

B.1. Propunerea de proiect

1. Titlul, cu indicarea domeniului științific din lista de la secțiunea VI

Acoperiri pe bază de hidroxiapatită substituită, cu proprietăți funcționale îmbunătățite pentru stimularea fixării la interfața os-implant

Domeniul științific: Bio și nano materiale/tehnologii pentru industrie și medicină

Abstract: Acest proiect își propune depășirea limitărilor actualelor metode utilizate pentru regenerarea osoasă, prin dezvoltarea și caracterizarea complexă de pulberi ceramice și bioacoperiri cu aplicații în ingineria tisulară. Specific, se urmărește creșterea biocompatibilității sistemelor folosite în producerea implanturilor dentare și, în consecință, a creșterii duratei de supraviețuire a implantului. Astfel, pornind de la materiale naturale considerate deșeuri industriale, prin intermediul substituției cationice și optimizării parametrilor de sinteză, vor fi obținute în primă fază pulberi, iar ulterior straturi subțiri biocompatibile, cu proprietăți osteogene și antimicrobiene. Rezultatele proiectului vor avea un impact pozitiv asupra industriei, mediului și societății, printr-o vindecare mai rapidă, un risc minim de infecție în timpul implantării și eliminarea intervențiilor chirurgicale ulterioare, dureroase și costisitoare. Astfel, calitatea vieții pacienților ce necesită implanturi la nivelul țesutului osos va fi semnificativ îmbunătățită.

2. Cuvinte cheie: regenerare tisulară; implant osos; efect antimicrobian; hidroxiapatită naturală; biomimetism; straturi subțiri biocompatibile; uleiuri esențiale.

3. Obiective, cu indicarea importanței acestora

Ingineria tisulară osoasă are ca scop îmbinarea principiilor ingineriei și științelor vieții, în vederea dezvoltării de matrici adecvate, capabile să mimeze micro-mediul țesutului osos natural și să stimuleze un răspuns biologic natural. Un substituent osos sintetic trebuie să ofere suport mecanic și o arhitectură poroasă pentru a promova migrarea și diferențierea celulară în interiorul/la suprafața acestuia, promovând osteoinducția și accelerând osteointegrarea în țesutul gazdă. De asemenea, trebuie să permită sterilizarea fără pierderea bioactivității, eliberarea de molecule bioactive sau medicamente și să prevină formarea de subprodusi toxici și inducerea unui răspuns inflamator local sau sistemic [1].

O altă problemă actuală, presantă, a sistemului de sănătate este apariția microorganismelor multi-rezistente (fenomenul de **rezistență bacteriană la antibiotice**) și dezvoltarea infecțiilor post-implantare. În prezent, aproximativ 700.000 de decese sunt cauzate anual la nivel mondial, ultimele estimări arătând că până în 2050, rezistența la antibiotice va afecta 230 de milioane de

pacienți și va provoca 10 milioane de decese în fiecare an [2]. Cele mai pronunțate infecții asociate cu microorganismele multi-rezistente la medicamente sunt cele legate de echipamentul spitalicesc, în special de pansamentele necorespunzătoare pentru plăgi, instrumentele chirurgicale, implanturile metalice etc. Creșterea alarmantă și rapidă a apariției infecțiilor cu specii rezistente la medicamente i-a forțat pe cercetători să-și concentreze atenția asupra dezvoltării de alternative neconvenționale pentru tratarea și prevenirea acestora. De-a lungul anilor, au fost explorate diverse variante, printre care se numără sistemele cu eliberare controlată a medicamentelor, nanoparticulele, materialele pe bază de carbon, peptidele etc.

Oasele sunt sisteme complexe compuse din 70% hidroxiapatită (HAp), 20% colagen și aproximativ 10% apă. În acest context, HAp își găsește o multitudine de aplicații în domeniul biomedical, fiind utilizată în mod intensiv în materiale compozite pentru implanturi, pentru a repara și/sau substitui țesutul dur, dar și pentru sisteme cu eliberare controlată de medicamente sau **acoperiri pentru proteze dentare și ortopedice** [1]. **HAp** cristalizează în mod natural în formă substituită (cu ioni precum carbonat, fluorură, magneziu, sodiu, zinc etc.), fiind diferită de cea obținută pe cale chimică, în formă pură, din punct de vedere al stoechiometriei, compoziției, dimensiunii cristalelor și proprietăților fizico-chimice. Interacțiunea celulară cu o grefă osoasă are un rol cheie în recuperarea țesutului. Astfel, ionii substituenți din rețeaua HAp naturală joacă un rol vital pentru răspunsul biologic al celulelor osoase: CO_3^{2-} afectează formarea cristalelor de apatită, Na^+ influențează remodelarea osoasă, iar Zn^{2+} stimulează formarea de țesut osos și previne resorbția osoasă. Structura HAp poate acomoda o gamă largă de substituții ionice, tipul și procentul de substituție fiind controlat de limitele structurale ale celulei elementare. Substituțiile ionice pot afecta gradul de cristalinitate, solubilitatea, dimensiunea granulelor și stabilitatea termică a HAp, transformând-o în diferiți fosfați de calciu (CaP) [3].

Înlocuirea ionilor Ca^{2+} cu ioni cu valențe și dimensiuni diferite poate provoca un dezechilibru al sarcinilor electrice și al parametrilor de rețea, ceea ce duce la crearea de vacanțe electronice și la posibilitatea de substituții concomitente cu alți cationi și anioni. Cu toate acestea, pentru a îmbunătăți șansele ca materialele de substituție osoasă propuse să fie acceptate de organismul uman, este necesară o compoziție chimică similară fazei naturale de apatită osoasă (**abordare biomimetică**) [4]. O metodă pentru a obține similitudinea fizico-chimică cu HAp biologică este utilizarea deșeurilor biogene. Acestea pot fi prelucrate pentru a extrage direct fosfați de calciu (ex. din **oase bovine**), sau pot fi folosite ca simple surse de calciu, de obicei sub formă de carbonat de

calciu, pentru a reacționa cu un precursor de fosfor și pentru a forma HAp (ex. **cojile de ouă, cochiliile de moluște**). O altă metodă pentru a spori proprietățile actuale ale hidroxiapatitei, sau a adăuga altele noi, este prin **substituția parțială a ionilor Ca^{2+}** în momentul sintezei hidroxiapatitei sintetice. Această abordare a câștigat popularitate în ultimii 20 de ani și, în căutarea de a imita compoziția mineralului natural al oaselor, a evoluat de la substituții cu un singur ion [5], la utilizarea a doi [6] sau trei [7] substituenți simultan, ajungând chiar și la substituția ionică simultană a Ca^{2+} cu 9 specii diferite [8]. Peste 70 de elemente ale Tabelului Periodic au fost deja studiate ca dopanți în structura HAp în încercarea de a contracara dezavantajele HAp, precum lipsa activității antibacteriene, rezistența mecanică slabă etc. Unele dintre ele au fost raportate în mod frecvent în literatură, prin urmare majoritatea caracteristicilor lor au fost deja studiate: Sr (13,24%), Ag (11,23%) și Zn (10,06%) [9]. Alte elemente, precum **ceriu** sau **magneziu**, sunt în plină dezvoltare ca dopanți în structura HAp. Pe de-o parte, **Ce** este un element din clasa pământurilor rare, care se poate acumula în oase și care are capacitatea de a stimula activitatea metabolică a organismului. Ionul Ce există în două forme, Ce^{3+} și Ce^{4+} , unde capacitatea sa unică de a comuta între stările de oxidare face ca biomaterialele componente să prezinte **proprietăți antibacteriene și antioxidante mult îmbunătățite** [10]. Există studii care raportează utilizarea pe scară largă a Ce în aplicații în industria dispozitivelor medicale (ex. catetere), stomatologie și în tratamentul rănilor provocate de arsuri. Dezvoltarea HAp dopate cu Ce (Ce-HAp) va permite obținerea unui material biocompatibil și osteoconductiv, cu activitate antimicrobiană. Mai mult decât atât, utilizarea Ce-HAp în dezvoltarea bioacoperirilor biocompatibile este un punct central al cercetării actuale la nivel internațional. Pe de-altă parte, încorporarea ionilor de Mg în rețeaua HAp duce la o îmbunătățire a bioactivității – ionii de Mg^{2+} interacționează cu integritatea celulelor osteoblaste care sunt responsabile de adeziunea și stabilitatea celulară. Acești ioni substituenți acționează similar factorilor de creștere în stadiile incipiente ale osteogenezei, ducând la formarea de țesut osos. În plus, HAp dopată cu Mg (Mg-HAp) a demonstrat capacitatea de a promova diferențierea osteogenică a celulelor formatoare de țesut osos (preosteoblaste), îmbunătățind astfel **potențialul osteointegrator** al implantului în primele stadii de la implantare [11]. Mg reglează activitatea musculară și cerebrală, controlează pulsul cardiac, reduce riscul de osteoporoză și asigură regenerarea țesuturilor lezate. Deficiențele de Mg duc la o creștere a numărului de osteoclaste și o reducere a numărului de osteoblaste. Prezența Mg facilitează adsorbția celulelor și proteinelor pe apatitele biologice și promovează nucleația și creșterea cristalelor de HAp naturală.

În afară de bioactivitate și biocompatibilitate, **rezistența mecanică** este un alt aspect important de urmărit în procesul de proiectare a unui implant. În acest sens, diverse tipuri de **materiale metalice** sunt utilizate ca materiale de substituție osoasă și reprezintă încă o bună opțiune la autogrefe, datorită biocompatibilității lor acceptabile și proprietăților mecanice adecvate. Principala lor limitare constă însă în faptul că după implantare, datorită activității mecanice, chimice și electrice a fluidelor corporale, biomaterialele metalice au o mare **tendință de a coroda** și de a elibera particule abrazive în mediile biologice, provocând de obicei inflamații și necesitând intervenții postoperatorii nedorite. O altă problemă legată de utilizarea implanturilor metalice este lipsa interacțiunii biologice (inerția biologică), ceea ce face imposibilă inducerea proceselor de osteogeneză sau creșterea de țesut osos nou [12].

Obiectivul general (OG) al acestui proiect este derivat din nevoile ortopedice și stomatologice identificate atât la nivel național, cât și internațional, și constă în depășirea limitărilor actuale de la interfața țesut-implant, prin dezvoltarea de materiale biomimetice ca bioacoperiri pentru dispozitive medicale. Principalul motiv pentru necesitatea acoperirii suprafeței materialelor metalice îl reprezintă nevoia de îmbunătățire a răspunsului biologic al țesutului din apropierea implantului printr-un strat de apatită asemănător osului, menținând în același timp caracteristicile mecanice ale materialului metalic [13].

Pentru a atinge obiectivul dorit, biomaterialele pe bază de HAp substituie cu ioni de Ce și/sau Mg vor fi mai întâi sintetizate printr-o metodă neconvențională, hibridă (metoda hidrotermală asistată de microunde), pornind de la o sursă naturală, respectiv una sintetică, de calciu – **obiectiv specific I**. Ulterior, acestea vor fi depuse pe substraturi metalice de aliaj de titan folosind tehnica de evaporare laser pulsată asistată de o matrice (MAPLE) – **obiectiv specific II**.

De-a lungul perioadei de implementare a proiectului, se vor marca următoarele puncte cheie (milestone – M):

M I – Transformarea unor materiale considerate deșeuri biogene, valoroase din punct de vedere al compoziției chimice, în materiale pentru regenerarea țesuturilor dure. Costul redus, disponibilitatea ridicată și caracterul netoxic le recomandă pentru acest tip de aplicație, reducând în același timp poluarea generată de acumularea unor astfel de subproduse industriale.

M II – Îmbunătățirea proprietăților HAp prin substituția cu ioni de Ce și/sau Mg și optimizarea parametrilor de sinteză hidrotermală asistată de microunde în vederea dezvoltării unor modele experimentale cu aplicații în domeniul biomedical, în special în sfera stomatologică și ortopedică.

M III – Obținerea de structuri complexe de tip film subțire pe bază de polimeri naturali, hidroxiapatită (HAp, Ce-HAp, Mg-HAp) și uleriuri esențiale, care pot deveni candidați promițători pentru fabricarea de biomateriale implantabile cu biocompatibilitate crescută și rezistență la colonizarea microbiană și dezvoltarea ulterioară a biofilmului microbian.

4. Metodologie, cu indicarea gradului de originalitate

Proprietățile biologice și mecanice ale HAp sunt determinate de compoziția, structura, dimensiunea și morfologia sa și sunt de obicei controlate prin metoda de sinteză. Proiectul propune o abordare sinergică pentru îmbunătățirea pulberilor de HAp obținute din surse naturale prin modificarea: i) proprietăților biologice (antibacteriene, antioxidante, de osteointegrare) ale materialului prin substituția cu ioni de Ce și/sau Mg și ii) proprietăților morfo-structurale, utilizând o metodă de sinteză hidrotermală neconvențională, hibridă, asistată de microunde.

Metoda de sinteză propusă pentru obținerea pulberilor de HAp este o **modalitate nouă, promițătoare** și eficientă de a obține nanoparticule fine, monodisperse, ce permite controlul parametrilor de sinteză (ex. presiunea inițială în autoclavă, temperatura maximă și viteza de încălzire, timpul de reacție). În comparație cu metoda tradițională hidrotermală, versiunea îmbunătățită asistată de microunde prezintă o serie de avantaje cu impact major asupra proprietăților materialului final: (i) încălzire omogenă în întregul volum al amestecului de reacție, fără gradienti de temperatură care să ducă la neomogenitatea dimensiunii și morfologiei particulelor; (ii) încălzire rapidă, datorită iradierii cu microunde a moleculelor polare utilizate în mod normal în reacțiile chimice (apă, alcool); (iii) timpul redus de reacție și consumul de energie. Ca rezultat, pulberile HAp obținute prezintă o dimensiune a particulelor redusă, puritate crescută și distribuție a dimensiunii redusă în comparație cu alte metode.

Metoda de depunere propusă pentru obținerea bioacoperirilor pe bază de HAp substituită cu ioni de Ce și/sau Mg este tehnica MAPLE, o metodă alternativă neconvențională, promițătoare pentru dezvoltarea de filme subțiri datorită avantajelor sale unice: (i) uniformitatea dimensională a straturilor depuse, (ii) posibilitatea utilizării unei mari varietăți de specii organice și anorganice, (iii) conservarea structurală a materialelor depuse și a substratului.

Metodologia propusă în vederea realizării obiectivelor presupune următoarele activități:

Etapa 1 (4 luni) are ca scop sinteza și caracterizarea pulberilor de HAp biomimetică și HAp mono-substituită:

A1.1 Sinteza HAp se va realiza în două moduri: i) pornind de la solubilizarea $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ și $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, urmată de tratamentul hidrotermal în câmp de microunde prin varierea și optimizarea parametrilor de sinteză specifici (ex. pH, presiunea inițială în autoclavă, temperatura maximă atinsă în cadrul sintezei, viteza de încălzire, timpul de reacție etc.) și ii) pornind de la o sursă naturală, biogenă, de HAp (ex. os bovin), prin calcinare.

A1.2 Caracterizarea morfologică și structurală a pulberilor rezultate (**HAp**), în vederea stabilirii setului optim de parametri de sinteză folosit ulterior. Se vor utiliza analiza termică complexă (**ATD-DSC**), difracția de raze X (**XRD**), microscopia electronică de baleiaj (**SEM**), microscopia electronică prin transmisie (**TEM**), spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (**FTIR**), iar rezultatele vor fi analizate comparativ.

A1.3 Sinteza HAp substituită cu ceriu (Ce-HAp) și magneziu (Mg-HAp) va duce la formarea de pulberi non-stoechiometrice, cu formula chimică generală $\text{Ca}_{10-x}\text{Ce}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, $[\text{Ca}+\text{Ce}]/\text{P} = 1.67$, respectiv $\text{Ca}_{10-x}\text{Mg}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, $[\text{Ca}+\text{Mg}]/\text{P} = 1.67$, variind gradul de substituție al ionilor de Ca ($x=0.1-0.5$). În vederea sintezei se va utiliza metoda optimizată rezultată anterior, la care se vor adăuga precursorii de dopanți (nitrați – săruri solubile).

A1.4 Caracterizarea morfologică și structurală a pulberilor rezultate (**Ce-HAp** și **Mg-HAp**) în vederea stabilirii gradului optim de substituție. Se vor utiliza XRD (cu determinarea parametrilor celulei elementare și gradului de cristalizare prin rafinare Rietveld), SEM, TEM, FTIR, iar rezultatele vor fi analizate comparativ.

Etapa 2 (4 luni) are ca scop sinteza și caracterizarea pulberilor de HAp di-substituită, inclusiv evaluarea *in-vitro*:

A2.1 Sinteza HAp substituită cu ceriu și magneziu în diverse proporții (Ce_aMg_b-HAp) va fi realizată printr-o ușoară adaptare a metodei dezvoltată în A1.1.

A2.2 Caracterizarea morfologică și structurală a pulberilor rezultate (**Ce_aMg_b-HAp**) în vederea stabilirii raportului optim între cei doi substituenți. Se vor utiliza XRD (cu determinarea parametrilor celulei elementare și gradului de cristalizare prin rafinare Rietveld), SEM, TEM, FTIR, iar rezultatele vor fi analizate comparativ.

A2.3 Evaluarea *in-vitro* a caracterului antimicrobian a HAp biomimetice, Ce-HAp, Mg-HAp și Ce_aMg_b-HAp se va realiza prin metode cantitative (ex. capacitatea de a preveni formarea biofilmului) și calitative (ex. determinarea diametrului zonei de inhibiție), utilizând bacterii Gram-pozitive (*S. aureus*), Gram-negative (*E. coli*) și fungi (*C. albicans*).

A2.4 Evaluarea *in-vitro* a biocompatibilității HAp biomimetice, Ce-HAp, Mg-HAp și Ce_aMg_b-HAp se va realiza în contact cu celule osteoblaste. În acest sens, se va urmări proliferarea și viabilitatea celulară prin metode colorimetrice cantitative, care se bazează fie pe reducerea bromurii de 3-(4,5-dimetiltiazoliu)-2,5-difeniltetrazoliu (MTT), fie pe cuantificarea conținutului de lactat dehidrogenază (LDH).

Etapa 3 (7 luni) vizează evaluarea *in-vivo* a eșantioanelor optime și realizarea de bioacoperiri.

A3.1 Evaluarea *in-vivo* a biocompatibilității pulberilor rezultate se va realiza pe modele murine prin introducerea eșantioanelor optime de **HAp biomimetică, Ce-HAp, Mg-HAp și Ce_aMg_b-HAp** la nivelul țesutului osos. Ulterior, țesuturile vor fi evaluate din punct de vedere histologic în vederea determinării gradului de necroză, osteogeneză, mineralizare osoasă și răspuns inflamator.

A3.2 Studiul fluenței MAPLE se va realiza prin varierea parametrilor de depunere a pulberilor obținute. Filmele subțiri depuse vor fi evaluate prin microscopie în infraroșu și SEM și analizate comparativ în vederea stabilirii fluenței optime de depunere prin MAPLE.

A3.3 Depunerea filmelor la fluență optimă va presupune dezvoltarea de bioacoperiri pe bază de **HAp biomimetică, Ce-HAp, Mg-HAp și Ce_aMg_b-HAp** conform rezultatelor obținute în cadrul A3.2.

A3.4 Caracterizare morfologică și structurală a bioacoperirilor obținute în vederea stabilirii eșantioanelor optime. Filmele subțiri vor fi analizate prin **SEM**, atât la **suprafață**, cât și în **secțiuni transversală**, prin mapping FTIR pentru obținerea hărților în infraroșu, **XRD** și microscopie de forță atomică (**AFM**), iar rezultatele vor fi evaluate comparativ.

Etapa 4 (5 luni) vizează funcționalizarea și validarea eșantioanelor de filme subțiri optime prin introducerea de substanțe bioactive naturale și evaluarea *in-vitro* a acestora.

A4.1 Biomineralizarea *in vitro* a bioacoperirilor rezultate presupune evaluarea eliberării ionilor de la nivelul acestora în contact cu medii fiziologice relevante (ex. fluid corporal simulat – SBF, tampon fosfat salin – PBS) prin tehnica de spectrometrie de masă cu plasmă cuplată inductiv (**ICP-MS**).

A4.2 Funcționalizarea bioacoperirilor cu uleiuri esențiale (ex. busuioc, cimbru, mentă, cuișoare, levănțică, arnica, tămâie) prin tehnici de pulverizare aerosoli sau dip-coating în solvenți specifici în vederea îmbunătățirii caracterului osteogenic, antimicrobian, antioxidant și anti-inflamator al acestora.

A4.3 Evaluarea *in-vitro* a caracterului antimicrobian al bioacoperirilor se va realiza conform A2.3.

A4.4 Evaluarea *in-vitro* a biocompatibilității bioacoperirilor se va realiza conform A2.4.

Activitățile propuse în cadrul proiectului vor fi îndeplinite prin utilizarea infrastructurii de ultimă generație disponibilă în cadrul Universității Politehnica din București. Infrastructura de cercetare este detaliată în platformele dedicate: <http://erris.gov.ro/UPB-CASM-SIMONa>, <http://erris.gov.ro/CNMN---UPB> și <http://erris.gov.ro/CNpSA-UPB>. Toate echipamentele utilizate pentru sinteză, caracterizare și testare sunt relativ noi, achiziționate după 2015, funcționale și cu risc scăzut de defecțiuni. Activitatea de cercetare propusă este cuprinzătoare, incluzând toate etapele de sinteză, prelucrare, caracterizare și validare de noi materiale funcționalizate. În acest sens, pentru sinteza pulberilor, se va utiliza echipamentul synthWAVE (Milestone), prevăzut atât pentru reacții unice, cât și multiple, la temperaturi de până la 300 °C și presiuni de până la 199 bar, pentru scalarea fiabilă și reproductibilă a reacțiilor chimice în câmp de microunde. Activitatea în laboratoarele de caracterizare a materialelor se bazează pe utilizarea unor echipamente care oferă rezultate ce îndeplinesc o mare varietate de cerințe necesare unei caracterizări avansate. În limitele temei proiectului, există câteva echipamente individuale care sunt valoroase în special pentru activitățile de caracterizare propuse: microscopie electronică de scanare (Inspect F50 și Versa 3D), microscop și spectroscop FTIR – chiar și cu modulul de analiză termostatică, difractometre de raze X, microscopie electronică cu transmisie (Titan Themis 200 și Tecnai G2 F30 S-TWIN) și sistem ICP-MS 8800 TRIPLE QUAD (Agilent Technologies).

5. Rezultate estimate intermediare/finale cu indicarea calendarului de activități

Rezultatele științifice privind biomaterialele elaborate în cadrul proiectului vor consta în: protocoale de sinteză a hidroxiapatitei pornind de la o sursă naturală, respectiv de la precursori chimici consacrați, rapoarte de analiză, prototipuri de pulberi și bioacoperiri pentru stimularea fixării la interfața os-implant. Acestea sunt în acord cu etapele planului de lucru și cu perioadele prestabilite de raportare intermediară și finală.

Etapa	Rezultate estimate
1	protocol de sinteză a hidroxiapatitei pornind de la o sursă naturală protocol de sinteză a hidroxiapatitei prin metoda hidrotermală în câmp de microunde protocol de sinteză a hidroxiapatitei substituită cu ceriu sau magneziu raport de caracterizare morfologică și structurală modele experimentale optime de nanopulberi
2	protocol de sinteză a hidroxiapatitei substituită cu ceriu și magneziu raport de caracterizare morfologică și structurală, a caracterului antimicrobian și a biocompatibilității modele experimentale optime de nanopulberi 1 articol ISI publicat în jurnal cotate Q1/Q2 1 participarea la conferință internațională

3	protocol de depunere MAPLE studiu de fluență raport de caracterizare morfologică și structurală raport de evaluare <i>in-vivo</i> a biocompatibilității prototip de implant metalic acoperit
4	raport de caracterizare morfologică și structurală, a caracterului antimicrobian și a biocompatibilității 1 articol ISI publicat în jurnal cotate Q1/Q2 1 cerere de brevet național

Etapa	Activitate	Luna din calendarul de activități																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	A 1.1																				
	A 1.2																				
	A 1.3																				
	A 1.4																				
2	A 2.1																				
	A 2.2																				
	A 2.3																				
	A 2.4																				
3	A 3.1																				
	A 3.2																				
	A 3.3																				
	A 3.4																				
4	A 4.1																				
	A 4.2																				
	A 4.3																				
	A 4.4																				

6. Articole estimate a fi elaborate cu indicarea factorului de impact minim al revistei unde vor fi publicate

Rezultatele proiectului vor fi diseminate la nivel național și internațional prin participarea la o conferință științifică și publicarea a **minim 2 lucrări** în reviste cotate ISI, cu factor de impact cumulat ≤ 8 . De asemenea, se estimează ca rezultat al cercetării științifice scrierea și depunerea unei **cereri de brevet național**.

7. Suma solicitată (nu se vor specifica tipurile de cheltuieli)

Dat fiind planul complex de activități propus, care necesită dedicarea unui număr mare de ore de lucru, componența numeroasă a echipei de cercetare și asumarea unor indicatori de rezultat ce presupun costuri de deplasare, publicare, brevetare, bugetul solicitat pentru proiect este de 60 000 lei.

8. Bibliografie

- [1] I. A. Neacșu, A. I. Nicoară, O. R. Vasile, and B. S. Vasile, “Inorganic micro- and nanostructured implants for tissue engineering,” in *Nanobiomaterials in Hard Tissue Engineering*, vol. 4, 2016, pp. 271–291.
- [2] V. A. Spirescu, C. Chircov, A. M. Grumezescu, and E. Andronescu, “Polymeric nanoparticles for antimicrobial therapies: An up-to-date overview,” *Polymers*, vol. 13, no. 5. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), pp. 1–27, Mar. 01, 2021, doi: 10.3390/polym13050724.
- [3] C. R. Dumitrescu *et al.*, “Nano-hydroxyapatite vs. Xenografts: Synthesis, characterization, and in vitro behavior,” *Nanomaterials*, vol. 11, no. 9, Sep. 2021, doi: 10.3390/nano11092289.
- [4] I. A. Neacsu, A. P. Serban, A. I. Nicoara, R. Trusca, V. L. Ene, and F. Iordache, “Biomimetic composite scaffold based on naturally derived biomaterials,” *Polymers (Basel)*, vol. 12, no. 5, May 2020, doi: 10.3390/POLYM12051161.
- [5] I. A. Neacsu *et al.*, “Biomimetic Collagen/Zn²⁺-Substituted Calcium Phosphate Composite Coatings on Titanium Substrates as Prospective Bioactive Layer for Implants: A Comparative Study Spin Coating vs. MAPLE,” *Nanomaterials*, vol. 9, no. 5, p. 692, 2019, doi: 10.3390/nano9050692.
- [6] K. Szurkowska, A. Drobniwska, and J. Kolmas, “Dual doping of silicon and manganese in hydroxyapatites: Physicochemical properties and preliminary biological studies,” *Materials (Basel)*, vol. 12, no. 16, Aug. 2019, doi: 10.3390/ma12162566.
- [7] M. N. Muhammad Syazwan and B. I. Yanny Marlina, “The influence of simultaneous divalent cations (Mg²⁺, Co²⁺ and Sr²⁺) substitution on the physico-chemical properties of carbonated hydroxyapatite,” *Ceram. Int.*, vol. 45, no. 12, pp. 14783–14788, Aug. 2019, doi: 10.1016/j.ceramint.2019.04.208.
- [8] Y. Cheng, M. Wang, X. X. Wang, Z. L. Xu, D. L. Wang, and Y. C. Zhu, “Investigation on in vitro osteogenic properties of multiple-doped hydroxyapatite with natural bone content,” *Wuji Cailiao Xuebao/Journal Inorg. Mater.*, vol. 31, no. 12, pp. 1341–1346, Dec. 2016, doi: 10.15541/jim20160134.
- [9] V. Uskoković, “Ion-doped hydroxyapatite: An impasse or the road to follow?,” *Ceram. Int.*, vol. 46, no. 8, pp. 11443–11465, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.ceramint.2020.02.001.
- [10] I. A. Neacsu, A. E. Stoica, B. S. Vasile, and E. Andronescu, “Luminescent Hydroxyapatite Doped with Rare Earth Elements for Biomedical Applications,” *Nanomaterials*, vol. 9, no. 2, p. 239, 2019, doi: 10.3390/nano9020239.
- [11] P. Rajkumar and B. K. Sarma, “Role of Zn and Mg substitutions on the mechanical behaviour of biomimetic hydroxyapatite and insight of the emergence of hydroxyapatite-ZnO nanocomposite,” *Mater. Charact.*, vol. 176, no. January, p. 111107, 2021, doi: 10.1016/j.matchar.2021.111107.
- [12] A. C. Birca *et al.*, “Mg – Zn alloys , most suitable for biomedical applications,” *Rom. J. Morphol. Embryol.*, vol. 59, no. 1, pp. 49–54, 2018.
- [13] D. A. Florea, D. Albuț, A. M. Grumezescu, and E. Andronescu, “Surface modification – A step forward to overcome the current challenges in orthopedic industry and to obtain an improved osseointegration and antimicrobial properties,” *Materials Chemistry and Physics*, vol. 243. Elsevier Ltd, Mar. 01, 2020, doi: 10.1016/j.matchemphys.2019.122579.

B.2. Titlu și rezumat în limba engleză

Substituted hydroxyapatite-based coatings with improved functional properties to stimulate fixation at the bone-implant interface

Abstract: This project aims to overcome the limitations of current methods used for bone regeneration, through the development and complex characterization of ceramic powders and biocoatings. Specifically, the main objective is to increase the biocompatibility of the systems used in the production of dental implants and, consequently, to increase the survival time of the implant. Thus, starting from natural materials considered industrial waste, through cation substitution and optimization of synthesis parameters, a series of powders will be obtained, that will subsequently be used for developing biocompatible thin layers, with osteogenic and antimicrobial properties. The results of the project will have a positive impact on the industry, environment and society, through a faster healing, a minimal risk of infection during implantation and the elimination of consequent, painful, and expensive surgeries, improving the life quality of patients requiring bone tissue implants.