



UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI
BABEȘ-BOLYAI TUDOMÁNYEGYE
BABEȘ-BOLYAI UNIVERSITÄT
BABEȘ-BOLYAI UNIVERSITY
TRADITIO ET EXCELLENTIA

UNIVERSITATEA BABEȘ- BOLYAI
Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică



FARKAS NOÉMI- IZABELLA

Nanomateriale avansate pentru aplicații biomedicale

Teză de doctorat

Rezumat

Conducător științific:

Prof. Dr. Ing. Graziella – Liana TURDEAN

Cluj-Napoca

2024

Cuprins rezumat	
Cuprins rezumat	2
Cuprins teză	4
Cuvinte cheie	7
Introducere	7
I. Prezentare bibliografică	12
1. <i>Sisteme locale de livrare a medicamentelor</i>	12
1.1. Studiul mecanismului de eliberare	12
2. <i>Biomateriale pentru sistemele locale de livrare a medicamentelor</i>	14
2.1. Bioceramici	14
2.2. Biomateriale polimerice.....	14
2.3. Biomateriale metalice (implanturi)	15
II. Contribuții originale	17
Obiectivele tezei	17
3. <i>β-TCP, β-TCP dopat cu Si-, respectiv cu Mg sintetizat prin metoda de co-precipitare pentru livrarea controlată a medicamentelor</i>	19
3.1. Etape experimentale	19
3.2. Rezultate și discuții.....	19
3.2.1. Studiu de optimizare.....	19
3.2.2. X-ray diffraction analysis	19
3.2.3. Morfologia particulelor.....	20
3.2.4. Studiul de adsorbție a Doxy.....	21
3.2.5. Studiul de eliberare a medicamentului	22
3.2.6. Mecanismul de eliberare a medicamentelor	23
3.3. Concluzii parțiale	24
4. <i>Efectul compoziției chimice și morfologiei biomaterialelor pe bază de hidroxiapatită asupra proprietăților de eliberare a medicamentelor</i>	25
4.1. Condiții experimentale	25
4.2. Rezultate și discuții.....	25

4.2.1.	Analiza morfologiei și dimensiunii particulelor	25
4.2.2.	Determinarea conținutului de Doxy	26
4.2.3.	Eliberarea Doxy din nanopulberi pe bază de HA.....	27
4.2.4.	Eliberarea Doxy din microsferile pe bază de HA.....	28
4.2.5.	Efectul mediului de eliberare asupra eliberării Doxy	29
4.3.	Concluzii parțiale	31
5.	<i>Investigarea acoperirilor optimizate de acid polilactic/hidroxiapatită/doxiciclină pe suprafețele aliajelor de titan.....</i>	32
5.1.	Partea experimentală	32
5.2.	Rezultate și discuții.....	32
5.2.1.	Studiu de optimizare.....	32
5.2.2.	Caracterizarea morfologică a acoperirilor	34
5.2.3.	Comportamentul față de coroziune	35
5.2.4.	Investigarea eliberării de Doxy	36
5.2.5.	Studiu cinetic al eliberării.....	37
5.3.	Concluzii parțiale	37
6.	<i>Investigarea în timp real a eliberării doxiciclinei prin metodă electrochimică</i>	39
6.1.	Condiții experimentale	39
6.2.	Rezultate și discuții.....	39
6.2.1.	Investigarea comportamentului electrochimic al Doxy.....	39
6.2.2.	Studiul de eliberare în timp real a Doxy.....	41
6.2.3.	Validarea metodei DPV	41
6.2.3.1.	Metodologie independentă de model.....	42
6.2.3.2.	Metodologie dependentă de model.....	43
6.3.	Concluzii parțiale	44
III.	Concluzii generale	45
Referințe	53

Cuprins teză

Preface.....	2
Table of contents.....	4
List of abbreviations and symbols.....	9
Introduction.....	11
I. Bibliographic Overview.....	16
1. <i>Oral pathology and orthopedic issues. Contemporary solutions and risks</i>	16
1.1. Structure of teeth and bones.....	16
1.2. Diseases and Treatments.....	16
2. <i>Drug delivery systems</i>	18
2.1. Local drug delivery systems in orthopedics and dentistry.....	19
2.2. Local antibiotic therapy.....	21
2.3. In vitro release study.....	23
2.4. Study of the release mechanism.....	25
3. <i>Biomaterials for local drug delivery systems</i>	29
3.1. Biomaterials.....	29
3.2. History of biomaterials.....	30
3.3. Classification of biomaterials.....	31
3.4. Bioceramics.....	32
3.4.1. Tricalcium phosphate.....	34
3.4.2. Hydroxyapatite.....	37
3.4.2.1. Drying techniques. Mini spray dryer.....	40
3.5. Polymeric biomaterials.....	41
3.5.1. Nanofibers. Electrospinning.....	42
3.5.2. Poly (lactic acid).....	44
3.5.3. PLA and PLA-based composite nanofibers.....	46
3.6. Metallic biomaterials.....	48
3.6.1. Implant materials.....	48
3.6.2. Surface modification, Dip-coating technique.....	50
3.6.3. Biocompatible and bioactive coatings.....	51
3.6.4. Combined use of metal implants and drug delivery systems.....	53
II. Original contribution.....	55
Objectives of the thesis.....	55
4. <i>β-TCP, Si- and Mg-doped β-TCP synthesized by co-precipitation method for controlled drug delivery</i>	57
4.1. Experimental steps.....	57
4.1.1. Materials.....	57
4.1.2. Synthesis of β -TCP and ion-doped β -TCP.....	58
4.1.3. Physicochemical characterization.....	58
4.1.3.1. X-ray diffraction analysis.....	58
4.1.3.2. Morphological and chemical analysis.....	59
4.1.3.3. Analysis of particle size.....	59
4.1.3.4. Thermogravimetric and differential thermal analyses.....	59
4.1.4. Doxy adsorption study.....	59
4.1.5. Drug release study.....	60
4.1.6. Drug release mechanism.....	61
4.2. Results and discussions.....	61
4.2.1. Preliminary experiments.....	61
4.2.2. X-ray diffraction analysis.....	62
4.2.3. Thermal gravimetric and differential thermal analysis.....	65

4.2.4. Morphological and chemical properties of samples	67
4.2.5. Doxy adsorption study	71
4.2.6. Drug release study	72
4.2.7. Drug release mechanism	76
4.3. Partial conclusions	77
5. <i>The impact of hydroxyapatite-based biomaterials' chemical composition and morphology on their drug release characteristics</i>	79
5.1. Experimental part	79
5.1.1. Materials	79
5.1.2. Synthesis of HA	80
5.1.3. Synthesis of ion-doped HA	80
5.1.4. . Methods of drying precipitations	81
5.1.5. Carrier characterization	82
5.1.5.1. Particle size analysis	82
5.1.5.2. Scanning electron microscopy and Energy-dispersive X-ray spectroscopy analysis	82
5.1.5.3. Powder X-ray diffraction analysis	82
5.1.5.4. Thermal analysis	83
5.1.5.5. Determination of specific surface area (SSA) and porosity	83
5.1.6. The Doxy loading process	84
5.1.7. Measurement and characterization of release profiles	84
5.2. Results and discussions	85
5.2.1. Crystallographic analysis	85
5.2.2. Particle size and morphological analysis	87
5.2.3. The chemical composition of the samples	91
5.2.4. Thermal stability of the prepared samples	93
5.2.5. Determination of Doxy content	95
5.2.6. Determination of SSA and porosity	96
5.2.7. Measurement and characterization of release profiles	99
5.2.7.1. Doxy release from HA-based nanopowders	99
5.2.7.2. Doxy release from HA-based microspheres	102
5.2.7.3. Drug release studies	103
5.2.7.4. Effect of release media on Doxy release	105
5.2.7.5. Discussion of Doxy release profiles from different carriers	110
5.3. Partial conclusions	112
6. <i>Investigation of optimized poly(lactic acid)/hydroxyapatite/ doxycycline coatings on titanium alloy surfaces</i>	114
6.1. Materials and methods	114
6.1.1. Materials	114
6.1.2. Preparation of Ti64 specimens	115
6.1.3. Preparation of PLA and PLA/HA coating, for preliminary experiments	115
6.1.4. Preparation of polymer-based coating for experimental design	115
6.1.5. Experimental design	116
6.1.6. Preparation of drug-containing composite coatings	117
6.1.7. Characterisation of prepared coatings	118
6.1.7.1. Characterization of surface morphology and composition	118
6.1.7.2. Coating thickness	118
6.1.7.3. Thermal stability	118
6.1.7.4. Wettability analysis	119
6.1.8. Investigation of corrosion behaviour in vitro	119

6.1.9. Spectrophotometric investigation of drug release.....	119
6.1.10. Drug release study.....	120
6.2. Results and discussion.....	120
6.2.1. Preliminary experiment.....	120
6.2.2. Optimization study.....	123
6.2.3. Morphological and elemental characterization of PLA, PLA_HA, PLA_D5, and PLA_HA_D5 coatings.....	134
6.2.4. Thermogravimetric analysis.....	136
6.2.5. Analysis of surface wettability.....	139
6.2.6. In vitro corrosion behaviour.....	140
6.2.7. Investigation of Doxy release.....	146
6.2.8. Release kinetics study.....	147
6.3. Partial conclusions.....	149
7. <i>Real-time investigation of Doxycycline release by electrochemical method</i>	151
7.1. Materials and methods.....	151
7.1.1. Materials.....	151
7.1.2. Preparation of Doxy nanofiber carriers.....	152
7.1.3. Characterization of electrospun mats.....	152
7.1.3.1. Scanning electron microscopy.....	152
7.1.3.2. Fourier transform infrared spectroscopy.....	153
7.1.4. Drug loading process.....	153
7.1.5. In situ drug release study.....	153
7.1.6. Drug release kinetics study.....	154
7.2. Results and discussion.....	155
7.2.1. Morphological discussion of nanofibers.....	155
7.2.2. FT-IR spectroscopy analysis of nanofibrous carriers.....	156
7.2.3. Loading of Doxy.....	158
7.2.4. Investigation of the electrochemical behavior of Doxy.....	159
7.2.4.1. Cyclic Voltammetry.....	160
7.2.4.2. Influence of input signal parameters on DP voltammograms.....	161
7.2.5. Doxy release study using an electrochemical method.....	162
7.2.5.1. Determination of calibration curve.....	162
7.2.5.2. Real-time release study of Doxy.....	163
7.2.6. Validation of the DPV method.....	166
7.2.6.1. Comparison of DPV drug release profiles with UV-VIS release profiles.....	166
7.2.6.2. Model-independent methodology.....	167
7.2.6.3. Model-dependent methodology.....	168
7.3. Partial conclusions.....	171
III. General conclusions.....	173
Dissemination of results.....	181
References.....	183

Cuvinte cheie

purtători locali de medicamente; cinetica de eliberare; doxiciclină; hidroxiapatită; poli(acid lactic); nanofibre; acoperiri; monitorizare în timp real

Introducere

În ultimele decenii, progresul enorm în domeniul sistemelor de eliberare a medicamentelor (DDS) capabile de transportul agenților cu efect terapeutic în organism a condus la realizări semnificative, cum ar fi administrarea de medicamente cu eliberare susținută sau dispozitive implantabile încărcate cu medicamente. În plus, apariția explozivă a nanotehnologiei a condus la rezultate uimitoare și în medicină, făcând posibilă utilizarea noilor DDS. Cu toate că proiectarea acestor DDS necesită o combinație de tehnologii, datorită nanomedicinei, livrarea țintită a substanței active este acum realizabilă.

Revoluția în administrarea medicamentelor poate avea loc, datorită DDS-lor bazate pe purtători cu dimensiuni nanometrice. Aceste sisteme sunt capabile să depășească atât barierele fizice, cât și cele biologice, așa că pot oferi o eliberare controlată și de lungă durată. Un grup de DDS este reprezentat de sistemele locale de livrare a medicamentelor (LDDS). Eficacitatea lor constă în îmbunătățirea semnificativă a efectului terapeutic la locul țintă, minimizând astfel posibilele reacții adverse.

Aplicațiile ortopedice și dentare ale LDDS s-au dovedit benefice la nivel global. Utilizarea lor este justificată și necesară, deoarece, deși implanturile sunt biocompatibile și în mare parte bioactive, doar câteva dintre aceste materiale au proprietăți antimicrobiene. LDDS pot oferi soluții pentru tratamentul zonelor inflamatorii sau predispuse la infecții și chiar pentru prevenirea dezvoltării infecțiilor. Aplicarea locală a terapiei cu antibiotice minimizează, de asemenea, dezvoltarea altor boli. Îmbunătățirea indicelui terapeutic și dezvoltarea în comun a purtătorilor de medicament-biomaterial reduc semnificativ riscul de respingere a implantului și pot oferi o soluție pentru tratamentele pe termen lung.

Cu toate acestea, multe progrese și dezvoltări sunt încă rezultatele cercetării de bază. Implementarea efectivă a sistemelor potențial aplicabile în diverse domenii ale medicinei poate reprezenta o dezvoltare la scară uriașă. Cu toate acestea, există încă numeroase deficiențe care trebuie abordate. În ciuda numeroaselor studii care raportează utilizarea benefică a terapiei locale de antibiotice, standardizarea lor nu a fost încă realizată. Din cauza acestor dezavantaje și neajunsuri, încă nu există un DDS clar. Problema personalizării complică și mai mult problema de proiectare și dezvoltare. În cazul majorității LDDS, mecanismul terapeutic

complet, necesar pentru aplicarea lor nu este încă bine cunoscut, iar cercetările reflectă opinii și rezultate diferite chiar și pentru dispozitive specifice. Acestea includ probleme legate de biocompatibilitate, siguranță, stabilitate și control. Dincolo de limitările științifice, rezolvarea scalei și gestionare barierelor tehnologice necesită, de asemenea, o dezvoltare ulterioară.

Scopul acestei teze de doctorat este de a crește eficacitatea tratamentului bolilor țesuturilor dure prin cercetarea și dezvoltarea unor LDDS, care să permită o terapie țintită și eficientă.

Principala componentă anorganică a oaselor și a dinților este hidroxiapatita (HA), un biomaterial care poate fi ușor preparat sintetic. Utilizarea în medicină este posibilă datorită structurii chimice similare cu apatita biologică. Adesea numit „standardul de aur” al biomaterialelor, HA este cunoscută de mult timp că accelerează procesele de vindecare după intervenții chirurgicale legate de implant. Pe lângă faptul că este biocompatibilă, este și bioactivă. Cercetările de astăzi depășesc caracterizările fizice, mecanice și biologice a materialului. Tendințele actuale de dezvoltare se concentrează pe investigarea HA ca purtător de substanțe active. Deci, conform direcțiilor de cercetare, rezultatele prezentate în teză sunt concentrate în principal pe aplicarea HA ca LDDS, în trei sisteme diferite: pulbere, film compozit polimeric și nanofibre polimerice.

Cu toate acestea, pe lângă HA, și alți fosfați de calciu sunt adecvați pentru înlocuirea osoasă. Un exemplu în acest sens este β -fosfatul tricalcic (β -TCP) bioresorbabil, care, datorită proprietăților sale biologice excelente, poate fi utilizat în ingineria țesuturilor. Odată implantat, eliberarea ionilor de calciu și fosfat duce la formarea apatitei asemănătoare oaselor, echilibrând procesele de formare a osului și atașarea la țesutul dur existent.

Deși proprietățile biologice ale acestor fosfați de calciu (CaP) sunt incontestabile, aplicabilitatea lor este împiedicată de proprietățile fizice și mecanice slabe. Anumite procedee, cum ar fi formarea compozitelor cu polimeri sau substituția ionică, pot îmbunătăți semnificativ aceste proprietăți și pot deschide numeroase noi posibilități de aplicații. Substituția ionică are și alte avantaje. De exemplu încorporarea argintului sau zincului în structură are ca rezultat efecte antibacteriene ale biomaterialului. Atât HA, cât și β -TCP, substituite cu silice sau magneziu, joacă un rol important în procesele fiziologice, facilitând în primul rând procesele de regenerare.

După cum se poate observa din acest rezumat, teza de doctorat a fost structurată pe două părți principale. *Prezentarea bibliografică* oferă o descriere cuprinzătoare a sistemelor locale de eliberare a medicamentelor și a biomaterialelor adecvate ca purtători de substanță activă

(bioceramice, biopolimeri, biomateriale metalice). În urma unei analize amănunțite a literaturii de specialitate, secțiunea *Contribuția originală* conturează obiectivele și scopurile celor patru capitole. Prezentarea părților experimentale urmează o structură similară, incluzând secțiunea materiale și metode (etape experimentale), rezultate și discuții, și concluzii.

Urmând tendințele actuale de cercetare, primele două capitole ale contribuției originale a tezei se concentrează pe studierea capacităților de eliberare a medicamentelor din CaP menționați anterior. Ca medicament de testare a fost aleasă doxiciclina (Doxy), care, pe lângă faptul că este un antibiotic cu spectru larg, prezintă o afinitate mare față de diverși compuși de CaP. Astfel, în capitolul 4 intitulat **„ β -TCP, β -TCP dopat cu Si-, respectiv cu Mg sintetizat prin metoda de co-precipitare pentru livrarea controlată a medicamentelor”**, a fost investigată eliberarea de Doxy din purtătorii menționați în titlu.

În general, metoda de co-precipitare permite prepararea diverselor morfologii ale CaP, inclusiv formarea de structuri de agregate poroase. Porii nu numai că servesc ca locuri active pentru procesele de formare osoasă, dar eliberare redusă a medicamentului poate fi ușor realizată prin structuri poroase. Difuzia moleculelor de medicament prinse în pori este împiedicată, facilitând eliberarea de lungă durată. Prezența ionilor străini favorizează, de asemenea, efectul retard, care are ca rezultat o difuzie mai lentă a substanței active. Mai mult, cantitatea de medicament eliberată poate fi controlată de conținutul inițial de medicament. Prin creșterea conținutului inițial de substanță activă, se poate obține o scădere semnificativă a vitezei de dizolvare.

În capitolul cinci al tezei (**„Efectul compoziției chimice și morfologiei biomaterialelor pe bază de hidroxiapatită asupra proprietăților de eliberare a medicamentelor”**), a fost examinat mecanismul de eliberare a Doxy din HA și din HA dopată cu ioni, preparați prin metoda co-precipitării. În esență, acesta este un studiu comparativ care discută factorii care influențează eliberarea medicamentului. În procesele *in vitro* a fost studiat impactul compoziției chimice și morfologiei pulberii de HA și importanța mediului de dizolvare. Majoritatea probelor prezentau un comportament corespunzător sistemelor controlate prin difuzie.

Obținerea eliberării controlate a medicamentului depinde de proiectarea atentă a sistemului, dar și de parametrii procesului. Procesele de proiectare iau în considerare principalele mecanisme de eliberare, astfel încât sistemul care urmează să fie dezvoltat să poate fi pre-reglat. Analiza profilurilor experimentale de eliberare, determinarea și caracterizarea

mecanismelor de eliberare a medicamentului ajută la înțelegerea și discutarea gradului în care parametrii și modelarea sistemului vor influența cerințele terapeutice.

Mediul complex al corpului uman și limitările locale ale locului terapeutic necesită adesea utilizarea unor LDDS mai complicate, care necesită proiectarea și dezvoltarea diferitelor morfologii. Astfel, mergând mai departe în cercetarea noastră, a fost implementat HA (cu morfologie regulată de microsferă) cu conținut de Doxy, pentru acoperirile de implant. Al șaselea capitol al secțiunii experimentale (Contribuția originală) a tezei se bazează pe combinația de materiale metalice implantabile și LDDS. Funcționalizarea suprafeței implantului cu LDDS poate duce la o reducere drastică a complicațiilor postoperatorii. Obiectivul principal al acestor dispozitive este prevenirea infecțiilor. Substanța activă poate fi aplicată corespunzător pe suprafața implantului folosind polimeri biocompatibili. Cel mai important rol al HA în funcționalizarea suprafeței implantului este de a îmbunătăți biocompatibilitatea și de a promova procesele fiziologice.

În cercetarea prezentată, acoperirile preparate prin metoda dip-coating sunt pe bază de poli(acid lactic) (PLA). PLA este un polimer biodegradabil și biocompatibil cu o importanță medicală semnificativă. Este utilizat în diverse domenii medicale, inclusiv în ingineria țesuturilor. Este potrivit pentru eliberarea diferitelor molecule active, iar proprietățile specifice ale polimerului au un impact semnificativ asupra eliberării.

În capitolul intitulat **„Investigarea acoperirilor optimizate de acid polilactic/hidroxiapatită/doxiclină pe suprafețele aliajelor de titan”**, au fost studiate factorii care influențează porozitatea acoperirilor polimerice. Porozitatea joacă un rol crucial nu numai în bioactivitate, ci și în mecanismele de eliberare a medicamentelor și în rezistența la coroziune. Proiectarea experimentală, inclusiv metoda suprafeței de răspuns a planului Box-Behnken, este potrivită pentru optimizarea diametrului mediu al porilor și a grosimii acoperirilor, examinarea efectului parametrilor experimentali și reducerea semnificativă a numărului de experimente care trebuie efectuate. Succesul proiectării constă în eficiența acestuia în comparație cu alte metode similare de suprafață de răspuns.

Parametrii de proces permit prepararea acoperirilor poroase de PLA și de PLA/HA încărcate cu Doxy. Aditivii aduc modificări în proprietățile acoperirii de PLA. De exemplu, acestea au un efect semnificativ asupra umectabilității. Prin urmare se modifică și rezistența la coroziune. Livrarea medicamentelor poate fi controlată de proprietățile chimice și fizice ale acoperirii. Prin urmare, datorită faptului, că acoperirile sunt alcătuite din nanomateriale de natură diferită, eliberarea medicamentului, prin mai multe etape, poate fi realizabilă. Eliberarea controlată prin mai multe etape este recomandat de terapia antibiotică locală.

Profitând de noile tendințe și oportunități în proiectarea și dezvoltarea LDDS, proprietățile de purtător de medicamente ale HA au fost investigate într-o abordare morfologică nouă, și anume în nanofibre preparate prin electrofilare. Nanofibrele, datorită texturii, nu sunt potrivite pentru implanturi osoase, ci mai degrabă pentru aplicații în intervenții stomatologice, cum ar fi inserarea în buzunarul parodontal. Cu toate acestea, sunt cunoscute, de asemenea, numeroase aplicații medicale, de exemplu, livrarea țintită a substanțelor terapeutice, ingineria țesuturilor sau pansamentul rănilor.

Utilizarea nanofibrelor ca purtători locali de medicamente arată o importanță deosebită în cercetare. Procesul de legare a medicamentului este crucial pentru eliberarea acestuia. Există mai multe metode pentru prepararea nanofibrei încărcate cu medicament: medicamentul poate fi încapsulat în fibre, în timpul procesului de electrofilare, sau poate fi legat pe suprafața acestora prin metoda de post-electrofilare. În acest din urmă caz, eliberarea secvențială este ușor de realizat, deoarece în prima etapă moleculele slab legate sunt eliberate relativ repede. Proprietățile polimerului au control asupra următoarelor etape.

În capitolul „**Investigarea în timp real a eliberării doxiciclinei prin metoda electrochimică**”, scopul a fost examinarea eliberării medicamentului din nanofibrele încărcate cu Doxy, legate prin adsorbție fizică. Această parte de cercetare s-a concentrat pe inovarea monitorizării *in vitro* a eliberării medicamentelor.

Efectuarea și repetarea experimentelor *in vitro* sunt esențiale în proiectarea și dezvoltarea LDDS. Cinetica de eliberare nu este însă influențată doar de parametrii discutați până acum în teză, ci și de metoda de măsurare, de investigare. De exemplu, procesele de diluare asociate cu eșantionarea continuă, în timp ce simulează fluxul de fluide în organism, pot influența mecanismul de eliberare. Spectrofotometria UV-VIS și HPLC sunt metode convenționale de măsurare intermitente, pentru care eșantionarea este esențială. Dintre metodele electrochimice, tehnicile voltametrice pot fi utilizate cu suficientă precizie și sensibilitate corespunzătoare pentru măsurarea *in situ* a eliberării medicamentului. O astfel de metodă este voltametria puls-diferențială (DPV). În comparație cu metodele tradiționale, DPV este o procedură mai ieftină și mai simplă, permițând măsurători mai rapide fără intervenția oricăror factorilor externi.

Partea finală a tezei conține *concluziile generale* ale cercetării, *valorificarea rezultatelor* obținute în timpul stagiului de doctorat și *referințele bibliografice* utilizate pentru susținerea și explicarea rezultatelor obținute.

I. Prezentare bibliografică

1. Sisteme locale de livrare a medicamentelor

Sistemele de livrare a medicamentelor (DDS) pot fi definite cel mai simplu ca fiind dispozitive care sunt adecvate pentru introducerea țintită a unuia sau a mai multor agenți terapeutici în organism [1-2]. Posibilitățile oferite de nanotehnologie s-au dovedit a fi promițătoare, în special sistemele biomaterial-medicament, care sunt de o importanță deosebită. Datorită proprietăților lor unice, acestea oferă o oportunitate nouă și benefică în practica clinică [3].

Utilizarea biomaterialelor ca purtători locali de medicamente devine din ce în ce mai frecventă în diferite domenii ale medicinei, inclusive în stomatologie și în ortopedie. Deși există multe deficiențe în acest domeniu [4], LDDS permite eliberarea medicamentului direct la locul terapeutic [5]. Utilizarea LDDS este posibilă în mai multe domenii dentare, cum ar fi bolile bucale [6-7], anestezie [8], stomatologia restaurativă [9], parodontologie și endodonție [10], prostodonție [11] și implantologie [12]. Utilizarea LDDS la locul țintă crește semnificativ eficacitatea medicamentului [13]. Eliberarea controlată este importantă și realizabilă, deoarece proiectarea permite controlul în locul țintă. Un alt avantaj este că se poate influența perioada de eliberare, respectiv viteza de eliberare [14]. Studiile au arătat că utilizarea acestui tip de sistem reduce timpul de vindecare [15] și îmbunătățește osteointegrarea [16].

1.1. Studiul mecanismului de eliberare

În timpul proiectării și dezvoltării LDDS, o atenție deosebită a fost acordată sistemelor care asigură eliberarea controlată a medicamentelor. Difuzia joacă un rol crucial în majoritatea acestor sisteme reglementate [17-19]. Fenomenul difuziei este de obicei definit ca un proces de transfer de masă în care forța motrice este gradientul de concentrație. Difuzia este de o importanță crucială în domeniul farmaceutic și medical, deoarece, pe lângă controlul eliberării medicamentului, este responsabilă și de absorbția substanței active în țesutul sau celula țintă. [20].

Dezvoltarea continuă a științei și a interdisciplinarității a făcut posibilă pre-specificarea profilului de eliberare al unui DDS dat prin efectuarea diferiților algoritmi de calcul. Modelele matematice și observațiile experimentale permit analiza eliberării medicamentului *in vitro* și *in vivo*. Combinarea corectă a metodelor de analiză ajută la înțelegerea mecanismului, oferind astfel răspunsuri la întrebările conexe.

Tabel 2: Cele mai utilizate modele matematice care descriu cinetica eliberării medicamentului.

Model cinetic	Ecuatie matematică	S.N.	Principalele caracteristici ale modelului
Ordinul zero	$Q_t = Q_0 - k_0 * t$	(3)	<ul style="list-style-type: none"> ○ Eliberarea este independentă de concentrația inițială a medicamentului; ○ Eliberare constantă
Ordinul întâi	$\log Q_t = \log Q_0 + \frac{k_1 * t}{2.303}$	(4)	<ul style="list-style-type: none"> ○ Eliberarea este dependentă de concentrația inițială a medicamentului; ○ Eliberare susținută
Higuchi	$Q_t = k_H * t$	(5)	<ul style="list-style-type: none"> ○ Eliberare conform difuziei descrise de legea lui Fick; ○ Direct proporțional cu rădăcina pătrată a timpului
Hixson-Crowell	$Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = k_{HC} * t$	(6)	<ul style="list-style-type: none"> ○ Eliberare controlată de dizolvare; ○ Schimbări de suprafață a sistemului
Korsmeyer-Peppas	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = k_{KP} * t^n$	(7)	<ul style="list-style-type: none"> ○ Valoarea coeficientului de difuzie n determină mecanismul de eliberare a substanței active <ul style="list-style-type: none"> ● $n < 0.5$: difuzie care respectă parțial legea lui Fick ● $n = 0.5$: difuzie care respectă legea lui Fick ● $0.5 < n < 1$: difuzie anormală <ul style="list-style-type: none"> ● $n = 1$: transport de cazul II ● $n > 1$: transport de super cazul II

unde: Q_t cantitatea de medicament eliberat în momentul t ; Q_0 este cantitatea inițială de medicament; Q_∞ este cantitatea de medicament eliberată în momentul ∞ ; k_0 , k_1 , k_H , k_{HC} , și k_{KP} sunt constantele de viteză de eliberare de ordinul zero, de ordinul întâi, conform modelului Higuchi, conform modelului Hixson și conform modelului Korsmeyer-Peppas; n este exponentul de difuzie

În cazul modelului Korsmeyer-Peppas, limita exponentului de difuzie (n) poate varia în funcție de geometria probei. Astfel, pentru un film subțire, $n = 0,5$, pentru o particulă sferică, $n = 0,45$, iar pentru o particulă cilindrică, $n = 0,43$ [22].

Pentru a studia cinetica eliberării medicamentului pot fi utilizate mai multe metode, care pot fi grupate după cum urmează: metode statistice, metode dependente de model și metode independente de model. Pentru a înțelege cinetica eliberării medicamentului și pentru a prezice comportamentul sistemului, este necesar să se utilizeze abordări dependente de model. Acestea

sunt funcții matematice care descriu procesul de eliberare. **Tabelul 2** prezintă principalele modele cinetice, ecuațiile asociate și caracteristicile cheie [21].

2. Biomateriale pentru sistemele locale de livrare a medicamentelor

Biomaterialele includ toate substanțele sau combinațiile de materiale care pot fi încorporate în corpul uman și al căror efect îmbunătățește sau menține calitatea vieții. Prin urmare, aplicarea lor poate avea două scopuri principale: diagnostic și/sau terapeutic [23]. Acestea sunt, în general, dispozitive care completează sau înlocuiesc anumite tipuri de țesut natural sau sintetic. Atunci când biomaterialele sunt implantate în organism, ele interacționează cu acesta, iar biocompatibilitatea lor determină răspunsul organismului [24].

2.1. Bioceramici

Bioceramica, sau biomaterialele pe bază de ceramică constau din molecule în care elementele metalice sau nemetalice sunt legate prin legături covalente sau ionice. Desigur, este posibil ca ambele tipuri de legături să fie prezente în aceeași moleculă [25]. Cel mai mare și cel mai semnificativ grup de materiale care aparțin bioceramicelor sunt fosfații de calciu (CaP). CaP sunt capabile să se integreze în mediul fiziologic într-un timp scurt și cu risc minim [26].

Fosfatul tricalcic (TCP) este unul dintre cei mai importanți compuși din grupa CaP bioresorbabili. Formula generală este $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, raportul Ca/P este de 1,5 și greutatea moleculară este de 310,17 g/mol. Din punct de vedere cristalografic, β -TCP aparține cristalelor romboedrice cu grupa spațială R3c. Datorită proprietăților biologice specifice, este potrivit pentru aplicarea în ingineria țesuturilor, atât în tratamentul oaselor, cât și al dinților [27].

Hidroxiapatita este adevăratul „standard de aur” al biomaterialelor, este folosită atât în ortopedie, cât și în stomatologie. Formula generală este $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, unde raportul Ca/P al HA stoichiometrică este 1,67, în timp ce pentru HA nestoichiometrică este între 1,5 și 1,67 [28], iar greutatea moleculară este de 502,31 g/mol. HA este principala componentă anorganică a oaselor, dinților și smalțului dentar. În acest fel, HA sintetică este ușor recunoscută și acceptată de organism. Are proprietăți biologice excelente, este bioactivă, biocompatibilă, osteoinductivă, osteoconductivă și osteointegrativă [29]. HA poate avea rolul de schelet osos, acoperire de implant și de purtător de molecule active [29-31]. Suprafața HA promovează interacțiunea dintre purtător și substanță activă [32], și între purtător și celule [33].

2.2. Biomateriale polimerice

Un alt grup important de biomateriale adecvate pentru livrarea medicamentelor sunt polimerii. Polimerii sunt macromolecule construite din monomeri legați covalent [34]. Sunt

materiale frecvent folosite atât în știință, cât și în viața de zi cu zi [35]. De asemenea, au un rol remarcabil ca purtători de substanțe active [36], de exemplu sub formă de filme și acoperiri [37-38], microfibre și nanofibre [39-40].

Conform definiției generale, nanofibrele polimerice sunt structuri cilindrice cu un diametru de până la câțiva 100 nm și un raport de aspect mai mare de 50 [41]. Procesul de electrofilare s-a dovedit a fi cel mai potrivit pentru prepararea nanofibrelor continue, majoritatea metodelor fiind potrivite doar pentru obținerea fibrelor discontinue.

Poli(acidul lactic) (PLA) este un compus biocompatibil, netoxic, necancerigen, iar produșii de degradare sunt, de asemenea, netoxici [42-43]. Utilizarea PLA în tratamente terapeutice a fost deja aprobată de FDA în 1970 [44]. În prezent, este folosit în tratamentul cancerului, medicina regenerativă, îngrijirea rănilor, ingineria țesuturilor, stenturi, domeniile dentare și ortopedice, precum și ca purtător de medicamente. [43-45]. PLA s-a dovedit a fi potrivit atât pentru livrarea moleculelor mici de medicamente [46], cât și pentru proteine mari și acizilor nucleici [47].

2.3. Biomateriale metalice (implanturi)

În implantologia țesuturilor dure, Ti și aliajele de Ti sunt cele mai frecvent utilizate [48-49], urmate de oțelul inoxidabil 316L [50] și aliajul pe bază de cobalt [51-52]. Ti pur și aliajele pe bază de Ti atrag o atenție semnificativă atât în domeniul medical, cât și în știința materialelor. Principala sa aplicație este înlocuirea completă a osului și/sau a dinților. Printre aliajele de Ti, implanturile realizate din aliajul Ti-6Al-4V (Ti64) satisfac mai mult de 50% din nevoi. [53]. Acest aliaj bioinert are o rigiditate semnificativ mai mare decât osul uman [54]. Proprietățile sale avantajoase în comparație cu alte aliaje metalice, de asemenea frecvent utilizate, sunt densitatea relativ scăzută ($4,5 \text{ g/cm}^3$) și modulul de elasticitate scăzut (110 GPa) [55].

Modificarea sau chiar funcționalizarea suprafeței duce la implanturi cu proprietăți biologice și mecanice îmbunătățite [56-57]. Eficiența terapeutică poate fi obținută prin creșterea biocompatibilității și bioactivității suprafețelor, care promovează osteointegrarea și îmbunătățesc dezvoltarea interacțiunilor dintre implant și țesuturile înconjurătoare. Omogenitatea, grosimea uniformă și porozitatea sunt criterii cruciale pentru adecvarea acoperirilor. Procesul de imersie în trei etape este potrivit pentru prepararea unor acoperiri poroase cu grosime adecvată și proprietăți controlate.

Datorită dezvoltărilor științifice, este posibilă combinarea implanturilor metalice cu DDS, astfel încât acestea au un rol de eliberare locală a medicamentelor. Terapia combinată s-a dovedit a fi o metodă de tratament mai benefică. Substanța activă nu este aplicată direct pe

suprafața implantului. De obicei este necesară o matrice purtătoare pentru a obține un sistemul adecvat [9]. Pe de o parte, matricea purtătoare are un rol protector și de control asupra eliberării cu succes a moleculelor active la locul țintă și, pe de altă parte, trebuie să îndeplinească proprietățile așteptate, tipice acoperirilor [58].

II. Contribuții originale

Obiectivele tezei

Cercetarea acestei teze de doctorat își propune să contribuie la studiul, dezvoltarea și optimizarea sistemelor locale de livrare a medicamentelor care contribuie la creșterea eficacității tratamentului bolilor țesuturilor dure. În cadrul LDDS, accentul tezei este pus pe terapia locală cu antibiotice, investigarea sistemelor a fost studiată cu doxiciclină (un antibiotic cu spectru larg). Scopul central este de a dezvolta și prepara sisteme care asigură eliberarea susținută a medicamentului. Un alt obiectiv cheie este realizarea mecanismului de eliberare adecvat printr-un studiu amănunțit al factorilor care influențează procesul de eliberare.

Scopul a fost de a investiga CaP, în primul rând ca sistem purtător de medicamente. Justificarea subiectului a fost susținută printr-o analiză detaliată a literaturii de specialitate, întrucât, deși numeroase studii discută această temă, posibilitatea utilizării acestor pulberi ca purtători locali de medicament încă necesită investigații și dezvoltări. Mai precis, scopul principal al tezei a fost de a investiga și înțelege mecanismul de eliberare a Doxy, luând în considerare aspecte precum structura chimică și morfologia purtătorului sau efectul conținutului inițial de medicament al sistemului. Mai mult, a fost de a studiată eliberarea *in vitro* nu numai din pulberile de înlocuitori de os, ci și din nanofibrele polimerice și filmele compozite polimerice. O atenție deosebită a fost acordată efectului HA asupra proprietăților acestor sisteme.

Pe baza acestor obiective prezentate, teza de doctorat a fost structurată pe patru capitole, ale căror obiective individuale sunt enumerate mai jos.

1. β -TCP, β -TCP dopat cu Si-, respectiv cu Mg sintetizat prin metoda de co-precipitare pentru livrarea controlată a medicamentelor

- Optimizarea reacției de co-precipitare pentru sinteza de β -TCP pur și β -TCP dopat cu ioni biologic activi (Mg^{2+} sau SiO_4^{4-})
- Caracterizarea purtătorilor folosind metode convenționale de caracterizare a materialelor
- Examinarea pulberilor de β -TCP ca LDDS în condiții *in vitro*

2. Efectul compoziției chimice și morfologiei biomaterialelor pe bază de hidroxiapatită asupra proprietăților de eliberare a medicamentelor

- Prepararea pulberilor de HA, HA dopată cu silice și HA dopată cu Mg, cu eliberare susținută de Doxy, prin metoda co-precipitării. Caracterizarea purtătorilor,

precum și investigarea efectului sursei de silice (utilizată în reacție) asupra proprietăților pulberilor.

- Prepararea pulberilor pe bază de HA, cu morfologii deosebite, prin diferite tehnici de uscare (metoda convențională prin etuvă și uscare prin pulverizare) și compararea acestor pulberi din punct de vedere al purtătorilor locali de medicamente
- Investigarea detaliată a factorilor care influențează eliberarea Doxy (compoziție chimică, morfologie, mediul de eliberare), precum și demonstrarea efectului cantității inițiale de substanță activă, inclusiv în cazul pulberilor pe bază de HA.

3. Investigarea acoperirilor optimizate de acid polilactic/hidroxiapatită/doxiciclină pe suprafețele aliajelor de titan

- Prepararea de acoperiri de PLA și de PLA-HA poroase cu conținut Doxy folosind o metoda simplă de acoperire prin imersie
- Optimizarea porozității și grosimii acoperirilor pentru a obține o eliberare controlată și de lungă durată a Doxy
- Caracterizarea acoperirilor și investigarea proprietăților anticorozive, prin metodă electrochimică

4. Investigarea în timp real a eliberării doxiciclinei prin metoda electrochimică

- Prepararea nanofibrelor de PLA și PLA cu conținut de HA, prin metoda de electrofilare și legarea substanței active (Doxy) pe nanofibre prin metodă de post-electrospinare
- Inovarea măsurării *in vitro* a eliberării Doxy, monitorizarea *in situ*, în timp real a eliberării medicamentului, fără eșantionare, folosind metoda voltametriei puls diferențială
- Verificarea metodei electrochimice folosind măsurători spectrofotometrice UV-VIS și validarea rezultatelor prin abordări dependente de model și prin abordări independente de model

3. β -TCP, β -TCP dopat cu Si-, respectiv cu Mg sintetizat prin metoda de co-precipitare pentru livrarea controlată a medicamentelor

3.1. Etape experimentale

Pe baza literaturii actuale, proprietățile de livrare a medicamentului ale fosfaților tricalcic sunt mai puțin investigate. Prin urmare, s-a propus ca prima parte a tezei de doctorat să se ocupe cu investigarea β -TCP pur, β -TCP substituit cu SiO_4^{4-} sau Mg^{2+} ca purtători locali de medicament. Ionii de silice, respective de magneziu, care sunt în prezent în centrul cercetării privind regenerarea osoasă, au fost utilizați pentru dopajul ionic. Experimentele au fost efectuate cu un antibiotic cu spectru larg, doxiciclina.

Pulbere pură de β -TCP și diferitele β -TCP dopate cu ioni au fost sintetizate prin metoda simplă și controlabilă de co-precipitare, urmată de tratament termic. Caracterizarea probelor preparate au fost investigate folosind difracția cu raze X (XRD), analiză termică (TG), microscopia electronică de baleiaj (SEM), spectroscopia de raze X cu dispersie de energie (EDX) și analizor de dimensiunea particulelor (PSA). Studiul de adsorbție și eliberare a Doxy a fost realizat prin metoda spectrofotometrică.

3.2. Rezultate și discuții

3.2.1. Studiu de optimizare

Metoda de co-precipitare a fost optimizată empiric pentru a prepara β -TCP de înaltă puritate. Analiza termică și măsurătorile de XRD au fost utilizate pentru a studia reacția și pentru a analiza puritatea fazelor și cristalinitatea probelor. Reacția condusă timp de 2 ore (la pH=8), urmată de tratarea termică a precipitatului la 900 °C au dus la formarea de β -TCP în fază pură. β -TCP dopate cu ioni au fost sintetizate în aceste condiții corespunzătoare.

3.2.2. X-ray diffraction analysis

Rezultatele analizelor de XRD ale probelor substituite cu ioni sunt prezentate în **Figura 10**. Din grafic reiese că atât probele dopate cu silice, cât și cele dopate cu magneziu prezintă vârfuri de difracție care se potrivesc îndeaproape cu datele pentru vârfurile standard ale β -TCP.

Substituția ionică a dus la deplasarea vârfurilor caracteristice [59]. Modificările cristalografice induse de substituția ionilor cationici au fost mult mai semnificative decât în cazul dopajului cu silice, unde s-au observat doar unele mici diferențe în intensitatea vârfurilor. Comparând difractogramele β -TCP pur și β -TCPMg, s-a observat o deplasare semnificativă către valori mai mari ale vârfurilor de difracție. De exemplu, vârfurile caracteristice identificate la 46,91° și 52,95° s-au deplasat la valori de 47,42°, respectiv, 53,4° [60]. Încorporarea cu succes

a Mg în structură a fost indicată și de scăderea gradului de cristalinitate în comparație cu β -TCP pur. Prezența ionilor de Mg a împiedicat cristalizarea, conform celor văzute anterior [61], în timp ce silicea a promovat procesul de cristalizare.

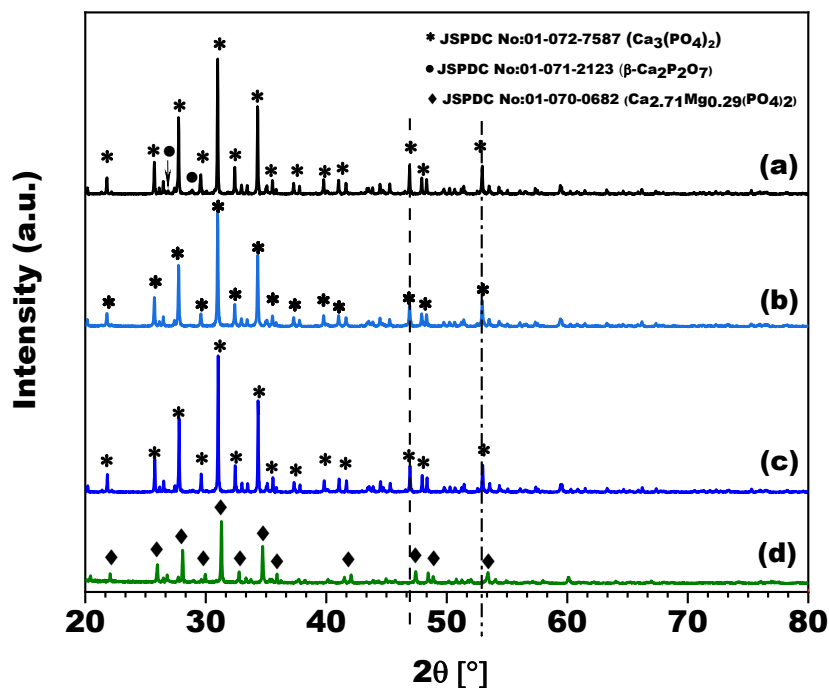


Figura 10: Difractogramele XRD ale (a) β -TCP, (b) β -TCPSi(1), (c) β -TCPSi(2), și (d) β -TCPMg

3.2.3. Morfologia particulelor

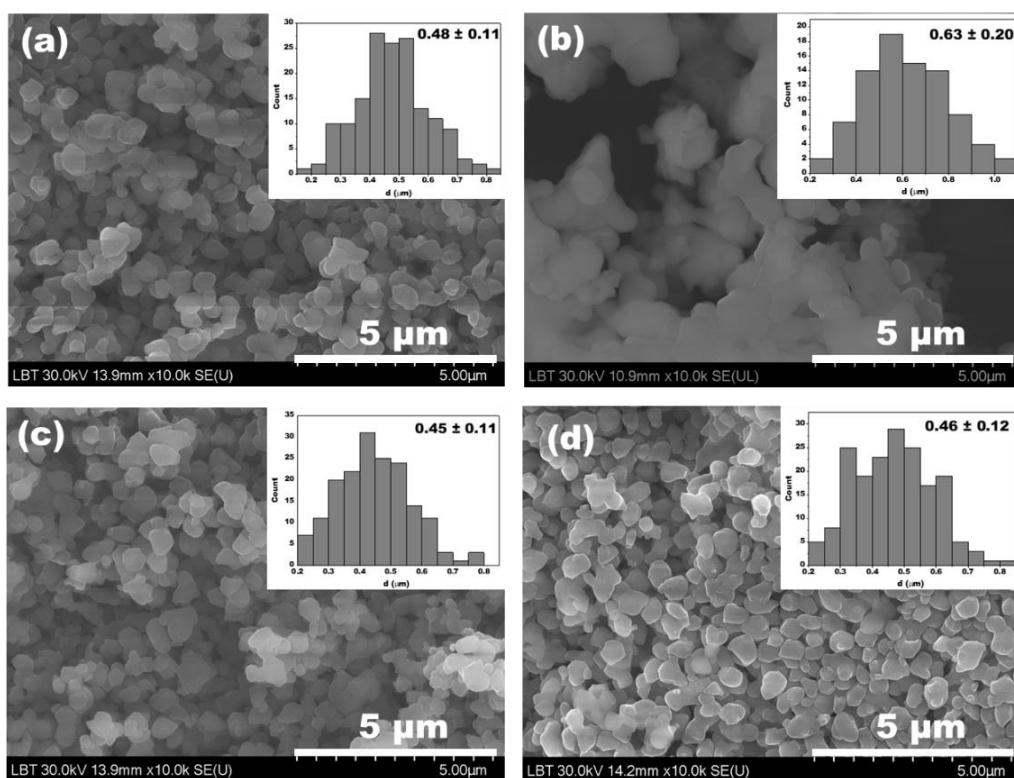


Figura 12: Morfologia probelor (a) pure β -TCP, (b) β -TCPMg, (c) β -TCPSi(1), (d) β -TCPSi(2) și histogramele corespunzătoare care prezintă distribuția diametrelor particulelor (insert)

Morfologia particulelor de β -TCP, β -TCPMg, β -TCPSi(1), și β -TCPSi(2), preparate la 900 °C au fost prezentate în **Figura 12**. Particulele de β -TCP au fost predominant uniforme, și de formă sferică. Distribuția mărimii particulelor a scăzut într-un interval îngust, cu un diametru mediu al particulelor de 480 nm. Nu au fost observate modificări semnificative cauzate de substituția cu silice, morfologia particulelor a fost destul de similară, indiferent de sursa de silice utilizată în timpul sintezei. Prezența silicei, a condus la o ușoară scădere a dimensiunii particulelor (450 și 460 nm pentru β -TCPSi(1) respectiv β -TCPSi(2) [62]. Particulele au tendință de agregare. Formarea agregatelor poroase a fost cel mai evident în cazul β -TCPMg, unde diametrul mediu al particulelor a fost mai mare, 630 nm.

Dimensiunea nano a pulberilor a fost verificată folosind un PSA. Particulele individuale au format agregate mai mari și nu au fost prezente ca particule individuale în materialul în vac. Dimensiunea medie a particulelor a fost între 0,635 și 0,887 μ m. Această dimensiune reală a particulelor este mai decisivă din punct de vedere a capacității de adsorbție decât dimensiunea particulelor individuale [63].

3.2.4. Studiul de adsorbție a Doxy

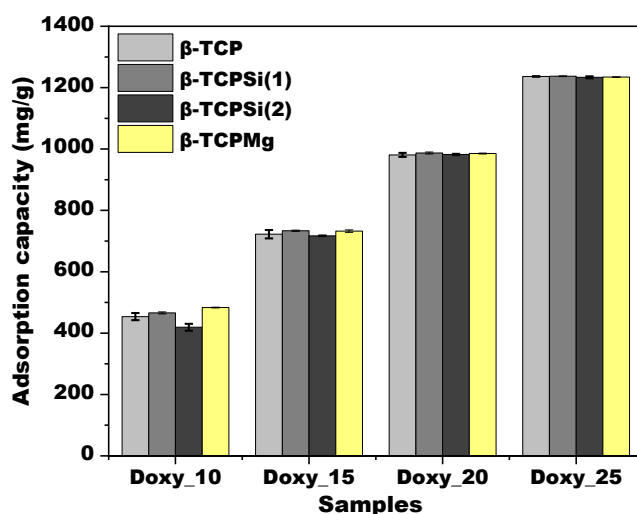


Figura 15: Capacitatea de adsorbție (mg/g) a probelor de (a) β -TCP pur, (b) β -TCPMg, (c) β -TCPSi(1), (d) β -TCPSi(2) la diferite concentrații inițiale de Doxy

Pentru fiecare probă s-au obținut valori ridicate ale capacității de adsorbție, variind între 419 mg/g (β -TCPSi(2)_Doxy_10) și 1237 mg/g (β -TCPSi(1)_Doxy_25). Această afinitate ridicată între moleculele de Doxy și purtătorii de β -TCP, este o caracteristică promițătoare din punct de vedere al eliberării medicamentului. Indiferent de prezența sau absența ionului străini, s-a observat o tendință clară de creștere a cantității de substanță activă legată pe purtător cu creșterea concentrației inițiale a soluției de medicament. După cum se poate vedea în **Figura**

15, efectul concentrației soluției de Doxy utilizată pentru adsorbție a fost crucială. Prin creșterea concentrației de la 10 g/L la 25 g/L, probele au arătat o creștere de aproape trei ori a capacității de adsorbție. Rolul cheie al concentrației medicamentului în procesul de încărcare prin adsorbție fizică a fost, de asemenea, raportat în studii similare [64-65].

3.2.5. Studiul de eliberare a medicamentului

Profilurile de eliberare ale sistemelor au fost comparate în funcție de două aspecte. În primul rând, a fost investigat efectul conținutului inițial de medicament pentru același purtător iar, în al doilea rând, au fost discutate diferențele în profilurile de eliberare pe baza compoziției chimice a purtătorilor. Profilurile de eliberare a Doxy (Figura 16) au prezentat o tendință similară de creștere, indiferent de compoziția chimică a sistemelor investigate. În majoritatea probelor cu conținut scăzut de Doxy inițială, s-a observat o eliberare în două etape: o eliberare inițială bruscă, urmată de o eliberare mai lentă, susținută. Această eliberare bruscă a fost cauzată de difuzia rapidă și intensă a moleculelor slab legate pe suprafața purtătorului [66].

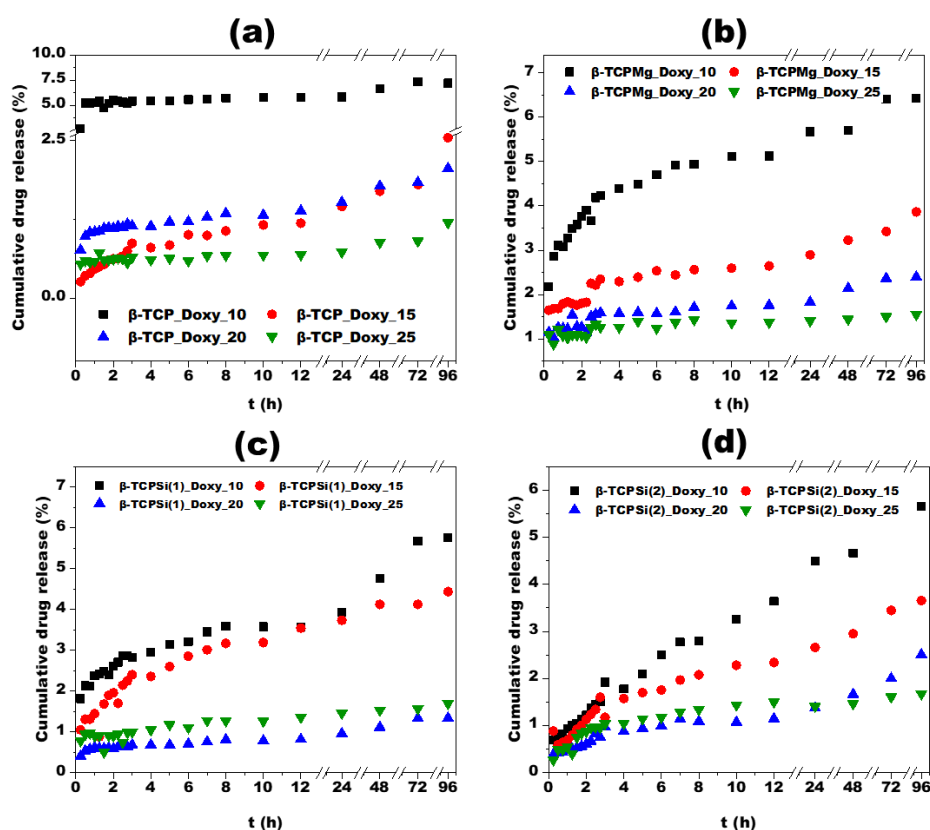


Figura 16: Profilurile de eliberare cumulativă a Doxy din sistemele pe bază de (a) β -TCP pur, (b) β -TCPMg, (c) β -TCPSi(1), and (d) β -TCPSi(2)

Creșterea conținutului de Doxy absorbit în diferite probe a condus la o scădere a cantității de medicament eliberat, de exemplu, 7,5 % s-a eliberat din proba β -TCP_Doxy_10 și 1,25%

din sistemul β -TCP_Doxy_25. Această tendință a fost observată și în cazul utilizării pulberilor dopate. Moleculele de medicamente pot fi cauza acestui fenomen, interacțiunile Doxy-Doxy sunt probabil mai puternice. În acest fel, eliberarea rapidă de pe stratul de suprafață a fost împiedicată.

În cazul probelor cu un conținut inițial mic de Doxy s-a remarcat un efect retard. Comparând probele β -TCP_Doxy_10, β -TCPSi(1)_Doxy_10, β -TCPSi(2)_Doxy_10 și β -TCPMg_Doxy_10, cea mai mare cantitate de substanță activă eliberată a fost măsurată pentru purtătorul de β -TCP pur. În comparație cu CaP pur, CaP care conține silice sunt capabile să formeze interacțiuni secundare mai puternice cu substanța activă. [67-68]. Mai precis, se creează interacțiuni mai puternice cu grupările de Si-OH, astfel încât apare efectul retard. Asta înseamnă că o cantitate mai mică de medicament este eliberată în timp [69].

3.2.6. Mecanismul de eliberare a medicamentelor

Tabel 5: Studiul cinetic a eliberării *in vitro* a medicamentului

<i>Samples</i>	<i>Zero-order</i>	<i>First-order</i>	<i>Hixson-Crowell</i>	<i>Higuchi</i>		<i>Korsmeyer-Peppas</i>		
	R ²	R ²	R ²	R ²	k _H	R ²	k _{KP}	n
<i>β-TCP_Doxy_10</i>	0.554	0.564	0.561	0.651	0.284	0.620	4.769	0.094
<i>β-TCP_Doxy_15</i>	0.841	0.843	0.842	0.945	0.211	0.976	2.09	0.357
<i>β-TCP_Doxy_20</i>	0.855	0.856	0.856	0.959	0.116	0.957	1.005	0.139
<i>β-TCP_Doxy_25</i>	0.910	0.867	0.911	0.911	0.054	0.707	1.729	0.098
<i>β-TCPMg_Doxy_10</i>	0.594	0.600	0.598	0.793	0.402	0.941	3.263	0.171
<i>β-TCPMg_Doxy_15</i>	0.767	0.771	0.770	0.905	0.230	0.933	1.812	0.154
<i>β-TCPMg_Doxy_20</i>	0.743	0.746	0.745	0.876	0.138	0.886	1.255	0.138
<i>β-TCPMg_Doxy_25</i>	0.436	0.437	0.435	0.599	0.054	0.806	1.029	0.080
<i>β-TCPSi(1)_Doxy_10</i>	0.846	0.851	0.849	0.961	0.410	0.983	2.314	0.192
<i>β-TCPSi(1)_Doxy_15</i>	0.583	0.587	0.586	0.785	0.370	0.860	1.532	0.274
<i>β-TCPSi(1)_Doxy_20</i>	0.884	0.885	0.885	0.974	0.094	0.953	1.812	0.179
<i>β-TCPSi(1)_Doxy_25</i>	0.609	0.611	0.611	0.761	0.102	0.673	1.168	0.148
<i>β-TCPSi(2)_Doxy_10</i>	0.756	0.762	0.760	0.919	0.609	0.958	1.028	0.422
<i>β-TCPSi(2)_Doxy_15</i>	0.731	0.735	0.734	0.895	0.336	0.899	1.099	0.331
<i>β-TCPSi(2)_Doxy_20</i>	0.862	0.864	0.864	0.952	0.208	0.958	1.888	0.324
<i>β-TCPSi(2)_Doxy_25</i>	0.433	0.435	0.434	0.639	0.130	0.792	1.600	0.281

Înțelegerea precisă a cineticii, a mecanismului de eliberare și, prin urmare, controlabilitatea vitezei de eliberare este crucială în dezvoltarea LDDS. Pe parcursul studiului

diferite modele au fost aplicate datelor de eliberare obținute, iar cele mai potrivite modele au fost alese și discutate. **Tabelul 5** prezintă coeficienții de determinare ai modelelor examinate și constantele de eliberare pentru modelele Higuchi și Korsmeier-Peppas.

Reprezentarea grafică a cantității de Doxy eliberată din sistemele β -TCP_Doxy_20, β -TCP_Doxy_25, β -TCPSi(1)_Doxy_20 și β -TCPSi(1)_Doxy_25 în funcție de rădăcina pătrată a timpului a arătat o relație liniară strânsă, sugerând că eliberarea din aceste sisteme se potrivește modelului Higuchi. În consecință, eliberarea din aceste sisteme a avut loc prin difuzie conform legii lui Fick.

Cu excepția celor patru sisteme menționate, profilurile de eliberare au fost ajustate cu modelul Korsmeier-Peppas. Valorile lui n (exponent de difuzie) au avut valori cuprinse între 0,08 și 0,422 (pentru toate probele), inferioare valorii critice de 0,45. Astfel, eliberarea din aceste sisteme s-a realizat prin difuzie care respecta parțial legea lui Fick [70] [71]. Sistemele, deși au avut un comportament foarte similar cu comportamentul descris de prima lege de difuzie a lui Fick, au prezentat o deviație de acesta. Complexitatea eliberării s-a datorat probabil interacțiunilor moleculare și a eterogenităților microstructurale. [72] [73].

3.3. Concluzii parțiale

Structurile agregate poroase s-au dovedit a fi avantajoase în ceea ce privește legarea și încărcarea medicamentului (eficiență de adsorbție de 95-99%). Eliberarea de medicament a arătat un comportament regulat în majoritatea cazurilor. Datele experimentale *in vitro* s-au potrivit cel mai bine cu modele Higuchi și Korsmeier-Peppas. Difuzia conform celei descrise de legea lui Fick, respectiv cea care respecta parțial legea lui Fick indiferent de compoziția chimică a purtătorului pe bază de β -TCP, poate fi controlată de conținutul inițial de medicament al sistemului. Valorile constantelor Higuchi (kH) și Korsmeier-Peppas (kKP) au confirmat o scădere semnificativă a vitezei de eliberare odată cu creșterea conținutului inițial de medicament în probă.

Pe de altă parte, o rată de eliberare mai mare se poate atinge cu o încărcare scăzută de medicament. În acest caz, a fost demonstrat și efectul retard datorită dopajului ionic. Atât prezența Mg, cât și a silicei a îmbunătățit eliberarea susținută și de lungă durată a medicamentului.

În general, partea asta de cercetare a evidențiat faptul că, prin metode simple, cum ar fi substituția ionică sau modificarea conținutului inițial de medicament al sistemului, sistemele de livrare a medicamentelor bazate pe β -TCP pot fi adaptate cu ușurință pentru a satisface diferite nevoi terapeutice.

4. Efectul compoziției chimice și morfologiei biomaterialelor pe bază de hidroxiapatită asupra proprietăților de eliberare a medicamentelor

4.1. Condiții experimentale

Această parte a cercetării este un studiu comparativ care se concentrează pe eliberarea de antibiotice din diferite purtători pe bază de HA. Eliberarea Doxy a fost investigată pe baza compoziției chimice a HA, a morfologiei sale și a mediului de eliberare. Prepararea probelor a fost efectuată prin reacții de co-precipitare. Pentru obținerea diferitelor morfologii, au fost utilizate ca tehnici de uscare: uscarea convențională în etuvă și uscarea prin pulverizare. Nanopulberile și microsferile de HA rezultate au fost caracterizate prin metode de caracterizare frecvent utilizate în știința materialelor (PSA, SEM, EDX, XRD, TG și DTA, BET). Studiul de eliberare a Doxy a fost efectuat spectrofotometric, în SBF (fluid corporal simulat) și în PBS (soluție tampon fosfat) în volum constant de 45 ml, la 37 °C.

4.2. Rezultate și discuții

4.2.1. Analiza morfologiei și dimensiunii particulelor

În timpul măsurătorilor de dimensiuni a particulelor, s-au obținut următoarele valori pentru probele de HA, MgHA, HASi(1), și HASi(2): 686 ± 417 nm, 681 ± 464 nm, 574 ± 390 nm, and 880 ± 390 nm. Indiferent de compoziția chimică a purtătorului, uscarea tradițională a condus la aglomerarea particulelor. Caracteristicile de suprafață ale HA preparate prin co-precipitare, împreună cu repulsie electrostatică insuficientă, rezultă aderența particulelor [74-75]. Ca rezultat al procesului, s-au format particule cu morfologie și dimensiuni neregulate.

Prin schimbarea tehnicii de uscare, folosind un mini uscător cu pulverizare pentru uscarea suspensiei, s-au obținut probe cu morfologie sferică regulată. Din imaginile SEM reiese că microsferile nu sunt organizate sub forma de aglomerate, particulele fiind cu margini bine definite. Suprafața acestor microsferă prezintă o morfologie foarte interesantă, caracterizată printr-o structură neuniformă, asemănătoare cu cea a unei conopidă (**Figura 23**). Realizarea morfologiei interesante a fost posibilă, pe de o parte, de parametrii de operare al uscătorului cu pulverizare. Pe de altă parte, pregătirea minuțioasă a probei de uscat și realizarea unei suspensii suficient de fine și omogene au contribuit la succesul producerii de probe uniforme. [74].

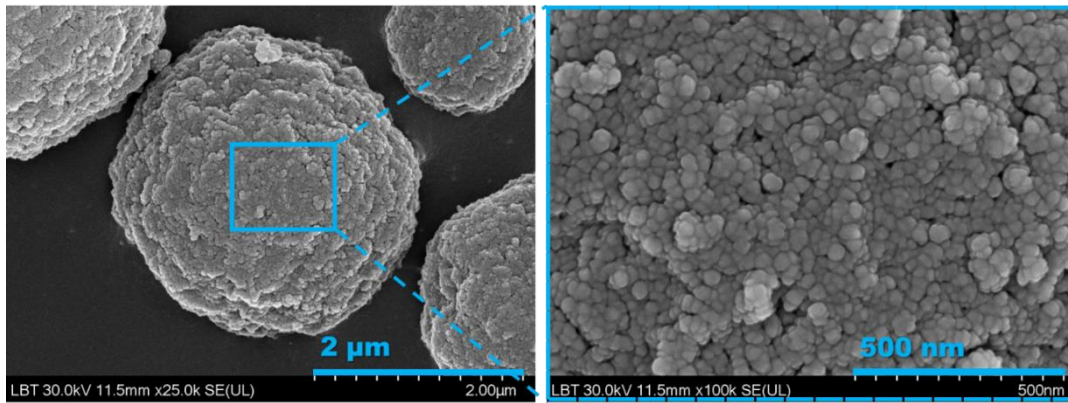


Figura 23: Structura de tip conopidă a probei HA_M

4.2.2. Determinarea conținutului de Doxy

Încărcarea cu medicament a probelor preparate și caracterizate s-a realizat prin adsorbție fizică, cu patru soluții de Doxy de concentrații diferite. Experimentele au fost repetate de trei ori, iar valorile medii ale capacității de adsorbție au fost prezentate sub forma de diagramele cu bare de erori din Figura 26.

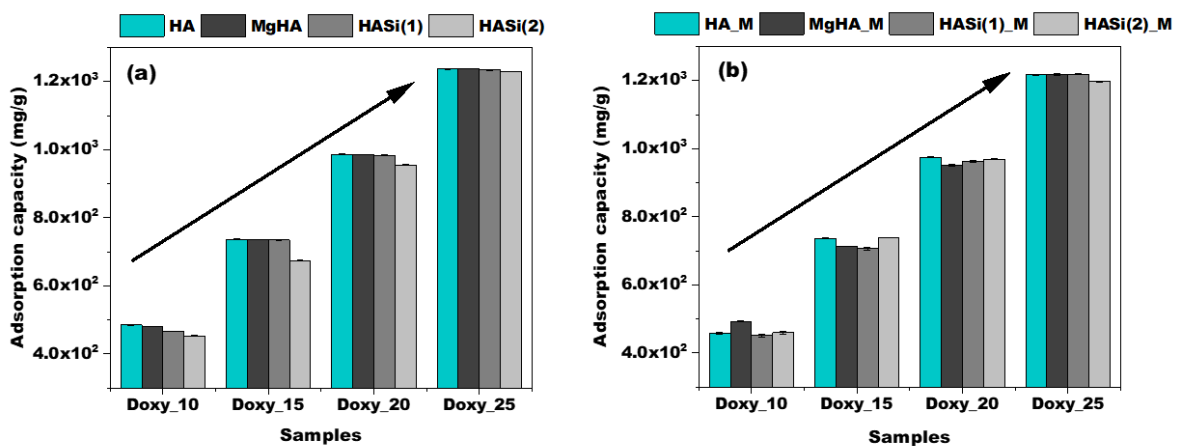


Figura 26: Capacitățile de adsorbție ale probelor grupate în funcție de morfologia lor ((a) particule neregulate și (b) microsferă regulate), și concentrația soluției inițiale de Doxy utilizată pentru adsorbție

Doxy a arătat o afinitate ridicată pentru CaP, iar capacitatea de adsorbție a purtătorului a fost dependentă, în principal, de concentrația medicamentului ($\geq 450 \text{ mg} \times \text{g}^{-1}$ pentru probele carrier_Doxy_10 și $\geq 1200 \text{ mg} \times \text{g}^{-1}$ pentru probele carrier_Doxy_25). Creșterea acestei valori a fost bine corelată cu creșterea conținutului de Doxy al probelor [76].

Cristalinitatea relativ scăzută a purtătorilor s-a dovedit a fi avantajoasă [77] în ceea ce privește capacitatea de adsorbție. Probele cu cristalinitate similară (HA, MgHA și HASi(1)) au prezentat o încărcare similară a Doxy, în timp ce capacitatea de adsorbție a HASi(2) a fost mai

mică. Acest lucru ar putea fi explicat prin cristalinitatea ridicată a purtătorului [78], care a afectat negativ procesul.

4.2.3. Eliberarea Doxy din nanopulberi pe bază de HA

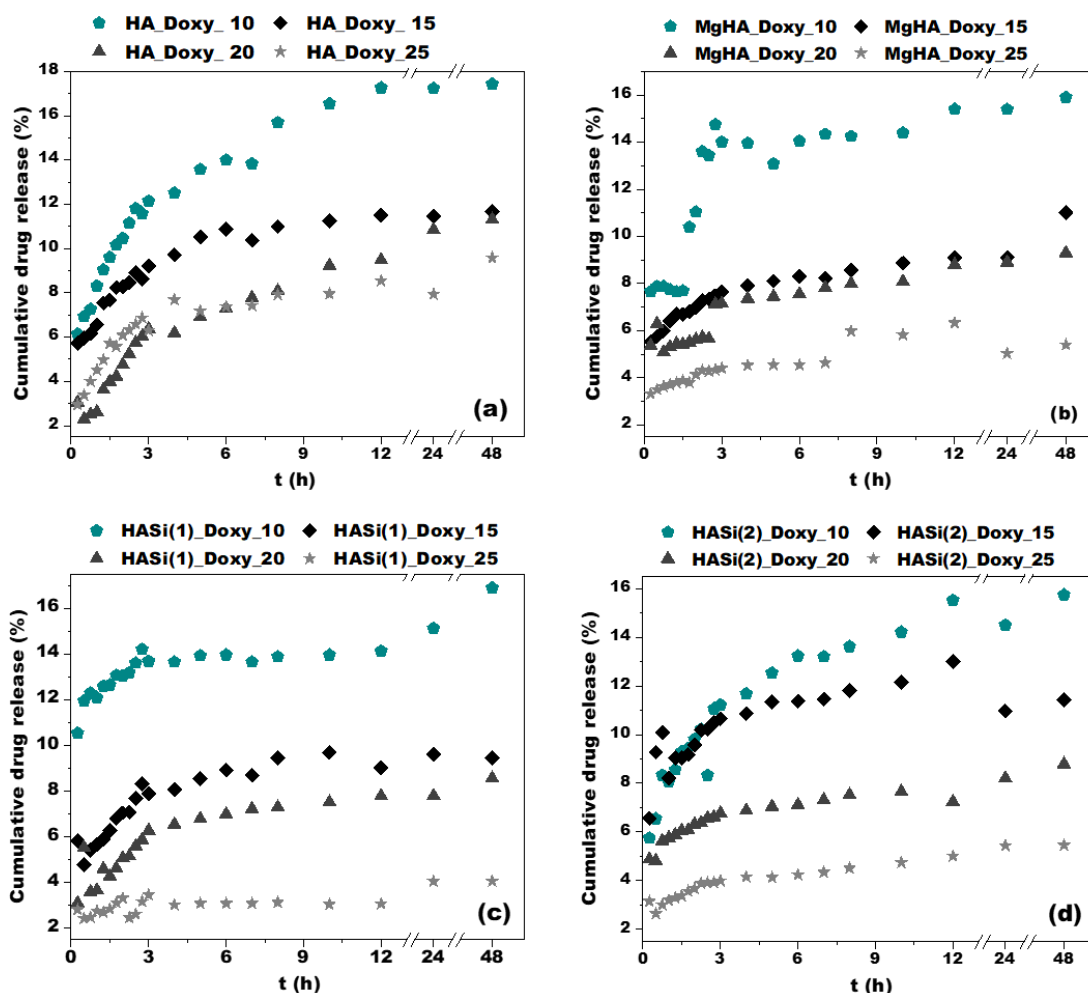


Figura 28: Profilurile de eliberare a Doxy din purtătorii de (a) HA, (b) MgHA, (c) HASi(1), și (d) HASi(2), bazate pe conținutul initial de medicament

Profilurile de eliberare a Doxy în SBF au fost similare cu profilurile de eliberare obținute pentru sistemele pe bază de β -TCP. Cu toate acestea, au fost observate diferențe semnificative în cantitatea de Doxy eliberată. Procentul cumulativ de eliberare a medicamentului pentru probele pe bază de HA a fost mult mai mare. În plus, pulberile de HA cu diferite compoziții chimice au prezentat o eliberare mai favorabilă a medicamentului.

Pe baza schimbării pantei curbelor, profilul de eliberare pot fi împărțit în două etape bine definite, caracterizate prin viteze de eliberare diferite. Practic, din momentul inițial al experimentului, primele 4 ore au fost determinate de eliberarea rapidă a moleculelor de Doxy slab legate la suprafață [79-80]. Acest fenomen este comun în cazul probelor încărcate cu medicament preparate prin adsorbție fizică [67,81]. A doua etapă de eliberare (între 4 și 48 de

ore) a fost caracterizată printr-o eliberare mult mai lentă, care a fost evidențiată și de cantitatea redusă de Doxy eliberată [32].

Analiza profilurilor de eliberare a medicamentului a arătat că creșterea conținutului inițial de Doxy în probă a condus la o scădere a eliberării inițiale bruscă. Acesta ar putea fi explicată prin interacțiunile puternice dintre moleculele de substanță activă [76]. Mai mult, cantitatea de Doxy eliberat din LDDS ar putea fi controlată de conținutul inițial al acestuia în sistem.

Substituția ionică conferă un efect retard purtătorului. Molecula de substanță activă poate forma interacțiuni mai puternice atât cu ionii Mg^{2+} [82-83], cât și cu grupările SiO_4^{4-} [68-69]. Atât în cazul purtătorilor cu conținut de silice, cât și de magneziu, cantitatea de Doxy eliberată a fost cu până la 4% mai mica, față de cantitatea eliberată de pe HA pură.

4.2.4. Eliberarea Doxy din microsferile pe bază de HA

În mod similar, în cazul purtătorilor cu morfologie sferică și compoziții chimice diferite, s-a evidențiat tendința de creștere a cantității de medicament eliberat în timp și dependența acestuia de conținutul inițial de Doxy.

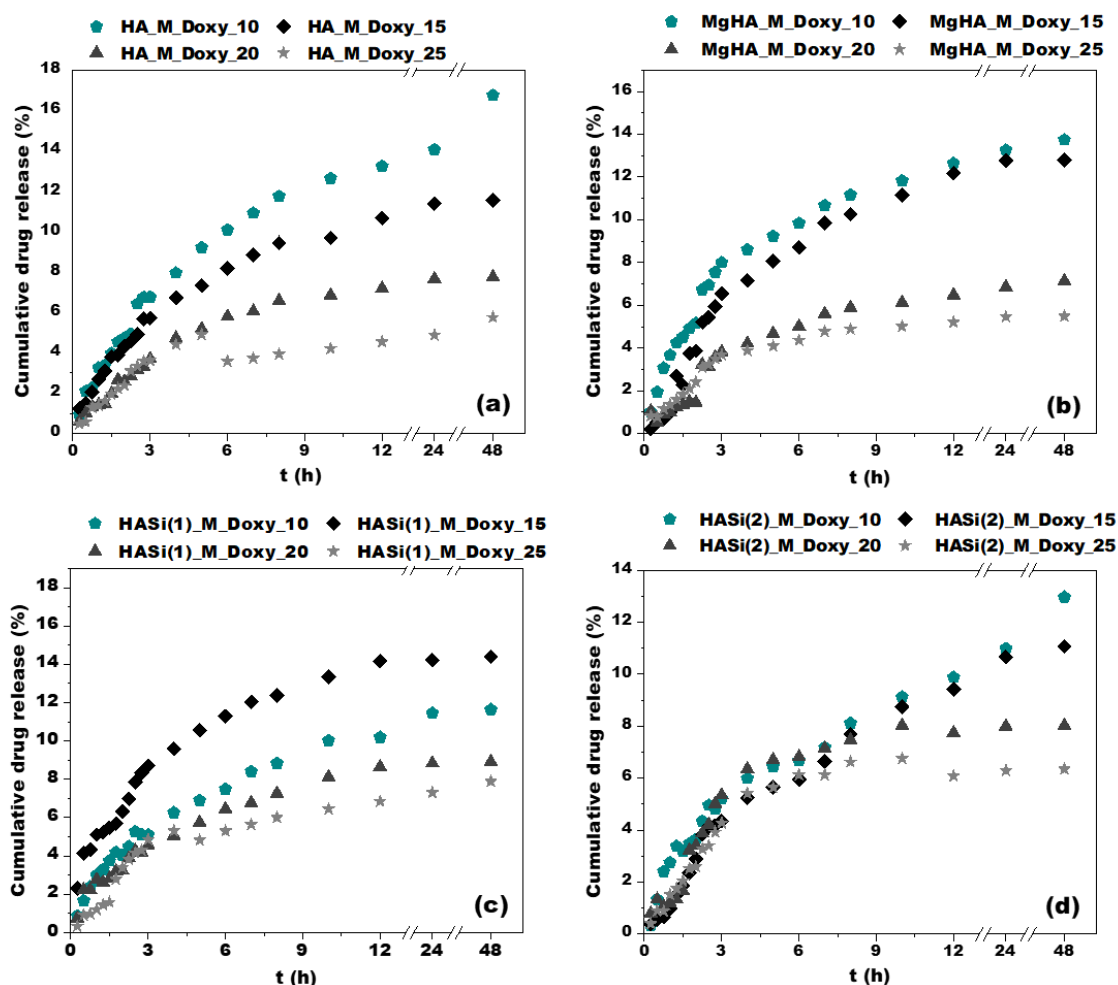


Figura 29: Profilurile de eliberare obținute pentru microsferile de (a) HA_M, (b) MgHA_M, (c) HASi(1)_M, și (d) HASi(2)_M cu diferite conținuturi de Doxy

Cele două etape de eliberare pot fi, de asemenea, bine definite și în cazul acestor sisteme. Etapa de eliberare bruscă a fost mult mai graduală și continuă decât în cazul nanoporilor. Nu a fost observat eliberarea inițială bruscă de tip treaptă, punctul de pornire a fiecărei profil fiind la 0 sau aproape de 0. Profilurile reprezentate grafic în funcție de conținutul inițial de medicament nu au deviat semnificativ unul față de celălalt.

Sistemele studiate și discutate în această secțiune au arătat un efect retard mai regulat și mai puternic decât sistemele pe bază de nanopulberi. În comparație cu structurile de aglomerate poroase, suprafața sferică mai uniformă din punct de vedere energetic și cu porozitate asemănătoare conopidei au permis formarea unor interacțiuni secundare mai puternice între Doxy și purtătorul dat [84]. Natura acestor interacțiuni a determinat viteza de eliberare și cantitatea Doxy eliberată [78] pe parcursul întregului proces studiat.

Eliberarea întârziată datorită prezenței ionilor de Mg^{2+} și grupărilor de SiO_4^{4-} (efectul retard) a fost observată numai în cazul probelor cu conținut inițial scăzut de Doxy. Cu toate acestea, deoarece acest efect nu a fost demonstrat în mod clar în cazul sistemelor cu încărcări mai mari de Doxy (în timp ce era vizibil în cazul aglomeratelor de nanopulberi cu morfologie iregulată), morfologia s-a dovedit a fi un parametru crucial [76].

4.2.5. Efectul mediului de eliberare asupra eliberării Doxy

Așa cum arată porțiunea ascendentă a curbelor de eliberare, eliberarea substanței active în PBS a fost mult mai intensă cu o viteză de eliberare mai mare decât în SBF. Eliberarea de Doxy din nanopulberi nu a prezentat o creștere bruscă din momentul 0 a experimentelor, procesul a fost caracterizat printr-o creștere graduală și continuă (în ceea ce privește cantitatea de Doxy eliberată).

Eliberarea Doxy în PBS a arătat un comportament mai regulat, însă cu tendințe diferite de cele măsurate în SBF. Aceste observații au fost susținute de calcule cinetice ulterioare. De asemenea, au fost evidențiate proprietățile îmbunătățite ale eliberării medicamentului în cazul purtătorilor cu morfologie sferică regulată în comparație cu aglomeratele de nanopulberi cu morfologie iregulată.

În cazul acestor sisteme, cu proprietăți bioactive, în SBF, pe lângă eliberarea medicamentului, are loc de obicei un alt proces și anume formarea unui strat nou de apatită. Procesul este caracterizat prin schimb de ioni, care conduc la formare de cristale nestoichiometrice [85]. S-a monitorizat variația pH-ului sistemului. Conform ipotezei noastre, procesele de adsorbție și schimb de ioni în SBF și din SBF au jucat un rol important în

prevenirea eliberării bruște a moleculelor Doxy, astfel încât mai puțină Doxy a putut difuza decât în PBS [86].

4.2.6. Discuția profilurilor de eliberare a Doxy din diferiți purtători

Schimbările în transportul Doxy au fost examinate pe baza proprietăților chimice și morfologice ale biomaterialelor. **Tabelul 10** prezintă rezultatele analizei de regresie a datelor de eliberare a Doxy în cazul probelor cu conținut redus de medicament.

Influența morfologiei asupra eliberării Doxy a fost confirmată pe baza celei mai mari valori ale lui R^2 . Eliberarea din aglomeratele de nanopulbere a urmat modelul Korsmeyer-Peppas, în timp ce pulberile de HA cu morfologie sferică regulată și compoziție chimică diferită au prezentat eliberare conform modelului Higuchi.

Ca și în cazul sistemelor pe bază de β -TCP, eterogenitatea structurală a purtătorilor de nanopulberi a crescut complexitatea diferitelor interacțiuni (de exemplu, orientarea moleculelor de Doxy pe suprafață). Valorile lui n , cuprinse între 0,067 și 0,28 au arătat că difuzia moleculelor de medicament nu poate fi ajustată în totalitate cu comportamentul descris de lege de difuzie a lui Fick [87]. Coeficienții de difuzie, indiferent de compoziția chimică a purtătorului, au fost mici și au indicat influența unui fenomen fizico-chimic extern, altul decât procesul de eliberare [76,88]. În cazul acestor sisteme, a avut loc o difuzie care respectă parțial legea lui Fick.

Tabel 10: Calculele cinetice pentru profilurile de eliberare a medicamentului obținute în SBF

Samples	Mathematical model						
	<i>Hixson-Crowell</i>		<i>Higuchi</i>		<i>Korsmeyer-Peppas</i>		
	R^2	k_{HC}	R^2	k_H	R^2	k_{KP}	n
<i>HA_Doxy_10</i>	0.899	0.014	0.969	3.743	0.984	8.588	0.280
<i>HASi(1)_Doxy_10</i>	0.5348	0.002	0.660	0.918	0.838	12.370	0.067
<i>HASi(2)_Doxy_10</i>	0.878	0.011	0.941	3.101	0.950	8.167	0.251
<i>MgHA_Doxy_10</i>	0.523	0.010	0.685	2.969	0.745	9.206	0.233
<i>HA_M_Doxy_10</i>	0.931	0.016	0.987	4.457	0.980	2.997	0.670
<i>HASi(1)_M_Doxy_10</i>	0.943	0.012	0.991	3.216	0.975	2.678	0.597
<i>HASi(2)_M_Doxy_10</i>	0.943	0.011	0.982	3.023	0.884	2.131	0.709
<i>MgHA_M_Doxy_10</i>	0.876	0.014	0.962	4.002	0.951	3.384	0.620

Dopajul ionic nu a avut un impact semnificativ asupra procesului de difuzie a Doxy, în sensul că nu a fost observat o schimbare în mecanismul de eliberare pentru probele discutate. Încorporarea ionilor a avut effect asupra cantității eliberate de Doxy, prin efectul retard. Pentru purtătorii cu morfologie sferică regulată și eliberare controlată, valorile constantelor Higuchi pentru HA cu conținut de silice sau Mg au fost mai mici decât cele calculate pentru

HA_M_Doxy_10, ceea ce susține acest efect retard. Pe baza acestor rezultate, în SBF, difuzia medicamentului conform legii lui Fick ar putea fi ușor realizată prin modificarea morfologiei biomaterialului purtător [89-90].

4.3. Concluzii parțiale

Studiile de eliberare *in vitro* au arătat că cantitatea cumulativă de medicament eliberat poate fi influențat semnificativ prin modificarea conținutului inițial de substanță activă în LDDS. Sistemele cu încărcare mare de medicament au prezentat un transport prin difuzie anormală din cauza interacțiunilor puternice dintre moleculele de medicament.

Intensitatea procesului de eliberare a fost, de asemenea, influențat de prezența ionilor străini (de exemplu, din purtătorii cu conținut de Mg a fost eliberat semnificativ mai puțin Doxy decât din purtătorul de HA pură) și de concentrația de ioni a mediului de eliberare. Prezența atât a silicei, cât și a Mg au condus la efect retard. Rolul morfologiei s-a dovedit a fi crucial, purtătorii cu o suprafață mai uniformă din punct de vedere energetic (microsferele) au asigurat o eliberare mai controlată a Doxy. Eliberarea din aceste structuri a avut loc treptat. Pe baza calculelor cinetice, în SBF, sistemele studiate au arătat un comportament conform legii de difuzie a lui Fick. Datorită chimiei suprafeței purtătorilor, s-au format interacțiuni puternice, sugerând eliberarea susținută și de lungă durată. Acest lucru a fost confirmat de investigațiile efectuate în PBS, timp de 15 zile.

5. Investigarea acoperirilor optimizate de acid polilactic/hidroxiapatită/doxiciclină pe suprafețele aliajelor de titan

5.1. Partea experimentală

Scopul principal al acestei părți a fost prepararea și optimizarea acoperirilor poroase de PLA și PLA/HA. Rolul acestor acoperiri fiind acela de a asigura eliberarea susținută și controlată a Doxy. Optimizarea acoperirilor preparate prin metoda dip-coating s-a concentrat pe parametrii care influențează schimbarea diametrelor medii a porilor și a grosimii stratului de acoperire. Metodologia suprafeței de răspuns (RSM) a planului Box-Behnken a fost utilizată ca strategie experimentală, pentru optimizarea parametrilor operaționali. Planul a fost construit utilizând trei factori la trei niveluri. Concentrația soluției de PLA (A), viteza de retragere (B) și timpul de imersie (C) au fost alese ca variabile independente. Pentru a obține o acoperire suficient de groasă, cu diametrul mediu a porilor cât mai mare, a fost determinată valoarea fiecărui parametru experimental. Precizia modelului a fost verificată și experimental, acoperirile compozite cu conținut de Doxy au fost preparate la parametrii optimi de operare. Acoperirile au fost caracterizate prin metode SEM, EDX, TG și DTA. Grosimea a fost măsurată cu un Elcometer 456 și a fost investigată și umectabilitatea suprafeței. Comportamentul față de coroziune a fost examinat prin măsurători de polarizare potențiodinamică (PP) și spectroscopie de impedanță electrochimică (EIS). Eliberarea susținută de Doxy, controlată prin difuzie a fost demonstrată timp de 21 de zile.

5.2. Rezultate și discuții

5.2.1. Studiu de optimizare

Conform matricei de proiectare Box-Behnken (15 rulări), morfologia acoperirilor preparate a fost examinată prin metoda SEM. Filme cu pori deschiși au fost formate în fiecare rulare. Distribuția diametrului porilor, precum și dimensiunea medie a acestora, a variat în funcție de variabilele independente examinate. Alegerea soluțiilor de PLA cu concentrație relativ mare s-a dovedit a fi adecvată, deoarece vâscozitatea acestor soluții a fost suficientă pentru a stabiliza picăturile de vapori de apă condensăți responsabili de formarea porilor pe suprafață [91].

De asemenea, a fost investigată și grosimea acestor acoperiri. Soluția cu cea mai mică concentrație de PLA a rezultat în prepararea filmului cel mai subțire (20,31 μm), în timp ce filmul cu grosimea de 46,58 μm s-a dovedit a fi cea mai groasă. Vâscozitatea ridicată a soluției de polimer a favorizat formarea de acoperiri mai groase [92-93].

Pe baza acestor rezultate experimentale și folosind ecuația polinomială generală de ordinul doi, a fost obținută următoarea funcție de răspuns de regresie pentru diametrul mediu a porilor:

$$d_{av,pore}(\mu m) = 2.2813 + 0.3628 * conc + 0.033 * v + 0.129 * \tau - 0.2378 * conc^2 + 0.1052 * v^2 + 0.0292 * \tau^2 + 0.0237 * conc * v - 0.0748 * conc * \tau - 0.1618 * v * \tau \quad (22)$$

În mod similar, funcția de răspuns pentru modificarea grosimii acoperirii are forma:

$$THK(\mu m) = 33.463 + 10.616 * conc + 0.658 * v - 1.326 * \tau - 1.988 * conc^2 + 0.290 * v^2 + 0.992 * \tau^2 + 2.265 * conc * v - 1.262 * conc * \tau - 2.685 * v * \tau \quad (23)$$

Ecuația obținută pentru variația diametrului porilor a dat o valoare R^2 de 99,16%, în timp ce pentru grosimea filmului, aceasta a avut valoarea de 99,11%. Cu alte cuvinte, modelul se potrivește bine cu datele experimentale, doar aproximativ 0,9% dintre variații nu pot fi interpretate cu model. Importanța modelelor a fost dovedită și de valorile versiunii modificate a lui R^2 (adică R^2 -ajustate, de exemplu $R^2_{adj} = 97.65\%$ pentru dimensiunea porilor și $R^2_{adj} = 97.52\%$ pentru grosime). Direcția efectului parametrului este definită de semnul coeficientului [94].

Efectele semnificative statistic ale variabilelor independente au fost examinate folosind testul ANOVA. Diagramele Pareto reproduse din aceste rezultate au fost prezentate în **Figura 40**. Orice factor a cărui coloană a intersectat linia de referință la valoarea de 2,57 a fost considerată factor semnificativ.

Ținând cont de efectele factorilor, concentrația soluției de imersare s-a dovedit a fi un parametru crucial în formarea spontană a acoperirilor polimerice microporoase. Soluția cu concentrație mare, de asemenea, rezultă acoperiri groase. Pentru acoperirile mai groase, timpul de uscare a fost mai lung, indicând, în esență, o perioadă de evaporare îndelungată a solventului, în timp ce încă avea loc condensarea. Acest lucru probabil a condus la coalescența mai multor picături mici, conducând la formarea de pori mai mari [95].

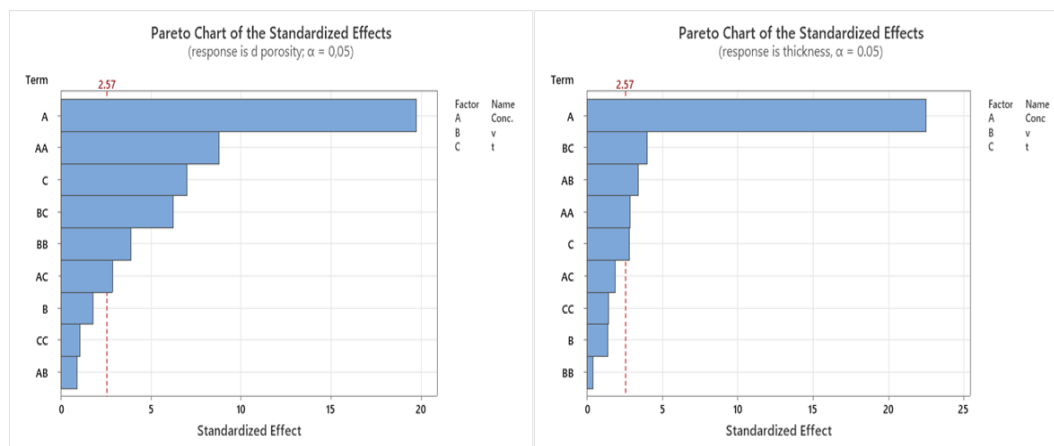


Figura 40: Diagramele Pareto a factorilor standardizați ($\alpha = 0,05$)

După o discuție detaliată a preciziei și adecvării modelelor, au fost determinate nivelurile variabilelor independente care au dus la obținerea de valori maxime ale diametrului mediu a porilor și a grosimii în intervalul limitelor experimentale. Grosimea acoperirilor a jucat un rol important în încărcarea cu medicament. Studiile au demonstrat că acoperirile mai groase sunt potrivite pentru prepararea sistemelor cu conținut mai mare de medicament [96]. Conform rezultatelor rezumate din **Tabelul 18**, creșterea concentrației soluției de PLA, menținerea vitezei de retragere la o valoare mare și minimizarea timpului de imersie duc la acoperiri adecvate obiectivelor. În cele ce urmează, atât acoperirile care conțin HA, cât și cele cu Doxy au fost preparate în aceste condiții experimentale.

Table 18: Nivelurile optime pentru valoarea maximă a $d_{av. pore}$ și a grosimii

<i>conc.</i> (wt %)	<i>v</i> (mm/min)	τ (s)	<i>calculated $d_{av. pore}$ (μm)</i>
11.87	150	0	2.7
			<i>calculated thickness</i> (μm)
12	150	0	51.57

5.2.2. Caracterizarea morfologică a acoperirilor

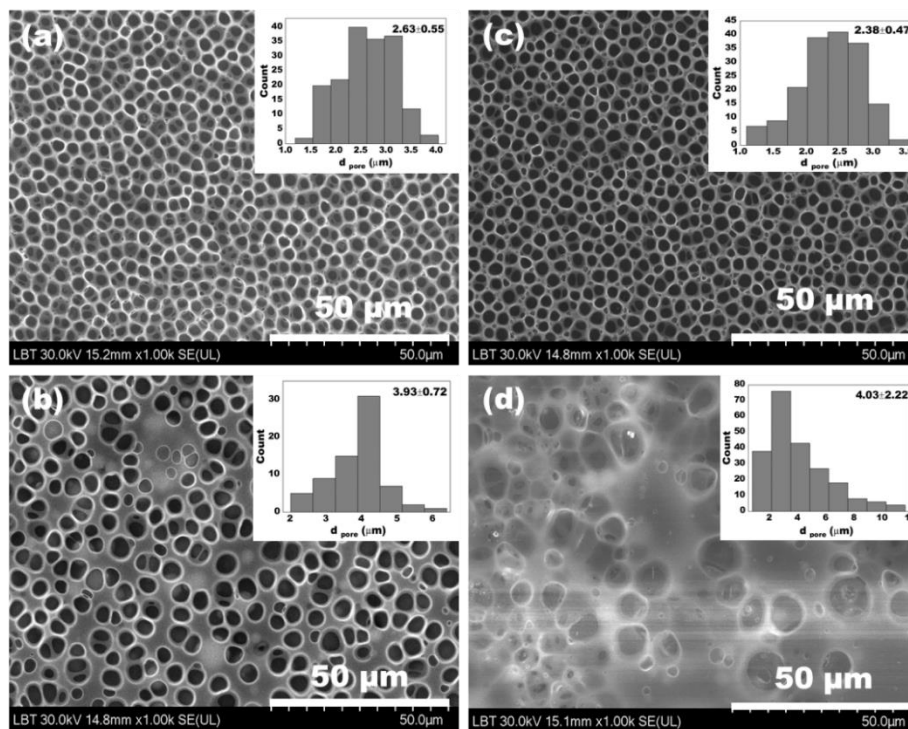


Figura 44: Imaginile SEM și distribuția corespunzătoare a dimensiunii porilor pentru (a) PLA, (b) PLA_HA, (c) PLA_D5 și (d) PLA_HA_D5

Acoperirile cu compoziții diferite au porozități diferite. Așa cum era de așteptat după studiul de optimizare, acoperirea de PLA pur prezintă porozitate ordonată, fără fisuri și defecte.

Diametrul porilor s-a încadrat într-un interval îngust, cu distribuție relativ regulată. Diametrul mediu a porilor a fost de $2,63 \pm 0,55 \mu\text{m}$. Această valoare a fost foarte apropiată de diametrul mediu calculat de $2,7 \mu\text{m}$, ceea ce a indicat reproductibilitatea rezultatelor obținute în timpul proiectării experimentale.

Adăugarea de microsferă HA la soluția de imersare polimerică a condus la o creștere în diametrul mediu a porilor. Datorită cantității de 10% în greutate, soluția de polimer a devenit mai vâscoasă, cu timp de evaporare a solventului mai mare. Acest lucru, așa cum a fost discutat mai înainte, a facilitat formarea de pori cu diametru mai mare.

5.2.3. Comportamentul față de coroziune

Durata de viață a implanturilor, calculată din momentul inserției în organism, este influențată în mare măsură de rezistența față de coroziune [97]. În acest studiu, proprietățile anticorozive a acoperirilor pe bază de PLA și PLA_HA au fost examinate folosind metodele de PP și EIS. Principalii parametri de coroziune obținuți prin extrapolarea curbelor Tafel sunt prezentați în **Tabelul 19**.

Table 19: Parametrii semnificativi de coroziune, coeficienții Tafel

Sample	E_{OCP} (V)	$\frac{E_{\text{corr, obs/}}}{E_{\text{corr, calc}}}$ (V)	I_{corr} (A)	i_{corr} (A/cm ²)	β_c (V/dec)	β_a (V/dec)	R_p (Ω)	corr. rate (mm/year)
PLA_HA	-0.064	-0.097	7.708×10^{-8}	3.083×10^{-7}	0.043	0.045	10930	7.40×10^{-3}
PLA_HA_D2.5	-0.097	-0.098	3.280×10^{-8}	1.312×10^{-7}	0.02	0.021	5520	3.15×10^{-3}
PLA_HA_D5	-0.088	-0.213	6.498×10^{-8}	2.599×10^{-7}	0.062	0.044	18300	6.24×10^{-3}
PLA_HA_D7.5	-0.174	-0.194	2.298×10^{-8}	9.192×10^{-8}	0.01	0.009	1757	2.21×10^{-3}
PLA	0.017	0.01	1.071×10^{-8}	4.283×10^{-8}	0.046	0.041	76900	1.03×10^{-3}
PLA_D2.5	-0.095	-0.102	3.344×10^{-9}	1.338×10^{-8}	0.036	0.034	158800	3.21×10^{-4}
PLA_D5	-0.006	-0.043	4.656×10^{-9}	1.862×10^{-8}	0.07	0.074	478600	4.47×10^{-4}
PLA_D7.5	-0.033	-0.058	1.427×10^{-9}	5.707×10^{-9}	0.044	0.053	718700	1.37×10^{-4}

În general, i_{corr} este parametrul cel mai semnificativ în caracterizarea proceselor de coroziune. După cum se știe, o valoare ridicată a i_{corr} indică viteză mare de coroziune [98]. Conform valorilor din **Tabelul 19**, acoperirea de PLA pur prezintă o rezistență mai bună față de coroziune, în comparație cu acoperirea de PLA_HA.

Experimentele au arătat că adăugarea de HA la soluția de PLA a dus la formarea de acoperiri cu diametrul mediu a porilor crescut (vezi **Figura 44**). Porii mai mari prezentau locuri unde SBF s-a acumulat. În consecință, acest lucru a permis o permeabilitate îmbunătățită a diferiților ioni, cum ar fi ionii HCO_3^- , Cl^- și HPO_4^{2-} [99]. Datorită speciilor conducătoare din electrolit, acoperirea a prezentat o rezistență mai mică [100]. În plus, rezistența mai scăzută față de coroziune a fost atribuită hidrofobicității suprafeței [101].

În mod similar, s-a observat că acoperirile cu conținut de Doxy au prezentat proprietăți anticorozive mai bune decât cele fără Doxy. Acest lucru a sugerat că Doxy a avut un efect inhibitor asupra procesului de coroziune. Pe baza observațiilor, pe măsură ce conținutul de Doxy din acoperire crește, stratul împiedică mai eficient electrolitul să ajungă la suprafața metalică [102]. Reducerea vitezei de coroziune cauzată de medicament a fost favorizată și de grosimea acoperirilor [103], care a crescut odată cu creșterea conținutului de Doxy.

5.2.4. Investigarea eliberării de Doxy

Profilurile de eliberare au fost prezentate în **Figura 51**. Majoritatea sistemelor au prezentat un comportament similar pe parcursul întregii perioade de observare. În niciunul din cazuri nu a fost observat un comportament inacceptabil, neregulat, eliberarea fiind una regulată și continuă în SBF, pentru fiecare acoperire. În primele 12 ore ale experimentului, a fost prezentă eliberarea bruscă, rapidă a medicamentului, caracteristică sistemelor polimerice [104-105], urmată de o etapă de eliberare susținută. În majoritatea probelor, după prima zi, viteza de eliberare a medicamentului a scăzut, iar cantitatea de medicament eliberată prezenta o creștere ușoară. Pe baza acestor observații, acoperirile poroase au asigurat o eliberare consecventă și controlată de Doxy. Mai mult, reproductibilitatea comportamentului *in vitro* al acoperirilor a fost ridicată, cu variații reduse între măsurătorile individuale.

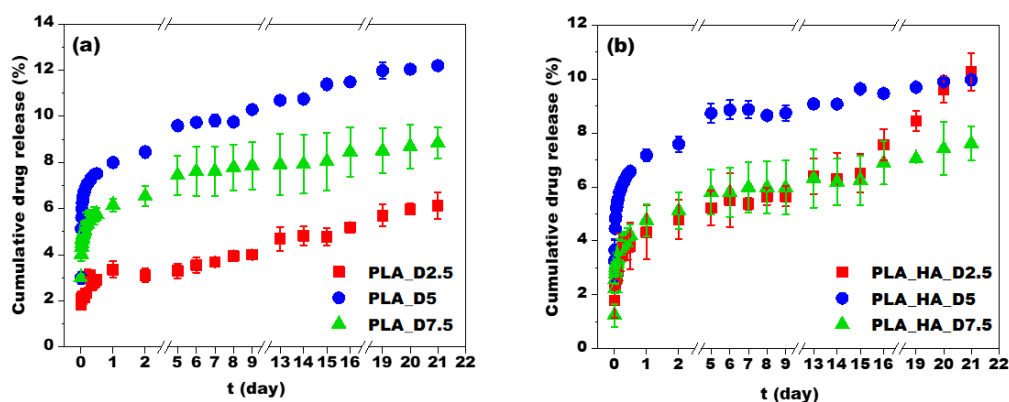


Figura 51: Eliberarea de Doxy din acoperirile de (a) PLA și PLA_HA

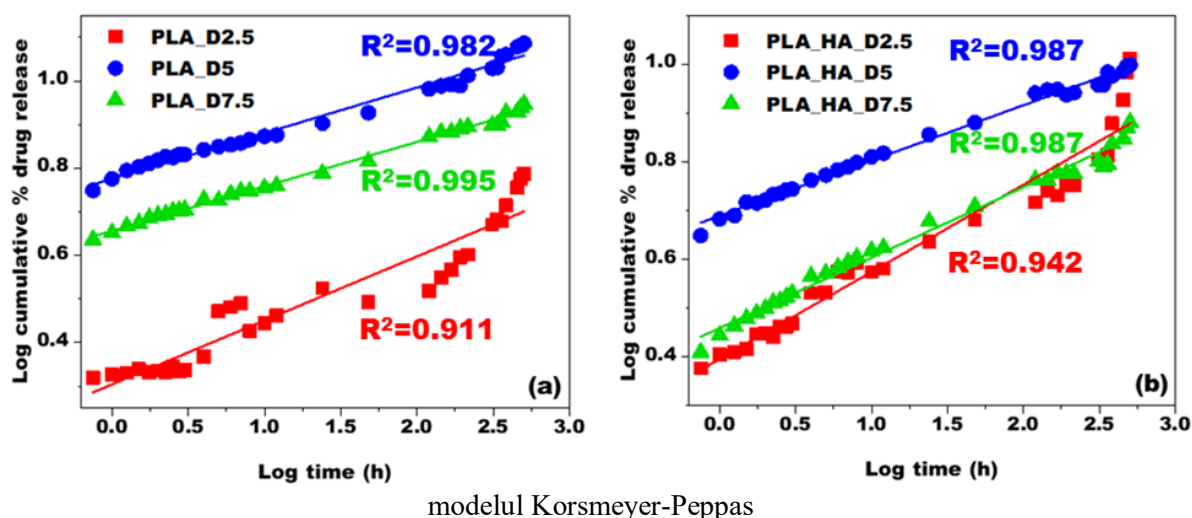
Afinitatea mare între HA și Doxy a fost observată în acest studiu. Acoperirile cu HA au prezentat un comportament retard în comparație cu acoperirile pe bază de PLA pur. Datorită legăturilor secundare și atracției electrostatice, cantitatea de medicament eliberată a fost redusă [106]. Doxy are capacitatea de a forma un complex chelat cu ionul Ca^{2+} prezent în HA, astfel încât afinitatea dintre cei doi compuși este mare [107]. Cu toate acestea, natura hidrofobă a stratului de polimer a contribuit la realizarea eliberării susținute și prelungite [108].

5.2.5. Studiu cinetic al eliberării

În cazul sistemelor biodegradabile, eliberarea medicamentelor este adesea un proces complex. Aproape toate acoperirile investigate au arătat o relație aproape liniară cu modelul Korsmeier-Peppas. Reprezentarea acestor fitări grafice sunt prezentate în **Figura 52**. Acoperirea PLA_D2.5 reprezintă o excepție, unde fitarea cu modelul cinetic de ordinul întâi a condus la cea mai mare valoare R^2 .

În timpul perioadei de investigație, acoperirile nu au suferit daune semnificative care ar fi putut influența procesului de eliberarea a Doxy [109]. Eliberarea s-a realizat prin difuzie, cu comportament asemănător, dar nu identic celei formulate în prima lege de difuzie lui Fick. Comparativ cu forța motrice a difuziei, gradul de relaxare a lanțului polimeric a avut un efect minim în perioada examinată [110]. Cantitatea relativ mică a medicamentului eliberat susține ipoteza că degradarea polimerului nu a fost semnificativă în cele 21 de zile de experimentare.

Figura 52: Datele de eliberare a Doxy din acoperirile de (a) PLA și (b) PLA-HA, de ajustate la



5.3. Concluzii parțiale

Combinăția de implanturi metalice cu DDS s-a dovedit a fi promițătoare din perspectivă terapeutică. Acoperirile din PLA și PLA_HA, cu pori deschiși bine organizate și cu distribuție omogenă de HA, au fost preparate prin metoda dip-coating, pe substrat de aliaj Ti6Al4V.

Porozitatea și grosimea acoperirilor sunt parametri importanți în ceea ce privește eliberarea medicamentului, rezistența față de coroziune și bioactivitate. Modificările în concentrația soluției de PLA au dus la cele mai semnificative diferențe ale parametrilor țintă. Menținerea concentrației și vitezei de retragere la valoarea lor maximă a permis prepararea unor acoperiri cu diametrul mediu a porilor și grosimea maximă, în limitele parametrilor experimentali investigați.

Investigațiile electrochimice au demonstrat că porozitatea joacă un rol important în rezistența față de coroziune, deoarece porii cu diametre mari favorizează procesele de coroziune. Mai mult, Doxy s-a dovedit a fi un inhibitor puternic, atât în acoperirile de PLA, cât și în cele de PLA_HA.

Studiile *in vitro* de eliberare a medicamentelor în SBF au confirmat eliberarea susținută a Doxy, controlată prin difuzie. Durata relativ lungă (21 de zile) a experimentului desfășurat după un mecanism de eliberare neschimbat a indicat stabilitatea acoperirilor.

6. Investigarea în timp real a eliberării doxiciclinei prin metodă electrochimică

6.1. Condiții experimentale

Obiectivul acestei părți de cercetare a fost acela de a investiga măsurătorile *in vitro* prin monitorizarea în timp real a profilurilor de eliberare și compararea rezultatelor cu valorile obținute prin metode convenționale spectrofotometrice. Dintre metodele electrochimice, s-a folosit metoda de voltametrie puls-diferențială (DPV), prin care a fost eliminată prelevarea de eșantioane. Aplicabilitatea metodei a fost investigată pentru purtătorii de nanofibrele de PLA și PLA/HA încărcate cu Doxy. Atât nanofibrele PLA, cât și cele de PLA/HA au fost preparate prin metoda de electrofilare. Încărcarea medicamentului a fost efectuată prin adsorbție fizică folosind soluții apoase Doxy cu concentrații inițiale de 3, 7 și 12 g×L⁻¹. Purtătorii de nanofibre au fost caracterizate cu ajutorul SEM, EDX și FTIR. Atât măsurătorile de voltametrie ciclică (CV), cât și cele de voltametrie puls-diferențială (DPV) au fost efectuate într-o celulă convențională cu trei electrozi. În conformitate cu configurarea tradițională a celulei, s-a utilizat un electrod de referință Ag/AgCl, KCl_{sat}, un electrod auxiliar din sârmă de platină și un electrod de lucru din cărbune vitros (GCE).

6.2. Rezultate și discuții

6.2.1. Investigarea comportamentului electrochimic al Doxy

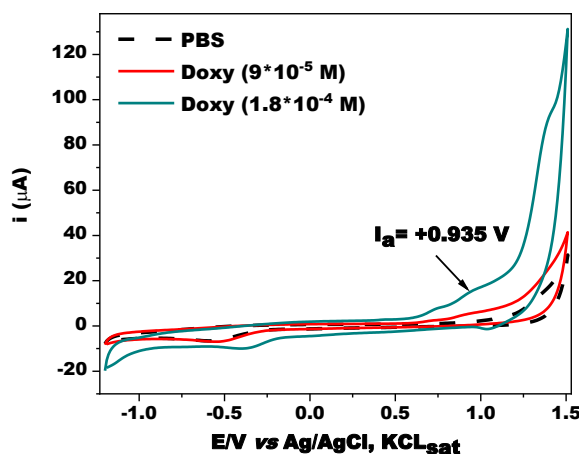


Figura 57: Voltamograme ciclice pe GCE în prezența și în absența Doxy. Condiții experimentale: electrolit, 0.1 M PBS (pH = 7); potențial de pornire, -1.2 V vs. Ag/AgCl, KCl_{sat}, viteza de baleiaj, 50 mV/s.

Pentru a putea monitoriza eliberarea medicamentului *in situ*, folosind o metodă electrochimică, comportamentul electrochimic al substanței active trebuie bine cunoscut. Pentru a studia comportamentul redox al Doxy, s-au efectuat măsurători de CV, urmată de

optimizarea parametrilor de operare ai DPV. Parametrii optimi de intrare determină sensibilitatea și fiabilitatea metodei.

Grupările tricarbonil, dimetilamoniu și fenolic-diacetonă ale moleculei de Doxy sunt grupuri ionizabile. Prin urmare, în general în voltamograme apar trei vârfuri de oxidare (în funcție de pH) [111]. Conform voltamogramelor ciclice prezentate în **Figura 57**, la un pH în jurul valorii neutre, aceste vârfuri se suprapun [111]. Indiferent de concentrația soluției de Doxy, vârful anodic (I_a) atribuit oxidării moleculei a fost identificat la un potențial de +0.935 V vs. Ag/AgCl, KCl_{sat}.

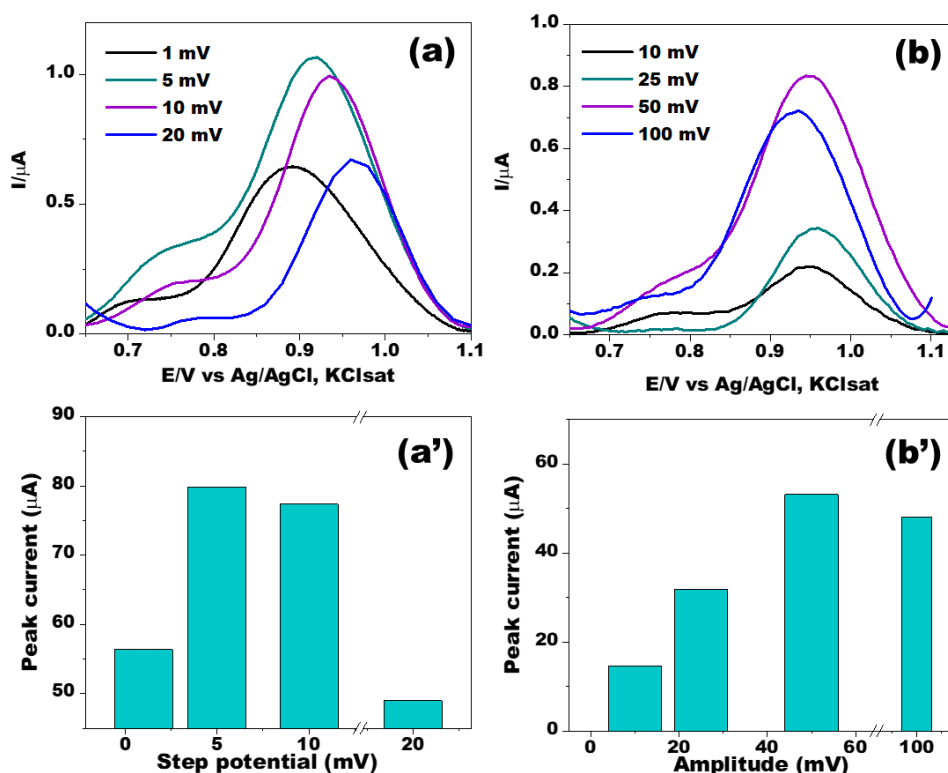


Figura 58: Influența valorilor potențialului treaptă (a, a') și ale amplitudinii pulsului (b, b') asupra DPV înregistrate pe electrodul GC în prezența Doxy (1.4×10^{-4} M) (a, b) și asupra curenților de vârf (a', b'). Condiții experimentale: 0.1 M PBS (pH= 7) ca electrolit; amplitudine 50 mV; potențial treaptă 5 mV; +0.7 V vs. Ag/AgCl, KCl_{sat} ca potențial de pornire

Sensibilitatea metodei DPV depinde de parametrii de intrare, așa că s-a efectuat un studiu de optimizare pentru valoarea potențialului treaptă și amplitudinii pulsului. Pe baza acestor rezultate (vezi **Figura 58**), s-a constatat că un potențial treaptă de 5 mV și o amplitudine a pulsului de 50 mV asigură atingerea curentului maxim de vârf pentru sensibilitatea și stabilitatea măsurătorilor dorite [112]. Prin urmare, acești parametri au fost utilizați pentru investigațiile ulterioare.

6.2.2. Studiul de eliberare în timp real a Doxy

Indiferent de compoziția chimică a nanofibrelor, sistemele au arătat o eliberare similară cu cele discutate până acum. Deși am examinat diferiți purtători atât din punct de vedere morfologic, cât și din punct de vedere al calității materialelor, două faze ale profilului de eliberare pot fi atinse: o eliberare inițială bruscă urmată de o etapă mai lentă (vezi **Figura 62**). Eliberarea bruscă a fost favorizată de mai mulți parametri. În primul rând, conform celor discutate anterior, interacțiunile secundare slabe s-au rupt rapid, rezultând o eliberare inițială relativ mare [113]. În al doilea rând, proprietățile moleculei de Doxy, cum ar fi afinitatea sa ridicată pentru mediile apoase și forma recristalizată după adsorbție, au influențat, de asemenea, etapa inițială de eliberare [113-114].

În principal, fibre cu diametre mai mari de 500 nm au alcătuit straturi electrofilate. S-a demonstrat că diametrele mai mari ale fibrelor joacă un rol important în eliberarea susținută și de lungă durată a substanței active [115]. Comparând fibrele, din punct de vedere a proprietăților de eliberare a medicamentelor, s-a observat că, din sistemele cu purtătorii de nanofibre din PLA pur, s-a măsurat cu 2-5% mai puțin Doxy eliberat. Deoarece încapsularea HA în nanofibre nu a cauzat modificări morfologice aparente, diametrul fibrelor a fost parametrul important al procesului.

6.2.3. Validarea metodei DPV

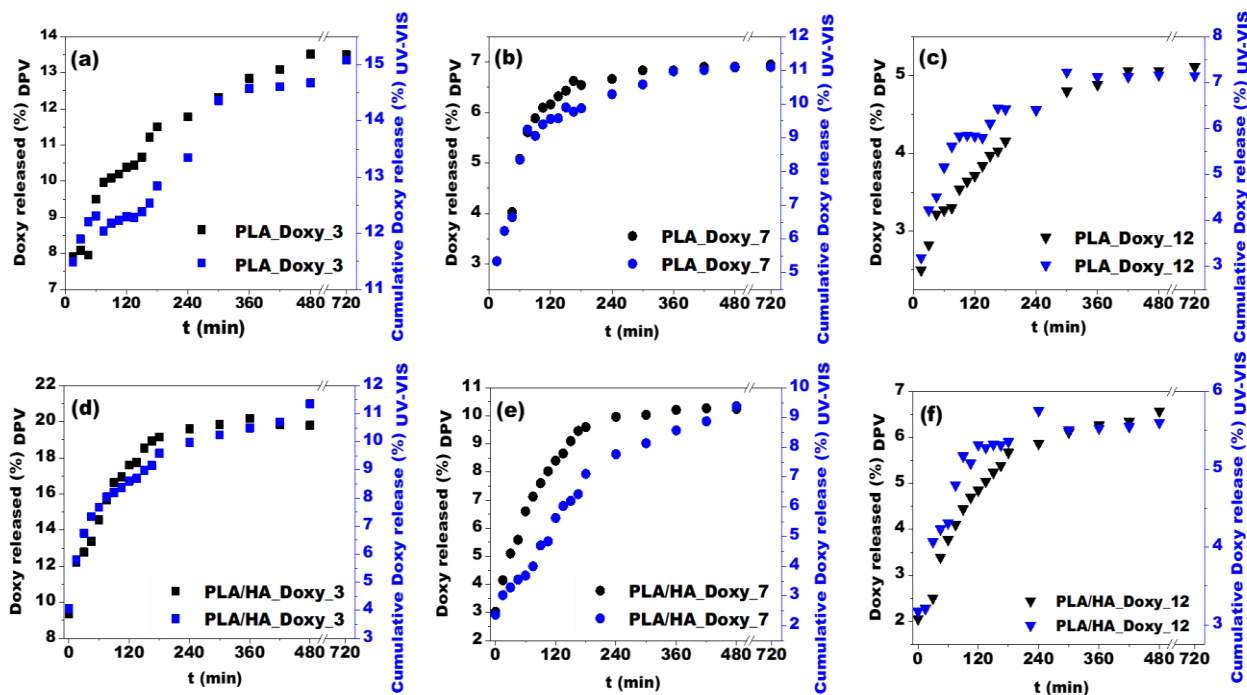


Figura 62: Profilurile de eliberare a Doxy măsurate cu DPV (simboluri negre) și spectrofotometrie UV-VIS (simboluri albastre) pentru sistemele (a) PLA_Doxy_3, (b) PLA_Doxy_7, (c) PLA_Doxy_12, (d) PLA/HA_Doxy_3, (e) PLA/HA_Doxy_7 și (f) PLA/HA_Doxy_12.

Rezultatele măsurătorilor spectrofotometrice au arătat un comportament similar și tendințe de difuzie a Doxy aproape identice cu datele înregistrate cu DPV (**Figura 62**). Dintre acestea, trebuie evidențiată eliberarea neregulată de medicamentului din probele PLA_Doxy_3 și PLA/HA_Doxy_3 și dependența eliberării de conținutul inițial de Doxy.

După primele 12 ore de experimentare, pentru nanofibrele de PLA pur, s-a observat că, conform măsurătorilor DPV, Doxy eliberată a fost cu aproximativ 1,6%, 4% și 2% mai mică decât cea determinată prin măsurătorile spectrofotometrice. Aceste diferențe sugerează că diluția asociată cu prelevarea de probe în timpul măsurătorilor UV-VIS a influențat eliberarea. Reumplerea continua la volum constant cu PBS proaspăt a condus la o schimbare a gradientilor de concentrație și, prin urmare, la o creștere a vitezei de eliberare. Această observație a fost susținută de modificarea stării de echilibru în comparație cu profilele de eliberare măsurate voltametric [112]. Unul dintre principalele motive pentru diferențele dintre seriile de date măsurate a fost sensibilitatea diferită a celor două metode [116]. Cu toate acestea, aplicarea DPV în acest domeniu s-a dovedit a fi de succes, deoarece a permis măsurarea *in situ* a difuziei Doxy din nanofibrele pe bază de PLA, fără preluarea de eșantioane și diluare constantă. Metoda nu a afectat monitorizarea proceselor de eliberare și difuzie a medicamentului, astfel încât nu s-a observat nicio schimbare a stării de echilibru în cazul profilurilor obținute cu DPV. Metoda voltametrică a fost, de asemenea, una avantajoasă datorită timpului redus de măsurare.

6.2.3.1. Metodologie independentă de model

Tabel 23: Comparație a profilurilor de eliberare obținute prin metodele DPV și UV-VIS, bazate pe factorii de diferență (f_d) și de similitudine (f_s)

Samples	f_s	f_d
PLA_Doxy_3	80	16.45
PLA/HA_Doxy_3	53.65	96.56
PLA_Doxy_7	72.2	36.56
PLA/HA_Doxy_7	79.71	38.27
PLA_Doxy_12	82.24	33.34
PLA/HA_Doxy_12	95.35	4.42

În urma comparației grafice, datele de eliberare a Doxy ale sistemelor investigate obținute prin ambele metode au fost comparate folosind o metodă numerică. Valorile factorilor de similitudine (f_s) și factorilor de diferență (f_d) determinați au fost prezentate în **Tabelul 23** [112]. Acești parametri au reflectat bine observațiile discutate în timpul comparației grafice, unde profilurile au arătat tendințe similare, dar cantitatea măsurată de Doxy eliberată a fost diferită. Datele obținute atât pentru nanofibrele de PLA, cât și PLA/HA, indiferent de conținutul lor inițial de Doxy, au îndeplinit criteriile pentru f_s , deoarece valorile au fost mai

mari de 50. Valorile f_d au ilustrat diferențele în procentul de eliberare cumulativă a Doxy. Această abordare independentă de model a demonstrat că metoda voltametrică a fost potrivită pentru monitorizarea în timp real, *in situ*, a difuziei Doxy [112].

6.2.3.2. Metodologie dependentă de model

Analiza de regresie liniară efectuată cu cinci modele a fost aplicată atât cu seriile de date de eliberare UV-VIS, cât și cu cele DPV pentru primele 6 ore ale studiului. Modelul corespunzător a fost ales în funcție de valoarea coeficientului de determinare.

Comparând rezultatele, două observații principale pot fi evidențiate. În primul rând, tehnica DPV s-a dovedit a fi o metodă alternativă de succes pentru studierea eliberării Doxy. În al doilea rând, eliberarea Doxy din toate sistemele nanofibroase investigate a urmat cinetica modelului Korsmeyer-Peppas [117]. Comportamentul sistemele nu a urmat în totalitate difuzia descrisă de legea lui Fick. Datorită naturii și proprietății substanței active și a polimerului, difuzia din sistemele nanofibroase a fost diferită de cea liniară [22,112].

Tabel 25: Analiza statistică (ANOVA) a datelor de eliberare a Doxy examinate folosind metodele voltametrice și spectrofotometrice și ajustate cu cinci modele matematice diferite.

Origin of variation	SS	df	MS	F _{crit}	F	p-value
<i>R²-based single-factor ANOVA</i>						
0o, Io, HC, and H kinetic models	0.096783	7	0.013826	2.2490	1.2486	0.3001
0o, Io, HC, H, and KP kinetic models	0.223502	9	0.024834	2.0733	2.5004	0.0190
<i>k-based single-factor ANOVA</i>						
0o, Io, HC, H, and KP kinetic models	80.38197	9	8.93133	2.0733	7.1450	1.42×10 ⁻⁶
<i>Two-factor ANOVA, with replication in terms of R²</i>						
0o, Io, HC, H, and KP kinetic models	0.20871512	4	0.052179	2.5571	5.2538	0.0013
Investigation technique (DPV/ UV-VIS)	0.00903563	1	0.009036	4.0343	0.9097	0.3447
Interactions between investigation technique and kinetic models	0.0057515	4	0.001438	2.5571	0.1447	0.9644
<i>Two-factor ANOVA, with replication in terms of k</i>						
0o, Io, HC, H, and KP kinetic models	78.6933	4	19.67332	2.5571	15.7386	2.12×10 ⁻⁸
Investigation technique (DPV/ UV-VIS)	0.257921	1	0.257921	4.0343	0.2063	0.6516
Interactions between investigation technique and kinetic models	1.430755	4	0.357689	2.5571	0.2861	0.8856

Stabilitatea purtătorilor a fost indicată de cantitatea scăzută de Doxy eliberată cumulativ, sugerând că în primele ore, nanofibrele polimerice nu au suferit modificări structurale care ar fi afectat semnificativ eliberarea medicamentului. Acest lucru a fost susținut și de mecanismul controlat prin difuzie.

În plus, s-a fost efectuat un test ANOVA unifactorială și bifactorială pentru a compara modelele care descriu eliberarea medicamentului. Testele au fost aplicate atât la constantele vitezei de eliberare (k_0 , k_1 , k_{HC} , k_H , and k_{KP}), cât și la valorile coeficientului de determinare.

Rezultatele analizei unifactoriale au indicat că, în fitarea cu modelele 0_0 , I_0 , HC și H nu a arătat diferențe semnificative ($F = 1.25 < F_{crit} = 2.25$, $p (=0.3) > 0.05$), prin adăugarea modelului KP la testul ANOVA s-au obținut diferențe semnificative ($F = 2.5 > F_{crit} = 2.07$, $p (=0.019) < 0.05$). Rezultatele aceluiași test pentru valorile k au arătat diferențe semnificative. Aceste constatări nu au fost surprinzătoare și au rezultat din diferențele matematice dintre ecuațiile celor cinci modele utilizate.

Rezultatele testului ANOVA bifactorială pentru valorile k și valorile R^2 au fost foarte similare, conducând la concluzii similare privind datele analizate. Diferențele semnificative între modelele cinetice au evidențiat mecanismul de eliberare a Doxy. Diferențele dintre cele două metode de măsurare nu au fost semnificative, nici în ceea ce privește valorile R^2 , nici valorile k ($F < F_{crit}$, $p > 0.05$). Această observație a susținut concluziile trase din valorile f_s și f_d . Absența interacțiunii dintre modelele cinetice aplicate și metoda de măsurare a fost confirmată și de valorile F și p .

6.3. Concluzii parțiale

Prin metoda de electrofilare a fost posibilă prepararea unui purtător de medicament, care prin morfologia fibroasă imită matricea extracelulară, și care a prezentat proprietăți favorabile în ceea ce privește eliberarea medicamentului.

Rezultate experimentale a acestei părți au contribuit la dezvoltarea monitorizării continue, *in situ*, în timp real a eliberării medicamentului. DPV s-a dovedit a fi o metodă analitică alternativă adecvată, cu numeroase avantaje. Metoda nu a influențat procesul de eliberare, iar lipsa prelevării de probe a jucat un rol important în atingerea stării de cvasi-echilibru. Această metodă rapidă, simplă și eficientă poate fi adecvată pentru studierea eliberării de medicamente care conțin grupări electroactive și pentru îmbunătățirea eficienței dezvoltării LDDS.

III. Concluzii generale

Tema cercetării prezentate în această teză de doctorat a fost investigarea biomaterialelor cu diferite compoziții chimice și morfologii ca sisteme locale de livrare a medicamentelor (LDDS). Similar altor domenii medicale, în ortopedie și stomatologie, LDDS reprezintă o nouă oportunitate în prevenirea sau tratarea infecțiilor sau a inflamațiilor. Cercetarea se bazează pe proiectarea și dezvoltarea unor sisteme care, pe lângă faptul că sunt biocompatibile și favorizează procesele fiziologice de regenerare, sunt potrivite pentru eliberarea medicamentului la locul terapeutic. Prin tratamentul la locul țintă, crește semnificativ eficacitatea substanței active, ceea ce are ca rezultat reducerea timpului de recuperare. Aspectul principal al dezvoltării sistemelor cu caracteristici diferite a fost asigurarea eliberării controlate a medicamentului și eliberarea prelungită, chiar în mai multe etape. Locul, perioada și viteza de eliberare a medicamentului influențează procesele biologice, astfel încât proiectarea LDDS se bazează pe acești parametri.

Doxiciclina (Doxy), care poate fi folosită pentru prevenirea diverselor inflamații și infecții, a fost testată în cazul a patru tipuri diferite de purtători. Întrebarea cheie a fost înțelegerea comportamentului de eliberare a Doxy, determinarea factorilor care influențează procesul și definirea cineticii eliberării medicamentului. În cazul LDDS, proprietățile purtătorului, precum și interacțiunile dintre purtător și substanța activă influențează semnificativ viteza de eliberare. Dintre LDDS, profilurile de eliberare ale Doxy au fost investigate pentru fosfatul tricalcic β (β -TCP) și β -TCP dopat cu silice, precum și cu magneziu (*Contribuție originală, capitolul 4*); pentru hidroxyapatită (HA), HA dopate cu silice sau Mg, de morfologie regulată sferică și aglomerate alcătuite din nanopulberi (HA) (*Contribuție originală, Capitolul 5*); pentru acoperiri din poli(acid lactic) (PLA) și PLA cu conținut de HA (*Contribuție originală, Capitolul 6*); și pentru nanofibre de PLA și PLA/HA (*Contribuție originală, Capitolul 7*).

În **primul capitol** al contribuției originale, a fost propusă investigarea β -TCP pur și a β -TCP substituit parțial cu silice sau magneziu ca purtători pentru Doxy. Obiectivele cercetării rezumate în capitol au inclus prepararea și caracterizarea purtătorilor menționați mai sus, precum și investigarea *in vitro* a proprietăților relevante ca purtători de medicamente.

1) Metoda co-precipitării urmată de un tratament termic s-a dovedit a fi potrivită pentru realizarea fazei pure de β -TCP. pH-ul amestecului de reacție, timpul de reacție, temperatura de sinterizare și durata acestuia au fost identificați ca parametri cheie a eficacității reacției. Experimentele optimizate au arătat că folosind materialele prime $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ și $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, cu

un timp de amestecare de 2 ore la temperatura camerei (pH= 8), urmată de sinterizarea treptată până la 900°C, au dus la formarea fazei pure de β -TCP.

2) Transformarea termică a apatitei cu deficit de calciu este un proces în mai multe etape, a cărui etapă finală este în mare măsură determinată de raportul inițial Ca/P. Temperatura de transformare depinde de compoziția elementară a probei.

3) Încorporarea ionilor străini în β -TCP a dus la diferite modificări cristalografice. Dopajul cu silice a condus la modificări mai puțin semnificative, în timp ce substituția cationică a dus la modificări structurale semnificative.

a) Încorporarea parțială cu silice, rezultând o modificare a intensității vârfurilor de difracție de raze X, a fost independentă de sursa de silice utilizată în timpul reacției (Na_2SiO_3 sau Ludox AS-40).

b) Încorporarea Mg^{2+} a fost confirmată prin deplasarea semnificativă a vârfurilor de difracție (comparativ cu β -TCP pur) și de o scădere a cristalinității.

4) Pulberile aranjate în agregate poroase au avut o eficiență semnificativă de adsorbție, ceea ce a permis o încărcare remarcabilă a medicamentului. Procesul depindea de concentrația inițială a soluției de medicament.

5) Agregatele poroase, servind drept ca purtători pentru Doxy, asigură o eliberarea lentă a medicamentului *in vitro*. Eliberarea medicamentului din pulberile de β -TCP a urmat fie mecanisme de difuzie conform celei descrise de legea lui Fick (modelul Higuchi), fie difuzie parțial descrisă de legea lui Fick (modelul Korsmeyer-Peppas).

6) Difuzia Doxy poate fi controlată în mare măsură de cantitatea conținutului inițial de medicament al probei. Interacțiunile puternice Doxy-Doxy au ca rezultat o scădere a vitezei de eliberare, ceea ce reduce cantitatea de medicament eliberată în timp.

7) În plus față de nivelul de încărcare a medicamentului, viteza de eliberare poate fi controlată și prin substituție ionică. Comparativ cu β -TCP pur, β -TCP substituit cu Mg are un efect mai retard, în timp ce efectul retard în prezența silicei în structura purtătorului este și mai semnificativă. În acest caz, nu numai că eliberarea a fost mai regulată, dar procentul de eliberare cumulativă a medicamentului a fost chiar cu 3-5% mai mic.

Aceste observații privind eliberarea Doxy, parametrii de influență și impactul lor au fost examinate și în cazul purtătorilor de HA și HA substituită cu ioni (**Capitolul 5**). Datorită proprietăților sale biologice, utilizarea HA este mai răspândită, totuși, abordarea ca purtător local de medicamente reprezintă un domeniu nou de cercetare. Modificările structurale au fost induse de substituția cu silice sau magneziu, folosind aceleași surse de ioni străini ca în reacțiile capitolului patru. Scopul experimentului a fost de a examina și discuta diferențele dintre

pulberile de HA cu diferite compoziții chimice și morfologii, în primul rând din perspectiva adecvării ca purtător de medicament.

8) Pulberile preparate prin co-precipitare au fost caracterizate prin diferite metode de investigare a materialelor, în conformitate cu cerințele științei materialelor. Puritya materialelor și încorporarea cu succes a ionilor străini au fost susținute de măsurători de difracție de raze X.

a) În ceea ce privește dimensiunea cristalelor, prezența grupării de silice a favorizat procesul de creștere a cristalelor, dimensiunea cristalelor de HA dopate cu silice a fost cu câteva zeci de nanometri mai mare decât cea a HA pure.

b) Concentrația ridicată de Mg^{2+} folosită în sinteză a inhibat cristalizarea și creșterea cristalelor. În plus, s-a observat un efect de destabilizare structurală, care s-a dovedit a fi mai puternic în comparație cu cele observate în capitolul experimental anterior. În comparație cu purtătorul de HA pură, MgHA a prezentat o cristalinitate cu 3% mai mică, în timp ce în cazul β -TCP, aceasta a fost puțin peste 1%.

9) Morfologia pulberilor pe bază de HA ar putea fi influențată de metoda de uscare, așa cum este susținută de imaginile SEM. Uscarea cu un mini uscător cu pulverizare a dus la prepararea de microsferă regulate. Morfologia suprafeței de tip conopidă a acestora nu a fost afectată de calitatea materialului. Distribuția diametrelor microsferelor și diametrul mediu al particulelor au fost similare pentru toate probele.

10) Comportamentul termic al pulberilor a fost independent de morfologie și compoziția elementară, nu au existat modificări semnificative niciuna dintre curbele TG sau DTA. Efectul destabilizator al încorporării Mg^{2+} a fost vizibil și aici, în cea mai mare pierdere de masă (18 % în cazul MgHA_M, în timp ce 10 % în cazul HA_M).

11) Prezența ionilor străini a modificat semnificativ porozitatea pulberiiilor, scăderea diametrului mediu al porilor și creșterea suprafeței specifice au fost semnificative atât pentru probele cu conținut de silice, cât și cu conținut de magneziu.

12) Porozitatea este o problemă importantă nu numai în ceea ce privește procesele fiziologice, ci și în ceea ce privește încărcarea cu substanță activă. Moleculele de medicament nu numai că s-au legat la suprafață, ci au pătruns și în porii purtătoriilor.

13) Capitolele patru și cinci ale tezei au subliniat afinitatea mare a moleculei de Doxy față de ambele grupuri de CaP. S-a observat o corelație pozitivă între încărcarea mare de medicament și concentrația inițială a soluției de medicament, în care afinitatea ridicată a jucat un rol important. Comparând proprietățile de încărcare a medicamentului ale β -TCP pur și ale HA, s-a constatat că HA are o capacitate de adsorbție mai mare. Această observație a fost

deosebit de semnificativă în cazul încărcărilor mai mici de Doxy, unde eficiența de adsorbție a HA a fost cu până la 10% mai mare. Probele cu cristalinitate mai mică și o structură mai amorfă s-au dovedit a fi mai avantajoase din punct de vedere al purtătorului de medicament.

14) În urma experimentelor de încărcare a medicamentului, au fost investigate proprietățile de eliberare a medicamentului, adică comportamentul de eliberare a fost monitorizat în fluide simulate. Majoritatea sistemelor au arătat comportamentul așteptat, eliberarea medicamentului prezentând două etape distincte. O eliberare inițială bruscă, care a fost urmată de o fază de eliberare mai lentă, dar susținută. Eliberarea Doxy a fost examinată și discutată din mai multe perspective.

a) Similitudinea în compoziția elementară și gradul de încărcarea cu Doxy au permis o comparație între purtătorii pe bază de HA și purtătorii pe bază de β -TCP. Pe baza profilurilor de eliberare, a fost clar că etapa inițială de eliberare a fost semnificativ diferită. În comparație, o cantitate mai mare de Doxy eliberată a fost măsurată din pulberile de apatită. HA și HA dopată cu ioni au prezentat o eliberare mai favorabilă a medicamentului.

b) S-a observat o corelație negativă între cantitatea de substanță activă eliberată și conținutul inițial de medicament, care a fost explicată prin interacțiunile Doxy-Doxy.

c) Parametrii de influență au fost în mare parte mai semnificativi în cazul conținutului mai scăzut de substanță activă, așa că aceste sisteme au fost investigate în cele ce urmează. Prezența atât a silicei, cât și Mg au jucat un rol important în micșorarea vitezei de eliberare a Doxy. Efectul retard al acestor purtători a avut un procent de eliberare cumulativă a medicamentului cu până la 4% mai mic comparativ cu purtătorii nemodificați.

d) Morfologia purtătorului de HA s-a dovedit a fi un factor de influență mai dominant decât compoziția chimică. Atât profilurile de eliberare, cât și rezultatele studiilor cinetice au indicat că morfologia sferică regulată permite o eliberare mai uniformă a antibioticelor. Cu alte cuvinte, difuzie conform legii lui Fick poate fi realizată chiar și prin modificări morfologice.

e) Morfologia regulată sporește controlabilitatea LDDS, ceea ce a fost confirmată de caracterul gradual și continuu al fazei inițiale (spre deosebire de comportamentul observat în cazul purtătorilor de nanopulberi, unde s-a observat o eliberare inițială de tip treaptă). O suprafață mai uniformă din punct de vedere energetic a favorizat formarea interacțiunilor secundare echivalente, natura legăturilor influențând viteza de eliberare. Această observație a fost susținută în continuare de valorile mai mari ale coeficientului de determinare.

f) Măsurarea eliberării pe termen lung folosind metoda spectrofotometrică UV-VIS, în fluidul corporal simulat (SBF) nu a fost realizabilă din cauza perturbării soluției în timp. În consecință, probele au fost examinate și în soluție de tampon fosfat (PBS). Rezultatele

măsurătorilor de 15 zile au demonstrat că atât purtătorii de HA, cât și de HA dopați cu ioni, cu morfologie sferică regulată, sunt adecvați pentru a asigura eliberarea susținută de Doxy. În plus, experimentele au evidențiat, că concentrația mediului de eliberare în care este testat LDDS dat are o influență semnificativă asupra proceselor. PBS, cu concentrație mai mică a permis o difuzie mai intensă a Doxy.

HA, cu morfologie sferică regulată a fost implementată în acoperiri de implant. În consecință, al **șaselea capitol** a discutat combinația de implanturi metalice și DDS. Prima parte a capitolului s-a concentrat pe prepararea și optimizarea acoperirilor poroase de PLA. Acoperirile cu conținut de Doxy au fost preparate pe baza parametrilor optimizați, iar acestea au fost investigate în condiții *in vitro*.

15) Tehnica de modificare a suprafeței prin imersie a fost potrivită pentru prepararea acoperirilor poroase de PLA. Schimbarea porozității acoperirii a fost examinată în funcție de solvent, concentrația soluției de polimer, viteza de retragere și timpul de imersie.

a) Natura solventului, mai precis punctul de fierbere a solvantului, este un parametru important pentru formarea porilor deschiși. Solvenții cu punct de fierbere scăzut asigură formarea porilor cu diametre cu dimensiuni reduse.

b) Metodologia suprafeței de răspuns (RSM) a fost utilizată pentru a investiga efectele concentrației soluției de PLA, timpului de imersie și vitezei de retragere asupra diametrului porilor și grosimii acoperirii. A fost selectată matricea de proiectare Box-Behnken pentru realizarea unui studiu de optimizare eficientă și rapidă. Relațiile empirice obținute au fost valabile numai în cadrul nivelelor investigate.

i) Cel mai mare diametru al porilor și cea mai groasă acoperire pot fi obținute prin menținerea concentrației soluției de PLA și a vitezei de retragere la nivelurile lor maxime, minimizând în același timp timpul de imersie.

ii) Concentrația soluției de polimer joacă cel mai decisiv rol în formarea spontană a microporilor.

iii) Metoda de optimizare utilizată s-a dovedit a fi adecvată, întrucât proprietățile acoperirilor preparate la parametri optimizați corespundeau valorilor calculate obținute în timpul proiectării experimentale (diametrul mediu calculat al porilor a fost de 2,7 μm , în timp ce diametrul mediu al porilor determinat experimental pe baza imaginilor SEM a fost de 2,63 \pm 0,55 μm).

16) Acoperirile de PLA-Doxy și PLA-HA-Doxy, cu conținut diferit de medicament, au fost preparate la parametri optimizați.

a) Omogenitatea acoperirilor a fost susținută de analiză termică și de analiza cartografierii EDX. Acoperirile cu conținut de HA (ca aditiv) s-au dovedit a fi mai avantajoase din punct de vedere termic decât acoperirile de PLA pur. În același timp, prezența HA microsferice adus la creșterea diametrului porilor de suprafață (diametrul mediu al porilor, în comparație cu cele din acoperirile de PLA pur, a fost cu aproximativ 40% mai mare).

b) Atât prezența substanței active, cât și a microsferelor de HA în acoperiri i-au schimbat umectabilitatea suprafeței, îmbunătățind natura hidrofilă a acoperirilor. În acest sens, atât HA cât și agentul antibacterian conferă o mai bună bioactivitate acoperirii.

c) Pe baza testelor electrochimice de coroziune, s-a stabilit că dimensiunea mare a porilor a avut un efect negativ în ceea ce privește rezistența față de coroziune. Pe de altă parte, moleculele Doxy îmbunătățesc această proprietate a acoperirii de PLA, servind astfel nu numai ca substanță activă, ci și ca inhibitor de coroziune. S-a observat o corelație pozitivă între conținutul de medicament al acoperirii și rezistența acestuia față de procesele de coroziune. Această a fost confirmată atât de testele PP, cât și de măsurătorile de EIS. Grosimea acoperirilor, de asemenea un parametru important, are un rol crucial în reducerea proceselor de transfer de sarcină.

17) Eliberarea Doxy din acoperirile pe bază de polimeri a prezentat un comportament de eliberare controlată în SBF. HA, în cazul acoperirilor, a fost capabil să formeze legături secundare și atracții electrostatice cu moleculele Doxy, rezultând viteze de eliberare reduse. Cu alte cuvinte, adăugarea de HA la acoperirile de PLA poate crește timpul de eliberare a agenților antibacterieni.

18) Difuzia Doxy din aceste acoperiri este un proces complex, care a fost susținut și de studiul cineticii de eliberare. Cu toate acestea, în perioada investigată, gradul de relaxare a lanțurilor polimeric a avut un impact minim asupra eliberării moleculelor de medicament.

19) Continuitatea, claritatea, și posibilitatea de a controla mecanismul de eliberare în timpul examenat a dovedit stabilitatea acoperirilor.

În **ultimul capitol** al tezei de doctorat s-a propus investigarea unui purtător de Doxy de morfologie nouă, și anume a nanofibrelor pe bază de polimeri. Totuși, noutatea cercetării prezentate în această parte constă nu numai în sistemele studiate, ci și în inovația de monitorizare a eliberării *in vitro* a medicamentului, prin metoda de voltametrie puls diferențială. Următoarele rezultate au fost obținute în timpul experimentului:

20) Folosind metoda de electrofilare, se poate prepara nano fibre de PLA și PLA cu conținut de HA.

a) După cum este susținut de imaginile SEM, utilizarea unui amestec de solvenți binari în timpul preparării soluției de polimer a favorizat formarea fibrelor la scară nano și a rezultat în dezvoltarea unei morfologii de suprafață ușor aspră a fibrelor.

b) Distribuția diametrului fibrelor și diametrul mediu al acestora au fost funcție a compoziției chimice a amestecului inițial. Aditivul (HA) a provocat o schimbare în proprietățile fizice ale amestecului polimeric, ducând la o scădere semnificativă a diametrului fibrelor.

c) Conexiunile punctuale create între fibrele continue au permis formarea de structuri poroase 3D avantajoase, care s-au dovedit promițătoare în aplicații dentare.

21) Caracteristicile de suprafață și orientarea spațială a nanofibrelor au permis, prin procesul de post-electrofilare, legarea eficientă a Doxy. Eficiența de adsorbție a fost în medie între 70-80%, procesul depinzând în principal de concentrația inițială a soluției de medicament.

22) Monitorizarea *in vitro* și *in situ* a eliberării Doxy din purtătorii cu o astfel de morfologie și proprietăți specifice, a fost realizată printr-o metodă electrochimică.

a) Electrocul GC s-a dovedit a fi potrivit pentru determinarea amprentei electrochimice a moleculelor de Doxy care conțin grupări funcționale electrochimic active.

b) În condiții optime, metoda DPV a fost potrivită pentru monitorizarea în timp real a eliberării Doxy în condiții *in vitro*. Alegerea adecvată a parametrilor de intrare a asigurat o sensibilitate suficientă metodei.

23) Eliberarea Doxy din nanofibre a arătat un comportament similar cu cel observat în părțile anterioare ale tezei, unde s-au discutat LDDS bazate pe purtători cu diferite morfologii și calități de material. A fost demonstrată corelația negativă între conținutul inițial de Doxy al fibrelor și cantitatea de medicament eliberată.

24) Eliberarea bruscă poate fi atribuită difuziei rapide a moleculelor slab legate, în timp ce obținerea eliberării susținute depindea pe de o parte de prezența aglomeratelor de molecule de medicament adsorbate, pe de altă parte de diametrul fibrelor.

25) Cinetica de eliberare a arătat un comportament conform modelului Korsmeyer-Peppas. Această cinetică a fost independentă de natura sistemului investigat. Valorile exponentului de difuzie au reflectat complexitatea sistemelor.

26) Purtătorii cu o morfologie fibroasă, care imită matricea extracelulară, au fost adecvați pentru eliberarea susținută a medicamentului. Eliberarea susținută a fost evidențiată atât prin măsurători electrochimice, cât și prin cele spectrofotometrice. Metoda DPV a fost validată folosind datele obținute prin investigațiile spectrofotometrice UV-VIS.

a) Aplicabilitatea metodei DPV pentru măsurarea eliberării de Doxy din nanofibrele pe bază de PLA a fost confirmată atât prin abordări independente de model, cât și prin abordări dependente de model. Profilurile de eliberare obținute au îndeplinit criteriul de similitudine.

b) Această metodă simplă, rapidă, eficientă și suficient de sensibilă s-a dovedit a fi o procedură analitică alternativă. Absența prelevării de probă permite examinarea sistemului fără ca factorii externi să influențeze cinetica de eliberare.

Cercetarea prezentată în teza de doctorat evidențiază rolul cheie al proprietăților materialului purtător în ceea ce privește eliberarea Doxy. Natura purtătorului, compoziția chimică și morfologia adecvată permit obținerea eliberării controlate a medicamentului. Prin investigarea parametrilor care influențează eliberarea, LDDS poate fi ușor adaptat la nevoile terapeutice. Aceste rezultate contribuie la proiectarea și dezvoltarea eficientă a acestor sisteme, pentru aplicații *in vivo*.

Referințe

- [1] D. Paolino *et al.*, *Drug delivery systems principles of controlled drug delivery*, Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation, Second Edition, John Wiley & Sons, Inc, **2016**, 437-495, doi: 10.1002/0471732877.emd274.
- [2] S. Adepu and S. Ramakrishna, *Controlled drug delivery systems: Current status and future directions*, *Molecules*, 26, 19, **2021**, doi: 10.3390/molecules26195905.
- [3] E. Güven, *Nanotechnology-based drug delivery systems in orthopedics*, *Jt. Dis. Relat. Surg.*, 32, 1, 267–273, **2021**, doi: 10.5606/ehc.2021.80360.
- [4] Z. A. B. Elneel Ahmed Mohamed, *Anxiety and Depression in a Sample of Disfigured Orofacial Cancer Patients at Khartoum Teaching Dental Hospital, Sudan*, *Journal of Advanced Medical and Dental Sciences Research*, 6, 2, 59–65, **2018**, doi: 10.21276/jamdsr.
- [5] J. V. Costa, J. Portugal, C. B. Neves, and A. F. Bettencourt, *Should local drug delivery systems be used in dentistry?*, *Drug Deliv. Transl. Res.*, 12, 6, 1395–1407, **2022**, doi: 10.1007/s13346-021-01053-x.
- [6] S. S. C A Squier, *Enhancing effect of chitosan on peptide drug delivery across buccal mucosa*, *Biomaterials*, 21, 20, 2067–71, **2000**, doi: 10.1016/s0142-9612(00)00134-4.
- [7] F. K. Silvana Papagerakis, *Controlled Drug Delivery Systems for Oral Cancer Treatment-Current Status and Future Perspectives*, 11, 7, 302, **2019**, doi: 10.3390/pharmaceutics11070302.
- [8] Michelle Franz-Montan, *Recent advances and perspectives in topical oral anesthesia*, *Expert Opinion on Drug Delivery*, 14, 5, 673–684, **2017**, doi: 10.1080/17425247.2016.1227784.
- [9] P. Chinavinijkul, K. Riansuwan, P. Kiratisin, S. Srisang, and N. Nasongkla, *Dip- and Spray-coating of Schanz pin with PLA and PLA nanosphere for prolonged antibacterial activity*, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 65, 102667, **2021**, doi: 10.1016/j.jddst.2021.102667.
- [10] K. Puri. and N Puri, *Local drug delivery agents as adjuncts to endodontic and periodontal therapy*, *J Med Life*, 6, 4, 414–9, **2013**.
- [11] D. T. de C. Andréa C dos Reis, *In vitro study of the antibacterial properties and impact strength of dental acrylic resins modified with a nanomaterial*, *J Prosthet Dent.*, 115, 2, 238–46, **2016**, doi: 10.1016/j.prosdent.2015.09.003.
- [12] Abtahi J, Agholme F, Sandberg O, Aspenberg P., *Effect of Local vs. Systemic Bisphosphonate Delivery on Dental Implant Fixation in a Model of Osteonecrosis of the Jaw*, *Journal of Dental Research*, 92, 3, **2012**, doi: 10.1177/0022034512472335.
- [13] Goodman SB, Yao Z, Keeney M, Yang F., *The future of biologic coatings for orthopaedic implants*, 34, 13, 3174–83, **2013**, doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.01.074.
- [14] Wei Y, Deng Y, Ma S, Ran M, Jia Y, Meng J, Han F, Gou J, Yin T, He H, Wang Y, Zhang Y, Tang X., *Local drug delivery systems as therapeutic strategies against periodontitis: A systematic review*, *J Control Release*, 333, 10, 269–82, **2021**, doi: 10.1016/j.jconrel.2021.03.041.
- [15] S. K. Nandi *et al.*, *Understanding osteomyelitis and its treatment through local drug delivery system*, *Biotechnol. Adv.*, 34, 8, 1305–1317, **2016**, doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.09.005.
- [16] F. Meng, Z. Yin, X. Ren, Z. Geng, and J. Su, *Construction of Local Drug Delivery System on Titanium-Based Implants to Improve Osseointegration*, *Pharmaceutics*, 14, 5, **2022**, doi: 10.3390/pharmaceutics14051069.
- [17] P. Bertsch, L. Schneider, G. Bovone, M. W. Tibbitt, P. Fischer, and S. Gstöhl, *Injectable biocompatible hydrogels from cellulose nanocrystals for locally targeted sustained drug release*, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 11, 42, 38578–38585, **2019**, doi: 10.1021/acsami.9b15896.
- [18] Rajeshwari H.R. *et al.*, *Local drug delivery systems in the management of periodontitis: A scientific review*, *J. Controlled Release*, 307, 393–409, **2019**, doi: 10.1016/j.jconrel.2019.06.038.
- [19] E. Feyzioğlu-Demir, Ö. B. Üzümlü, and S. Akgöl, *Swelling and diffusion behaviour of spherical morphological polymeric hydrogel membranes (SMPHMs) containing epoxy groups and their application as drug release systems*, *Polym. Bull.*, 80, 6, 6567–6590, **2023**, doi: 10.1007/s00289-022-04368-y.
- [20] M.L. Bruschi, *Main mechanisms to control the drug release*, in *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*, Elsevier, **2015**, 37–62. doi: 10.1016/b978-0-08-100092-2.00004-7.

- [21] T. K. Giri, K. Kumar, A. Alexander, Ajazuddin, H. Badwaik, and D. K. Tripathi, *A novel and alternative approach to controlled release drug delivery system based on solid dispersion technique*, Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ., 50, 2, 147–159, **2012**, doi: 10.1016/j.bfopcu.2012.07.002.
- [22] M. Seidenstuecker *et al.*, *Composite material consisting of microporous β -TCP ceramic and alginate for delayed release of antibiotics*, Acta Biomater., 51, 433–446, **2017**, doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.045.
- [23] R. Detsch, J. Will, J. Hum, J. A. Roether, and A. R. Boccaccini, *Biomaterials in Cell culture technology*, Springer, Cham, **2018**, 91–105. doi: 10.1007/978-3-319-74854-2_6.
- [24] G. Schmalz and D. Arenholt-Bindslev, *Biocompatibility of dental materials*. Springer Berlin, Heidelberg, **2009**. doi: 10.1007/978-3-540-77782-3.
- [25] E. T. J. Chong, J. W. Ng, and P. C. Lee, *Classification and Medical Applications of Biomaterials—A Mini Review*, BIO Integr., 4, 2, 54–61, **2023**, doi: 10.15212/bioi-2022-0009.
- [26] S. V. Dorozhkin, *Calcium orthophosphates as bioceramics: State of the Art*, J. Funct. Biomater., 1, 1, 22–107, **2010**, doi: 10.3390/jfb1010022.
- [27] M. Taherimehr, R. Bagheri, and M. Taherimehr, *In-vitro evaluation of thermoplastic starch/beta-tricalcium phosphate nano-biocomposite in bone tissue engineering*, Ceram. Int., 47, 11, 15458–15463, **2021**, doi: 10.1016/j.ceramint.2021.02.111.
- [28] A. Fihri, C. Len, R. S. Varma, and A. Solhy, *Hydroxyapatite: A review of syntheses, structure and applications in heterogeneous catalysis*, Coord. Chem. Rev., 347, 48–76, **2017**, doi: 10.1016/j.ccr.2017.06.009.
- [29] S. B. H. Farid, *Osteoinduction, osteoconduction, and osseointegration in Bioceramics: For Materials Science and Engineering*, Elsevier, **2019**, 77–96. doi: 10.1016/B978-0-08-102233-7.00003-3.
- [30] A. Szcześ, L. Hołysz, and E. Chibowski, *Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications*, Adv. Colloid Interface Sci., 249, 321–330, **2017**, doi: 10.1016/j.cis.2017.04.007.
- [31] S. Mondal, S. V. Dorozhkin, and U. Pal, *Recent progress on fabrication and drug delivery applications of nanostructured hydroxyapatite*, WIREs Nanomedicine Nanobiotechnology, 10, 4, e1504, **2018**, doi: 10.1002/wnan.1504.
- [32] H. Huang, M. Du, J. Chen, S. Zhong, and J. Wang, *Preparation and characterization of abalone shells derived biological mesoporous hydroxyapatite microspheres for drug delivery*, Mater. Sci. Eng. C, 113, 110969, **2020**, doi: 10.1016/j.msec.2020.110969.
- [33] Y. Zhao, Y. Zhang, F. Ning, D. Guo, and Z. Xu, *Synthesis and cellular biocompatibility of two kinds of HAP with different nanocrystal morphology*, J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater., 83B, 1, 121–126, **2007**, doi: 10.1002/jbm.b.30774.
- [34] R. Singh, S. Gautam, B. Sharma, P. Jain, and K. D. Chauhan, *Biopolymers and their classifications in Biopolymers and their Industrial Applications*, Elsevier, **2021**, 21–44. doi: 10.1016/b978-0-12-819240-5.00002-x.
- [35] W. He and R. Benson, *Polymeric biomaterials in Applied plastics engineering handbook: processing*, Materials and Applications: Second Edition, Elsevier Inc., **2017**, 145–164. doi: 10.1016/B978-0-323-39040-8.00008-0.
- [36] B. Osi, M. Khoder, A. A. Al-Kinani, and R. G. Alany, *Pharmaceutical, biomedical and ophthalmic applications of biodegradable polymers (BDPs): literature and patent review*, Pharm. Dev. Technol., 27, 3, 341–356, **2022**, doi: 10.1080/10837450.2022.2055063.
- [37] R. M. Raj, N. Duraisamy, and V. Raj, *Drug loaded chitosan/aloe vera nanocomposite on Ti for orthopedic applications*, in *Materials Today: Proceedings*, Elsevier Ltd, **2021**, 1714–1719. doi: 10.1016/j.matpr.2020.10.772.
- [38] S. Liu *et al.*, *Controllable drug release behavior of polylactic acid (PLA) surgical suture coating with ciprofloxacin (CPFX)-polycaprolactone (PCL)/ polyglycolide (PGA)*, Polymers, 12, 2, **2020**, doi: 10.3390/polym12020288.
- [39] A. A. Volokhova *et al.*, *Controlled drug release from electrospun PCL non-woven scaffolds via multi-layering and e-beam treatment*, Mater. Today Commun., 26, **2021**, doi: 10.1016/j.mtcomm.2021.102134.

- [40] A. Pirmoradian, Y. Behshad, F. Sharifi, S. Alipour, L. Jiang, and M. Sabzi, *Development of antibiotic releasing electrospun nanofibrous mats based on gelatin*, *Materials Chemistry Horizons*, 2, 3, 185–193, **2023**, doi: 10.22128/mch.2023.689.1040.
- [41] A. Wilson, *The formation of dry, wet, spunlaid and other types of nonwovens in Applications of Nonwovens in Technical Textiles*, Elsevier, **2010**, 3–17. doi: 10.1533/9781845699741.1.3.
- [42] E. M. Elmowafy, M. Tiboni, and M. E. Soliman, *Biocompatibility, biodegradation and biomedical applications of poly(lactic acid)/poly(lactic-co-glycolic acid) micro and nanoparticles*, *J. Pharm. Investig.*, 49, 4, 347–380, **2019**, doi: 10.1007/s40005-019-00439-x.
- [43] A. A. Konta, M. García-Piña, and D. R. Serrano, *Personalised 3D printed medicines: Which techniques and polymers are more successful?*, *Bioengineering*, 4, 4, **2017**, doi: 10.3390/bioengineering4040079.
- [44] M. S. Singhvi, S. S. Zinjarde, and D. V. Gokhale, *Poly(lactic acid): synthesis and biomedical applications*, *J. Appl. Microbiol.*, 127, 6, 1612–1626, **2019**, doi: 10.1111/jam.14290.
- [45] V. DeStefano, S. Khan, and A. Tabada, *Applications of PLA in modern medicine*, *Eng. Regen.*, 1, 76–87, **2020**, doi: 10.1016/j.engreg.2020.08.002.
- [46] E. A. Bakr, M. Gaber, D. R. Saad, and N. Salahuddin, *Comparative study between two different morphological structures based on polylactic acid, nanocellulose and magnetite for co-delivery of flurouracil and curcumin*, *Int. J. Biol. Macromol.*, 230, **2023**, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.123315.
- [47] M. Gaur, S. Maurya, M. S. Akhtar, and A. B. Yadav, *Synthesis and evaluation of BSA-loaded PLGA-chitosan composite nanoparticles for the protein-based drug delivery system*, *ACS Omega*, 8, 21, 18751–18759, **2023**, doi: 10.1021/acsomega.3c00738.
- [48] Y. Zhao, J. Xu, and S. Peng, *Synthesis and evaluation of TaC nanocrystalline coating with excellent wear resistance, corrosion resistance, and biocompatibility*, *Ceram. Int.*, 47, 14, 20032–20044, **2021**, doi: 10.1016/j.ceramint.2021.03.333.
- [49] M. Prodana, D. Ionita, A. B. Stoian, I. Demetrescu, G. V. Mihai, and M. Enăchescu, *The design and characterization of new chitosan, bioglass and ZnO-based coatings on Ti-Zr-Ta-Ag*, *Coatings*, 13, 3, **2023**, doi: 10.3390/coatings13030493.
- [50] A. Woźniak *et al.*, *The influence of plasma-sprayed coatings on surface properties and corrosion resistance of 316L stainless steel for possible implant application*, *Arch. Civ. Mech. Eng.*, 21, 4, 148, **2021**, doi: 10.1007/s43452-021-00297-1.
- [51] M. A. Hassan, Z. Zamri, R. Daud, N. Redzuan, and I. Sudin, *The effect of PLA/HA coating thickness on crack formation and corrosion performance in Advanced Materials and Engineering Technologies*, 162, A. Ismail, W. M. Dahalan, and A. Öchsner, Eds., in *Advanced Structured Materials*, 162., Cham: Springer International Publishing, **2022**, 47–53. doi: 10.1007/978-3-030-92964-0_6.
- [52] B. Ambrozini, A. Carlos Guastaldi, R. Donizetti Herculano, M. Carlos Romeiro Miranda, and M. Jafellici Junior, *Sol-gel based calcium phosphates coating deposited on Co-Cr-Ni-Mo alloys modified by laser beam irradiation for cardiovascular devices*, *Mater. Today Proc.*, 14, 663–670, **2019**, doi: 10.1016/j.matpr.2019.02.004.
- [53] T. Xue *et al.*, *Surface modification techniques of titanium and its alloys to functionally optimize their biomedical properties: Thematic review*, *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 8, **2020**, doi: 10.3389/fbioe.2020.603072.
- [54] A. Bandyopadhyay, F. Espana, V. K. Balla, S. Bose, Y. Ohgami, and N. M. Davies, *Influence of porosity on mechanical properties and in vivo response of Ti6Al4V implants*, *Acta Biomater.*, 6, 4, 1640–1648, **2010**, doi: 10.1016/j.actbio.2009.11.011.
- [55] K. A. Kravanja and M. Finšgar, *A review of techniques for the application of bioactive coatings on metal-based implants to achieve controlled release of active ingredients*, *Mater. Des.*, 217, **2022**, doi: 10.1016/j.matdes.2022.110653.
- [56] S. S. Sidhu, M. A. H. Gepreel, and M. Bahraminasab, *Advances in titanium bio-implants: Alloy design, surface engineering and manufacturing processes*, *J. Mater. Res.*, 37, 16, 2487–2490, **2022**, doi: 10.1557/s43578-022-00661-8.
- [57] J. Adhikari, P. Saha, and A. Sinha, *Surface modification of metallic bone implants-Polymer and polymer-assisted coating for bone in-growth in Fundamental Biomaterials: Metals*, Elsevier, **2018**, 299–321. doi: 10.1016/B978-0-08-102205-4.00014-3.

- [58] S. Akshaya, P. K. Rowlo, A. Dukle, and A. J. Nathanael, *Antibacterial coatings for titanium implants: Recent trends and future perspectives*, *Antibiotics*, 11, 12, **2022**, doi: 10.3390/antibiotics11121719.
- [59] G. A. Fielding, N. Sarkar, S. Vahabzadeh, and S. Bose, *Regulation of osteogenic markers at late stage of osteoblast differentiation in silicon and zinc doped porous TCP*, *J. Funct. Biomater.*, 10, 4, 48, **2019**, doi: 10.3390/jfb10040048.
- [60] D. D. S. Tavares, L. D. O. Castro, G. D. D. A. Soares, G. G. Alves, and J. M. Granjeiro, *Synthesis and cytotoxicity evaluation of granular magnesium substituted β -tricalcium phosphate*, *J. Appl. Oral Sci.*, 21, 1, 37–42, **2013**, doi: 10.1590/1678-7757201302138.
- [61] A. M. Brahim Chafik El Idrissi, *XRD and FTIR Analysis of magnesium substituted tricalcium calcium phosphate using a wet precipitation method*, *Biointerface Res. Appl. Chem.*, 11, 1, 8034-8042, **2021**, doi: 10.33263/BRIAC111.80348042.
- [62] K. Prem Ananth *et al.*, *Structural and chemical analysis of silica-doped β -TCP ceramic coatings on surgical grade 316L SS for possible biomedical application*, *J. Asian Ceram. Soc.*, 3, 3, 317–324, **2015**, doi: 10.1016/j.jascer.2015.06.004.
- [63] R. Barabás, N. I. Farkas, C. L. Nagy, O. Cadar, C. Moisa, and L. Bizo, *Adsorption and desorption behavior of natural and synthetic active compounds on hydroxyapatite-based nanocomposites*, *Ceram. Int.*, 47, 6, 8584–8592, **2021**, doi: 10.1016/j.ceramint.2020.11.226.
- [64] H. Baradari *et al.*, *Calcium phosphate porous pellets as drug delivery systems: Effect of drug carrier composition on drug loading and in vitro release*, *J. Eur. Ceram. Soc.*, 32, 11, 2679-2690, **2012**, doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2012.01.018.
- [65] H. Baradari, C. Damia, M. Dutreih-Colas, E. Champion, D. Chulia, and M. Viana, *β -TCP porous pellets as an orthopaedic drug delivery system: Ibuprofen/carrier physicochemical interactions*, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 12, 5, **2011**, doi: 10.1088/1468-6996/12/5/055008.
- [66] J. C. Colpo, C. Pigatto, N. Brizuela, J. Aragón, and L. A. L. dos Santos, *Antibiotic and anesthetic drug release from double-setting α -TCP cements*, *J. Mater. Sci.*, 53, 10, 7112-7124, **2018**, doi: 10.1007/s10853-018-2071-4.
- [67] L. Marincas *et al.*, *Hydroxyapatite and silicon-modified hydroxyapatite as drug carriers for 4-aminopyridine*, *Crystals*, 11, 9, **2021**, doi: 10.3390/cryst11091124..
- [68] R. Barabas, M. Rigo, M. Sarkozi, M. A. Hoaghia, and O. Cadar, *Hydroxyapatite - Carbon nanotube composites for drug delivery applications*, *Braz. J. Chem. Eng.*, 36, 2, 913-922, **2019**, doi: 10.1590/0104-6632.20190362s20180181.
- [69] J. Lucas-Aparicio *et al.*, *Silicon-calcium phosphate ceramics and silicon-calcium phosphate cements: Substrates to customize the release of antibiotics according to the idiosyncrasies of the patient*, *Mater. Sci. Eng. C*, 106, 110173, **2020**, doi: 10.1016/j.msec.2019.110173.
- [70] C. Lindahl, W. Xia, J. Lausmaa, and H. Engqvist, *Incorporation of active ions into calcium phosphate coatings, their release behavior and mechanism*, *Biomed. Mater. Bristol*, 7, 4, **2012**, doi: 10.1088/1748-6041/7/4/045018.
- [71] S. A. Seyhan, D. B. Alkaya, S. Cesur, F. N. Oktar, and O. Gunduz, *Preparation and characterization of pure natural hydroxyapatite derived from seashells for controlled drug delivery*, *J. Aust. Ceram. Soc.*, **2022**, doi: 10.1007/s41779-022-00739-w.
- [72] A. R. Ahmady, K. Razmjooee, V. Nazar, and S. Saber-Samandari, *Alginate carrier as a controlled thymol delivery system: Effect of particle size*, *Mater. Chem. Phys.*, 294, **2023**, doi: 10.1016/j.matchemphys.2022.126982.
- [73] G. Zhu, R. Zhao, Y. Li, and R. Tang, *Multifunctional Gd,Ce,Tb co-doped β -tricalcium phosphate porous nanospheres for sustained drug release and bioimaging*, *J. Mater. Chem. B*, 4, 22, 3903-3910, **2016**, doi: 10.1039/c5tb02767e.
- [74] Ö. Yıldız, *Combined precipitation and spray drying for the synthesis of hydroxyapatite nanopowders as soft spherical granules*, *Ceram. Int.*, 44, 16, 19809–19817, **2018**, doi: 10.1016/j.ceramint.2018.07.238.
- [75] E. Skwarek, W. Janusz, and D. Sternik, *Adsorption of citrate ions on hydroxyapatite synthesized by various methods*, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 299, 3, 2027–2036, **2014**, doi: 10.1007/s10967-013-2825-z.

- [76] N. I. Farkas *et al.*, *The effect of chemical composition and morphology on the drug delivery properties of hydroxyapatite-based biomaterials*, *Ceram. Int.*, 49, 15, 25156–25169, **2023**, doi: 10.1016/j.ceramint.2023.05.047.
- [77] E. S. Bogyá, M. Czíková, G. Szabó, and R. Barabás, *The red beetroot extract antioxidant activity and adsorption kinetics onto hydroxyapatite-based materials*, *J. Iran. Chem. Soc.*, 10, 3, 491–503, **2013**, doi: 10.1007/s13738-012-0183-3.
- [78] M. Parent, H. Baradari, E. Champion, C. Damia, and M. Viana-Trecant, *Design of calcium phosphate ceramics for drug delivery applications in bone diseases: A review of the parameters affecting the loading and release of the therapeutic substance*, *J. Controlled Release*, 252, 1–17, **2017**, doi: 10.1016/j.jconrel.2017.02.012.
- [79] M. Mulazzi *et al.*, *Medicated Hydroxyapatite/Collagen Hybrid Scaffolds for Bone Regeneration and Local Antimicrobial Therapy to Prevent Bone Infections*, *Pharmaceutics*, 13, 7, 1090, **2021**, doi: 10.3390/pharmaceutics13071090.
- [80] Y. Wang, M. S. Hassan, P. Gunawan, R. Lau, X. Wang, and R. Xu, *Polyelectrolyte mediated formation of hydroxyapatite microspheres of controlled size and hierarchical structure*, *J. Colloid Interface Sci.*, 339, 1, 69–77, **2009**, doi: 10.1016/j.jcis.2009.07.023.
- [81] N. I. Farkas *et al.*, *Preparation and characterization of Doxycycline-loaded electrospun PLA/HAP nanofibers as a drug delivery system*, *Materials*, 15, 6, **2022**, doi: 10.3390/ma15062105.
- [82] S. Jose *et al.*, *Synthesis of luminescent Mg-incorporated hydroxyapatite by reflux condensation method: Photoluminescence, in-vitro drug release and kinetic studies*, *Mater. Today Proc.*, 58, 836–845, **2022**, doi: 10.1016/j.matpr.2021.09.390.
- [83] K. T. Arul *et al.*, *Novel multifunctional of magnesium ions (Mg⁺⁺) incorporated calcium phosphate nanostructures*, *J. Alloys Compd.*, 730, 31–35, **2018**, doi: 10.1016/j.jallcom.2017.09.254.
- [84] M. U. Munir *et al.*, *Nano-hydroxyapatite as a delivery system: overview and advancements*, *Artif. Cells Nanomedicine Biotechnol.*, 49, 1, 717–727, **2021**, doi: 10.1080/21691401.2021.2016785.
- [85] T. Kokubo and S. Yamaguchi, *Simulated body fluid and the novel bioactive materials derived from it*, *J. Biomed. Mater. Res. A*, 107, 5, 968–977, **2019**, doi: 10.1002/jbm.a.36620.
- [86] B. Kundu *et al.*, *Development of new localized drug delivery system based on ceftriaxone-sulbactam composite drug impregnated porous hydroxyapatite: a systematic approach for in vitro and in vivo animal trial*, *Pharm. Res.*, 27, 8, 1659–1676, **2010**, doi: 10.1007/s11095-010-0166-y.
- [87] M.L. Bruschi, *Mathematical models of drug release in Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*, Elsevier, **2015**, 63–86. doi: 10.1016/b978-0-08-100092-2.00005-9.
- [88] F. Tamimi *et al.*, *Doxycycline sustained release from brushite cements for the treatment of periodontal diseases*, *J. Biomed. Mater. Res. A*, 85A, 3, 707–714, **2008**, doi: 10.1002/jbm.a.31610.
- [89] S. Tabassum *et al.*, *Efficient drug delivery system for bone repair by tuning the surface of hydroxyapatite particles*, *RSC Adv.*, 6, 107, 104969–104978, **2016**, doi: 10.1039/C6RA24551J.
- [90] N. A. Singh, A. K. A. Mandal, and Z. A. Khan, *Fabrication of PLA-PEG nanoparticles as delivery systems for improved stability and controlled release of Catechin*, *J. Nanomater.*, 2017, 1–9, **2017**, doi: 10.1155/2017/6907149.
- [91] O. C. Onder, M. A. Nazeer, E. Yilgör, and I. Yilgör, *Spontaneous formation of microporous poly(lactic acid) coatings*, *Prog. Org. Coat.*, 125, 249–256, **2018**, doi: 10.1016/j.porgcoat.2018.09.016
- [92] N. Argarate *et al.*, *Biodegradable Bi-layered coating on polymeric orthopaedic implants for controlled release of drugs*, *Mater. Lett.*, 132, 193–195, **2014**, doi: 10.1016/j.matlet.2014.06.070.
- [93] S. Sonjan, G. M. Ross, S. Mahasaranon, B. Sinkangam, S. Intanon, and S. Ross, *Biodegradable hydrophilic film of crosslinked PVA/silk sericin for seed coating: the effect of crosslinker loading and polymer concentration*, *J. Polym. Environ.*, 29, 1, 323–334, **2021**, doi: 10.1007/s10924-020-01867-9.

- [94] S. Buapool, N. Thavarungkul, N. Srisukhumbowornchai, and P. Termsuksawad, *Modeling and analysis of the effect of dip-spin coating process parameters on coating thickness using factorial design method*, *Adv. Mater. Sci. Eng.*, 2017, **2017**, doi: 10.1155/2017/9639306.
- [95] A. Zhang, H. Bai, and L. Li, *Breath figure: a nature-inspired preparation method for ordered porous films*, *Chem. Rev.*, 115, 18, 9801–9868, **2015**, doi: 10.1021/acs.chemrev.5b00069.
- [96] Ameenuzzafar *et al.*, *Improvement of ocular efficacy of levofloxacin by bioadhesive Chitosan coated PLGA nanoparticles: Box-behnken design, in-vitro characterization, antibacterial evaluation and scintigraphy study*, *Iran. J. Pharm. Res.*, 19, 1, 292–311, **2020**, doi: 10.22037/ijpr.2019.15318.13016.
- [97] B. Hou, Y. Liu, H. Chen, and Y. Yang, *In vitro bioactivity, bio-corrosion resistance and antibacterial property of laser cladded HA coatings with different content of ZnO on Ti-6Al-4V substrate*, *Mater. Res.*, 22, **2019**, doi: 10.1590/1980-5373-MR-2018-0744.
- [98] W. Zhang *et al.*, *Strengthened corrosion control of poly (lactic acid) (PLA) and poly (ϵ -caprolactone) (PCL) polymer-coated magnesium by imbedded hydrophobic stearic acid (SA) thin layer*, *Corros. Sci.*, 112, 327–337, **2016**, doi: 10.1016/j.corsci.2016.07.027.
- [99] O. Yigit, B. Dikici, and N. Ozdemir, *Hydrothermal synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite–graphene nanosheet on Ti-6Al-7Nb: mechanical and in vitro corrosion performance*, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 32, 4, **2021**, doi: 10.1007/s10856-021-06514-w.
- [100] N. Cotelan, M. Rak, M. Bele, A. Cör, L. M. Muresan, and I. Milošev, *Sol-gel synthesis, characterization and properties of TiO₂ and Ag-TiO₂ coatings on titanium substrate*, *Surf. Coat. Technol.*, 307, 790–799, **2016**, doi: 10.1016/j.surfcoat.2016.09.082.
- [101] A. I. Rezk, H. M. Mousa, J. Lee, C. H. Park, and C. S. Kim, *Composite PCL/HA/simvastatin electrospun nanofiber coating on biodegradable Mg alloy for orthopedic implant application*, *J. Coat. Technol. Res.*, 16, 2, 477–489, **2019**, doi: 10.1007/s11998-018-0126-8.
- [102] S. K. Shukla and M. A. Quraishi, *The effects of pharmaceutically active compound doxycycline on the corrosion of mild steel in hydrochloric acid solution*, *Corros. Sci.*, 52, 2, 314–321, **2010**, doi: 10.1016/j.corsci.2009.09.017.
- [103] L. Y. Cui *et al.*, *Degradation mechanism of micro-arc oxidation coatings on biodegradable Mg-Ca alloys: The influence of porosity*, *J. Alloys Compd.*, 695, 2464–2476, **2017**, doi: 10.1016/j.jallcom.2016.11.146.
- [104] Alécio ABW, Ferreira CF, Babu J, Shokuhfar T, Jo S, Magini R, Garcia-Godoy F. *Doxycycline Release of Dental Implants With Nanotube Surface, Coated With Poly Lactic-Co-Glycolic Acid for Extended pH-controlled Drug Delivery*, *J Oral Implantol.*, 45, 4, 267–273, **2019**, doi: 10.1563/aaid-joi-D-18-00069.
- [105] E. D. de Avila *et al.*, *Anti-bacterial efficacy via drug-delivery system from layer-by-layer coating for percutaneous dental implant components*, *Appl. Surf. Sci.*, 488, 194–204, **2019**, doi: 10.1016/j.apsusc.2019.05.154.
- [106] Z. Assadi, G. Emtiazi, and A. Zarrabi, *Hyperbranched polyglycerol coated on copper oxide nanoparticles as a novel core-shell nano-carrier hydrophilic drug delivery model*, *J. Mol. Liq.*, 250, 375–380, **2018**, doi: 10.1016/j.molliq.2017.12.031.
- [107] N. Mederle *et al.*, *Innovative biomaterials based on collagen-hydroxyapatite and doxycycline for bone regeneration*, *Adv. Mater. Sci. Eng.*, 2016, 1–5, **2016**, doi: 10.1155/2016/3452171.
- [108] X. Wang *et al.*, *Poly(lactide-co-glycolide) encapsulated hydroxyapatite microspheres for sustained release of doxycycline*, *Mater. Sci. Eng. B*, 177, 4, 367–372, **2012**, doi: 10.1016/j.mseb.2011.12.030.
- [109] I. J. Macha, S. Cazalbou, B. Ben-Nissan, K. L. Harvey, and B. Milthorpe, *Marine structure derived calcium phosphate-polymer biocomposites for local antibiotic delivery*, *Mar. Drugs*, 13, 1, 666–680, **2015**, doi: 10.3390/md13010666.
- [110] D. Lawrencja *et al.*, *Controlled release fertilizers: A review on coating materials and mechanism of release*, *Plants*, 10, 2, 1–26, **2021**, doi: 10.3390/plants10020238.
- [111] R. Cánovas, N. Slegers, A. L. N. Van Nuijs, and K. De Wael, *Tetracycline antibiotics: elucidating the electrochemical fingerprint and oxidation pathway*, *Chemosensors*, 9, 7, 187, **2021**, doi: 10.3390/chemosensors9070187.

- [112] N. I. Farkas, L. Marincaş, L. Barbu-Tudoran, R. Barabás, and G. L. Turdean, *Investigation of the Real-Time Release of Doxycycline from PLA-Based Nanofibers*, *J. Funct. Biomater.*, 14, 6, **2023**, doi: 10.3390/jfb14060331.
- [113] M. Ghorbani, F. Mahmoodzadeh, L. Yavari Maroufi, and P. Nezhad-Mokhtari, *Electrospun tetracycline hydrochloride loaded zein/gum tragacanth/poly lactic acid nanofibers for biomedical application*, *Int. J. Biol. Macromol.*, 165, 1312–1322, **2020**, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.09.225.
- [114] C. R. Reshmi, S. V. Nair, and D. Menon, *From nonwoven fibers to woven nanotextiles: Electrospinning in drug delivery in Biomedical Applications of Electrospinning and Electrospinning*, Elsevier, **2021**, 123–156. doi: 10.1016/B978-0-12-822476-2.00003-0.
- [115] S. C. Chen, X. B. Huang, X. M. Cai, J. Lu, J. Yuan, and J. Shen, *The influence of fiber diameter of electrospun poly(lactic acid) on drug delivery*, *Fibers Polym.*, 13, 9, 1120–1125, **2012**, doi: 10.1007/s12221-012-1120-x.
- [116] I. Rus *et al.*, *Simple and fast analytical method for the evaluation of the encapsulation and release profile of doxorubicin from drug delivery systems*, *Farmacia*, 69, 4, 670–681, **2021**, doi: 10.31925/farmacia.2021.4.6.
- [117] A. I. Rezk, D. P. Bhattarai, J. Park, C. H. Park, and C. S. Kim, *Polyaniline-coated titanium oxide nanoparticles and simvastatin-loaded poly(ϵ -caprolactone) composite nanofibers scaffold for bone tissue regeneration application*, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 192, 111007, **2020**, doi: 10.1016/j.colsurfb.2020.111007