr și $\text{Ca}_{8.12}\text{Mg}_{0.65}\text{Zn}_{0.03}\text{Sr}_{1.20}(\text{PO}_4)_{5.93}(\text{SiO}_4)_{0.07}(\text{OH})_{1.93}$ pentru HAPc-10%Sr. Eliberarea de Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , ca și de P (fosfat) în apă și variația conținutului de ioni în SBF în contact cu probele de HAP scufundate s-a măsurat folosind spectrometria optică de emisie cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES). Ionii Zn^{2+} și silicat nu au putut fi detectați în soluții, întrucât se găseau sub limita de detecție a ICP-OES. S-a aplicat o metodă statică, în care probele de HAP erau menținute în lichidul de imersie în fiole închise pentru diferite perioade de timp, de la 1 la 90 de zile, și o metodă dinamică simulată, când lichidul de imersie a fost schimbat zilnic cu unul proaspăt, timp de 7 zile.

Modelul Higuchi se bazează pe difuzia Fick, astfel încât ar trebui să fie aplicabil atunci când difuzia internă a ionilor de la miezul particulei la lichidul înconjurător este etapa determinantă de viteză, iar specia eliberată este distribuită uniform într-o matrice omogenă. În acest caz, cantitatea eliberată a unei specii ar trebui să fie proporțională cu rădăcina pătrată a timpului. Dar drepte de regresie pentru linearizarea $M_t = f(t^{1/2})$ nu trec prin originea axelor de coordonate, în acord cu constatarea că difuzia nu este principalul proces în etapele timpurii ale eliberării ionilor. În consecință s-a încercat o formă modificată a ecuației Higuchi

$$M_t = a + Kt^{1/2} \quad (2)$$

unde M_t este cantitatea cumulativă a ionilor eliberați la timpul t , iar K este o constantă de viteză a eliberării ionilor, care depinde atât de caracteristicile nanoparticulelor de HAP, cât și de proprietățile speciei eliberate, dar și de natura medului de imersie și de temperatură.

Ecuația (2) se aplică satisfăcător pentru eliberarea ionilor în condiții statice, majoritatea valorilor coeficientului de determinare r^2 sunt peste 0,9. Ecuația Higuchi se aplică mai bine pentru Ca și P, constituenții principali ai hidroxiapatitelor, cel mai bine pentru HAP nesubstituit. Ecuația dă greș pentru eliberarea Sr din HAPc-10%Sr în SBF, unde pot apărea procese de schimb ionic, între ionii de Ca^{2+} sau Mg^{2+} din soluție și ionii de Sr^{2+} din proba solidă. Se observă valori r^2 mai ridicate pentru ultimele zile de interacțiune dintre hidroxiapatite și apă la majoritatea ionilor și probelor, linearitatea reprezentărilor $M_t = f(t^{1/2})$ devenind mai pronunțată, după cum se observă și din Figura 2.

Considerând parametrul K drept o măsură a vitezei de difuzie, rezultă că difuzia calciului și fosforului are loc mai repede din HAP substituite, decât din cele nesubstituite, în timp ce pentru HAPc-10%Sr viteza este mai joasă decât pentru HAPc-5%Sr. Aceasta s-ar putea explica prin distorsiunea rețelei cristaline prin substituirea ionului de Ca^{2+} cu alți cationi de dimensiuni diferite, ceea ce favorizează difuzia internă. Pe de altă parte, valorile a (ordonate la origine) pot fi considerate ca o extrapolare a cantității de ioni eliberate la timpul 0 și o măsură a solubilității inițiale. Pentru Ca^{2+} acestea sunt de asemenea mai mari în HAP substituind, ceea ce

confirmă creșterea solubilității prin substituție în hidroxiapatite. Viteza de difuzie a ionului Mg^{2+} este mult mai ridicată decât a Sr^{2+} și de asemenea peste valoarea pentru Ca^{2+} . Aceasta s-ar putea datora dimensiunii mai mici a ionilor de Mg^{2+} (raza ionică 86 pm) în comparație cu Sr^{2+} (132 pm) și Ca^{2+} (114 pm), și deci mobilității mai ridicate a primilor. Eliberarea mai ridicată de stronțiu în SBF decât în apă poate fi atribuită schimbului ionic cu ionii de Ca^{2+} și Mg^{2+} , din componența SBF. Vitezele diferite de eliberare pentru diferiții ioni determină și o compoziție diferită a materialului dizolvat față de cea a solidului inițial, adică o dizolvare incongruentă a hidroxiapatitelor. În condiții dinamice simulate, linearitatea relației (2) pentru zilele 1-7 este foarte bună, toți coeficienții de determinare sunt peste 0,95, majoritatea lor peste 0,99.

Rezultatele arată importanța difuziei în eliberarea ionilor din HAP multisubstituite, iar parametrii cinetici calculați relevă particularitățile la eliberarea diferiților ioni.

Capitolul 5 [6] studiază *Activitatea antibacteriană a nanoparticulelor de argint obținute prin co-reducere cu citrat de sodiu și acid tanic*. Se dezvoltă nanomateriale care, adăugate la acoperiri, au efecte antimicrobiene. În acest scop s-au sintetizat nanoparticule de argint printr-o metodă „verde”: co-reducere cu citrat de sodiu și acid tanic și s-a cercetat acțiunea lor antimicrobiană pe culturi de *Escherichia coli*. Această metodă simplă și rapidă într-o singură etapă a dus la nanoparticule de argint, cu mărime controlată, de la 30 la 10 nm, după cum arată imaginile STEM și AFM. Prezența argintului elementar este evidentă din spectrele UV-VIZ și din spectrele EDX și hărțile de distribuție a elementelor (Figura 5).

Co-reducerea azotatului de argint cu *citrat de sodiu și acid tanic* la diferite rapoarte molare Ag/TSC/TA s-a realizat prin încălzirea până la fierbere a soluției de $AgNO_3$ și adăugarea cantității calculate de amestec de TSC și TA. Soluțiile au fost menținute la fierbere, sub agitare continuă, 15 min. Soluția coloidală de argint obținută prin reducerea completă a Ag^+ la Ag a avut concentrația 1 mM Ag pentru raportul molar Ag-TSC-TA de 1:7:2 și 0,25 mM pentru rapoartele molare 1:7:0,2, 1:3:0,2 și 1:20:0,1. Pentru măsurătorile *spectrului de absorbție UV-VIS* a fost utilizat spectrofotometrul Jasco UV / Vis V650, în domeniul lungimilor de undă de la 800 la 190 nm. STEM este o combinație între microscopul electronic de baleiaj (SEM) și microscopul electronic de transmisie (TEM), Hitachi HD-2700, care funcționează la o tensiune maximă de accelerare de 200 kV. STEM este echipat cu un spectrometru de raze X cu dispersie de energie (EDS), care are doi detectori EDX, de la Oxford Instruments. Echipamentul STEM-EDS a fost de asemenea utilizat pentru analiza elementală EDX.

În spectroscopia de raze X cu dispersie de energie, spectrele EDX ale nanoparticulelor obținute pe imaginile STEM (ca în exemplul prezentat în Figura 5a, b) este evidențiată prezența Ag precum și a elementelor din compoziții organice (Figura 5b). În Figura 5c-f, pot fi văzute hărțile de distribuție multicolore corespunzătoare pentru elementele individuale (C, N, O, Ag). Hărțile de distribuție

confirmă prezența Ag în principal în nanoparticule, în timp ce elementele celelalte sunt distribuite pe întreaga suprafață scanată, datorită prezenței compușilor organici (TSC, TA și a produselor lor de oxidare) în jurul particulelor și între ele, fiind adsorbite pe grila STEM din soluția coloidală depusă.

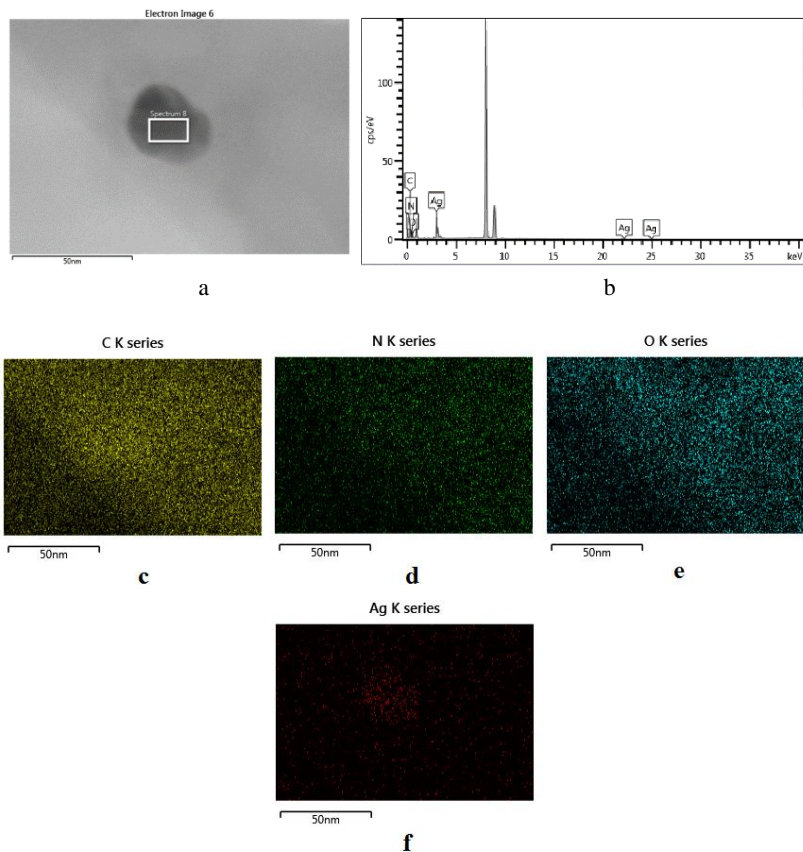


Figura 5. Imagine electronică (a) și spectrul EDX (b), pentru nanoparticula de argint (în cadrul alb, prezentat în panoul a), obținută pentru proba Ag:TSC:TAcu raport molar 1:3:0,2; hărți de distribuție pentru C (c), N (d), O (e) și Ag (f); barele din imagini sunt de 50 nm.

Rezultatele testărilor antibacteriene au demonstrat că, pentru a mări activitatea antibacteriană a AgNP, ar trebui luați în considerare diverși parametri de reacție, printre care raportul molar dintre reducător agent reducător (TSC) și agent de stabilizare (de acoperire, TA) al nanoparticulelor ce pare a fi un factor crucial,

pentru a produce în final nanoparticule stabile de diferite dimensiuni, de preferință cu diametre medii mici. Rezultatele noastre confirmă activitatea antibacteriană mai mare a particulelor mai mici. Acest efect poate fi explicat prin teoria care atribuie efectul antibacterian chiar nanoparticulelor de Ag, deoarece particulele mai mici au o suprafață specifică mai mare, fiind capabile să interacționeze mai puternic cu membrana celulară sau poate să pătrundă în celulă. Pe de altă parte, dacă efectul antibacterian s-ar datora ionilor Ag^+ din nou suprafață specifică mai mare este cea care ar garanta o eliberare mai intensă de ioni de argint. La aceste raționamente am putea adăuga că, pentru difuzia în plăcile de agar, care este mai lentă decât în mediu lichid, particulele mai mici au o mobilitate mai mare, mărind astfel zonele de inhibare.

Capitolul 6 urmărește *Interacțiunea nanoparticulelor de argint cu vancomicină: un studiu UV-VIS* [8]. Pentru a mări efectul antibacterian al AgNP, dar și al antibioticelor, față de care bacteriile dezvoltă rezistență, s-a studiat posibilitatea folosirii în comun de AgNPs și antibiotice, de exemplu vancomicină. În acest scop s-a cercetat amănunțit interacțiunea cu vancomicină a AgNPs preparate cu diferiți reducători și agenți de acoperire: citrat trisodic (Figura 1), β -ciclodextrină (Figura 2), amestec glucoză-amidon (Figura 3), glucoză-TEOS (Figura 4), citrat-acid tanic în diferite rapoarte (Figurile 5, 6). Aceste cunoștințedespre comportamentul caracteristic al sistemelor AgNP vancomicină pot ajuta la selectarea sistemelor adecvate pentru a maximiza efectul lor antimicrobian.

Pentru unele preparate (de ex. AgNP-citrat sau AgNP-citrat-acid tanic) s-au obținut asociate stabile (complexși) AgNP-vancomicină. Pentru alte soluții coloidale (de ex. AgNP- β CD) au apărut auto-asamblări mediate de vancomicină mai mult sau mai puțin avansate ale AgNP, care au fost menținute în continuare în soluție coloidală. În cele din urmă, în alte sisteme (de exemplu, AgNP-glucoză-amidon sau AgNP glucoză-TEOS), AgNP au precipitat ușor sub influența vancomicinei.

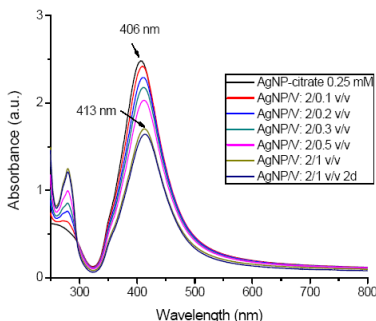


Figura 1. Spectre UV-VIS ale soluțiilor de AgNP- citrat și de V în diferite rapoarte și în timp

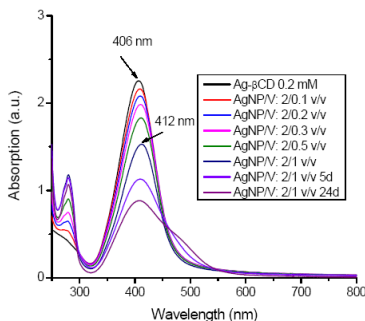


Figura 2 Spectre UV-VIS ale soluțiilor de AgNP- β -ciclodextrină (β -CD) și de V în diferite rapoarte și timp

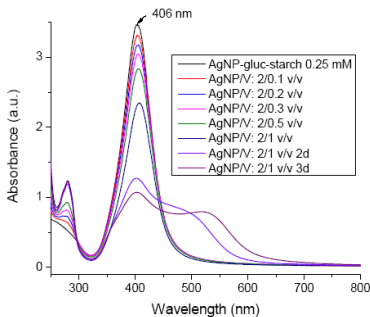


Figura 3. Spectre UV-VIS ale soluțiilor de AgNP-glucoza-amidon și V în diferite rapoarte și la diferite intervale de timp

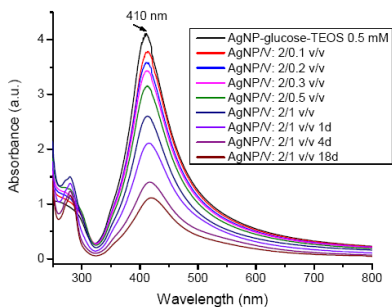


Figura 4. Spectre UV-VIS ale AgNP-glucoza-TEOS și V în diferite rapoarte și la diferite intervale de timp

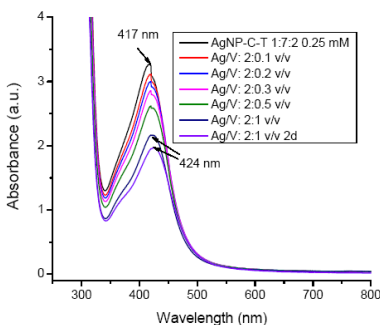


Figura 5. Spectre UV-VIS ale soluțiilor de AgNP-citrat (C) și acid tanic (T) în raport molar 1:7:2 și V în diferite rapoarte și în timp

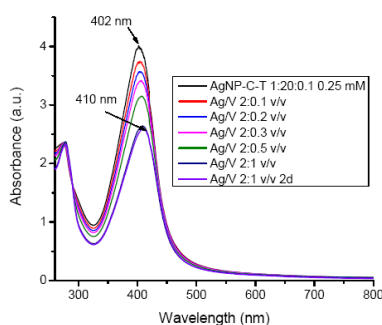


Fig. 6. Spectre UV-VIS ale soluțiilor de AgNP-citrat (C) și acid tanic (T) în raport 1:20:0.1 și V în diferite rapoarte și în timp

Capitolul 7 are drept obiectiv cercetarea *Structurilor nanocompozite biomimetice proiectate pentru acoperirea implanturilor ortopedice: cercetare AFM* [11]. Acoperirile complexe realizate pe implanturi de Ti, conținând HAP multisubstituite, au fost supuse unui studiu amănunțit prin AFM, urmărind toate etapele depunerii de material pe suprafața de Ti, de la pregătirea suprafeței metalice, până la formarea fibrelor de colagen pe compozitul poros (Figurile 5, 8, 12). Cercetarea AFM a fost completată cu investigații XRD (Figura 6).

Tijele de Ti au fost testate prin difracție cu raze X (XRD). În spectrul obținut se evidențiază picuri de difracție numai pentru titan, dovedind cea înalta puritate a tijelor de Ti.

Tijele rotunjite din titan au fost aplatizate cu o presă hidraulică și tăiate în tije cu o lungime de 20 mm. Ambele fețe ale tijelor au fost șlefuite cu hârtie abrazivă P500 timp de 10 minute pentru a obține o textură adecvată a suprafeței active. Resturile de la șlefuire au fost îndepărtate prin spălare intensă cu apă bidistilată, urmată de o curățare cu ultrasunete. După curățare, tijele au fost activate chimic timp de 30 de minute cu acid orto-fosforic pentru a obține o suprafață perfect curată și degresată.

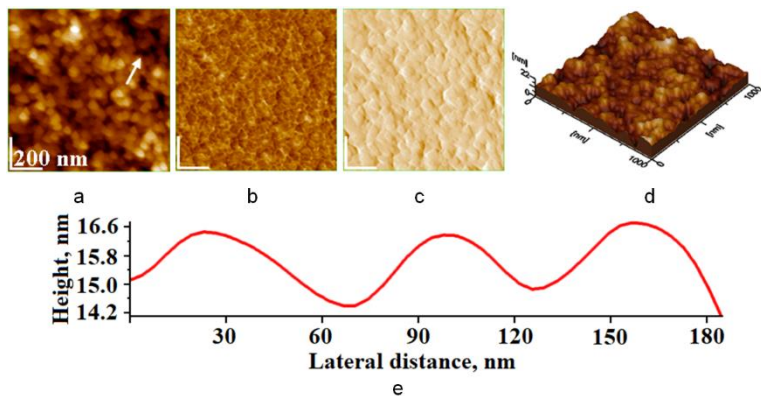


Figura 5. Imagini AFM ale nanoparticulelor HAPc-6% COL (core-shell): a) imagine topografică, b) imagine de fază, c) imagine de amplitudine, d) imagine 3D și e) profil de-a lungul săgeții din panou (a) . Zona scanată $1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$; $R_a = 2,29\ \text{nm}$; $R_q = 2,89\ \text{nm}$.

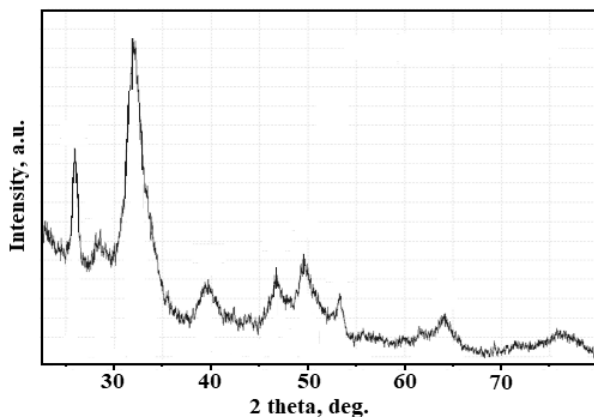


Figura 6. Spectrul XRD pentru nanoparticulele de HAPc/6%COL (core-shell)

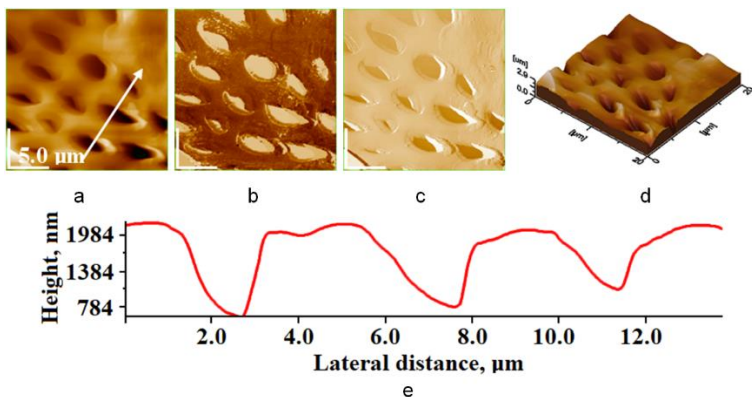


Figura 8. Imagini AFM ale rețelei de pori pe suprafața HAPc-6%COL@PLA: a) imagine topografică, b) imagine de fază, c) imagine de amplitudine, d) imagine 3D și e) profil de-a lungul săgeții din panou (a) . Zona scanată 20 μm x 20 μm; Ra 289 nm; Rq 360 nm.

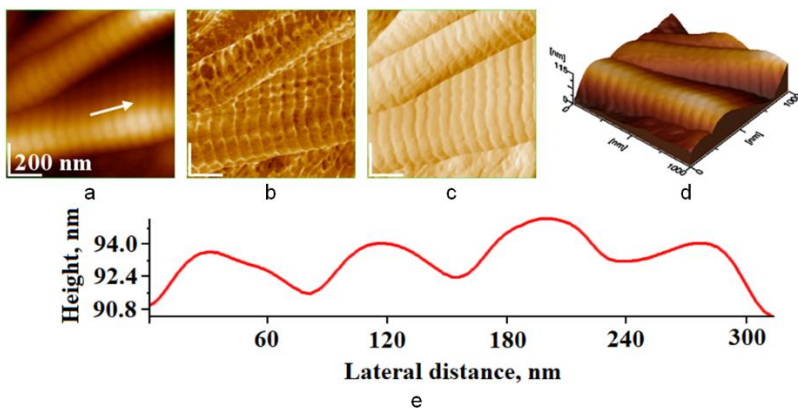


Figura 12. Imagini AFM ale acoperirii cu compozit HAPc-6%COL@PLA/COL pe implantul de Ti : a) imagine topografică, b) imagine de fază, c) imagine de amplitudine, d) imagine 3D și e) profil de-a lungul săgeții din panou (a). Zona scanată 1 μm x 1 μm; Ra 16,2 nm; Rq 18,2 nm

Componenta majoră a materialului de acoperire este formată din nanoparticule core-shell de ms-HAP/6%COL uscat prin liofilizare. NP de HAPc au

fost investigate prin AFM și apar particule bine individualizate, adsorbite pe suprafața Ti (Figura 5).

Dispersiile pentru acoperirea țijelor conțineau HAPc funcționalizată cu 6% colagen într-o soluția de PLA în diclorometan. Fluiditatea acestei dispersii este sporită prin adăugarea de acetonă. Suprafața de titan preparată așa cum a fost descris mai sus a fost acoperită cu straturi succesive, utilizând metoda de acoperire prin scufundare. Un strat de colagen pur a fost transferat prin adsorbție verticală 5 secunde dintr-o soluția bogată în COL la pH 12, rezultând structura biomimetică HAPc-6%COL@PLA/COL pe implantul de Ti.

Porozitatea este o cerință importantă pentru o structură biomimetică osoasă pentru a asigura suficient spațiu pentru aderența și proliferarea osteoblastelor. Rețeaua de pori este o structură utilă așa cum se observă în Figura 8, pentru acoperirea cu HAPc-6%COL@PLA pe implantul de Ti. Acești pori sunt de dimensiuni submicronice și sunt generați în cele din urmă prin evaporarea mai lentă a diclorometanului (DCM) sub procesul de uscare a biocompozitului.

Pe suprafața acoperii de HAPc-6%COL@PLA/COL imaginile AFM evidențiază formarea prin autoasamblare a fibrelor de colagen (Figura 12).

Pe lângă caracterizarea calitativă, prelucrarea imaginilor AFM a permis determinări cantitative, precum măsurarea rugozității suprafețelor, caracteristică importantă pentru rolul fizic și biologic al acestora (Tabelele 1, 2).

Tabelul 1. Rugozitatea superficială a implanturilor de Ti înainte de acoperire evaluate prin AFM.

Ti	Ti Presat la rece		Ti Șlefuit		Ti Șlefuit și atacat cu acid	
	Ra±SD nm	RMS±SD Nm	Ra±SD nm	RMS±SD nm	Ra±SD nm	RMS±SD nm
Fig. 2	265±25	330±30	-	-	-	-
3	-	-	154±17	186±19	-	-
4	-	-	-	-	176±18	218±20

Tabelul 2. Rugozitatea superficială a acoperirilor biomimetice pe implanturi de Ti măsurate prin AFM

Compozit	HAPc-6%COL@PLA		HAPc-6%COL@PLA/COL	
Fig.	Ra±SD Nm	RMS±SD nm	Ra±SD nm	RMS±SD nm
8	289±24	360±27	-	-
10	-	-	256±15	304±26

Capitolul 8 CONCLUZII GENERALE

- 1). În cadrul cercetării din teza de doctorat, ne-am propus să dezvoltăm compozite biomimetice pentru acoperirea implanturilor de Ti (**Capitol 1**). Acoperirea (structura) biomimetică a fost dezvoltată cu succes folosind hidroxiapatită multisubstituită (ms-HAP) funcționalizată cu collagen, COL (ex. ms-HAP/COL nanoparticule core/shell), înglobată în matrice de acid polilactic (PLA), rezultând o structură biomimetică poroasă ms-HAP/COL@PLA, și, ulterior, acoperită cu un strat auto-asamblat format din fibre de COL, obținând un compozit biomimetic fibros ms-HAP/COL@PLA/COL, denumit HAPc. Ulterior, aceste implanturi au fost testate *in vivo* pentru a evalua consolidarea osoasă în absența sau prezența undelor electromagnetice scurte pulsatile de înaltă frecvență (HF-PESW).
- 2). Pentru evaluarea *in vivo*, s-au folosit șobolani albiși împărțiți în patru grupuri: grup de control (CG) cu implant de Ti; grup PESW cu implant de Ti + HF-PESW; grup HAPc cu implant de Ti acoperit cu HAPc; grup HAPc + PESW cu implant de Ti acoperit cu HAPc + HF-PESW. Diafiza femurală stângă a fost fracturată și fixată intramedular. Din prima zi post operatorie, grupurile PESW și HAPc + PESW au suferit stimulare HF-PESW timp de 14 zile consecutive. Acoperirea biomimetică a fost caracterizată prin XRD, HR-TEM, SEM, EDX și AFM.
- 3). Utilizarea implanturilor de Ti acoperite cu HAPc împreună cu stimularea HF-PESW a influențat pozitiv procesul de consolidare a osului, în special în faza sa timpurie.
- 4). Aceasta evaluare *in vivo* a demonstrat că asocierea dintre stimularea HF-PESW și acoperirea de HAPc pe implanturi de Ti promovează un proces de vindecare accelerată a fracturii osoase, sporind consolidarea oselor în faza sa timpurie. În consecință, această metodă combinată este potențial interesantă și utilă pentru aplicațiile clinice, dovedind o abordare superioară pentru modificarea suprafeței implanturilor biomedicale.
- 5). Biocompatibilitatea titanului neacoperit, Ti, cuie, și acoperit cu un biocompozit inovativ a fost de asemenea determinată pe un model de șobolan al fracturii femurale (**Capitol 2**). Biocompozitul se bazează pe hidroxiapatită multisubstituită, ms-HAP conținând Mg, Zn și Si, și este folosit ca material de acoperire depus pe implanturi de Ti, datorită excelentei biocompatibilități și proprietății osteoconductive a ms-HAP.
- 6). Cuiele intramedulare de titan acoperite cu hidroxiapatită multisubstituită și collagen într-o matrice de acid polilactic stimulează vindecarea osului și de asemenea au mărit osteointegrarea implantului în osul gazdă. În cazul aplicației clinice a acestor implanturi, ele ar putea reduce riscul desfacerii implantului.

7). Pentru a clarifica contribuția hidroxiapatitelor multisubstituite la furnizarea unor ioni cu rol biochimic important, s-a studiat comportamentul unor hidroxiapatite multisubstituite în apă și fluidul corporal simulat, SBF (**Capitol 3**).

8). Introducerea elementelor esențiale cu efecte biologice importante în hidroxiapatita nanostructurată a fost demonstrată prin investigații fizico-chimice. Hidroxiapatitele multisubstituite au prezentat un grad mediu de cristalinitate și o dimensiune a particulelor situată în domeniul nanometric. Prezența Mg și Zn are un efect destabilizator asupra rețelei de HAP, în timp ce adăugarea de Sr diminuează acest efect.

9). Eliberarea elementelor componente ale acestor hidroxiapatite multisubstituite a fost examinată în soluții apoase, ca model pentru lichidele biologice. Concentrația crescută de Sr în structura HAP a influențat în mod semnificativ eliberarea de Sr în ambele medii: apă și fluidul corpului simulat.

10). Un profil diferit pentru Ca, Mg și P este determinat în ambele medii, iar formarea unei noi hidroxiapatite biomimetice este aparent promovată în SBF.

11). Eliberarea îndelungată observată pentru elementele fiziologice valoroase conținute în hidroxiapatitele multisubstituite evidențiază un viitor promițător al acestor biomateriale în scopuri biomedicale.

12). Eliberarea ionilor din hidroxiapatitele multisubstituite a fost interpretată pe baza unui model teoretic (modelul Higuchi) în **Capitolul 4**.

13). Luând în considerare domeniile de valabilitate ale modelului Higuchi pentru eliberarea de ioni din hidroxiapatitele investigate, putem afirma că, în timp ce difuzia este importantă de-a lungul întregului proces de eliberare a ionilor din ms-HAP în condiții statice, de la ziua 1 la 90, dizolvarea aduce și ea o contribuție semnificativă în faza inițială a procesului. După dizolvarea stratului exterior al particulei, mai solubil, difuzia internă a ionilor din interiorul particulei de ms-HAP spre interfața cu mediul de dispersie va deveni procesul principal. Mai mult, în timp ce tendința spre saturarea soluției, astfel că difuzia rămâne predominantă.

14). În condiții dinamice simulate, când lichidul de imersie este reînnoit zilnic, nu se poate ajunge la saturație, astfel că atât dizolvarea cât și difuzia contribuie la eliberarea ionilor.

15). Pentru a mări activitatea antimicrobiană a hidroxiapatitelor, acestea pot fi combinate (dopate) cu substanțe cu acțiune antimicrobiană, precum nanoparticulele de argint sau diferite antibiotice.

16). Caracterizarea nanoparticulelor de argint obținute prin co-reducere cu citrat de sodiu și acid tanic a fost realizată prin spectroscopie UV-Viz, microscopie electronică de transmisie cu baleiaj (STEM) și au fost evaluate prin imaginile microscopiei de forță atomică (AFM). Efectul lor antibacterian a fost evidențiat împotriva *Escherichia coli* (**Capitolul 5**).

17). Co-reducerea azotatului de argint în soluția apoasă cu TSC și TA s-a dovedit a fi o metodă simplă și rapidă într-o singură etapă pentru a prepara AgNP, cu mărime controlată, de la 30 la 10 nm, după cum arată imaginile STEM și AFM. Prezența argintului elementar este evidentă din spectrele UV-VIZ (banda caracteristică SPR) și din spectrele EDX și hărțile de distribuție a elementelor. Efectul antibacterian al AgNP a fost testat prin măsurarea zonelor de inhibare pe culturi de *Escherichia coli*.

18). Efectul a fost evident pentru toate probele de AgNP, dar dispersiile cu cea mai mică dimensiune a particulelor s-au dovedit a fi cele mai active. Astfel, AgNP obținute prin metodele investigate ar putea fi utilizate cu succes, ca atare sau în asociere cu antibiotice, împotriva infecțiilor bacteriene.

19). Activitatea antimicrobiană a antibioticelor poate fi potențată prin folosirea lor împreună cu nanoparticule de argint. Interacțiunea unui astfel de antibiotic, vancomicina cu nanoparticule de argint a fost studiată prin metoda UV-VIS (**Capitolul 6**).

20). Măsurătorile UV-VIS ne-au permis să evidențiem comportamentul diferit al soluțiilor coloidale de AgNP, obținute folosind diferite sisteme reducătoare, datorită formării de AgNP cu agenți de acoperire (stabilizare) diferiți. Mai mult, este identificată interacțiunea acestor AgNP cu antibiotice, precum vancomicina.

21). Pentru unele preparate (de ex. AgNP-citrat sau AgNP-citrat-acid tanic) s-au obținut asociate stabile (complexi) AgNP-vancomicină. Pentru alte soluții coloidale (de ex. AgNP- β CD) au apărut auto-asamblări mediate de vancomicină mai mult sau mai puțin avansate ale AgNP, care au fost menținute în continuare în soluție coloidală. În cele din urmă, în alte sisteme (de exemplu, AgNP-glucoză-amidon sau AgNP glucoză-TEOS), AgNP au precipitat ușor sub influența vancomicinei.

22). Dezvoltarea unor acoperiri biomimetice pe suprafața Ti se dovedește a fi o alegere inteligentă pentru a îmbunătăți osteointegrarea și a asigura un proces de vindecare optim, datorită creării de biomateriale nanostructurate similare celor din osul nativ. Astfel, am proiectat o acoperire compozită pe bază de nanoparticule (NP) de hidroxiapatită multisubstituită (notată ms-HAP sau HAPc), dopată cu elemente esențiale: Mg, Zn și Si, funcționalizate cu collagen de tip I (COL), încorporate în matrice de acid polilactic, PLA, și în cele din urmă acoperite cu strat de COL pentru a realiza structuri biomimetice. Stratul subțiri de compozit biomimetic au fost auto-asamblate pe suprafața Ti prin metoda de acoperire prin imersiune. Atât implanturile de Ti inițiale cât și cele acoperite au fost investigate prin microscopie de forță

atomică (AFM), care permite investigarea suprafeței la o rezoluție ridicată la nivel nano (**Capitolul 7**).

23). AFM este un instrument de top pentru investigarea acoperirii cu compozite biomimetice pe suprafața de titan a implanturilor. Această tehnică dovedește că colagenul din materialul nano-compozit este capabil să se reticuleze în fibre de COL. Imaginile AFM au relevat o rețea biomimetică de fibre de colagen, asemănătoare cu cea din osul natural, formată pe suprafața straturilor de nanocompozit.

24). Nano-topografia și rugozitatea suprafeței sunt evidențiate prin microscopie AFM în straturile de acoperire pe implanturile de Ti și sunt adecvate pentru atașarea osteoblastelor la suprafață, măbind viabilitatea și proliferarea celulelor.

25). Adăugarea unui strat suplimentar de colagen pur pe straturile de acoperire ar putea fi un model de intensificare a activității osteoblastelor pentru a genera os nou pe structurile biomimetice relevante.

Lista lucrărilor publicate; contribuții originale - Reka BALINT

S-au publicat **8 articole ISI** în reviste științifice de profil, cu factor de impact cumulativ: **8,515**; **3 articole (sub tipar)** în revista științifică ISI; **2 lucrări BDI** și **un articol** în Proceedings.

1. P. T. Frangopol, A. Mocanu, V. Almasan, C. Garbo, **R. Balint**, G. Borodi, I. Bratu, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Synthesis and structural characterization of Strontium substituted hydroxyapatites, Rev. Roum. Chim, 61(4-5), 337-344, (2016). IF = 0.304.

2. F. Goga, E. Forizs, G. Borodi, Gh. Tomoaia, A. Avram, **R. Balint**, A. Mocanu, O. Horovitz, M. Tomoaia Cotisel, Behavior of doped hydroxyapatites during the heat treatment, Rev. Chim.(Bucharest), 68(12), 2907-2913, (2017). IF = 1.412.

3. O. Cadar, **R. Balint**, Gh. Tomoaia, D. Florea, I. Petean, A. Mocanu, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Behavior of multisubstituted hydroxyapatites in water and simulated body fluid, Studia UBB Chemia, 62(4), Tom II, 269-281, (2017). IF = 0.305.

4. A. Mocanu, **R. Balint**, C. Garbo, L. Timis, I. Petean, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Low crystallinity nanohydroxyapatite prepared at room temperature, Studia UBB Chemia, 62(2), Tom I, 95-103, (2017). IF = 0.305.

5. A. Avram, M. Gorea, **R. Balint**, L. Timis, S. Jitaru, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Portland Cement Enriched With Hydroxyapatite For Endodontic Applications, *Studia UBB Chemia*, 62(4), Tom I, 81-92, (2017). IF = 0.305.
6. S. Rapuntean, **R. Balint**, G. A. Paltinean, G. Tomoaia, A. Mocanu, C.-P. Racz, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Antibacterial activity of silver nanoparticles obtained by co-reduction with sodium citrate and tannic acid, *Studia UBB Chemia*, 63(3), 73-85, (2018). IF = 0.275.
7. D. Oltean-Dan, G.-B. Dogaru, M. Tomoaia-Cotisel, D. Apostu, A. Mester, H.-R.-C. Benea, M.-G. Paiusan, E.-M. Jianu, A. Mocanu, **R. Balint**, O.-C. Popa, C. Berce, G.-I. Bodizs, A.-M. Toader, Gh. Tomoaia, Enhancement of bone consolidation using high frequency pulsed electromagnetic Short-waves and titanium implants coated with biomimetic composite embedded into PLA matrix: in vivo evaluation, *Int J Nanomedicine*, 14: 5799–5816, (2019). IF = 5.115, Articol premiat de UEFISCDI, Zonă Roșie.
8. **R. Balint**, G. A. Paltinean, A. Mocanu, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Interaction of silver nanoparticles with vancomycin: An UV-VIS Study, *Studia UBB Chemia*, 64(2), Tom II, 335-343, (2019). IF = 0.494.
9. D. Oltean-Dan, P.T. Frangopol, **R. Balint**, Gh. Tomoaia, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Biocompatibility of titanium implants coated with biocomposite in a rat model of femoral fracture, *Studia UBB Chemia*, 66(3), (2021). In press.
10. A. Mocanu, P. T. Frangopol, **R. Balint**, O. Cadar, I. Vancea, R. Mantiu, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Higuchi model applied to ions release from hydroxyapatites, *Studia UBB Chemia*, 66(3), (2021). In press.
11. R. Balint, I. Petean, P.T. Frangopol, A. Mocanu, G. Arghir, S. Riga, Gh. Tomoaia, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Biomimetic nanocomposite structures designed to cover orthopedic implants: AFM research, *Studia UBB Chemia*, 66(3), (2021). In press.
12. C. R. Popa, R. Balint, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Cardiovascular diseases induced by air pollution, *Annals - Series on Biological Sciences*, 9 (2), 133-170, (2020). ISSN 2285 – 4177.
13. R. Balint, G. A. Paltinean, G. Tomoaia, D. Oltean-Dan, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Review Biomaterials with enhanced biological functions for medical applications, *Annals - Series on Biological Sciences*, 10(1), 90 – 145, (2021). ISSN 2285 – 4177.
14. **R. Balint**, M. Tomoaia-Cotisel, Gh. Tomoaia, “Compozite biomimetice avansate utilizate în căptușirea implantelor metalice pentru vindecarea fracturilor osoase”, Academia oamenilor de știință din România (AOSR), Conferința de toamnă,

“Convergenta reala Romania-Uniunea Europeana, CRUE”, Comunicari integrale, Vol. II, Brasov, 20-21 Septembrie, pages 266-274, (2019), ISBN 978-973-618-430-7.

Capitolul 9. BIBLIOGRAFIE SELECTIVA

D. Oltean-Dan, G.-B. Dogaru, M. Tomoaia-Cotisel, D. Apostu, A. Mester, H.-R.-C. Benea, M.-G. Paiusan, E.-M. Jianu, A. Mocanu, **R. Balint**, O.-C. Popa, C. Berce, G.-I. Bodizs, A.-M. Toader, Gh. Tomoaia, Enhancement of bone consolidation using high frequency pulsed electromagnetic short-waves and titanium implants coated with biomimetic composite embedded into PLA matrix: In Vivo Evaluation, *Int J Nanomedicine*, 14, 5799–5816, (2019).

D. Oltean-Dan, P. T. Frangopol, **R. Balint**, Gh. Tomoaia, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Biocompatibility of titanium implants coated with biocomposite in a rat model of femoral fracture, *Studia UBB Chemia*, 66(3), (2021).

O. Cadar, **R. Balint**, Gh. Tomoaia, D. Florea, I. Petean, A. Mocanu, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Behavior of multisubstituted hydroxyapatites in water and simulated body fluid, *Studia UBB Chemia*, 62(4), Tom II, 269-281, (2017).

A. Mocanu, P.T. Frangopol, **R. Balint**, O. Cadar, I.M. Vancea, R. Mantiu, O.Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Higuchi model applied to ion release rate from hydroxyapatites, *Studia UBB Chemia*, 66(3), (2021).

S. Rapuntean, **R. Balint**, G.A. Paltinean, G. Tomoaia, A. Mocanu, C.-P. Racz, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Antibacterial activity of silver nanoparticles obtained by co-reduction with sodium citrate and tannic acid, *Studia UBB Chemia*, 63(3), 73-85, (2018).

R. Balint, G. A. Paltinean, A. Mocanu, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Interaction of Silver Nanoparticles with Vancomycin: An UV-VIS Study, *Studia UBB Chemia*, 64(2), Tom II, 335-343, (2019).

R. Balint, I. Petean, P.T. Frangopol, A. Mocanu, G. Arghir, M. Tomoaia-Cotisel, Structuri nanocompozite biomimetice proiectate pentru acoperirea implanturilor ortopedice: cercetare AFM, *Studia UBB Chemia*, 66(3), (2021).

A. Avram, M. Gorea, **R. Balint**, L. Timis, S. Jitaru, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Portland cement enriched with hydroxyapatite for endodontic Applications, *Studia UBB Chemia*, 62(4), Tom I, 81-92, (2017).

Gh. Tomoaia, R.D. Pasca, On the collagen mineralization. A review, *Clujul Med*, 88(1), 15–22, (2015). doi:10.15386/cjmed-359.

Gh. Tomoaia, O. Soritau, M. Tomoaia-Cotisel, L.-B. Pop, A. Pop, A. Mocanu, O. Horovitz, L.-D. Bobos, Scaffolds made of nanostructured phosphates, collagen and chitosan for cell culture, *Powder Technol*, 238, 99–107, (2013). doi:10.1016/j.powtec.2012.05.023.

Gh. Tomoaia, A. Mocanu, I. Vida-Simiti, N. Jumate, L.D. Bobos, O. Soritau, M. Tomoaia-Cotisel, Silicon effect on the composition and structure of nanocalcium phosphates: in vitro biocompatibility to human osteoblasts, *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.*, 37(1), 37–47, (2014). doi:10.1016/j.msec.2013.12.027.

A. Mocanu, G. Furtos, S. Rapuntean, O. Horovitz, C. Flore, C. Garbo, A. Danistean, G. Rapuntean, C. Prejmerean, M. Tomoaia-Cotisel, Synthesis; characterization and antimicrobial effects of composites based on multi-substituted hydroxyapatite and silver nanoparticles, *Appl Surf Sci.*, 298, 225–235, (2014). doi:10.1016/j.apsusc.2014.01.166.

F. Goga, E. Forizs, A. Avram, A. Rotaru, A. Lucian, I. Petean, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Synthesis and thermal treatment of hydroxyapatite doped with magnesium, zinc and silicon, *Rev Chim.*, 68(6), 1193–1200, (2017).

F. Goga, E. Forizs, G. Borodi, Gh. Tomoaia, A. Avram, **R. Balint**, A. Mocanu, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Behavior of doped hydroxyapatites during the heat treatment, *Rev Chim.*, 68(12), 2907–2913, (2017).

J.A. Buza, T. Einhorn, Bone healing in 2016, *Clin Cases Miner Bone Metab*, 13(2), 101–105, (2016). doi:10.11138/ccmbm/2016.13.2.101.

E. Gómez-Barrena, P. Rosset, D. Lozano, J. Stanovici, C. Ermthaller, F. Gerbhard, Bone fracture healing: cell therapy in delayed unions and nonunions, *Bone*, 70, 93–101, (2015). doi:10.1016/j.bone.2014.07.033.

R. Dimitriou, G.I. Mataliotakis, A.G. Angoules, N.K. Kanakaris, P.V. Giannoudis, Complications following autologous bone graft harvesting from the iliac crest and using the RIA: a systematic review, *Injury*, 42(suppl2), S3–S15, (2011). doi:10.1016/j.injury.2011.06.015.

J.W. Lu, F. Yang, Q.F. Ke, X.T. Xie, Y.P. Guo, Magnetic nanoparticles modified porous scaffolds for bone regeneration and photothermal therapy against tumors, *Nanomedicine*, 14(3), 811–822, (2018). doi:10.1016/j.nano.2017.12.025.

I. Antoniac, C. Sinescu, A. Antoniac, Adhesion aspects in biomaterials and medical devices, *J Adhes Sci Technol*, 30(16), 1711–1715, (2016).

J.V. Rau, I. Antoniac, G. Cama, V.S. Komlev, A. Ravaglioli, Bioactive materials for bone tissue engineering, *Biomed Res Int*, 2016 (Article ID 3741428), 1–3, (2016). doi:10.1155/2016/3741428.

F.G. Lyons, J.P. Gleeson, S. Partap, K. Coghlan, F.J. O'Brien, Novel microhydroxyapatite particles in a collagen scaffold: a bioactive bone void filler, *Clin Orthop Relat Res.*, 472(4), 1318–1328, (2014). doi:10.1007/s11999-013-3438-0.

I. Degasne, M.F. Baslé, V. Demais, G. Huré, M. Lesourd, B. Grolleau, L. Mercier, D. Chappard, Effects of roughness, fibronectin and vitronectin on attachment, spreading, and proliferation of human osteoblast-like cells (Saos-2) on titanium surfaces, *Calcif Tissue Int.*, 64(6), 499–507, (1999).

K.-H. Frosch, I. Sondergeld, K. Dresing, T. Rudy, C.H. Lohmann, J. Rabba, D. Schild, J. Breme, K.M. Stuerme, Autologous osteoblasts enhance osseointegration of porous titanium implants, *J Orthop Res.*, 21(2), 213–223, (2003). doi:10.1016/S0736-0266(02)00143-2.

M. Shahrezaee, M. Salehi, S. Keshtkari, A. Oryan, A. Kamali, B. Shekarchi, In vitro and in vivo investigation of PLA/PCL scaffold coated with metformin-loaded gelatin nanocarriers in regeneration of critical-sized bone defects, *Nanomedicine*, 14(7), 2061–2073, (2018), doi:10.1016/j.nano.2018.06.007.

G.M. Cunniffe, C.M. Curtin, E.M. Thompson, G.R. Dickson, F.J. O'Brien, Content-dependent osteogenic response of nanohydroxyapatite: an invitro and in

vivo assessment within collagen-based scaffolds, *ACS Appl Mater Interfaces*, 8(36), 23477–23488, (2016). doi:10.1021/acsami.6b06596.

F. Yu, M. Li, Z. Yuan, F. Rao, X. Fang, B. Jiang, Y. Wen, P. Zhang, Mechanism research on a bioactivesveratrol–PLA–gelatin porous nano-scaffold in promoting therepair of cartilage defect, *Int J Nanomed.*, 13, 7845–7858, (2018). doi:10.2147/IJN.S181855.

A. Tsuchiya, S. Sotome, Y. Asou, M. Kikuchi, Y. Koyama, T. Ogawa, J. Tanaka, K. Shinomiya, Effects of pore size and implant volume of porous hydroxyapatite/collagen (HAp/Col) on bone formation in a rabbit bone defect model, *J Med Dent Sci.*, 55(1), 91–99, (2008).

D.M. Ibrahim, A.A. Mostafa, S.I. Korowash, Chemical characterization of some substituted hydroxyapatites, *Chem Cent J.*, 5(1), 74, (2011). doi:10.1186/1752-153X-5-74.

I. Izquierdo-Barba, L. Santos-Ruiz, J. Becerra, M.J. Feito, D. Fernández-Villa, M.C. Serrano, I. Díaz-Güemes, B. Fernández-Tomé, S. Enciso, F.M. Sánchez-Margallo, D. Monopoli, H. Afonso, M.T. Portolés, D. Arcos, M. Vallet-Regí, Synergistic effect of Si-hydroxyapatite coating and VEGF adsorption on Ti6Al4V-ELI scaffolds for bone regeneration in an osteoporotic bone environment, *Acta Biomater.*, 83, 456–466, (2019). doi:10.1016/j.actbio.2018.11.017

A. Zhu, P. Lu, H. Wu, Immobilization of poly(ϵ -caprolactone)–poly(ethylene oxide)–poly(ϵ -caprolactone) triblock copolymer on poly(lactide-co-glycolide) surface and dual biofunctional effects, *Appl Surf Sci.*, 253(6), 3247–3253, (2007). doi:10.1016/j.apsusc.2006.07.036.

J. Li, X.L. Lu, Y.F. Zheng, Effect of surface modified hydroxyapatite on the tensile property improvement of HA/PLA composite, *Appl Surf Sci.*, 255(2), 494–497, (2008). doi:10.1016/j.apsusc.2008.06.067.

M. Hrubovcakova, M. Kupkova, M. Dzunon, M. Giretova, L. Medvecky, R. Dzunda, Biodegradable polylactic acid and polylactic acid/hydroxyapatite coated iron foams for bone replacement materials, *Int J Electrochem Sci.*, 12(12), 11122–11136, (2017). doi:10.20964/2017.12.53.

W. Yang, G. Yin, D. Zhou, J. Gu, Y. Li, H. Zhang, Biocompatibility of surface-modified biphasic calcium phosphate/poly-L-lactide biocomposite in vitro and in vivo, *J Mater Sci Technol.*, 26(8), 754–758, (2010). doi:10.1016/S1005-0302(10)60119-3.

P. Vashisth, J.R. Bellare, Development of hybrid scaffold with biomimetic 3D architecture for bone regeneration, *Nanomed.*, 14(4), 1325–1336, (2018). doi:10.1016/j.nano.2018.03.011.

Y. Shapovalova, D. Lytkina, L. Rasskazova, A. Gudima, V. Ryabov, A. Filimoshkin, I. Kurzina, J. Kzhyshkowska, P97: bioresorbable composites based on hydroxyapatite dispersed in poly-L-lactide matrix, *Eur J Cancer Suppl*, 13(1), 49–50, (2015). doi:10.1016/j.ejcsup.2015.08.088.

P. Kubasiewicz-Ross, J. Hadzik, J. Seeliger, K. Kozak, K. Jurczyszyn, H. Gerber, M. Dominiak, C. Kunert-Keil, New nano-hydroxyapatite in bone defect regeneration: a histological study in rats, *Ann Anat.*, 213, 83–90, (2017). doi:10.1016/j.aanat.2017.05.010.

F. Ren, Y. Leng, R. Xin, X. Ge, Synthesis, characterization and in vitro simulation of magnesium-substituted hydroxyapatite, *Acta Biomater.*, 6(7), 2787–2796, (2010). doi:10.1016/j.actbio.2009.12.044.

P.T. Frangopol, A. Mocanu, V. Almasan, C. Garbo, R. Balint, G. Borodi, I. Bratu, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Synthesis and structural characterization of strontium substituted hydroxyapatites, *Rev Roum Chim.*, 61(4–5), 337–344, (2016).

Gh. Tomoaia, L.B. Pop, I. Petean, M. Tomoaia-Cotisel, Significance of surface structure on orthopedic materials, *Mater Plast.*, 49(1), 48–54, (2012).

Gh. Tomoaia, M. Tomoaia-Cotisel, L.B. Pop, A. Pop, O. Horovitz, A. Mocanu, N. Jumate, L.D. Bobos, Synthesis and characterization of some composites based on nanostructured phosphates, collagen and chitosan, *Rev Roum Chim.*, 56(10–11), 1039–1046, (2011).

J. Russias, E. Saiz, R.K. Nalla, K. Gryn, R.O. Ritchie, A.P. Tomsia, Fabrication and mechanical properties of PLA/HA composites: a study of in vitro degradation, *Mater Sci Eng C Biomim Supramol Syst.*, 26(8), 1289–1295, (2006). doi:10.1016/j.msec.2005.08.004.

M.T. Tsai, W.J. Li, R.S. Tuan, W.H. Chang, Modulation of osteogenesis in human mesenchymal stem cells by specific pulsed electromagnetic field stimulation, *J Orthop Res.*, 27(9), 1169–1174, (2009). doi:10.1002/jor.20862.

K. Chang, W.H. Chang, S. Huang, S. Huang, C. Shih, Pulsed electromagnetic fields stimulation affects osteoclast formation by modulation of osteoprotegerin, RANK ligand and macrophage colony-stimulating factor, *J Orthop Res.*, 23(6), 1308–1314, (2005). doi:10.1016/j.orthres.2005.03.012.1100230611.

V. Galkowski, P. Brad, B. Drew, D. Dick, Bone stimulation for fracture healing: what's all the fuss?, *Indian J Orthop*, 43(2), 117–120, (2009). doi:10.4103/0019-5413.50844.

K.F. Taylor, N. Inoue, B. Rafiee, J.E. Tis, K.A. McHale, E.Y. Chao, Effect of pulsed electromagnetic fields on maturation of regenerate bone in rabbit limb lengthening model, *J Orthop Res.*, 24(1), 2–10, (2006). doi:10.1002/jor.20014.

P.F. Hannemann, E.H. Mommers, J.P. Schots, P.R. Brink, M. Poeze, The effects of low-intensity pulsed ultrasound and pulsed electromagnetic fields bone growth stimulation in acute fractures: a systematic review and meta analysis of randomized controlled trials, *Arch Orthop Trauma Surg.*, 134(8), 1093–1106, (2014). doi:10.1007/s00402-014-2014-8.

C.M. Teven, M. Greives, R.B. Natale, Y. Su, Q. Luo, B.-C. He, D. Shenaq, T.-C. He, R.R. Reid, Differentiation of osteoprogenitor cells is induced by high-frequency pulsed electromagnetic fields. *J Craniofac Surg.*, 23(2), 586–593, (2012). doi:10.1097/SCS.0b013e31824cd6de.

Gh. Tomoaia, M. Tomoaia-Cotisel, A. Mocanu, O. Horovitz, L.D. Bobos, M. Crisan, I. Petean, Supramolecular organization of collagen and anti-cancer drugs, *J Optoelectron Adv Mater.*, 10(4), 961–964, (2008).

A. Mocanu, R.D. Pasca, Gh. Tomoaia, C. Garbo, P.T. Frangopol, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, New procedure to synthesize silver nanoparticles and their interaction with local anesthetics, *Int J Nanomedicine*, 8, 3867–3874, (2013). doi:10.2147/IJN.S51063.

J.W. Park, Y.J. Kim, J.H. Jang, T.G. Kwon, Y.C. Bae, J.Y. Suh, Effects of phosphoric acid treatment of titanium surfaces on surface properties, osteoblast response and removal of torque forces, *Acta Biomater.*, 6(4), 1661–1670, (2010). doi:10.1016/j.actbio.2009.10.011.

D. Jing, M. Zhai, S. Tong, F. Su, J. Cai, G. Shen, Y. Wu, X. Li, K. Xie, J. Liu, Q. Xu, E. Luo, Pulsed electromagnetic fields promote osteogenesis and osseointegration of porous titanium implants in bone defect repair through a Wnt/ β -catenin signaling-associated mechanism, *Sci Rep.*, 6(1), 32045, (2016). doi:10.1038/srep32045.

J.V. Rau, M. Fosca, I. Cacciotti, S. Laureti, A. Bianco, R. Teghil, Nanostructured Si-substituted hydroxyapatite coatings for biomedical applications, *Thin Solid Films*, 543, 167–170, (2013). doi:10.1016/j.tsf.2012.12.113.

F. Loi, L.A. Cordova, J. Pajarinen, T.H. Lin, Z. Yao, S.B. Goodman, Inflammation, fracture and bone repair, *Bone*, 86, 119–130. (2016). doi:10.1016/j.bone.2016.02.020.

W. Lin, L. Xu, S. Zwingenberger, E. Gibon, S.B. Goodman, G. Li, Mesenchymal stem cells homing to improve bone healing, *J Orthop Transl*, 9, 19–27, (2017).

S. Mirhadi, N. Ashwood, B. Karagkevrekis, Factors influencing fracture healing. *Trauma.*, 15(2), 140–155, (2013). doi:10.1177/1460408613486571.

D.R. Marsh, G. Li, The biology of fracture healing: optimising outcome, *Br Med Bull.*, 55(4), 856–869, (1999). doi:10.1258/0007142991902673.

A. Klymov, J. Te Riet, P. Mulder, J.G.E. Gardeniers, J.A. Jansen, X.F. Walboomers, Nanometer-grooved topography stimulates trabecular bone regeneration around a concave implant in a rat femoral medulla model, *Nanomed.*, 12(8), 2283–2290, (2016). doi:10.1016/j.nano.2016.06.013.

T. Wehner, L. Claes, A. Ignatius, U. Simon, Optimization of intramedullary nailing by numerical simulation of fracture healing, *J Orthop Res.*, 30(4), 569–573, (2012). doi:10.1002/jor.21568.

M. Goutam, C. Giriya pura, S.K. Mishra, S. Gupta, Titanium allergy: a literature review, *Indian J Dermatol.*, 59(6), 630, (2014). doi:10.4103/0019-5154.143526.

D. Crouzier, L. Seleck, B.A. Martz, V. Dabouis, R. Arnaud, J.C. Debouzy, Risk assessment of electromagnetic fields exposure with metallic orthopedic implants: a cadaveric study, *Orthop Traumatol Surg Res.*, 98(1), 90–96, (2012). doi:10.1016/j.otsr.2011.08.012.

E.P. Buzza, J.A. Shibli, R.H. Barbeiro, J.R. Barbosa, Effects of electromagnetic field on bone healing around commercially pure titanium surface: histologic and mechanical study in rabbits, *Implant Dent.*, 12(2), 182–187, (2003).

Z. Zhang, Z. Li, C. Zhang, J. Liu, Y. Bai, S. Li, C. Zhang, Biomimetic intrafibrillar mineralized collagen promotes bone regeneration via activation of the Wnt signaling pathway, *Int J Nanomed.*, 13, 7503–7516, (2018). doi:10.2147/IJN.S172164.

H.T. Sirin, I. Vargel, T. Kutsal, P. Korkusuz, E. Piskin, Ti implants with nanostructured and HA-coated surfaces for improved osseointegration, *Artif Cells*

Nanomed Biotechnol., 44(3), 1023–1030, (2016).
doi:10.3109/21691401.2015.1008512.

X. Lin, S. Yang, K. Lai, H. Yang, T.J. Webster, L. Yang, Orthopedic implant biomaterials with both osteogenic and anti-infection capacities and associated in vivo evaluation methods, *Nanomed*, 13(1), 123–142, (2017).doi:10.1016/j.nano.2016.08.003.

N. Attia, M. Mashal, S. Grijalvo, R. Eritja, J. Zárate, G. Puras, J. L.Pedraz, Stem cell-based gene delivery mediated by cationic niosomes for bone regeneration, *Nanomedicine*, 14(2), 521–531, (2018). doi:10.1016/j.nano.2017.11.005.

J. Henkel, M.A. Woodruff, D.R. Epari, R. Steck, V. Glatt, I.C. Dickinson, P. F. M. Choong, M.A. Schuetz, D.W. Hutmacher, Bone regeneration based on tissue engineering conceptions – a 21st century perspective, *Bone Res.*, 1(3), 216–248, (2013). doi:10.4248/BR201303002.

Q. Ding, X. Zhang, Y. Huang, Y. Yan, X. Pang, In vitro cytocompatibility and corrosion resistance of zinc-doped hydroxyapatite coatings on a titanium substrate, *J Mater Sci.*, 50(1), 189–202, (2015). doi:10.1007/s10853-014-8578-4.

C. Garbo, M. Sindilaru, A. Carlea, Gh. Tomoaia, V. Almasan, I. Petean, A. Mocanu, O. Horovitz, Synthesis and structural characterization of novel porous zinc substituted nanohydroxyapatite powders, *Part Sci Technol.*, 35(1), 29–37, (2017). doi:10.1080/02726351.2015.1121180.

Y.L. Cai, J. Zhang, S. Zhang, S.S. Venkatraman, X.T. Zeng, H. J. Du, D. Mondal, Osteoblastic cell response on fluoridated hydroxyapatite coatings: the effect of magnesium incorporation, *Biomed Mater.*, 5(5), 054114, (2010), doi:10.1088/1748-6041/5/3/035008.

E.S. Thian, J. Huang, S.M. Best, Z.H. Barber, W. Bonfield, Novel silicon doped hydroxyapatite (Si-HA) for biomedical coatings: an in vitro study using a cellular simulated body fluid, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.*, 76B(2), 326–333, (2006). doi:10.1002/jbm.b.30368.

I.J. Macha, B. Ben-Nissan, J. Santos, S. Cazalbou, A. Stamboulis, D. Grossin, G. Giordano, Biocompatibility of a new biodegradable polymer-hydroxyapatite composite for biomedical applications, *J Drug Deliv Sci Technol*, 38, 72–77, (2017). doi:10.1016/j.jddst.2017.01.008.

G.R. Beck, S.W. Ha, C.E. Camalier, M. Yamaguchi, Y. Li, J. –K. Lee, M. N. Weitzmann, Bioactive silica-based nanoparticles stimulate bone-forming osteoblasts, suppress bone-resorbing osteoclasts, and enhance bone mineral density in vivo, *Nanomed*, 8(6), 793–803, (2012). doi:10.1016/j.nano.2011.11.003.

M. Uezono, K. Takakuda, M. Kikuchi, S. Suzuki, K. Moriyama, Hydroxyapatite/collagen nanocomposite-coated titanium rod for achieving rapid osseointegration onto bone surface, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 101B(6), 1031–1038, (2013). doi:10.1002/jbm.b.32913.

A. Murakami, T. Arimoto, D. Suzuki, M. Iwai-Yoshida, F. Otsuka, Y. Shibata, T. Igarashi, R. Kamijo, T. Miyazaki, Antimicrobial and osteogenic properties of a hydrophilic-modified nanoscale hydroxyapatite coating on titanium, *Nanomed*, 8(3), 374–382, (2012). doi:10.1016/j.nano.2011.07.001.

- S. Itoh, M. Kikuchi, Y. Koyama, H. N. Matumoto, K. Takakuda, K. Shinomiya, J. Tanaka, Development of a novel biomaterial, hydroxyapatite/collagen (HAp/Col) composite for medical use, *Biomed Mater Eng.*, 15(1–2), 29–41, (2005).
- X. Wei, S. Egawa, R. Matsumoto, H. Yasuda, K. Hirai, T. Yoshii, A. Okawa, T. Nakajima, S. Sotome, Augmentation of fracture healing by hydroxyapatite/collagen paste and bone morphogenetic protein-2 evaluated using a rat femur osteotomy model, *J Orthop Res.*, 36(1), 129–137, (2018). doi:10.1002/jor.23646.
- G.G. Walmsley, A. McArdle, R. Tevlin, Arash Momeni, D. Atashroo, M. S. Hu, A.H. Feroze, V.W. Wong, P.H. Lorenz, M.T. Longaker, D.C. Wan, Nanotechnology in bone tissue engineering, *Nanomedicine*, 11(5), 1253–1263, (2015). doi:10.1016/j.nano.2015.02.013.
- S. Sprio, A. Tampieri, E. Landi, M. Sandri, S. Martorana, G. Celotti, G. Logroscino, Physico-chemical properties and solubility behaviour of multi-substituted hydroxyapatite powders containing silicon, *Mater Sci Eng C.*, 28(1), 179–187, (2008). doi:10.1016/j.msec.2006.11.009.
- D. Govindaraj, M. Rajan, M.A. Munusamy, A.A. Alarfai, K.K. Sadasivuni, S.S. Kumar, The synthesis, characterization and in vivo study of mineral substituted hydroxyapatite for prospective bone tissue rejuvenation applications, *Nanomedicine*, 13(8), 2661–2669, (2017). doi:10.1016/j.nano.2017.07.017.
- L. Kyllönen, M. D’Este, M. Alini, D. Eglin, Local drug delivery for enhancing fracture healing in osteoporotic bone, *Acta Biomater.*, 11(1), 412–434, (2015). doi:10.1016/j.actbio.2014.09.006.
- F. Veronesi, M. Cadossi, G. Giavaresi, L. Martini, S. Setti, R. Buda, S. Giannini, M. Fini, Pulsed electromagnetic fields combined with a collagenous scaffold and bone marrow concentrate enhance osteochondral regeneration: an in vivo study, *BMC Musculoskeletal Disord.*, 16(1), 233, (2015).
- A.F. Mavrogenis, R. Dimitriou, J. Parvizi, G. C. Babis, Biology of implant osseointegration, *J. Musculoskelet.*, 9(2), 61–71, (2009).
- P. I. Brånemark, Osseointegration and its experimental background, *J. Prosthet. Dent.*, 50(3), 399–410, (1983).
- R. D. Bloebaum, K. N. Bachus, N. G. Momberger, A. A. Hofmann, Mineral apposition rates of human cancellous bone at the interface of porous coated implants, *J. Biomed. Mater. Res.*, 28(5), 537–544, (1994).
- R. Depprich, H. Zipprich, M. Ommerborn, C. Naujoks, H. P. Wiesmann, S. Kiattavorncharoen, H. C. Lauer, U. Meyer, N. R. Kubler, J. Handschel, Osseointegration of zirconia implants compared with titanium: an in vivo study, *Head Face Med.*, 4, 30, (2008). DOI: 10.1186/1746-160X-4-30.
- P. Thomsen, C. Larsson, L. E. Ericson, L. Sennerby, J. Lausmaa, B. Kasemo, Structure of the interface between rabbit cortical bone and implants of gold, zirconium and titanium, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 8(11), 653–665, (1997).
- A. B. Novaes Jr, S. L. Scombatti de Souza, R. R. Martins de Barros, K. K. Y. Pereira, G. Iezzi, A. Piattelli, Influence of implant surfaces on osseointegration, *Braz. Dent. J.*, 21(6), 471–481, (2010).

W. Wang, C.K. Poh, Titanium Alloys in Orthopaedics, In Titanium Alloys - Advances in Properties Control, J. Sieniawski, W. Ziąja Eds.; Intech Open; London, UK, 2013, chapter 1, pp. 1-20.

J. T. B. Ratnayake, M. Mucalo, G. J. Dias, Substituted hydroxyapatites for bone regeneration: A review of current trends, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, 105(5), 1285–1299, (2017).

D. Shepherd, S. M. Best, Production of zinc substituted hydroxyapatite using various precipitation routes, *Biomed. Mater.*, 8(2), 025003, (2013). DOI: 10.1088/1748-6041/8/2/025003.

A. Tsuchiya, S. Sotome, Y. Asou, M. Kikuchi, Y. Koyama, T. Ogawa, J. Tanaka, K. Shinomiya, Effects of pore size and implant volume of porous hydroxyapatite/collagen (HAp/Col) on bone formation in a rabbit bone defect model, *J. Med. Dent. Sci.*, 55(1), 91-99, (2008).

D. Govindaraj, M. Rajan, M. A. Munusamy, A. A. Alarfaj, K. K. Sadasivuni, S. S. Kumar, The synthesis, characterization and in vivo study of mineral substituted hydroxyapatite for prospective bone tissue rejuvenation applications, *Nanomed.*, 13(8), 2661-2669, (2017).

Gh. Tomoaia, M. Tomoaia-Cotisel, A. Mocanu, O. Horovitz, L. D. Bobos, M. Crisan, I. Petean, Characterization by atomic force microscopy of some composites based on surface active glasses and copolymers, *J. Optoelectron. Adv. Mater.*, 10(4), 961-964, (2008).

F. Yang, W. J. Dong, F. M. He, X. X. Wang, S. F. Zhao, G. L. Yang, Osteoblast response to porous titanium surfaces coated with zinc-substituted hydroxyapatite, *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 113(3), 313-318, (2012).

S. Rapuntean, P.T. Frangopol, I. Hodisan, Gh. Tomoaia, D. Oltean-Dan, A. Mocanu, C. Prejmorean, O. Soritau, L.Z. Racz, M. Tomoaia-Cotisel, In vitro response of human osteoblasts cultured on strontium substituted hydroxyapatites, *Rev Chim (Bucharest)*, 69(12), 3537-3544, (2018).

C. Garbo, J. Locs, M. D'Este, G. Demazeau, A. Mocanu, C. Roman, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Advanced Mg, Zn, Sr, Si multi-substituted hydroxyapatites for bone regeneration, *Int. J. Nanomed.*, 15, 1037-1058, (2020).

A. Mocanu, O. Cadar, P. T. Frangopol, I. Petean, Gh. Tomoaia, G. A. Paltinean, Cs. P. Racz, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Ion release from hydroxyapatite and substituted hydroxyapatites in different immersion liquids: in vitro experiments and theoretical modelling study, *R. Soc. Open. Sci.*, 8(1), 201785, (2021).

E. Boanini, M. Gazzano, A. Bigi, Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature, *Acta Biomater.*, 6(6), 1882-1894, (2010).

E.S. Thian, J. Huang, M. E. Vickers, S. M. Best, Z.H. Barber, W. Bonfield, Silicon-substituted hydroxyapatite (SiHA): A novel calcium phosphate coating for biomedical applications, *J. Mater. Sci.*, 41(3), 709-717, (2006).

A. Mocanu, **R. Balint**, C. Garbo, L. Timis, I. Petean, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Low crystallinity nanohydroxyapatite prepared at room temperature, *Studia UBB Chemia*, 62(2), Tom I, 95-103, (2017).

J. Beuvelot, Y. Mauras, G. Mabileau, H. Marchand-Libouban, D. Chapparda, Adsorption and release of strontium from hydroxyapatite crystals developed in simulated body fluid (SBF) on poly (2-hydroxyethyl) methacrylate substrates, *Dig. J. Nanomater. Biostructures*, 8(1), 207-217, (2013).

M. Tomoaia-Cotisel, N. Cioica, C. Cota, Cs. Racz, I. Petean, L. D. Bobos, A. Mocanu, O. Horovitz, Structure of starch granules revealed by atomic force microscopy, *Studia UBB Chemia*, 55 (2), Tom II, 313-326 (2010).

R.D. Pasca, Gh. Tomoaia, A. Mocanu, I. Petean, G.A. Paltinean, O. Soritau, M. Tomoaia-Cotisel, Porous Collagen Scaffolds for Bone Regeneration, *Studia UBB Chemia*, 60(3), 257-264, (2015).

M.A. Naghiu, M. Gorea, E. Mutch, F. Kristaly, M. Tomoaia-Cotisel, Forsterite nanopowder: structural characterization and biocompatibility evaluation, *Mater. Sci. Technol.*, 29(7), 628-632, (2013).

A. Danistean, M. Gorea, A. Avram, S. Rapuntean, Gh. Tomoaia, A. Mocanu, C. Garbo, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Antimicrobial activity of ceramic disks loaded with silver ions and nitroxoline, *Studia UBB Chemia*, 61 (3), 275-283, (2016).

Gh. Tomoaia, O. Horovitz, A. Mocanu, A. Nita, A. Avram, C.P. Racz, O. Soritau, M. Cenariu, M. Tomoaia-Cotisel, Effects of doxorubicin mediated by gold nanoparticles and resveratrol in two human cervical tumor cell lines, *Colloids Surf. B*, 135, 726-734, (2015).

P.T. Frangopol. D.A. Cadenhead, Gh. Tomoaia, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, The effect of procaine on lipid domains investigated by contact mode atomic force microscopy, *Rev. Roum. Chim*, 60(2-3), 265-273, (2015).

G. Furtos, M.A. Naghiu, H. Declercq, M. Gorea, C. Prejmerean, O. Pana, M. Tomoaia-Cotisel, Nano forsterite biocomposites for medical applications: Mechanical properties and bioactivity, *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* 104(7), 1290-1301, (2016).

M. Tomoaia-Cotisel, A. Mocanu, Phase transitions in phospholipid monolayers studied by atomic force microscopy and Langmuir-Blodgett technique, *Rev. Chim. (Bucharest)*, 59, 1230-1233, (2008).

O. Horovitz, Gh. Tomoaia, A. Mocanu, T. Yupsanis, M. Tomoaia-Cotisel, Protein binding to gold autoassembled films, *Gold Bull*, 40 (4), 295-304, (2007).

M. Tomoaia-Cotisel, A. Tomoaia-Cotisel, T. Yupsanis, G. Tomoaia, I. Balea, A. Mocanu, Cs. Racz, Coating layers of major storage protein from aleurone cells of barley studied by atomic force microscopy, *Rev. Roum. Chim*, 51 (12), 1181-1185, (2006).

Gh. Tomoaia, A. Mocanu, L.D. Bobos, L.B. Pop, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Biocomposites for Orthopedic Applications, *Studia UBB Chemia*, 60 (3), 265-272, (2015).

T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W, *J. Biomed. Mater. Res.*, 24(6), 721-734, (1990).

E. Forizs, F. Goga, A. Avram, A. Mocanu, I. Petean, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Thermal analysis of pure and multisubstituted hydroxyapatite pastes, *Studia UBB Chemia*, 62 (4, Tom I), 173-180, (2017).

Gh. Tomoaia, M. Tomoaia-Cotisel, L.B. Pop, A. Mocanu, A. Pop, Nanopowders of hydroxyapatite and its substituted derivatives with medical applications and their fabrication procedure, Romanian Patent, OSIM, Bucharest, Romania, no. 125817; BOPI, 6, 123, (2013).

M. Rohnke, S. Pfitzenreuter, B. Mogwitz, A. Henß, J. Thomas, D. Bieberstein, T. Gemming, S. K. Otto, S. Ray, M. Schumacher, M. Gelinsky, V. Alt, Strontium release from Sr²⁺-loaded bone cements and dispersion in healthy and osteoporotic rat bone, *J. Control. Release*, 262, 159–169, (2017).

U. Gbureck, E. Vorndran, J.E. Barralet, Modeling vancomycin release kinetics from microporous calcium phosphate ceramics comparing static and dynamic immersion conditions, *Acta Biomater.*, 4(5), 1480–1486, (2008).

A. Mocanu, O. Cadar, P.T. Frangopol, I. Petean, Gh. Tomoaia, G.A. Paltinean, C.P. Racz, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Ion release from hydroxyapatite and substituted hydroxyapatites in different immersion liquids: in vitro experiments and theoretical modelling study, *Roy. Soc. Open Sci.* 8, 201785, (2021).

T. Higuchi, Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices, *J. Pharm. Sci.*, 52, 1145–1149, (1963).

S. Dash, P. N. Murthy, L. Nath, P. Chowdhury, Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems, *Acta Pol. Pharm.*, 67, 217–223, (2010).

J. Siepmann, N.A. Peppas, Higuchi equation: Derivation, applications, use and misuse, *Int J Pharm.*, 418, 6–12, (2011).

H.-G. Lee, Y.-S. Park, J.-H. Jeong, Y.-B. Kwon, D. H. Shin, J.-Y. Kim, Y.-S. Rhee, E.-S. Park, D.-W. Kim, C.-W. Park, Physicochemical properties and drug-release mechanisms of dual-release bilayer tablet containing mirabegron and fesoterodine fumarate, *Drug Des., Devel. Ther.*, 13, 2459–2474, (2019).

S. Bose, S. Tarafder, Calcium phosphate ceramic systems in growth factor and drug delivery for bone tissue engineering: A review, *Acta Biomater.*, 8(4), 1401–1421, (2012).

M. M. Mailafiya, K. Abubakar, A. Danmaigoro, S. M. Chiroma, E. B. A. Rahim, M. A. M. Moklas, Z.A.B. Zakaria, Evaluation of In-Vitro Release Kinetic and Mechanisms of Curcumin Loaded-Cockle Shell-Derived Calcium Carbonate Nanoparticles, *Biomed. Res. Ther.*, 6, 3518–3540, (2019).

E. Landi, A. Tampieri, G. Celotti, S. Sprio, M. Sandri, G. Logroscino, Sr-substituted hydroxyapatites for osteoporotic bone replacement, *Acta Biomater.*, 3(6), 961–969, (2007).

S. V. Dorozhkin, Surface Reactions of Apatite Dissolution, *J. Colloid Interf. Sci.*, 191(2), 489–497, (1997).

T. Kokubo, Biomaterials, Bioactive glass ceramics: properties and applications, *Biomaterials*, 12(2), 155–163, (1991).

J.R. Morones, J.L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J.B. Kouri, J.T. Ramirez, M. J. Yacaman, The bactericidal effect of silver nanoparticles, *Nanotechnology*, 16(10), 2346–2353, (2005).

M. Rai, A. Yadav, A. Gade, Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, *Biotechnol. Adv.*, 27(1), 76-83, (2009).

M.K. Rai, S.D. Deshmukh, A.P. Ingle, A.K. Gade, Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria, *J. Appl. Microbiol.*, 112(5), 841-852, (2012).

M.J. Hajipour, K.M. Fromm, A.A. Ashkarran, D.J. de Aberasturi, I.R. deLarramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W.J. Parak, M. Mahmoudi, Antibacterial properties of nanoparticles, *Trends Biotechnol.*, 30(10), 499-511, (2012).

N. Durán, G. Nakazato, A.B. Seabra, Antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles, and silver chloride nanoparticles: an overview and comments, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 100(15), 6555-6570, (2016).

K.S. Siddiqi, A. Husen, R.A.K. Rao, A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties, *J. Nanobiotechnology*, 16, 14, (2018). <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0334-5>.

V. Chahar, B. Sharma, G. Shukla, A. Srivastava, A. Bhatnagar, Study of antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized using green and chemical approach A Physicochemical and engineering aspects, *Colloids Surf, A Physicochem Eng Asp*, 554, 149, (2018).

A. Mocanu, O. Horovitz, C.P. Racz, M. Tomoaia-Cotisel, Green synthesis and characterization of gold and silver nanoparticles, *Rev. Roum. Chim*, 60(7-8), 721-72, (2015).

Y. Hao, N. Zhang, J. Luo, X. Liu, Green Synthesis of Silver Nanoparticles by Tannic Acid with Improved Catalytic Performance Towards the Reduction of Methylene Blue, *NANO: Brief Reports and Reviews*, 13, 1850003, (2018). DOI: 10.1142/S1793292018500030.

P. Orłowski, M. Krzyżowska, R. Zdanowski, A. Winnicka, J. Nowakowska, W. Stankiewicz, E. Tomaszewska, G. Celichowski, J. Grobelny, Assessment of in vitro cellular responses of monocytes and keratinocytes to tannic acid modified silver nanoparticles, *Toxicol. In Vitro*, 27(6), 1798-1808, (2013).

S.K. Sivaraman, I. Elango, S. Kumar, V. Santhanam, A green protocol for room temperature synthesis of silver nanoparticles in seconds, *Curr. Sci.*, 97(7), 1055-1059, (2009).

Y. Cao, R. Zheng, X. Ji, H. Liu, R. Xie, W. Yang, Syntheses and characterization of nearly monodispersed, size-tunable silver nanoparticles over a wide size range of 7-200 nm by tannic acid reduction, *Langmuir*, 30(13), 3876-3882, (2014).

N.G. Bastus, F. Merkoci, J. Piella, V. Puntes, Synthesis of highly monodisperse citrate-stabilized silver nanoparticles of up to 200 nm: kinetic control and catalytic properties, *Chem. Mater.*, 26, 2836-2846, (2014).

S. Agnihotri, S. Mukherji, S. Mukherji, Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy, *RSC Advances*, 4, 3974-3983, (2014).

O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, C. Racz, Gh. Tomoaia, L.D. Bobos, A. Mocanu, The interaction of silver nanoparticles with lipoic acid, *Studia UBB Chemia*, 54(3), 89-96, (2009).

Gh. Tomoaia, P.T. Frangopol, O. Horovitz, L.D. Bobos, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, The effect of arginine on gold nanoparticles in colloidal solutions and in thin films, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 11(9), 7762-7770, (2011).

U.V. Zdrengea, Gh. Tomoaia, D.V Pop-Toader, A. Mocanu, O. Horovitz, M.Tomoaia-Cotisel, Procaine effect on human erythrocyte membrane explored by atomic force microscopy, *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, 14(4), 237-247, (2011).

R.D. Pasca, A. Mocanu, S.C. Cobzac, I. Petean, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Biogenic syntheses of gold nanoparticles using plant extracts, *Particul Sci Technol*, 32(2), 131-137, (2014).

I. Petean, G. Tomoaia, O. Horovitz, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Cysteine mediated assembly of gold nanoparticles, *J. Optoelectron. Adv. Mater. J Optoelectron Adv M*, 10(9), 2289-2292, (2008).

S. U. Khan, T. A Saleh, A. Wahab, M. H. U. Khan, D. Khan, W. U. Khan, A. Rahim, S. Kamal, F. U. Khan, S. Fahad, Nanosilver: new ageless and versatile biomedical therapeutic scaffold, *Int. J. Nanomed*, 13, 733-762, (2018).

L. Ge, Q. Li, M. Wang, J. Ouyang, X. Li, M. M. Q. Xing, Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity, *Int. J. Nanomed*, 9, 2399–2407, (2014).

A. Coates, Y. Hu, R. Bax, C. Page, The future challenges facing the development of new antimicrobial drugs, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 1, 895–910, (2002).

Y. E. Hur, Y. Park, Vancomycin-Functionalized Gold and Silver Nanoparticles as an Antibacterial Nanoplatfrom Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 16, 6393-6399, (2016).

N. Xu, H. Cheng, J. Xu, F. Li, B. Gao, Z. Li, C. Gao, K. Huo, J. Fu, W. Xiong, Silver-loaded nanotubular structures enhanced bactericidal efficiency of antibiotics with synergistic effect in vitro and in vivo, *Int. J. Nanomed*, 12, 731-743, (2017).

A. Kaur, D. Goyal, R. Kumar, Surfactant mediated interaction of vancomycin with silver nanoparticles, *Appl. Surf. Sci.*, 449, 23-30, (2018).

A. Kaur, S. Preet, V. Kumar, R. Kumar, R. Kumar, Synergetic effect of vancomycin loaded silver nanoparticles for enhanced antibacterial activity, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 176, 62–69, (2019).

G. Furtos, M. Tomoaia-Cotisel, C. Garbo, M. Senila, N. Jumate, I. Vida-Simiti, C. Prejmerean, New composite bone cement based on hydroxyapatite and nanosilver, *Particul. Sci. Technol.*, 31(4), 392-398, (2013).

S. Ahmed, M. Ahmad, B. L. Swami, S. Ikram, A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise, *J. Adv. Res.* 7, 17–28, (2016).

T. A. Abalkhil, S. A. Alharbi, S. H. Salmen, M. Wainwright, Bactericidal activity of biosynthesized silver nanoparticles against human pathogenic bacteria, *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, 31, 411–417, (2017).

S. Z. H. Naqvi, U. Kiran, M. I. Ali, A. Jamal, A. Hameed, S. Ahmed, N. Ali, Combined efficacy of biologically synthesized silver nanoparticles and different antibiotics against multidrug-resistant bacteria, *Int. J. Nanomed*, 8, 3187–3195, (2013).

M. Tomoaia-Cotisel, Multifunctional nanostructures formed of gold or silver nanoparticles and different biomolecules with medical applications, e-Book, Cluj University Press, Cluj-Napoca, pp. 1-322, (2016).
<http://www.editura.ubbcluj.ro/bd/ebooks/pdf/1976.pdf>

B. P. Howden, J. K. Davies, P. D. R. Johnson, T. P. Stinear, M. L. Grayson, Reduced Vancomycin Susceptibility in *Staphylococcus aureus*, Including Vancomycin-Intermediate and Heterogeneous Vancomycin-Intermediate Strains: Resistance Mechanisms, Laboratory Detection, and Clinical Implications, *Clin. Microbiol. Rev.*, 23, 99-139, (2010).

M. Esmailou, G. Zarrini, M. A. Rezaee, J. S. Mojarrad, A. Bahadori, Vancomycin Capped with Silver Nanoparticles as an Antibacterial Agent against Multi-Drug Resistance Bacteria, *Adv. Pharm. Bull.*, 7, 479-483, (2017).

I. Cacciotti, Multisubstituted hydroxyapatite powders and coatings: The influence of the codoping on the hydroxyapatite performances, *Int J Appl Ceram Technol.*, 16(5), 1864-1884, (2019).

M.H. Santos, P. Valerio, A.M. Goes, M.F. Leite, L.G.D. Heneine, H.S. Mansur, Biocompatibility evaluation of hydroxyapatite/collagen nanocomposite doped with Zn⁺², *Biomed. Mater.* 2(2), 135–141, (2007).

I.V. Antoniac, A. Antoniac, E. Vasile, C. Tecu, M. Fosca, V. G. Yankova, J.V. Rau, In vitro characterization of novel nanostructured collagen-hydroxyapatite composite scaffolds doped with magnesium with improved biodegradation rate for hard tissue regeneration, *Bioact. Mater.*, 6(10), 3383–3395, (2021).

I. Ullah, M. A. Siddiqui, S. K. Kolawole, H.Liu, J. Zhang, L. Ren, K. Yang, Synthesis, characterization and in vitro evaluation of zinc and strontium binary doped hydroxyapatite for biomedical application, *Cerami Int*, 46(10), 14448–14459, (2020).

T. Kumai, N. Yui, K. Yatabe, C. Sasaki, R. Fujii, M. Takenaga, H. Fujiya, H. Niki, K. Yudoh, A novel, self-assembled artificial cartilage–hydroxyapatite conjugate for combined articular cartilage and subchondral bone repair: histopathological analysis of cartilage tissue engineering in rat knee joints, *Int J Nanomed*, 14, 1283–1298, (2019).

H. Liu, M. Lin, X. Liu, Y. Zhang, Y. Luo, Y. Pang, H. Chen, D. Zhu, X. Zhong, S. Ma, Y. Zhao, Q. Yang, X. Zhang, Doping bioactive elements into a collagen scaffold based on synchronous self-assembly/mineralization for bone tissue engineering, *Bioact. Mater.*, 5(4), 844–858, (2020).

T. G. Kim, S.-H. Park, H. Jung Chung, D.-Y. Yang, T. G. Park, Microstructured scaffold coated with hydroxyapatite/collagen nanocomposite multilayer for enhanced osteogenic induction of human mesenchymal stem cells, *J. Mater. Chem.*, 20, 8927–8933, (2010).

P. Pan, X. Chen, K. Metavarayuth, J. Su, Q. Wang, Self-assembled supramolecular systems for bone engineering applications, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci*, 35, 104–111, (2018).

Z. Wang, Y. Yan, T. Wan, Fabrication and characterization of hydroxyapatite/collagen bone-like nanocomposite through a self-assembly method, *Sci Eng Compos Mater*, 19(2), 177–182, (2012).

A. Cappella, H.H. de Boer, P. Cammilli, D. De Angelis, C. Messina, L.M. Sconfienza, F. Sardanelli, C. Sforza, C. Cattaneo, Histologic and radiological analysis on bone fractures: Estimation of posttraumatic survival time in skeletal trauma, *Forensic Sci. Int.*, 302, 1-9, (2019).

E.N. L'Abbé, S.A. Symes, D.E. Raymond, D.H. Ubelaker, The Rorschach butterfly, understanding bone biomechanics prior to using nomenclature in bone trauma interpretations, *Forensic Sci. Int.*, 299, 187 – 189, (2019).

I. Izquierdo-Barba, L. Santos-Ruiz, J. Becerra, M.J. Feito, D. Fernandez-Villa, M.C. Serrano, I. Diaz-Guemes, B. Fernandes Tome, S. Enciso, F.M. Sanches Margallo, D. Monopoli, H. Alfonso, M.T. Portoles, D. Arcos, M. Vallet-Regi, Synergistic effect of Si-hydroxyapatite coating and VEGF adsorption on Ti6Al4V-ELI scaffolds for bone regeneration in an osteoporotic bone environment, *Acta Biomater.*, 83, 456–466, (2019).

L. Barbu-Tudoran, Gh. Tomoaia, O. Horovitz, A. Mocanu and M. Tomoaia-Cotisel, Self-assembly characteristics of gold nanoparticles in the presence of arginine, *J. Optoelectron. Adv. Mater. J*, 10(9), 2293-2297, (2008).

M. Tomoaia-Cotisel, A. Sen, P. J. Quinn, Surface active properties of 1,2-distearoylgalactosylglycerols, *J Colloid Interface Sci*, 94(2), 390-398 (1983).

M. Tomoaia-Cotisel, J. Zsako, E. Chifu, Ejection curves and miscibility of egg lecithin with some carotenoid derivatives, *Rev Roum Chim*, 32(7), 663-670 (1987).

M. Tomoaia-Cotisel, J. Zsako, E. Chifu, P. J. Quinn, Intermolecular interactions in lipid-carotenoid monolayers, *Biochem J*, 248, 877-882, (1987).

M. Tomoaia-Cotisel, J. Zsako, E. Chifu, P. J. Quinn, Hysteresis in compression-expansion cycles of distearoylmonogalactosylglycerol monolayers, *Chem Phys Lipids*, 50, 127-133, (1989).

M. Tomoaia-Cotisel, J. Zsako, E. Chifu, D. A. Cadenhead, Relaxation phenomena in apocarotenoid monolayers, *Langmuir*, 6(1), 191-197 (1990).

M. Tomoaia-Cotisel, P. J. Quinn, Biophysical properties of carotenoids, in *Subcellular Biochemistry, Fat-Soluble Vitamins*, Editors: P. J. Quinn and V. E. Kagan, (Plenum Press, New York, USA, 1998), Vol. 30, Chapter 10, pp. 219-242. ISBN: 0-306-45846-2.

M. Tomoaia-Cotisel, T. Oproiu, J. Zsako, A. Mocanu, P. T. Frangopol, P. J. Quinn, Numerical analysis of compression isotherms of distearoyl monogalactosyl glycerol monolayers, *Rev Roum Chim*, 45(9), 851-861, (2000).

M. Tomoaia-Cotisel, E. Chifu, J. Zsako, P. T. Frangopol, P. J. Quinn, A. Mocanu, Interaction of some drugs with monomolecular membranes at the fluid interfaces, *Studia UBB Chemia*, 38(1-2), 81-85, (1993).

E. Chifu, M. Tomoaia-Cotisel, Insoluble monolayers of lecithin and carotenoid pigments, *Rev Roum Chim*, 24(7), 979-986, (1979).

E. Chifu, M. Tomoaia-Cotisel, Z. Andrei, Mixed monolayers of canthaxanthin with lipids, *Studia UBB Chemia*, 24(2), 63-67, (1979).

J. Zsako, M. Tomoaia-Cotisel, A. Mocanu, E. Chifu, Insoluble mixed monolayers. II. Protolytic equilibria and the influence of the pH on the collapse pressure, *J Colloid Interface Sci*, 110(2), 317-334, (1986).

E. Chifu, M. Tomoaia-Cotisel, Z. Andrei, E. Bonciu, β -apo-8-carotenoic acid ethyl ester films at fluid interfaces, *Gazz Chim Ital*, 109(6-7), 365-369, (1979).

M. Tomoaia-Cotisel, E. Chifu, J. Zsako, Mixed monolayers of egg lecithin and carotenoids, *Colloids Surf*, 14(2), 239-246, (1985).

M. Tomoaia-Cotisel, E. Chifu, Mixed insoluble monolayers with β -apo-8-carotenoic acid ethyl ester, *Gazz Chim Ital*, 109(6-7), 371-375, (1979).

E. Chifu, M. Tomoaia-Cotisel, A. Ioanette, Mixed insoluble monolayers of cholesterol and β -apo-8-carotenol, *Gazz Chim Ital*, 109(6-7), 397-398, (1979).

M. Tomoaia-Cotisel, E. Chifu, Carotenoid pigment films at fluid interface, *Rev Chim (Bucharest)*, 32(11), 1063-1069 (1981).

I. Cojocaru, A. Tomoaia-Cotisel, A. Mocanu, T. Yupsanis, M. Tomoaia-Cotisel, The effect of globular protein from aleurone cells of barley on stearic acid monolayers, *Rev Chim (Bucharest)*, 68(7), 1470-1475, (2017).

J. Zsako, M. Tomoaia-Cotisel, E. Chifu, A. Mocanu, P. T. Frangopol, Influence of stearic acid monolayers upon the procaine adsorption from underlying alkaline aqueous solutions, *Biochim. Biophys. Acta*, 1024(2), 227-232, (1990).

Capitol 10. ACTIVITATE DE CERCETARE ȘTIINȚIFICĂ

Lista lucrărilor publicate; contribuții originale - Reka BALINT (pag. 25)

S-au publicat **8 articole ISI** în reviste științifice de profil, cu factor de impact cumulativ: **8,515; 3 articole (sub tipar)** în revista științifică ISI; **2 lucrări BDI și un articol** în Proceedings.

Total citări 60, h-index 5; Google Scholar:

<https://scholar.google.com/citations?user=SkRatYcAAAAJ&hl=ro>

Listă de comunicări la conferințe și simpozioane

Rezultatele științifice s-au prezentat în cadrul a 13 conferințe

1. C. Garbo, A. Mocanu, V. Almasan, **R. Balint**, G. Borodi, I. Bratu. O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Effect of preparation conditions and the presence of surfactant on the hydroxyapatite nanopowders, PIM 2015, 23-25 Septembrie, 2015

2. A. Danistean, C. Garbo, **R. Balint**, G. Tomoaia, A. Mocanu, S. Rapuntean, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Bioceramics comprising silver nanoparticles, as a

new generation of antimicrobial, Conferences on Physics of Advanced Materials, Cluj-Napoca, 8-10 Septembrie, 2016

3. **R. Balint**, C. Garbo, A. Mocanu, G. Tomoaia, I. Petean, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel, Revolving research discoveries into health, COST Action MP1301, Cluj-Napoca, 13-15 Mai, 2017

4. **R. Balint**, G. Tomoaia, S. Rapuntean, A. Mocanu, O. Horovitz and M. Tomoaia-Cotisel, Novel composites based on nanoceramics and silver nanoparticles with antimicrobial activity for biomedical applications, International Conference on Materials Science & Materials Chemistry, Paris, Franța, 20-22 August, 2018 **PREZENTARE ORALA+ POSTER**

5. D. Oltean-Dan, D. Apostu, G. B. Dogaru, G. Tomoaia, M. Tomoaia-Cotisel, A. Mester, M.-G. Paiusan, A. Mocanu, **R. Balint**, C. O. Popa, C. Berce, B. Gyorgy-Istvan, A. Toader, H.-R.-C. Benea, High frequency pulsed electromagnetic short-waves and titanium nails coated with multi-substituted hydroxyapatite functionalized with collagen embedded into PLA martri facilitates bone consolidation: an experimenta study, Abstract Volume of 8th International Conference „Biomaterials, Tissue Engineering and Medica Devices” (Biommedd’ 2018) Cluj-Napoca, 27-29 Septembrie, 2018 **PREZENTARE ORALA**

6. **R. Balint**, M. Tomoaia-Cotisel, Gh. Tomoaia, “Compozite biomimetice avansate utilizate în căptușirea implantelor metalice pentru vindecarea fracturilor osoase”, Conferință națională științifică Academia Oamenilor de Știința din România, Book of abstract, **13(2)**, 2019, **20-21 Septembrie Brasov, 80-81, ISSN 2601-5102 PREZENTARE ORALA**

7. **R. Balint**, S. Rapuntean, A. Mocanu, O. Horovitz and M. Tomoaia-Cotisel, New antibacterial systems for biomedical applications, 12th International Conference Processes in Isotopes and Molecules (PIM), 25-27 September, 2019, Cluj-Napoca, Romania. **POSTER**

8. G. A. Paltinean, **R. Balint**, A. Mocanu, Gh. Rapuntean, I. Petean, O. Horovitz and M. Tomoaia-Cotisel, Antimicrobial activity of poly lactic acid microspheres loaded with vancomycin, 12th International Conference, Processes in Isotopes and Molecules (PIM), 25-27 September, 2019, Cluj-Napoca, Romania **POSTER**

9. Gh. Tomoaia, **R. Balint**, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Captuseli/straturi bioactive pe implante din titan, Conferinta Nationala Stiintifica Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Secție Științe Biologice, 28 mai-7 iunie 2020, **online**

10. Gh. Tomoaia, **R. Balint**, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Captuseli/straturi bioactive pe implante din titan, Conferinta Nationala Stiintifica Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Secție Științe Medicale, 18 iunie 2020, **online**

11. Gh. Tomoaia, **R. Balint**, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Materiale inovative pentru substitut de os, Conferinta Nationala Stiintifica Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Sesiunea Științifică de Toamna, Secție Științe Biologice, 27-28 noiembrie 2020, on-line

12. **R. Balint**, Gh. Tomoaia, D. Oltean-Dan, A. Mocanu, G. Arghir, M. Tomoaia-Cotisel, Nanomateriale cu funcție biologică îmbunătățită pentru regenerare osoasă, Conferinta Nationala Stiintifica Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Secție Științe Biologice, 11 iunie 2021, **online**

13. **R. Balint**, Gh. Tomoaia, D. Oltean-Dan, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Biomaterials based on multifunctional hydroxyapatite for orthopedic applications, International Scientific Conference, Applications of chemistry in nanosciences and biomaterials engineering, Virtual Conference, 25 - 26 June 2021

Activitate în proiecte de cercetare științifică

Doctoranda a participat ca asistent de cercetare la **6 proiecte de cercetare științifică** realizate în Centrul de Cercetare Științifică în Chimie Fizică, condus de Director, Prof. Univ. Dr. Maria Tomoaia-Cotisel, Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică; din cadrul Universității Babeș-Bolyai din Cluj-Napoca.

Lista proiectelor de cercetare științifică

- 1. Contract PN2 Perteneriat 241/2014-2016**
- 2. Contract Proiect de Cercetare Exploratorie: PCE 83/2017-2019**
- 3. Proiect Experimental Demonstrative PNIII: Parteneriat 481/2020-2022**
- 4. Proiect de Cercetare Exploratorie: PCE186/2021-2023**
- 5. Programul mobilități pentru cercetători PN-III-P1-1.1-MC-2018-1737**

Compozite noi bazate pe nanoceramica și nanoparticule de argint cu activitate antimicrobiana pentru aplicatii biomedicale. Participare la International Conference on Materials Science and Materials Chemistry 20-22 August, Paris, France. **Responsabil de proiect: Reka Balint.**

6. Reka Balint, Compozite biomimetice avansate, lucrare premiata în 2019 de *Academia Oamenilor de Știință din România*.

15.4. Membru în Centrul de Cercetare Științifică în Chimie Fizică

Doctoranda este membră în Centrul de Cercetare Științifică în Chimie Fizică. CECHIF, condus de Director Prof. Univ. Dr. M. Tomoaia-Cotișel, Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică din cadrul Universității Babeș-Bolyai din Cluj-Napoca.