

Raport de cercetare Postdoctorală  
Pansamente pentru regenerare tisulară bazată pe nanostructuri  
funcționalizate cu uleiuri esențiale  
Dr.Biochim. Otilia Ruxandra VASILE

## 1. INTRODUCERE

Infecțiile microbiene reprezintă o complicație obișnuită pentru o serie de dispozitive biomedicale interne (proteze, implanturi percutanate) și externe (pansamente pentru plăgi, catetere urinare etc.), în special pentru cele care au contact cu pielea afectată sau cu membranele mucoasei vulnerabile.

Cu atât mai mult, infecțiile sunt deosebit de importante pentru dispozitivele permanente, cele care ar trebui utilizate pentru tot restul vieții pacientului.

De obicei, aceste dispozitive sunt implanturi ortopedice care înlocuiesc părți ale sistemului osos, grefe arteriale, stenturi și alte componente care susțin funcțiile vitale.

Când apare o infecție post-chirurgicală care nu poate fi rezolvată prin medicație uzuală, dispozitivul intern infectat trebuie îndepărtat și înlocuit.

În zilele noastre, metodele de medicație se bazează pe administrarea de antibiotice pentru o perioadă mare de timp, de obicei ducând la complicații datorită specificității reduse, eficienței scăzute și rezistenței bacteriene.

Cea mai bună modalitate de a evita o astfel de situație este de a dezvolta măsuri preventive eficiente bazate pe sisteme antibacteriene capabile să furnizeze antibiotice, peptide anti microbiene, extracte naturale, uleiuri esențiale etc. *in situ*, la locul plăgii.

Scopul cercetării postdoctorale este acela de a aborda aceste limitări, prin dezvoltarea unei metode tehnologice pentru obținerea schelelor compozite anorganice-organice biomimetice cu aplicații biomedicale, cu capacitatea de a regenera țesutul cutanat deteriorat.

În această privință, compușii ca fibroină de mătase poroasă (SF) / acid hialuronic (HA) / alginat de sodiu (SA) sunt propuși să fie sintetizați prin metoda de liofilizare împreună cu agenți terapeutici, ZnO nanostructurați și uleiuri esențiale care să fie încorporate în matrice pentru o activitate antimicrobiană prelungită în timp ce accelerează regenerarea țesuturilor.

Această abordare ce utilizează substanțe active (de exemplu, uleiuri esențiale și nanoparticule) prezintă o serie de avantaje, de ex. eficacitate ridicată la doze mici, administrarea simultană de medicamente unice sau multiple, o concentrație stabilă de medicament și o apariție mai mică de efecte secundare.

În prezent, antibioticele sunt agenți antibacterieni obișnuiți, cu o eficacitate ridicată pentru tot felul de infecții chirurgicale și asociate dispozitivelor. Chiar dacă utilizarea lor crește speranța de viață a pacientului, se înregistrează o serie de efecte secundare, în principal printr-

o administrare excesivă. Dintre acestea, rezistența la antibiotice este un fenomen alarmant la nivel global, prin urmare protocoalele clinice utilizate încearcă să limiteze doza lor de administrare. Pentru a depăși rezistența la antibiotice, soluția medicală este de a promova administrarea unei doze mai mici de bactericide direct în zona infectată sau, chiar mai bine, livrarea de nanoparticule cu activitate antimicrobiană.

Astfel, au început să fie cercetate produse biocompatibile, bioresorbabile și ușor de produs și livrat sub tot felul de forme, materiale ca de exemplu Ag, ZnO, MgO, Cu etc. pe hidrogeluri. Aceste hidrogeluri sunt ușor de obținut din aproape fiecare polimer hidrofil, se obțin cu porozitate controlată, densitate, absorbabilitate.

Prin definiție, hidrogelurile sunt o rețea polimerică 3D capabilă să absoarbă cantități mari de lichide fără a le modifica structura. Hidrogelurile pot fi utilizate pentru acoperirea cateterelor, a lentilelor, a stenturilor, a implanturilor osoase, precum și pentru vindecarea rănilor și injectarea locală a medicamentelor. Utilizarea lor ca materiale antimicrobiene s-ar putea datora proprietăților unice antimicrobiene pe care le posedă unii polimeri sau adăugării unor cantități mici de agenți antibacterieni.

În ciuda numărului mare de rapoarte științifice bazate pe materialele pansamentului, nu există dovezi cu privire la utilizarea matricelor poroase de tipul fibroină de mătase (SF) / acid hialuronic (HA) / alginat de sodiu (SA) utilizate pentru dispersia nanoparticulelor ZnO, precum și a uleiurilor esențiale.

Arsurile reprezintă deteriorarea tisulară provocată de expunerea excesivă la un agent termic, chimic, electric sau radioactiv. Acești agenți, în contact cu pielea provoacă distrugerea arhitecturii țesutului rezultată în urma creșterii permeabilității capilare ceea ce permite extravazarea apei și a proteinelor din spațiul intracapilar spre exterior, acest proces are ca rezultat scăderea presiunii oncotice capilare și creșterea celei interstițiale cu formarea edemului interstițial [1-48]

În urma necrozei țesutului tegumentar acesta își pierde funcțiile astfel la nivelul zonei afectate pot pătrunde cu ușurință microorganisme patologice, de asemenea funcția de termoreglare se pierde. [49] Este necesară intervenția rapidă în cazul arsurilor, în funcție de gradul ei și suprafața afectată din cauza riscului ridicat de infecție.

În prezent pentru regenerare tisulară se folosesc celule și matrici suport. Materialele utilizate în proiectarea matricilor (polimeri naturali, polimeri sintetici sau materiale hibride) au

rolul de suport, aceste materiale produc un mediu optim pentru aderarea și proliferarea celulelor implicate în acest proces de regenerare.

Proprietățile unice ale materialelor alese le fac potrivite pentru această aplicație. Dintre acestea se enumeră: bioactivitatea, biocompatibilitatea, și rezistența mecanică asemănătoare cu cea a țesutului vizat.[50] Polimerii naturali implicați în sinteza matricei au fost: fibroina, alginatul de sodiu și acidul hialuronic. Avantajul major deținut de polimerii naturali în comparație cu polimerii sintetici, îl reprezintă biocompatibilitatea, astfel polimerii naturali sunt recunoscuți de mediul fiziologic, fiind degradați prin procese de degradare metabolică fără riscul de a elibera compuși toxici.[51] Fibroneina de mătase este o proteină constituită dintr-un lanț de polipeptide ușor (L) și un lanț de polipeptide greu (H) legate printr-o punte disulfurică formând un complex H-L.

Lanțul de polipeptide greu (H) reprezintă constituentul principal în proteina care conferă materialului rezistență mecanică.

Lanțul de polipeptide (L) are o dimensiune mai redusă decât H astfel nu contribuie în consolidarea rezistenței mecanice.[52]

Alginatul de sodiu este unul dintre cei mai studiați polimeri naturali datorită proprietăților lui unice, din punct de vedere chimic este o polizaharidă liniară formată din două unități de acid D- manuronic și o unitate de acid L-guluronic.[53]

Proprietățile care au făcut acest polimer remarcabil în domeniul cercetării sunt: biocompatibilitate, hidrofilicitate și biodegradabilitate, astfel polimerul este utilizat pentru proiectarea și sinteza materialelor care intră în compoziția dispozitivelor medicale implantabile fără a prezenta potențial toxic sau imunogenic.[54].

Un alt polimer natural intens studiat este acidul hialuronic. Din punct de vedere chimic este o polizaharidă în componența căreia se găsesc alternativ unități de N-acetil-D-glucamină și acid glucuronic.

Polimerul intră în componența țesuturilor umane, predominant în țesuturile moi, cărora le oferă elasticitate și flexibilitate în același timp consolidând țesuturile cu o rezistență mecanică optimă, de asemenea este implicat în procesul de vindecare al leziunilor de la nivelul pielii sau al mucoaselor. Acidul hialuronic promovează formarea matricei extracelulare (ECM) prin interacțiunile chimice pe care le formează în mod fiziologic. Proprietățile acidului hialuronic depind de masa moleculară a acestuia.[55]

Dintre diferitele tipuri de nanomateriale care au fost dezvoltate, oxizii metalici nanostructurați (NMO) recent prezintă un mare interes. Oxizii nanostructurați ai materialelor, cum ar fi: Zn, Fe, Cu, St, Zr, Mg au prezentat proprietăți nanomorfologice, biocompatibile, netoxice și catalitice interesante. Aceste materiale prezintă cinetică îmbunătățită a transferului de electroni și capacitate puternică de absorbție, de asemenea datorită caracterului semiconductor pot fi incluși într-o arie mare de aplicații, de la sisteme cu eliberare controlată de medicament, până la biosenzori.[56]

Proprietățile antibacteriene ale ZnO au fost intens studiate în scopul combaterii agenților patogeni, în moduri mai puțin agresive decât antibioticele sau antiviralele clasice. ZnO s-a dovedit a fi eficient asupra celor mai răspândiți patogeni cum sunt: *Escherichia coli*, *S aureus* și *Klebsiella pneumonia*.

Mecanismul prin care ZnO reușește să reducă răspandirea microorganismelor în mediu fiziologic, se explică astfel: caracterul semiconductor datorită valorii benzii interzise de 3.28V favorizează formarea ionilor metalici, iar prin procese de fotogenerare se formează specii reactive de oxigen-ROS (radical hidroxid  $\text{HO}^\cdot$ , radical superoxid  $\text{O}_2^\cdot$  și apă oxigenată  $\text{H}_2\text{O}_2$ ). ROS produc leziuni componentelor celulare: acizilor nucleici, proteinelor, enzimelor, membranei celulare. Proprietățile antibacteriene remarcabile depind de forma, morfologia și suprafața specifică a nanoparticulelor de ZnO, cu cât suprafața specifică este mai mare cu atât proprietatea antibacteriană este mai intensă.[57]

O abordare diferită asupra proiectării unor materiale inovatoare cu proprietăți antibacteriene o reprezintă utilizarea uleiurilor esențiale de cuișoare și oregano. Uleiul esențial de oregano este cunoscut ca fiind cel mai eficient antimicrobian natural, urmat de uleiul esențial de cuișoare.[10]

Principalele componente antibacteriene din uleiul de oregano sunt carvacrolul și timolul, ambii compuși prezentând hidrofobicitate ceea ce le permite să se atașeze de membrana celulei, astfel ei determină expansiunea membranei, creșterea permeabilității acesteia, interacția cu proteinele celulare, inhibă procesul de respirație celulară și afectează procesul de transport al ionilor. Compușii au caracter antioxidant care determină inhibarea peroxidării fosfolipidelor lipozomale direct proporțional cu concentrația.[58]

Uleiul esențial de cuișoare conține eugenol (hidroxifenil propenă), care din punct de vedere chimic eugenolul face parte din clasa fenolilor aromatici.[59]

Compusul este foarte volatil, cu stabilitate chimică scăzută. Mecanismul prin care eugenolul interacționează cu agenții patogeni și produc moartea acestora este: produce leziuni membranei celulare formate din acizi grași, produce modificări asupra morfologiei celulei, afectează transportul ionilor și al ATP-ului, induce formarea ROS și inhibă activitatea unor enzime bacteriene.[60]

## **2. DATE EXPERIMENTALE**

Lucrarea își propune proiectarea și fabricarea unui pansament ce conține fibroină de mătase, alginat de sodiu și acid hialuronic care va fi funcționalizat cu ZnO și uleiuri esențiale cu aplicații în ingineria tisulară. Materialul este proiectat pentru a vindeca arsurile grave și va avea proprietăți antibacteriene care scad timpul de vindecare și îmbunătățesc experiența pacientului. Acest prototip propune inovarea terapiei de tratare a arsurilor.

### **3.1. Obținerea Materialelor**

Obținerea nanopulberilor de ZnO s-a realizat prin prepararea a două soluții. O soluție de 0,02 moli de acid oxalic cu 7,5 ml etanol și 2,5 ml apă distilată, formând soluția I.

Soluția II a fost obținută în urma dizolvării a 6,556 g acetat de Zn în 2,5 ml apă distilată prin agitare magnetică. Soluția II rezultată a fost turnată în picătură peste soluția I.

În urma agitării magnetice, timp de 1h, la temperatura camerei, a rezultat un precipitat alb, care a fost ulterior supus proceselor de filtrare și spălare cu apă distilată. Urmând uscarea 80°C, timp de 24h, obținându-se astfel pulberea precursoră. Probele au fost supuse calcinării la 450°C. Fluxul tehnologic de obținere este prezentat în figura 1.

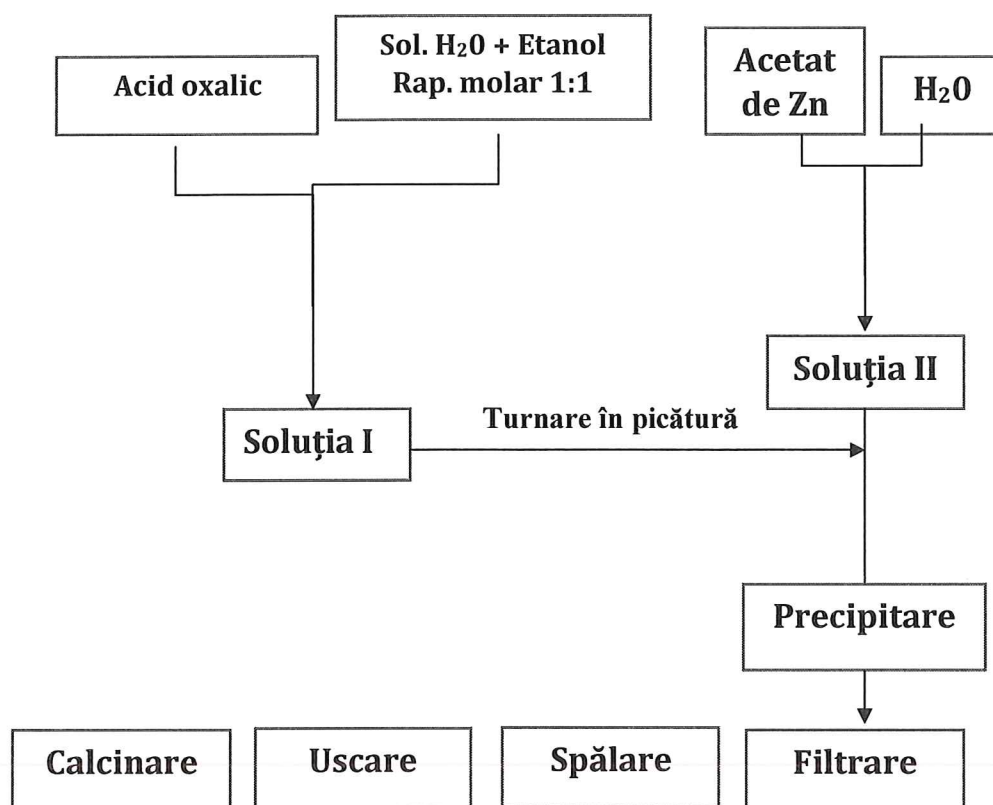


Figura 1. Mod de obținere a nanoparticulelor de ZnO

Nanopulberile astfel obținute au fost acoperite folosind 1% uleiuri esențiale (UE) pure de oregano (O) și cuișoare (C).

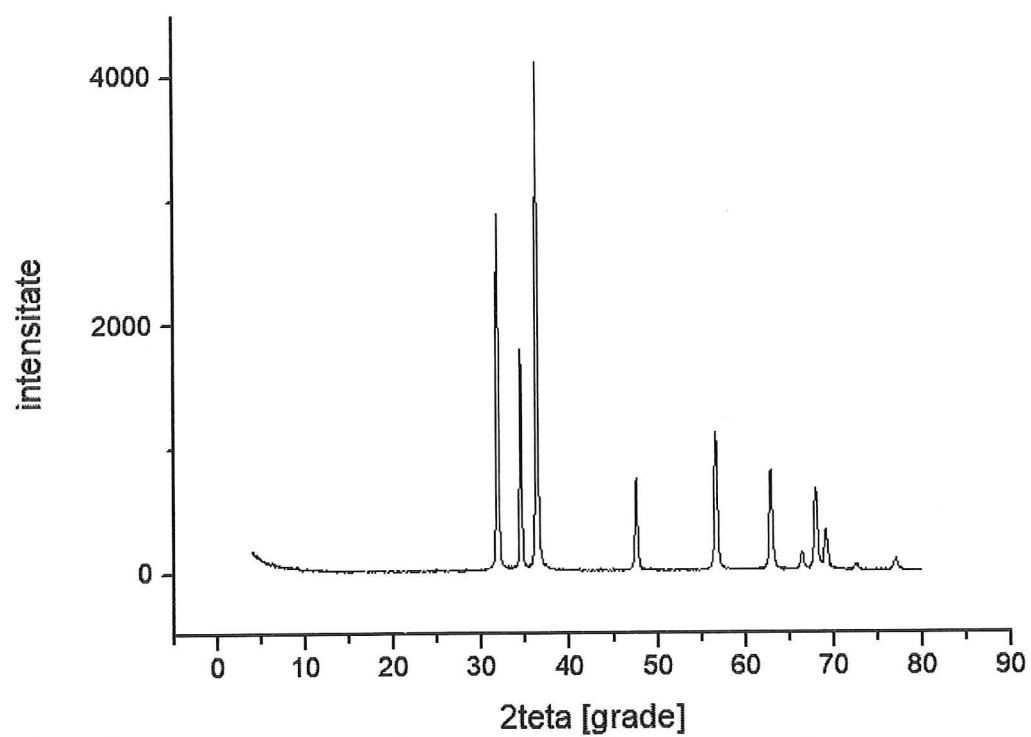
Pansamentele au fost obținute pornind de la o soluție 4 % alginat de sodiu (SA) peste care s-a adăugat 0.016 g acid hialuronic (AH) și 0.08 g fibroină de mătase (FM). Pentru a obține compozitele finale, în proba de SA/AH/FM au fost puse nanopulberile de oxid de zinc acoperite cu 1% UE în proporții de 1, 3 și 5%. Probele astfel obținute au fost congelate urmând apoi procesul de liofilizare. După liofilizare probele au fost imersate în soluție de Clorură de Ca 3% pentru a se realiza reticularea alginatului de sodiu. După imersare probele au fost lăsate la uscat în aer.

Probele astfel obținute au fost caracterizate în ceea ce privește compoziția mineralogică, morfologia, activitate antimicrobiană prin metoda concentrației minime inhibitorii (CMI) și metoda Biofilm – material solid ficționalizat.

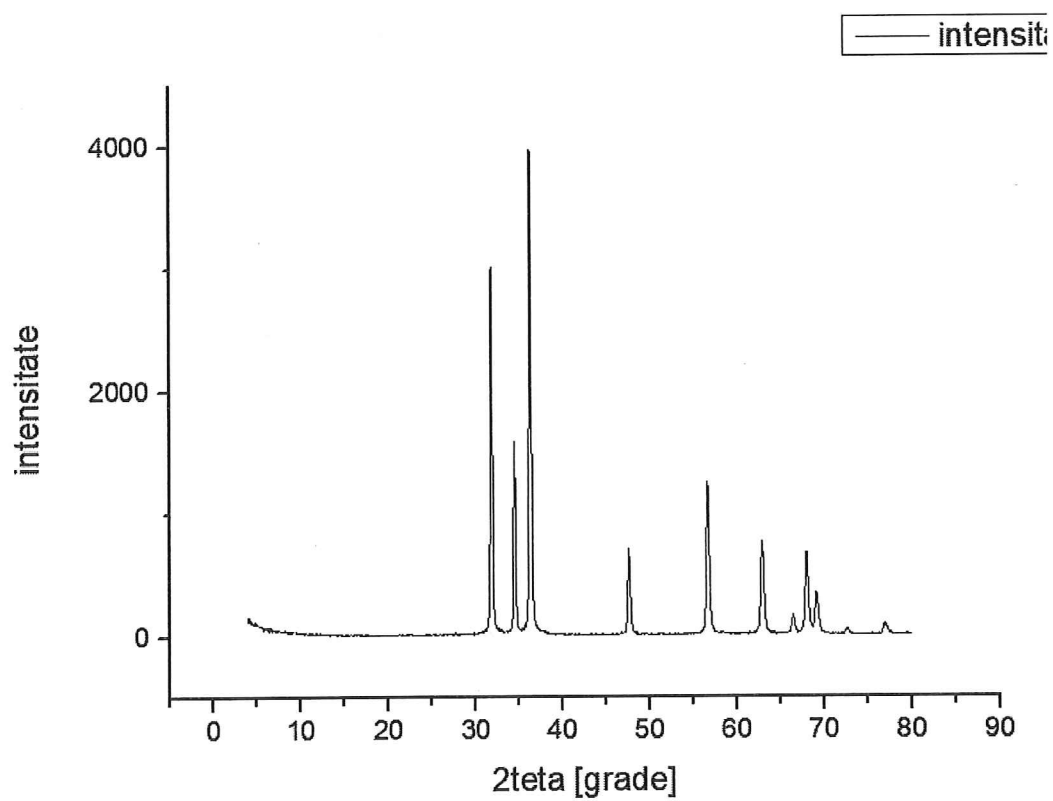
### 3.2. Difracție de raze X

Analizele de difracție de raze X s-au obținut folosind un difractometru de raze X PANalytical Empyrean, care utilizează un fascicul de raze X caracteristic Cu K $\alpha$ , echipat cu monocromator hibrid pentru Cu și detector PIXcel3D. Analizele s-au realizat folosind geometria Bragg-Brentano pentru unghiuri  $2\theta = 20-80^\circ$ .

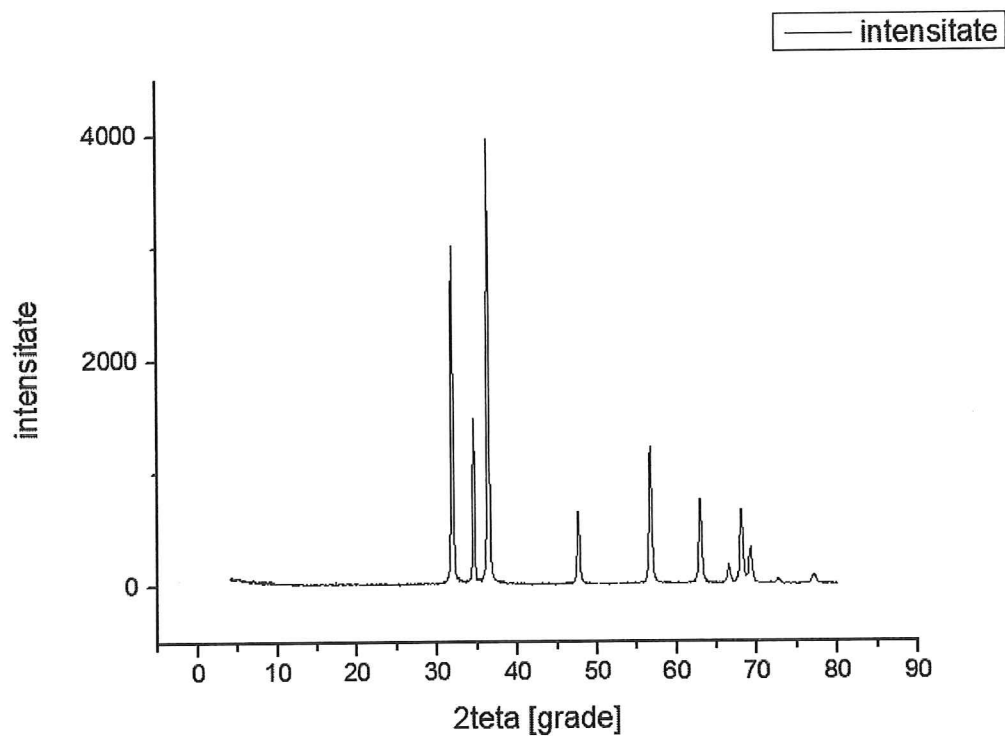
Spectrele de difracție de raze X pe nanopulberile de ZnO sinterizate sunt prezentate în figura 2



a)



b)



c)

Fig. 2. Spectre de difracție de radiații X pentru nanopulberile sintetizate: nanopulbere ZnO a), acoperite cu ulei de cuișoare b) și cu ulei de Oregano c)

Spectrele de difracție de raze X ne relevă formarea de ZnO hexagonal corespunzător fișei ICDD[01-080-4199] ca singură fază cristalină, prezența UE neavând niciun efect asupra cristalinității.

### 3.3. Microscopie electronică de baleiaj (SEM)

Morfologia probelor de ZnO precum și a pansamentelor a fost analizată prin microscopie electronică de baleiaj. Studiarea morfologiei probelor s-a efectuat cu ajutorul microscopului electronic cu baleiaj QUANTA INSPECT F echipat cu spectrometru de raze X dispersiv în energie (EDAX).

În figura 3 sunt prezentate imaginile SEM pentru materialele obținute.

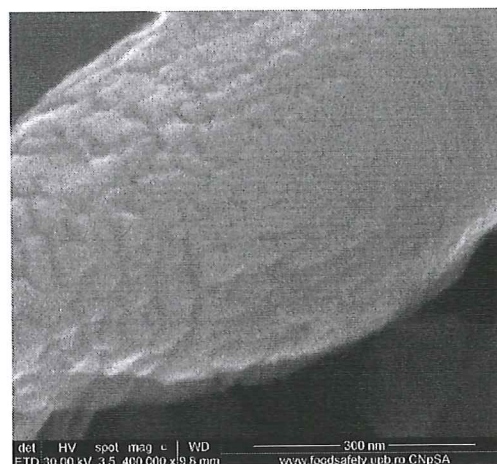
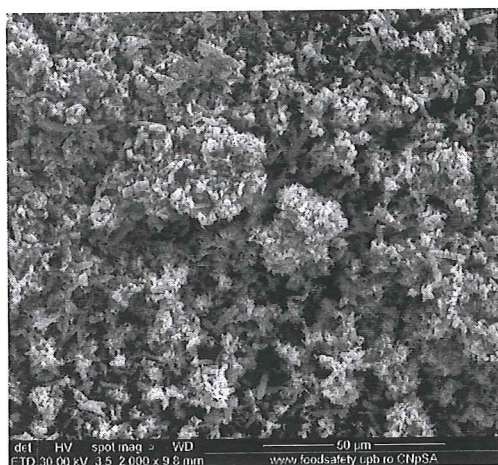


Figura 3 a) Oxid de Zinc

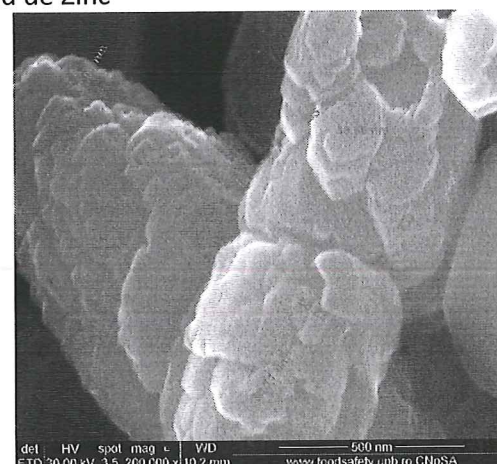
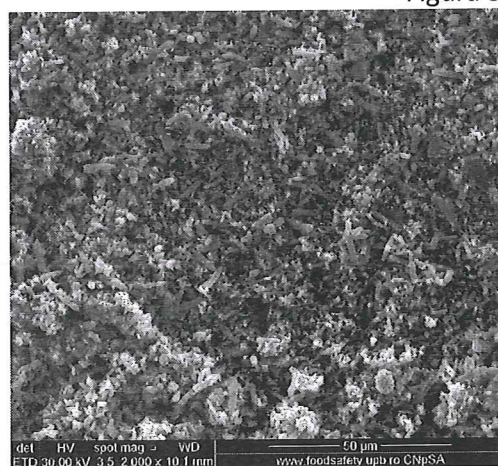


Figura 3 b) Oxid de Zinc @ Cuişoare

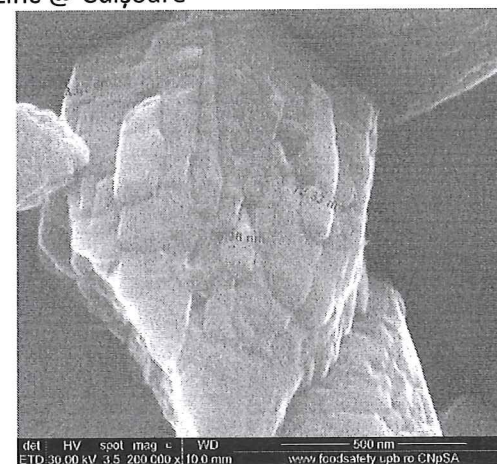
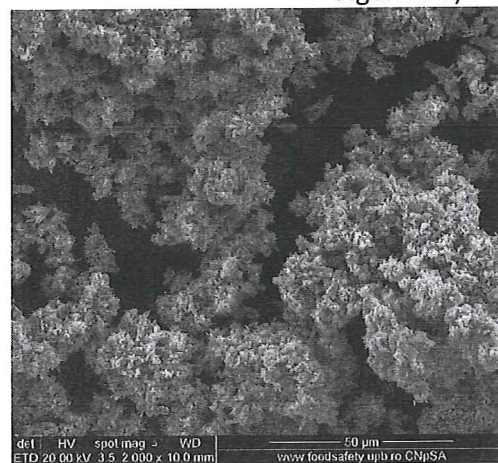


Figura 3c) Oxid de Zinc @ Oregano

Din figura 3 se remarcă faptul că probele de ZnO prezintă structuri bine conturate sub formă aciculară și poliedrală pentru toate cele 3 pulberi de ZnO. În imaginile la mărire mare se poate observa natura probelor, ele fiind nanostructurate. Practic pulberea este formată din structuri micronice nanostructurate.

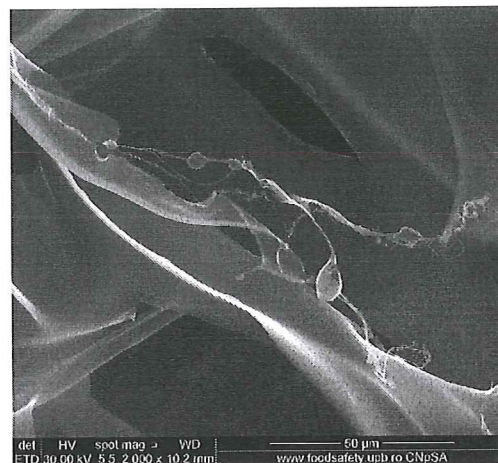
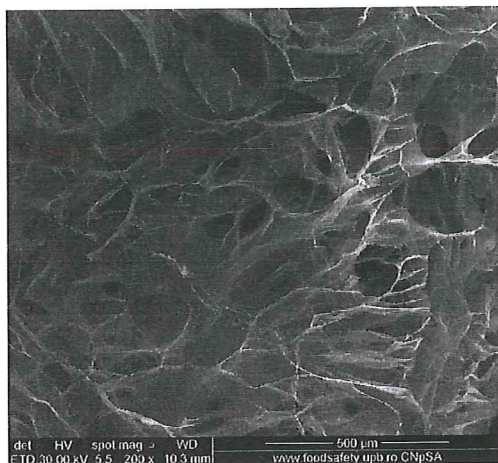


Figura 3d) Pansament simplu

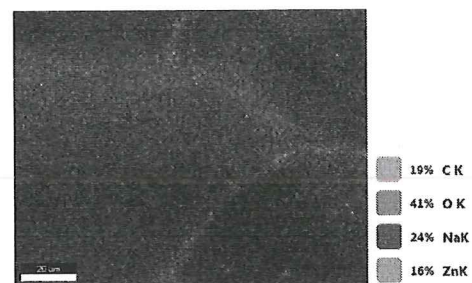
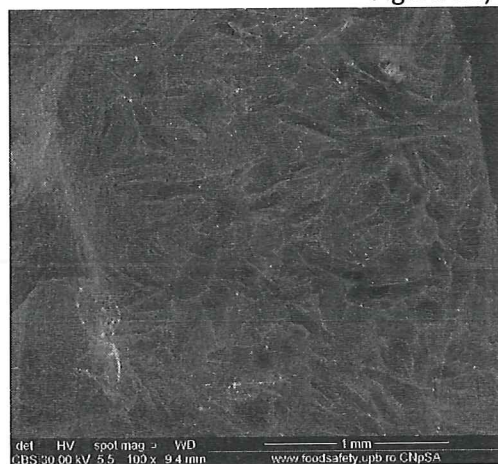


Figura 3e) Pansament cu 1% UE de Cuișoare

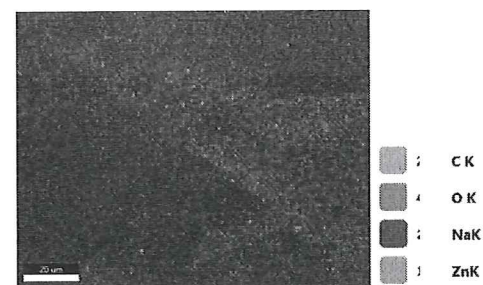
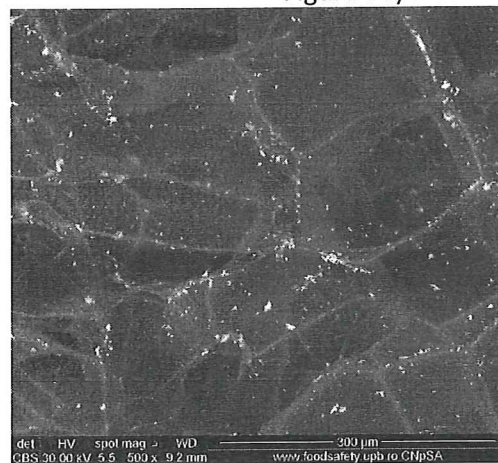


Figura 3f) Pansament cu 3% UE de Cuișoare

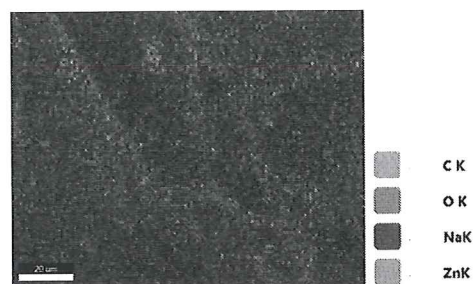
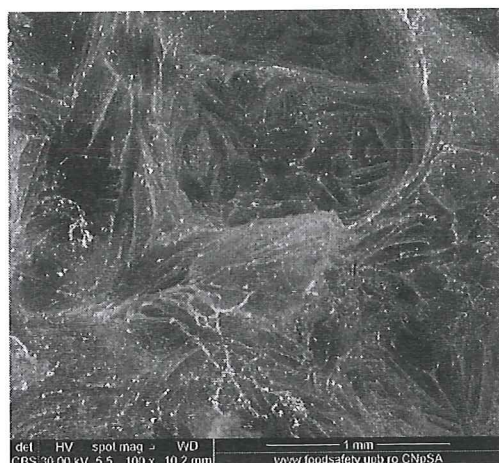


Figura 3g) Pansament cu 5% UE de Cuişoare

Imaginile de microscopie electronică de baleiaj obținute pentru pansamentele cu nanostructurile de oxid de Zn precum și cel fără ne relevă o morfologie foarte poroasă, tipică pentru probe liofilizate, cu o distribuție foarte uniformă a oxidului de zinc în toate cele 3 concentrații. Fapt confirmat și în imaginile de distribuție după elemente. În imaginea cu pansamentul fără oxid de zinc, la imaginea în detaliu se poate observa și fibroina de mătase.

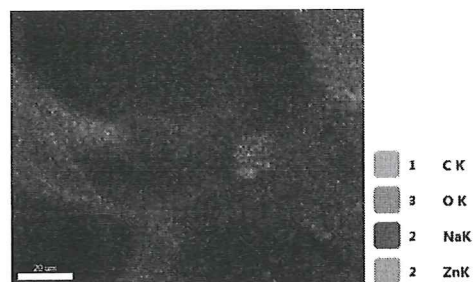
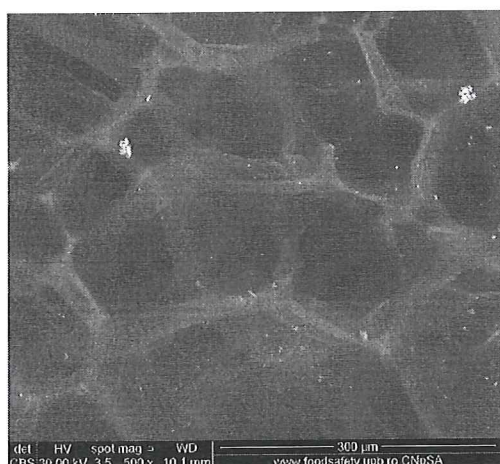


Figura 3 h) Pansament cu 1% UE de Oregano

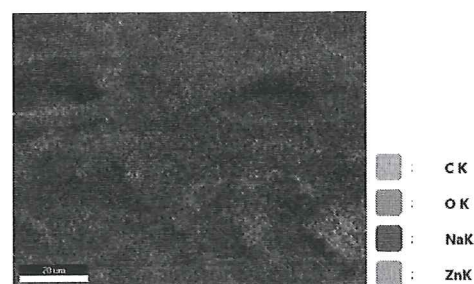
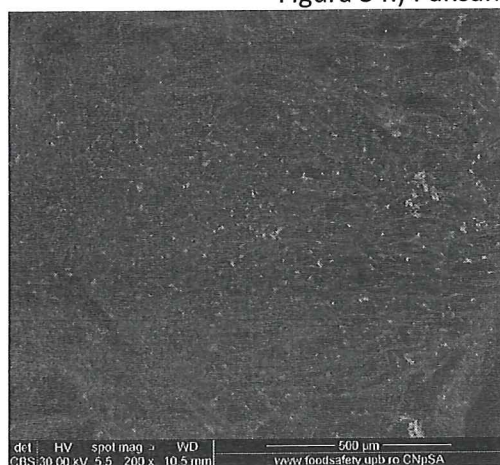


Figura 3 i) Pansament cu 3% UE de Oregano

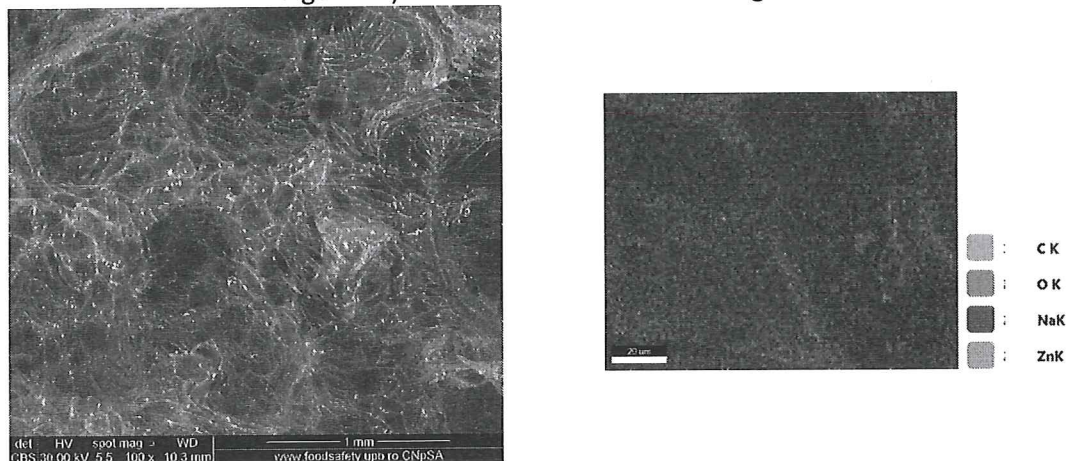


Figura 3 j) Pansament cu 5% UE de Oregano

Imaginile de microscopie electronică de baleiaj obținute pentru pansamentele cu nanostructurile de oxid de Zn acoperite cu ulei de oregano ne relevă o morfologie foarte poroasă, tipică pentru probe liofilizate, cu o distribuție foarte uniformă a oxidului de zinc în toate cele 3 concentrații. Fapt confirmat și în imaginile de distribuție după elemente.

### 3.4. Activitate antimicrobiană

Nanopulberile obținute și pansamentele sintetizate au fost testate folosind următorul protocol: Tulpinina de *Staphylococcus aureus* a fost menținută pe bulion nutritiv cu 20% glicerol la  $-80^{\circ}\text{C}$ . Pentru testele antimicrobiene microorganismele au fost însămânțate pe geloza nutritivă. Coloniile obținute au fost utilizate pentru obținerea de suspensii în AFS (apa fiziologică sterilă) de densitate optică 0,5 McFarland ( $1-3 \times 10^8$  UFC/mL).

#### Metoda CMI (stabilirea concentrației minime inhibitorii)

Pentru stabilirea CMI s-a utilizat o metoda cantitativă, bazată pe realizarea unor microdiluții seriale binare în mediu lichid (bulion simplu), repartizat steril în plăci cu 96 de godeuri. În primul godeu al fiecărui șir s-a adăugat o cantitate de compus/nanosistem bioactiv corespunzătoare unei concentrații de 5mg/mL. Ulterior, cu ajutorul unei micropipete s-au realizat diluții binare, pornind de la godeul 1 (concentrație 5mg/mL) până la godeul 12 (unde concentrația finală va fi de 0,002441406 mg/mL).

După realizarea microdiluțiilor, în fiecare godeu s-au adăugat 15  $\mu\text{L}$  suspensie microbiană de densitate 0.5 McFarland. Plăcutele însămânțate au fost incubate 24h la  $37^{\circ}\text{C}$ , iar după incubare valoarea CMI pentru fiecare compus/nanosistem în parte s-a stabilit macroscopic, ca fiind ultima concentrație a acestuia la care nu s-a mai observat apariția creșterii microbiene, respectiv apariția turbidității mediului, dar și prin citire spectrofotometrică a absorbanței culturii microbiene dezvoltate în mediul lichid la 620 nm (figura 4).

#### Biofilm – material solid functionalizat

Pentru testarea efectului suprafețelor obținute asupra producerii de biofilme, materialele obținute au fost tăiate la dimensiunile de 0,6 cm și sterilizate prin expunere la radiații UV timp de 20 min pe fiecare parte.

Câte un fragment de material steril a fost depus individual într-un godeu al unei plăci cu 24 godeuri sterile. Peste materialele depuse, în godeuri s-a adăugat 1 mL mediu lichid (bulion simplu) și ulterior 20  $\mu$ L suspensie microbiană de densitate 0,5 McFarland.

Plăcile cu godeuri astfel pregătite, au fost incubate la 37°C timp de 24h. După incubare materialele au fost spălate cu AFS și depuse într-un tub steril într-un mL AFS. Tubul a fost vortexat energetic timp de 30 secunde pentru desprinderea celulelor din biofilm.

Suspensia celulară obținută a fost diluată și diferite diluții au fost însămânțate pe plăci cu mediu de cultură solidificat în vederea obținerii și cuantificării numărului de unități formatoare de colonii (UFC/mL) (figura 5).

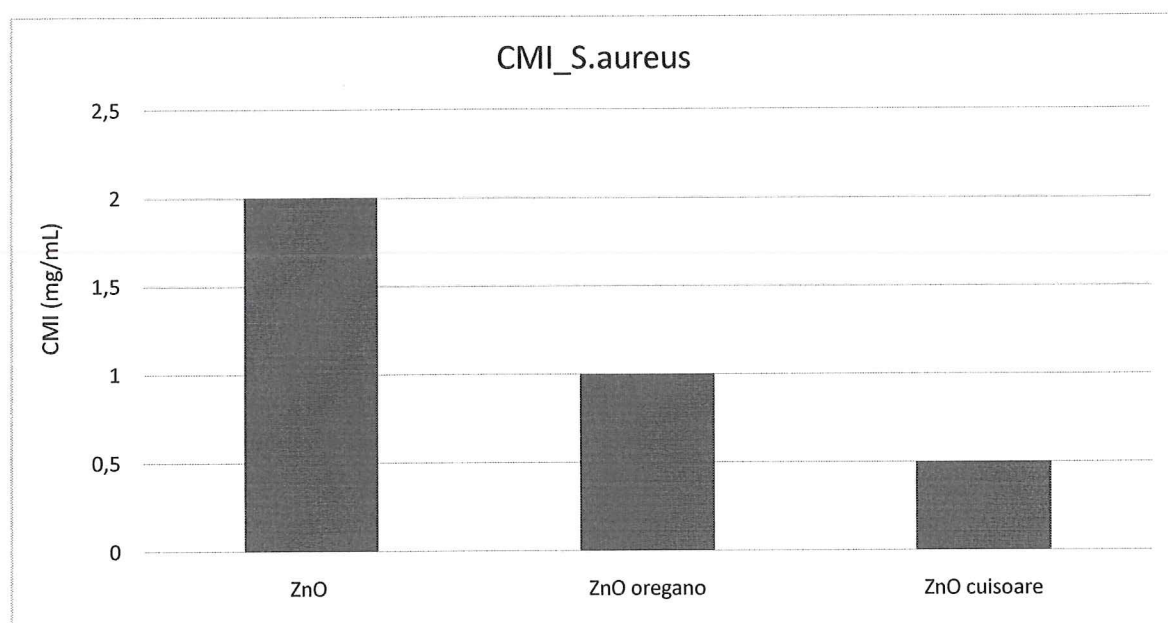


Figura 4. Concentrația minimă inhibitoare

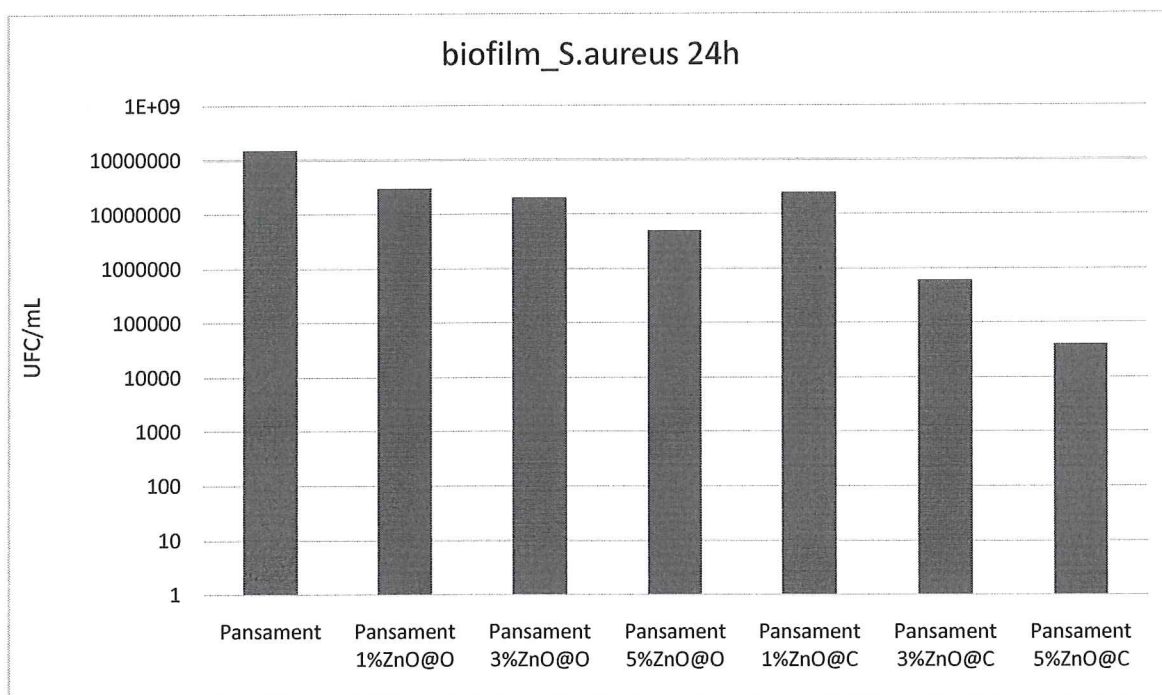


Figura 5. Biofilm – material solid functionalizat

Analizând datele obținute pentru materialele testate putem spune faptul că pansamentele acoperite cu ZnO cu uleiurile esențiale au efect bun antimicrobian, iar cu cât se crește concentrația de ZnO crește și proprietatea antimicrobiană.

### 3. CONCLUZII

În prezentul studiu au fost sintetizate pansamente pe bază de alginat de sodiu cu acid hialuronic și fibroină de mătase care au fost acoperite cu particule de oxid de zinc nanostructurate funcționalizate cu uleiuri esențiale pure de oregano și cuișoare.

În urma analizelor se constată o distribuție foarte bună a nanostructurilor în matricea de AS/AH/FM.

Activitatea antimicrobiană a fost cu atât mai bună cu cât s-a crescut concentrația de ZnO funcționalizat, cele mai bune rezultate obținându-se pentru AS/AH/FM 5%ZnO@C.

Probele obținute pot fi utilizate cu succes în tratarea plăgilor asigurând o protecție antimicrobiană ridicată, eliminând astfel riscul de infectare a plăgilor.

## BIBLIOGRAFIE

1. Campoccia, D., et al., Antibiotic-loaded biomaterials and the risks for the spread of antibiotic resistance following their prophylactic and therapeutic clinical use. *Biomaterials*, 2010. 31(25): p. 6363-77.
2. Pawar, V., et al., Cefuroxime conjugated chitosan hydrogel for treatment of wound infections. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019. 173: p. 776-787.
3. Bayramov, D.F. et al., Beyond conventional antibiotics - New directions for combination products to combat biofilm. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017. 112: p. 48-60.
4. Leekha, S., et al., General Principles of Antimicrobial Therapy. *Mayo Clinic Proceedings*, 2011. 86(2): p. 156-167.
5. Sabella, C. et al., Principles of selection and use of antimicrobial agents. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, 1999. 10(1): p. 3-13.
6. Kumar, M., et al., Antibiotics bioremediation: Perspectives on its ecotoxicity and resistance. *Environment International*, 2019. 124: p. 448-461.
7. Morehead, M.S. et al., Emergence of Global Antibiotic Resistance. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 2018. 45(3): p. 467-484.
8. MacGowan, A. et al., Antibiotic resistance. *Medicine*, 2017. 45(10): p. 622-628.
9. Yang, K.R., et al., Antimicrobial hydrogels: promising materials for medical application. *International Journal of Nanomedicine*, 2018. 13: p. 2217-2263.
10. Johnson, N.R. et al., Drug Delivery Systems for Wound Healing. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2015. 16(7): p. 621-629.
11. Maruyama, H., et al., Hydrogel Heart Model with Temperature Memory Properties for Surgical Simulation. *Sensors*, 2019. 19(5).
12. Alvarez-Lorenzo, C., et al., Bioinspired hydrogels for drug-eluting contact lenses. *Acta Biomaterialia*, 2019. 84: p. 49-62.
13. Obiweleuzor, F.O., et al., Thromboresistant semi-IPN hydrogel coating: Towards improvement of the hemocompatibility/biocompatibility of metallic stent implants. *Materials Science and Engineering: C*, 2019. 99: p. 1274-1288.
14. Bai, X., et al., Bioactive hydrogels for bone regeneration. *Bioactive Materials*, 2018. 3(4): p. 401-417.
15. Feng, Q., et al., Dynamic and Cell-Infiltratable Hydrogels as Injectable Carrier of

- Therapeutic Cells and Drugs for Treating Challenging Bone Defects. *Acs Central Science*, 2019. 5(3): p. 440-450.
16. Paduraru, A., et al., Antimicrobial Wound Dressings as Potential Materials for Skin Tissue Regeneration. *Materials*, 2019. 12(11): p. 1859.
  18. Oprea, A., et al., Bioactive ZnO coatings deposited by maple—An appropriate strategy to produce efficient anti-biofilm surfaces. *Molecules*, 2016. 21(2): p. 220.
  19. Neacsu, I.-A., et al., Novel hydrogels based on collagen and ZnO nanoparticles with antibacterial activity for improved wound dressings. *Romanian Biotechnological Letters*, 2019. 24(2): p. 317-323.
  20. Galateanu, B., et al., In vitro studies of bacterial cellulose and magnetic nanoparticles smart nanocomposites for efficient chronic wounds healing. *Stem cells international*, 2015. 2015.
  21. BUNEA, M.C., et al., Silk Fibroin Films Decorated with Magnetic Nanoparticles for Wound Healling Applications. *MATERIALE PLASTICE*, 2017. 54(1): p. 83-87.
  22. Rayyif, S.M.I., et al., ZnO Nanoparticles-Modified Dressings to Inhibit Wound Pathogens. *Materials* 2021, 14, 3084. <https://doi.org/10.3390/ma14113084>
  23. Mesaros, A., et al., Towards understanding the enhancement of antibacterial activity in manganese doped ZnO nanoparticles. *Applied Surface Science*, 2019. 471: p. 960-972.
  24. Vasile, O.R., et al., Influence of the size and the morphology of ZnO nanoparticles on cell viability. *Comptes Rendus Chimie*, 2015. 18(12): p. 1335-1343.
  25. Vasile, B.S., et al., Synthesis and characterization of a novel controlled release zinc oxide/gentamicin-chitosan composite with potential applications in wounds care. *International Journal of Pharmaceutics*, 2014. 463(2): p. 161-169.
  26. Vasile, B.Ş., et al., Eu 3+ -doped ZnO nanostructures: Advanced characterizations, photoluminescence and cytotoxic effect. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 2017. 58(3): p. 941-952.
  27. Muşat, V., et al., Size-dependent photoluminescence of zinc oxide quantum dots through organosilane functionalization. *RSC Advances*, 2014. 4(108): p. 63128-63136.
  28. Vasile, O.R., et al., Grain size effect on photocatalytic properties of nanocrystalline ZnO. *UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science*, 2014. 76(2): p. 3-12.
  29. Voicu, G., et al., Antibacterial activity of zinc oxide - Gentamicin hybrid material. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 2013. 8(3): p. 1191-1203.

30. Voicu, G., et al., Photoluminescence and photocatalytic activity of Mn- doped ZnO nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 2013. 8(2): p. 667-675.
31. Popa, M., et al., Optical properties correlated with morphology and structure of TEAH modified ZnO nanoparticles via precipitation method. *Journal of Alloys and Compounds*, 2013. 574: p. 255-259.
32. Toloman, D., et al., Evidence by EPR of ferromagnetic phase in Mn-doped ZnO nanoparticles annealed at different temperatures. *Journal of Alloys and Compounds*, 2013. 551: p. 502-507.
33. Vasile, O.R., et al., Synthesis and characterization of nanostructured zinc oxide particles synthesized by the pyrosol method. *Journal of Nanoparticle Research*, 2012. 14(12).
34. Oprea, O., et al., Synthesis and characterization of ZnO nanopowder by non-basic route. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 2011. 6(3): p. 1393-1401.
35. Oprea, A.E., et al., Bioactive ZnO coatings deposited by MAPLE - An appropriate strategy to produce efficient anti-biofilm surfaces. *Molecules*, 2016. 21(2).
37. Mihai, A.D., et al., Magnetite Nanoparticles and Essential Oils Systems for Advanced Antibacterial Therapies. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 7355.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21197355>
38. Balaure P. C., et al., In vitro and in vivo studies of novel fabricated bioactive dressings based on collagen and zinc oxide 3D scaffolds, *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 557, 2019, Pages 199-207, ISSN 0378-5173,
39. Mihai MM., et al., 2019;12(13):2176. Published 2019 Jul 6. doi:10.3390/ma12132176
40. Ioannis L. Liakos, et al., Cellulose acetate - essential oil nanocapsules with antimicrobial activity for biomedical applications, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*,. Volume 172, 2018, Pages 471-479, ISSN 0927-7765, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.08.069>.
41. Lungu I.I., et al., Chapter 22 - Zinc Oxide Nanostructures: New Trends in Antimicrobial Therapy, Editor(s): Anton Ficai, Alexandru Mihai Grumezescu, In *Micro and Nano Technologies, Nanostructures for Antimicrobial Therapy*, Elsevier, 2017, Pages 503-514, ISBN 9780323461528, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46152-8.00022-6>.
42. Holban AM, et al., Control of biofilm-associated infections by signaling molecules and nanoparticles. *Int J Pharm.* 2016 Aug 30;510(2):409-18. doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.02.044. Epub 2016 Mar 2. PMID: 26945736.
43. A. E. Stoica, et al., Scar-Free Healing: Current Concepts and Future Perspectives,

44. B.S. Vasile, et al., Wound dressings coated with silver nanoparticles and essential oils for the management of wound infections, *Materials*, Volume 13, Issue 7, 2020
45. B. S. Vasile, et al., Synthesis and characterization of a novel controlled release zinc oxide/gentamicin–chitosan composite with potential applications in wounds care, *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 463 Issue 2, Pages 161-169, 2014
47. Buşilă, M., et al., Size-Dependent Biological Activities of Fluorescent Organosilane-Modified Zinc Oxide Nanoparticles, *Journal of Biomedical Nanotechnology*, Volume 16, Issue 2, Pages 137-152, 2020
48. Stan, M.S., et al., Thin coatings based on ZnO@C18-usnic acid nanoparticles prepared by MAPLE inhibit the development of *Salmonella enterica* early biofilm growth, *Applied Surface Science*, Volume 374, Pages 318-325, 2016
49. R. I. Locale, "Ghid de terapie intensivă în arsuri," 2006.
50. Z. Li and J. Guan, "Hydrogels for cardiac tissue engineering," *Polymers (Basel)*, vol. 3, no. 2, pp. 740–761, 2011, doi: 10.3390/polym3020740.
51. A. Aravamudhan, D. M. Ramos, A. A. Nada, and S. G. Kumbar, *Natural Polymers: Polysaccharides and Their Derivatives for Biomedical Applications*. Elsevier Inc., 2014.
52. L. D. Koh et al., "Structures, mechanical properties and applications of silk fibroin materials," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 46, pp. 86–110, 2015, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2015.02.001.
53. K. Chaturvedi et al., *Sodium alginate in drug delivery and biomedical areas*. Elsevier Inc., 2019.
54. A. Ahmad et al., "A critical review on the synthesis of natural sodium alginate based composite materials: An innovative biological polymer for biomedical delivery applications," *Processes*, vol. 9, no. 1, pp. 1–27, 2021, doi: 10.3390/pr9010137.
55. M. Abbasian, B. Massoumi, R. Mohammad-Rezaei, H. Samadian, and M. Jaymand, "Scaffolding polymeric biomaterials: Are naturally occurring biological macromolecules more appropriate for tissue engineering?," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 134, pp. 673–694, 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.04.197.
56. "Nanostructured-Metal-Oxide-Based-Biosensors-505150 @ Rum.Bioconus.Com." [Online]. Available: <https://rum.bioconus.com/nanostructured-metal-oxide-based-biosensors-505150>.

57. R. Kumar, A. Umar, G. Kumar, and H. S. Nalwa, "Antimicrobial properties of ZnO nanomaterials: A review," *Ceram. Int.*, vol. 43, no. 5, pp. 3940–3961, 2017, doi: 10.1016/j.ceramint.2016.12.062.
58. I. Rodriguez-Garcia *et al.*, "Oregano Essential Oil as an Antimicrobial and Antioxidant Additive in Food Products," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 56, no. 10, pp. 1717–1727, 2016, doi: 10.1080/10408398.2013.800832.
59. N. V. Yanishlieva, E. M. Marinova, M. H. Gordon, and V. G. Raneva, "Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems," *Food Chem.*, vol. 64, no. 1, pp. 59–66, 1999, doi: 10.1016/S0308-8146(98)00086-7.
60. M. Radünz *et al.*, "Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil," *Food Chem.*, vol. 276, pp. 180–186, 2019, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.09.173.
61. A. Marchese *et al.*, "Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint," *Crit. Rev. Microbiol.*, vol. 43, no. 6, pp. 668–689, 2017, doi: 10.1080/1040841X.2017.1295225.



FUNDAȚIA PENTRU ȘTIINȚA ȘI INGINERIA  
MATERIALELOR - "ȘERBAN SOLACOLU"  
Str. Gheorghe Polizu, nr. 1, cod 011061, Sector 1, București,  
Tel. 021-402.38.35, CIF 17719729, Nr. Reg. Spec. 9/31.05.2005  
e-mail [dga10@yahoo.com](mailto:dga10@yahoo.com), [Rev.Romana.de.Materiale@gmail.com](mailto:Rev.Romana.de.Materiale@gmail.com)

## SCRISOARE DE PRIMIRE LUCRARE SPRE PUBLICARE

Prin prezenta confirmăm faptul că lucrarea:

*ZnO@Essential Oils Based Sodium Alginate scaffolds for skin tissue regeneration*

### **Autori:**

Otilia Ruxandra VASILE<sup>1,2</sup>, Andreea STANCIULESCU<sup>2</sup>, Roxana Doina TRUSCA<sup>2</sup>, Eugeniu VASILE<sup>2</sup>, Bogdan Stefan VASILE<sup>1,2\*</sup>

### **Afilierarea:**

<sup>1</sup> Academy of Romanian Scientists, Ilfov Str. No. 3, 50044 Bucharest, Romania

<sup>2</sup> National Research Center for Micro and Nanomaterials, University Politehnica of Bucharest, 060042 Bucharest, Romania

A fost primit la publicare la Revista Română de Materiale (IF=0.563), în prezent este repartizat evaluatorilor și va fi publicat, după evaluare, în nr. 1/2022.