

Suprafețe nanostructurate pentru dispozitive implantabile

- Raport științific și tehnic în extenso -

Context

Pe lângă suportul biomecanic și performanța funcțională, caracteristicile suprafeței implanturilor metalice sunt aspecte esențiale care trebuie luate în considerare în timpul fabricării dispozitivelor implantabile pentru aplicații ortopedice și ortodontice. S-a arătat că principalele caracteristici specifice ale suprafeței implanturilor metalice sunt responsabile pentru stabilitatea lor mecanică pe termen lung și rezultatele tribologice [1,2,3], rezistența la coroziune și toxicitate [4,5,6], precum și pentru osteointegrarea lor (prin influențarea comportamentului celulelor care controlează formarea finală a osului) [7,8,9]. Întrucât biomaterialele metalice reprezintă elemente cheie pentru înlocuirea și restaurarea țesuturilor dure, au fost efectuate foarte multe studii în încercarea de a limita principalele lor deficiențe, și anume bioinerția și bioactivitatea slabă. Studiile raportate în literatură au arătat importanța caracteristicilor suprafeței pentru a ajunge la o osteointegrare adecvată și augmentată [10,11,12,13], cu o atenție deosebită dată formării interfaței bioactive implant-os.

Modificarea suprafețelor implanturilor metalice, efectuată prin tehnici mecanice, chimice sau fizice [14,15,16], are ca rezultat îmbunătățirea proprietăților de biocompatibilitate, reactivitate, hidrofilicitate, rugozitate, energie și încărcarea pe suprafață a implanturilor. Metodele fizice care au fost aplicate pentru a îmbunătăți activitatea osteogenă a biomaterialelor metalice implantabile includ pulverizarea termică [17], *sputtering* [18], implantarea ionică [19], tratamentul cu plasmă [20] și procesarea asistată cu laser [21]. O atenție deosebită a fost orientată către aceasta din urmă, având în vedere proprietățile fizico-chimice și performanța biofuncțională superioară a implanturilor metalice texturate cu impulsuri laser [22,23,24]. Dintre toate aceste tehnici, se știe că tehnica de evaporare laser pulsată asistată de o matrice (MAPLE) are unele avantaje, cum ar fi posibilitatea de a sintetiza acoperiri omogene și uniforme de dimensiuni nanometrice sau nanostructurate și acoperiri compozite sau hibride care conțin substanțe organice, cum ar fi polimeri [25,26,27] și biomolecule [28,29].

Modificarea suprafeței prin acoperiri cu fosfat de calciu obținute prin procesare cu impulsuri reprezintă o alegere potrivită pentru îmbunătățirea gradului de integrare a implanturilor metalice și îmbunătățirea biofuncționalității acestora [30,31]. Hidroxiapatita sintetică (HAp) este unul dintre cele mai utilizate biomateriale pe bază de fosfat de calciu pentru aplicațiile în ingineria țesutului osos, deoarece prezintă o asemănare chimică și structurală cu apatita biomimetică [32,33] și o excelentă biocompatibilitate [34]. HAp sintetic este responsabil pentru o concentrație locală crescută de Ca^{2+} , care poate stimula proliferarea osteoblastelor și poate încuraja creșterea și diferențierea celulelor stem mezenchimale [32]. Acoperirile obținute prin procesare laser pe bază de HAp au demonstrat eficiență ridicată pentru osteointegrarea implanturilor metalice și regenerarea osoasă ulterioară [21,32].

În plus, osteointegrarea materialelor metalice asistată de HAp poate fi îmbunătățită în continuare prin dezvoltarea de acoperiri compozite sau hibride, deoarece prezența diferiților ioni

[35,36,37] și nanostructuri [38,39] induc efecte benefice asupra cristalizării, proprietăților mecanice, degradării și activității biologice ale apatitei.

Acidul polilactic (PLA) este un poliester alifatic liniar cu proprietăți mecanice și termoplastice excelente, solubilitate și degradare superioară, biocompatibilitate și biodegradabilitate controlabilă [40,41,42]. A fost explorat pe scară largă pentru aplicații biomedicale, implanturi și grefe osoase [43,44,45]. În plus, acoperirile cu conținut de PLA au fost raportate ca platforme pentru eliberarea a moleculelor bioactive [46,47]. Sinteza acoperirilor compozite PLA/HAp pentru o osteointegrare îmbunătățită a implanturilor metalice a fost subiectul cheie a mai multor lucrări din literatură [48,49], având în vedere versatilitatea fizico-chimică și comportamentul biologic al compozitelor PLA/HAp, precum și capacitatea acestora de a îmbunătăți răspunsul osteogen al biomaterialelor metalice (atât *in vitro* [50], cât și *in vivo* [51]).

Mai mult, imobilizarea sau încorporarea factorilor de creștere cu rol esențial pe durata refacerii și regenerării țesutului osos reprezintă o strategie atractivă pentru a promova și susține osteointegrarea implanturilor metalice și vindecarea ulterioară a osului. Au fost investigați mai mulți factori de creștere pentru capacitatea lor de a accelera procesul de vindecare a țesutului osos, dintre acestea proteinele morfogenetice osoase (BMP) au fost găsite ca fiind cele mai promițătoare. Aceste citokine multifuncționale joacă un rol esențial în remodelarea osoasă, atât în timpul osteoclastogenezei, cât și al homeostaziei osteoclastelor [52,53]. BMP-urile au fost studiate pe larg pentru ortopedie și chirurgia maxilo-facială orală [54,55,56]. Biomaterialele avansate bazate pe fosfați de calciu osteoinductivi, cum ar fi HAp [57,58] și fosfatul tricalcic [59], au fost raportate ca platforme eficiente de livrare pentru BMP-uri osteogene.

Având ca scop îmbunătățirea bioactivității implanturilor metalice, am evaluat în cadrul acestui studiu capacitatea acoperirilor compozite obținute prin tehnica MAPLE pe bază de PLA, HAp și BMP4 (PLA/HAp/BMP4) de a modula răspunsul complex al celulelor osteoprogenitoare.

Obiective propuse

Principalul scop al prezentei propuneri este de a aduce o soluție nouă și durabilă pentru dispozitivele implantabile cu scopul de a reface țesuturile dure afectate și de a înlocui osul grav afectat.

O1. Sinteza și caracterizarea nanoparticulelor de hidroxiapatită

O2. Modificarea suprafeței implanturilor din titan

O3. Testarea biocompatibilității suprafeței implanturilor din titan

A.1. Sinteza și caracterizarea nanoparticulelor de hidroxiapatită

Pentru a sintetiza pulbere de hidroxiapatită (HAp), CaCl_2 și $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ au fost dizolvate în apă ultrapură. Soluția care conține fosfor a fost apoi adăugată prin picurare în soluția care conține calciu, sub agitare continuă. Ulterior, ajustarea pH-ului alcalin a fost efectuată prin adăugarea de NaOH de conc. 10%, iar soluția rezultată a fost supusă unui proces de maturare timp de o zi. Produsul final a fost supus filtrării, tratamentului triplu de spălare și uscare.

Ulterior uscării precipitatului vâscos obținut prin sinteză chimică, acesta a fost supus analizei XRD (Figura 1). Au fost identificate maxime de difracție caracteristice hidroxiapatitei

cristalizate în sistem hexagonal la valori ale unghiului 2θ de $26,4^\circ$, $28,7^\circ$, $29,4^\circ$, $32,2^\circ$, $33,9^\circ$, $34,1^\circ$, $35,6^\circ$, $39,9^\circ$, $47,6^\circ$, $49,9^\circ$ și $53,6^\circ$, planele de difracție corespunzătoare fiind marcate în spectru. Prezența dubletului intens aferent planelor (2 1 1) și (1 1 2) a fost asociată cu formarea HAp cristaline stoechiometrice [60]. Apartenența la sistemul cristalografic, conform cu alte rezultate raportate în literatură [61,62], a fost determinată pe baza fișei JCPDS 09-0432. Deși cristalinitatea probei a fost redusă (aspect evidențiat de peak-uri de reflexie largi și suprapuse; rezultat al absenței tratamentelor termice [63,64]), nu au fost observate faze secundare, indicând prezența unei faze cristaline singulare de HAp pur.

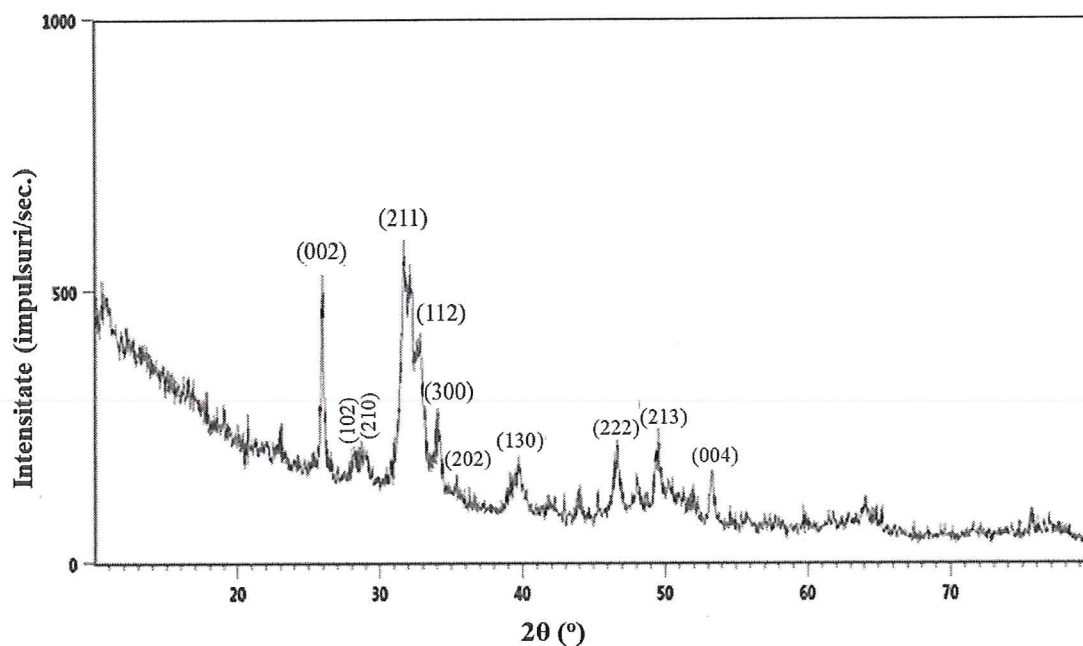


Figura 1. Difractograma pulberii de HAp

Imaginile SEM aferente pulberii de HAp (Figura 2) au evidențiat prezența unor agregate formate din particule nanodimensionate de morfologie aciculară (lățime de ~ 10 nm, lungime de 10–100 nm). Aceste observații au fost în conformitate cu alte studii privind microstructura HAp sintetice [65,66].

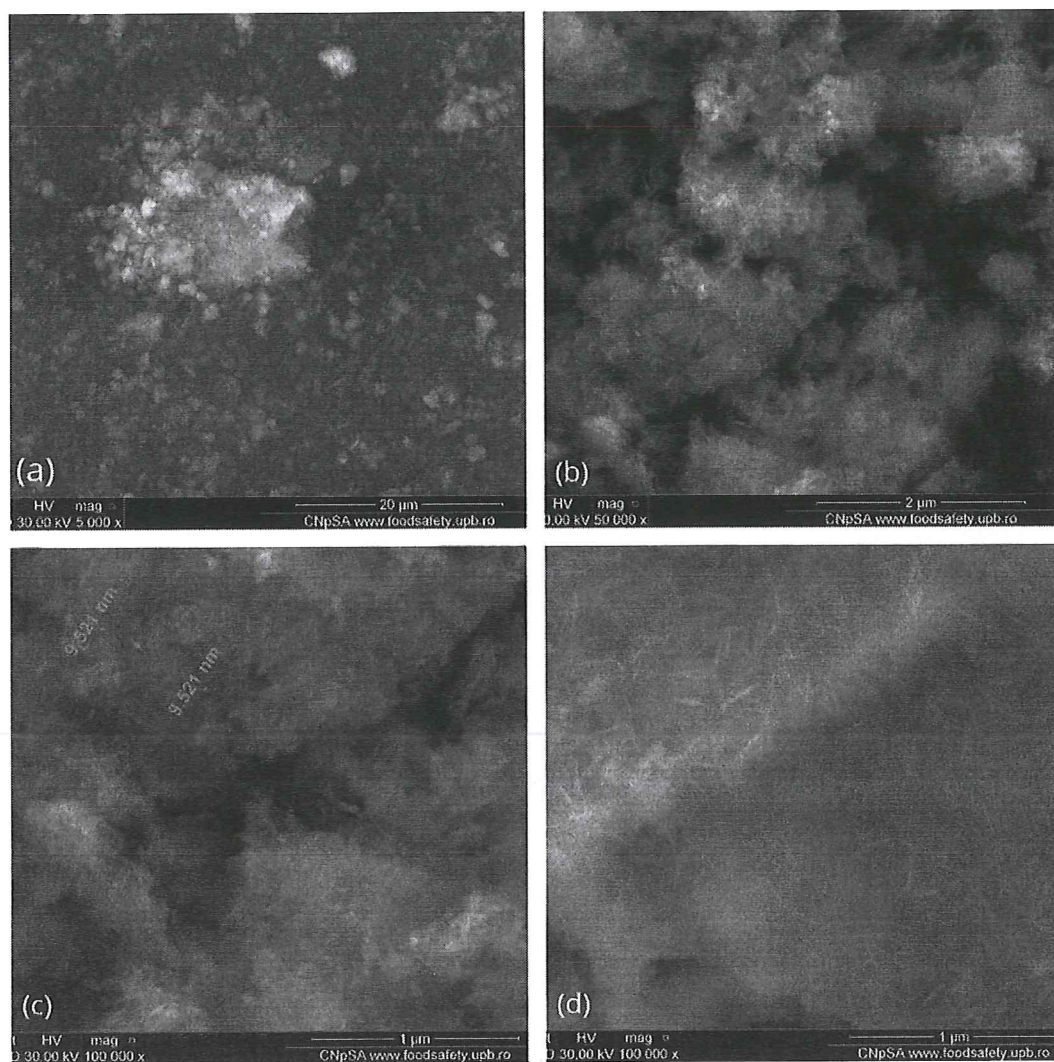


Figura 2. Imagini SEM a pulberii de HAp

În spectrul IR aferent pulberii (Figura 3) s-au observat prezența următoarelor benzi de absorbție caracteristice HAp: dubletul format din maximum de la $\sim 1021\text{ cm}^{-1}$ și la $\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ a fost atribuit întinderii asimetrice a grupării PO_4^{3-} (legătura P–O), în vreme ce întinderea simetrică a acesteia a fost identificată prin dubletul de la $\sim 960\text{ cm}^{-1}$ și $\sim 870\text{ cm}^{-1}$ [67,68]. Mai mult, prezența vibrațiilor de deformare asimetrică a O–P–O (caracteristică fosfatului) a fost confirmată prin benzile IR poziționate la $\sim 601\text{ cm}^{-1}$ și $\sim 560\text{ cm}^{-1}$ [69,70] prezența bine definită a acestui ultim dublet de absorbție este o caracteristică a HAp cristaline [71] confirmând astfel rezultatele XRD.

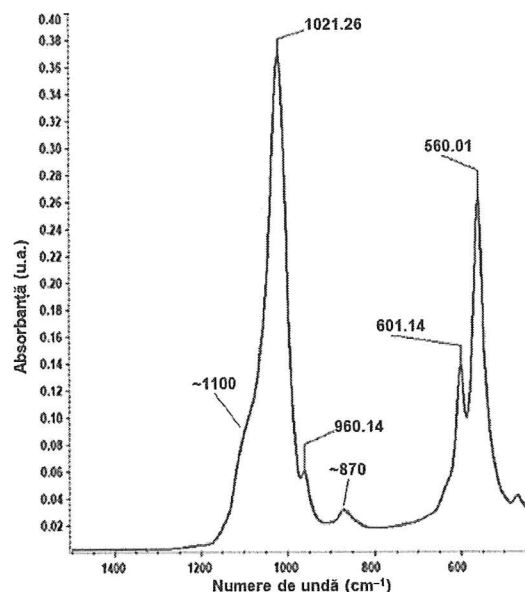


Figura 3. Spectrul IR a pulberii de HAp

A.2. Modificarea suprafeței implanturilor din Ti

Implanturi discoidale din titan (cu diametrul și grosimea de 12 mm și, respectiv, 0,1 mm) și siliciu (1 0 0) au fost folosite ca substraturi în timpul experimentelor MAPLE (procesare laser). Înainte modificării suprafețelor prin procesare laser, toate substraturile au fost supuse unui tratament de curățare cu ultrasunete în acetonă, etanol și apă deionizată (15 minute pentru fiecare pas), urmată de uscare sub un jet de azot de puritate înaltă.

Țintele solide necesare pentru experimentele prin tehnica MAPLE au fost obținute prin înghețarea suspensiilor PLA/HAp/BMP4 în DMSO (concentrație 3%) la temperatura azotului lichid. În plus, țintele au fost iradiate cu un fascicul laser generat de un laser cu excimer COMPexPro 205 Lambda Physics KrF* ($\lambda = 248$ nm, $\tau_{FWHM} = 25$ ns), la o rată de repetiție de 15 Hz și o presiune de 3×10^{-3} mbar. Distanța țintă - substrat a fost fixată la 5 cm. Pentru fiecare experiment au fost aplicate un număr total de ~ 58000 de impulsuri laser folosindu-se diferite fluențe laser (200, 300 și 400 mJ/cm²).

A.3. Caracterizarea acoperirilor obținute la A.2.

Identificarea parametrilor optimi de depunere a materialelor compozite PLA/HAp/BMP4 a fost posibilă prin realizarea studiilor comparative de IRM între probele *drop-cast* (corespunzătoare materialelor inițiale) și acoperirile subțiri obținute la diferite valori ale fluenței laser (Figura 4).

Hărțile IR (Figura 4, dreapta) au fost înregistrate pentru monitorizarea benzilor de absorbție ale grupării carbonil (~1750 cm⁻¹) aparținând din poliester și ale grupării fosfat (~1030 cm⁻¹) din faza apatitică. Variațiile cromatice din hărțile IR, direct corelate cu intensitatea absorbanțelor benzilor monitorizate, furnizează informații relevante cu privire la distribuția grupărilor funcționale pe substraturi și la eficiența transferului laser. Spectrele IR corespunzătoare (Figura 4, stânga) au rezultat în urma colectării datelor în diferite puncte de pe

suprafața probelor, acestea oferind detalii cu privire la integritatea compozițională și stoechiometria acoperirilor obținute prin tehnica MAPLE.

Pe lângă maximele de absorbție caracteristice HAp (marcate la ~ 1100 , ~ 1036 și ~ 980 cm^{-1}) au fost observate și benzile IR caracteristice PLA, după cum urmează: vibrații de întindere asimetrică și simetrică ale legăturii C–H provenind din grupările $-\text{CH}_3$ (între $3000 - 2850$ cm^{-1}), întinderea grupării C=O (~ 1750 cm^{-1}), deformarea asimetrică a C–H (~ 1450 cm^{-1}), îndoirea $-\text{CH}_3$ (~ 1380 cm^{-1}), întinderea asimetrică a C–O–C (~ 1200 cm^{-1}), întinderea C–O (~ 1100 cm^{-1}) [72,73]. Folosind datele aferente probelor *drop-cast* ca referință, în cazul probelor obținute prin procesare laser, pentru cazurile utilizării valorilor minimă și maximă a fluenței laser s-a constatat reducerea semnificativă (chiar dispariția) benzilor de absorbție relevante. Această observație a fost corelată cu transferul insuficient (200 mJ/cm^2) sau ne-stoichiometric (400 mJ/cm^2) al materialelor compozite, aspecte confirmate de hărțile IR asociate. Din punct de vedere al integrității compoziționale și al transferului eficient, rezultate optime au fost obținute prin utilizarea unei fluențe laser de 300 mJ/cm^2 .

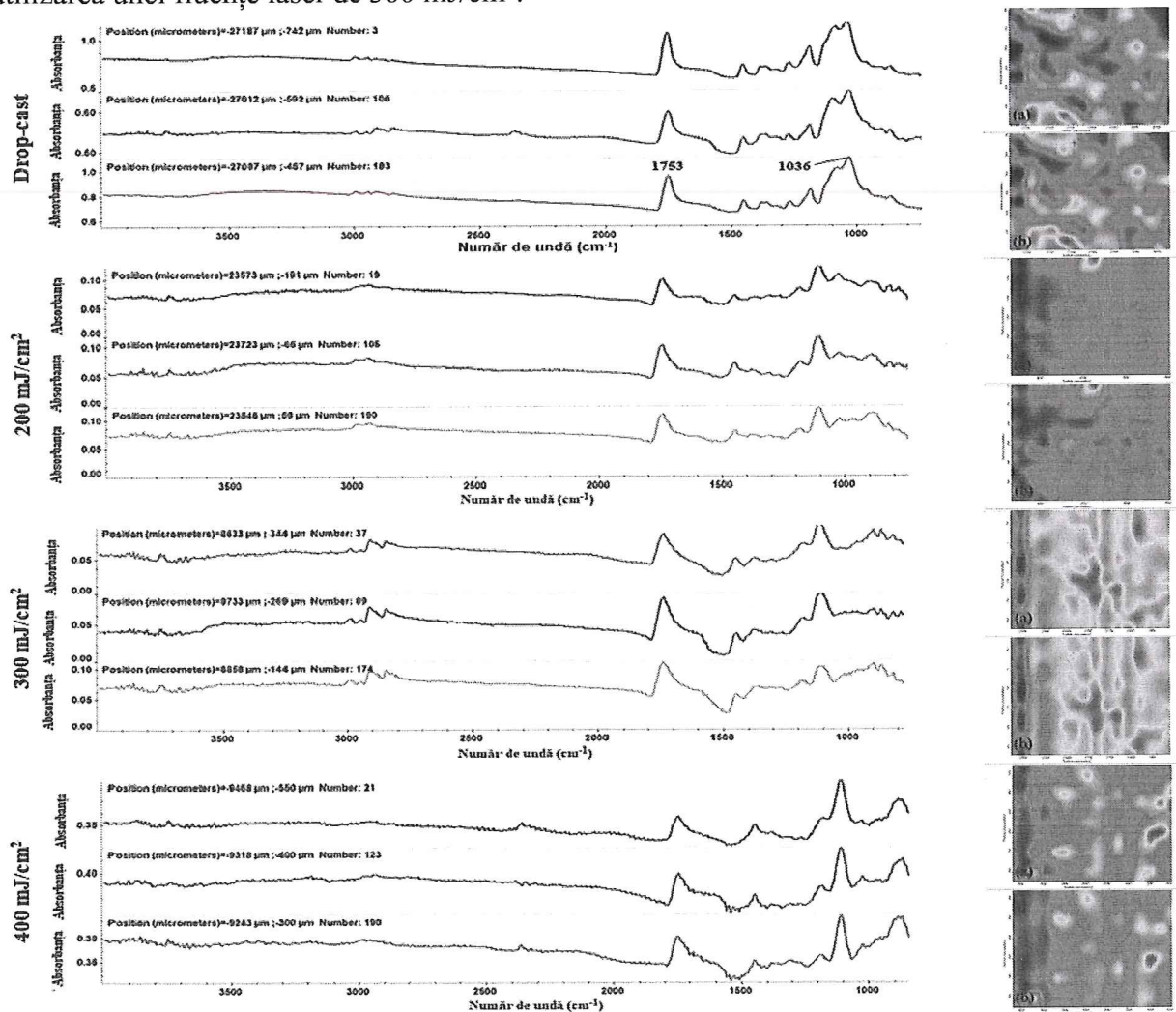


Figura 4. Spectrul IR (stânga) și hărțile IR (dreapta) corespunzătoare distribuției grupării metilen ce aparține PLA-ului (a_1 , a_2 , a_3 , a_4) și a grupării fosfat ce aparține HAp (b_1 , b_2 , b_3 , b_4) pentru acoperirile de PLA/HAp/BMP4

Ca urmare a rezultatelor IR, studiile *in vitro* au fost realizate pe acoperiri compozite de PLA/HAp/BMP4 obținute la fluența laser de 300 mJ/cm^2 . Micrografia SEM (Figura 5a) a evidențiat transferul uniform și compact al materialului compozit pe substrat, agregatele de HAp de dimensiuni variabile fiind uniform distribuite în matricea polimerică.

La acest stadiu experimental nu s-a observat degradarea filmulelor de PLA, confirmând concluziile extrase din măsurătorile IR. Figura 5-b a evidențiat încorporarea eficientă a nanoparticulelor de HAp în matricea PLA, acestea păstrându-și dimensiunea în timpul transferului prin tehnica MAPLE. Mai mult, a fost observată o formă preferențială de bastonaș a HAp, aceasta fiind corelată cu acoperirea individuală a nanoparticulelor anorganice de către matricea polimerică. Acest rezultat a fost legat de existența interacțiunilor fizice slabe între cele două componente, evidențiat anterior de modificarea poziției benzilor de absorbție HAp în materialele procesate cu tehnica MAPLE. După cum s-a observat din investigațiile SEM, fluența laserului nu a modificat uniformitatea distribuției materialului compozit PLA/HAp/BMP4 pe substrat. Acoperirea continuă de dimensiuni sub-micrometrice (Figura 5-c) este compusă din particule de diferite dimensiuni, împrăștiate aleatoriu pe suprafață, care au un rezultat pozitiv asupra aderenței și creșterii/proliferării celulelor [74,75,76].

Trebuie menționat, faptul că, în acest stadiu experimental nu au fost identificate semne de degradare sau deteriorare a filmului de PLA, confirmând astfel observațiile studiilor în IR privind transferul stoechiometric și indicând aderența bună a acoperirii la substratul metalic. În urma analizelor SEM la o mărire superioară (Figura 5b) a fost observată înglobarea eficientă a particulelor de HAp în matricea de PLA, dimensiunile nanoparticulelor nefiind modificate. Observarea morfologiei specifică de tip bastonaș a HAp este corelată cu acoperirea individuală a particulelelor de către filmul polimeric și formarea de interacțiuni fizice slabe între cele două componente. Această concluzie este susținută de deplasările spectrale ale benzilor de absorbție ale apatitei în cazul filmelor procesate MAPLE). Analiza în secțiune transversală (Figura 5c) a evidențiat formarea de acoperiri continue, de dimensiune submicronică.

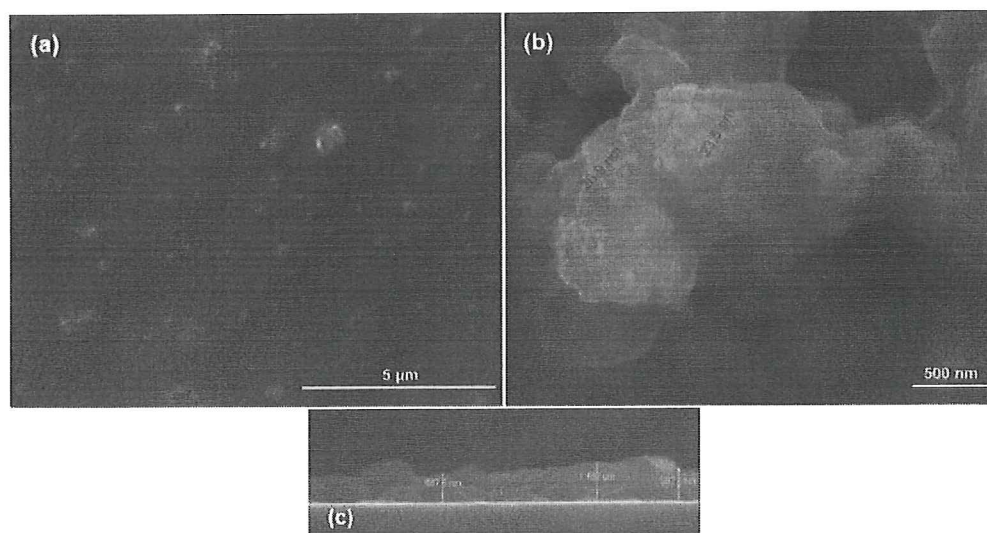


Figura 5. Imagini SEM de ansamblu (a,b) și secțiune transversală (c) a acoperirii de PLA/HAp/BMP4 obținute la 300 mJ/cm^2

A.4. Evaluarea biologică a acoperirilor

Capacitatea materialului sintetizat de a susține adeziunea, viabilitatea și proliferarea celulelor 3T3-E1 a fost investigată atât din punct de vedere calitativ, cât și cantitativ, după 2 și 7 zile de la însămânțarea celulelor pe suprafața materialului control și al materialului original prin testul Live&Dead și testul MTT. După cum se poate observa în Figura 6, investigarea probelor în microscopie de fluorescență după marcarea cu kitul Live&Dead a evidențiat că la 2 zile după însămânțarea celulelor 3T3-E1, capacitatea de adeziune a celulelor pe suprafața materialului PLA/HAp/BMP4 a fost crescută semnificativ comparativ cu controlul experimental. Mai mult, în cazul materialului PLA/HAp/BMP4, celulele au fost distribuite uniform pe suprafața acestuia comparativ cu materialul control, fiind prezente exclusiv celule vii. La 7 zile de la însămânțare, pe suprafața materialului PLA/HAp/BMP4 au fost observate exclusiv celule vii (verzi) care au acoperit uniform suprafața noului material, comparativ cu proba control unde s-a observat o creștere a numărului de celule moarte pe suprafața materialului și o tendință a celulelor de a se organiza în clustere, nefiind distribuite uniform pe suprafață.

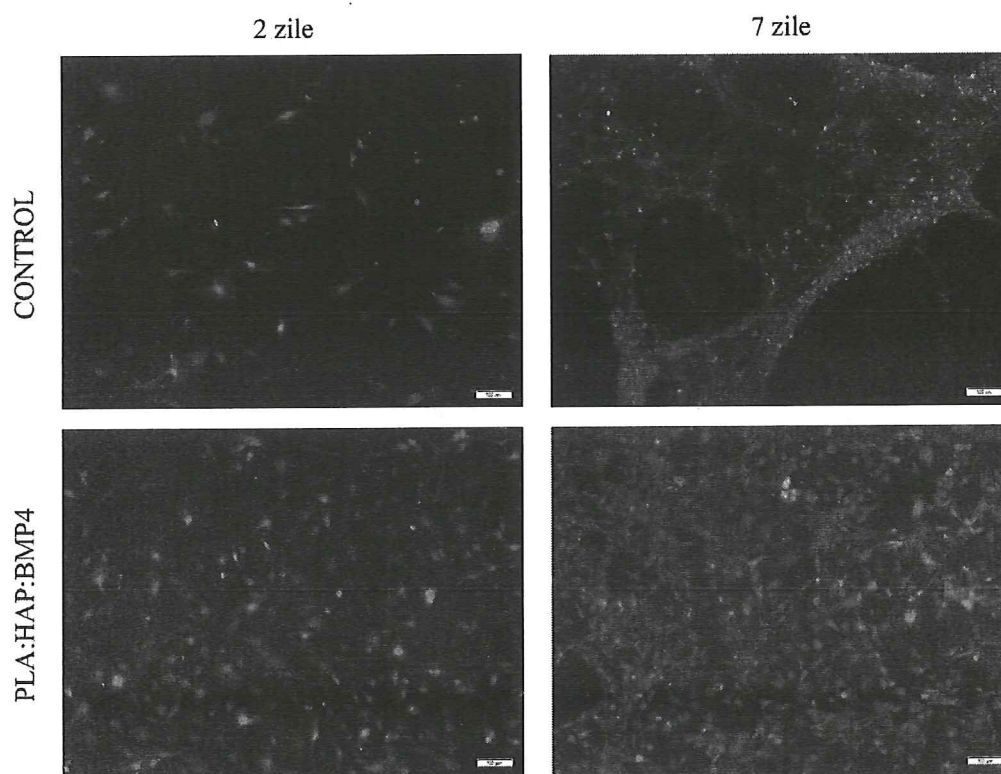


Figura 6. Imagini de microscopie de fluorescență care evidențiază celulele 3T3-E1 vii (verde) și moarte (roșu) la 2 și 7 zile de la însămânțarea pe suprafața materialului control și acoperirii PLA/HAp/BMP4

Investigarea activității metabolice a celulelor 3T3-E1 (Figura 7) după 2 zile de la însămânțarea pe suprafața probelor nu a evidențiat modificări semnificative la nivelul viabilității celulelor după contactul cu materialele. În contrast, la 7 zile de la însămânțare, s-a observat o creștere semnificativă a viabilității celulelor 3T3-E1 în contact cu materialul PLA/HAp/BMP4 comparativ cu controlul experimental. Mai mult, materialul PLA/HAp/BMP4 prezintă capacitatea de a susține proliferarea celulelor 3T3-E1, fiind observată o creștere semnificativă a viabilității celulare la 7 zile de la cultivare, comparativ cu cea observată după 2 zile. Rezultatele obținute au fost confirmate de nivelul LDH în mediul de cultură (Figura 8) care au evidențiat că materialul PLA/HAp/BMP4 prezintă un potențial citotoxic semnificativ scăzut comparativ cu materialul control.

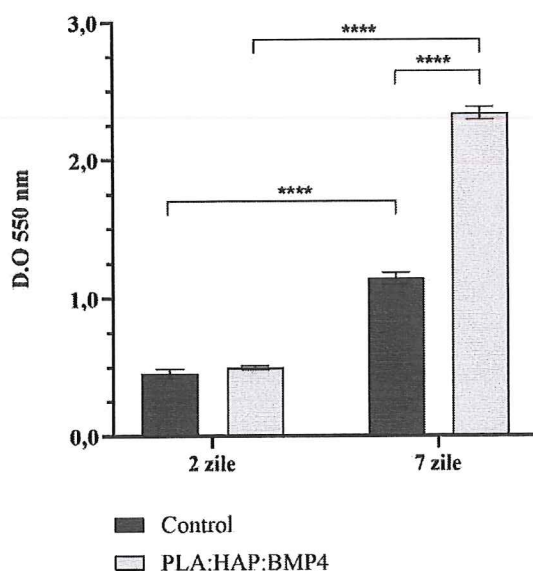


Figura 7. Reprezentarea grafică a viabilității celulelor 3T3-E1 după 2 și 7 zile de la contactul cu materialul control și acoperirea PLA/HAp/BMP4 evidențiată prin testul MTT (**** $p \leq 0.0001$)

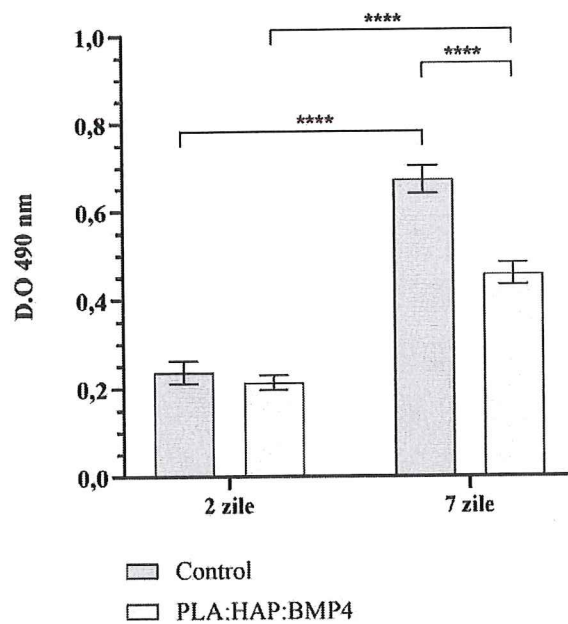


Figura 8. Reprezentarea grafică a nivelului de LDH eliberat de celulele 3T3-E1 în mediul de cultură după 2 și 7 zile de la contactul cu materialul control și acoperirea PLA/HAP/BMP4 ca măsură a citotoxicității acestora (**** $p \leq 0.0001$)

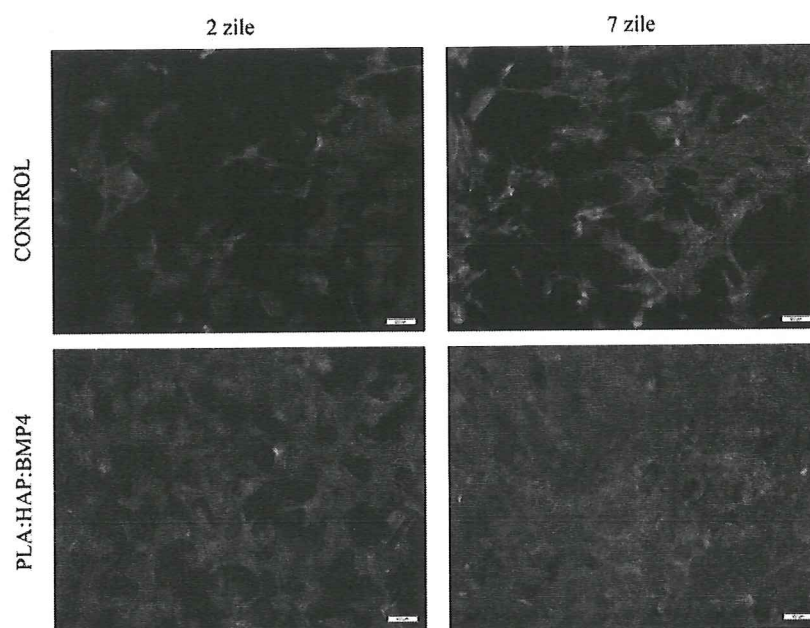


Figura 9. Imagini de microscopie de fluorescență care evidențiază morfologia celulelor 3T3-E1 pe suprafața materialului control și acoperirii PLA/HAP/BMP4 după marcarea filamentelor de actină cu faloidină-FITC (verde) și nucleilor cu DAPI (albastru).

Evaluarea efectului interacției celulelor 3T3-E1 cu materialele studiate asupra morfologiei celulare a fost realizată prin microscopie de fluorescență după marcarea probelor cu faloidină-FITC și DAPI. După cum se poate observa în Figura 9, la 2 zile de la însămânțare celulele 3T3-E1 prezintă o morfologie rotundă, caracterizată de nuclei bine definiți și filamente de actină scurte. Comparativ cu materialul control, pe suprafața materialului PLA/HAp/BMP4 se observă o distribuție uniformă a celulelor și un raport crescut de celule aderate. După 7 zile de la însămânțare, se poate observa că celulele prezintă un citoschelet bine-definit, celulele adoptând morfologia lor specifică fibroblast-*like*, caracterizată de filamentele lungi de actină, în contact cu materialul PLA/HAp/BMP4, pe suprafața acestuia celulele fiind uniform distribuite. În contrast, în cazul materialului control, deși predominant celulele au adoptat morfologia tipică, există celule care și-au menținut morfologia rotundă, fiind observat un citoschelet slab definit, condensat în jurul nucleilor. Mai mult, pe materialul control, celulele prezintă tendința de a se organiza în clustere, nefiind capabile să prolifereze pentru a acoperi întreaga suprafață.

În concluzie, comparativ cu materialul control, PLA/HAp/BMP4 prezintă proprietăți biologice superioare, rezultatele obținute arătând că acesta este capabil să susțină adeziunea, viabilitatea și proliferarea celulară. Aceste rezultate care susțin biocompatibilitatea excelentă a noului material susțin utilizarea acestuia în studii *in vitro* care să evalueze capacitatea materialului de a susține procesul de reparare în cazul leziunilor osoase.

Diseminare

1. Gherasim O., Grumezescu A.M., **Grumezescu V.***, Andronesu E., Negut I., Bîrcă A.C., Gălățeanu B., Hudiță A. Bioactive coatings loaded with osteogenic protein for metallic implants. Polymers. **IF₂₀₂₀ = 4,329**, **AIS₂₀₂₀ = 0,597** – în evaluare

În urma rezultatelor obținute toate obiectivele propuse au fost îndeplinite cu succes.

Dr. ing. Valentina Grumezescu

Referințe

- 1 Kaur, S.; Ghadirinejad, K.; Oskouei, R.H. An Overview on the Tribological Performance of Titanium Alloys with Surface Modifications for Biomedical Applications. *Lubricants* **2019**, *7*(8), 65, doi.org/10.3390/lubricants7080065
- 2 Li, J.; Jansen, J.A.; Walboomers, X.F.; van den Beucken, J.J.J.P. Mechanical aspects of dental implants and osseointegration: A narrative review. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2020**, *103*, 103574, doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.103574
- 3 Shah, R.; Gashi, B.; Hoque, S.; Marian, M.; Rosenkranz, A. Enhancing mechanical and biomedical properties of prostheses - Surface and material design. *Surf. Interfaces* **2021**, *27*, 101498, doi.org/10.1016/j.surf.2021.101498
- 4 Talha, M.; Ma, Y.; Kumar, P.; Lin, Y.; Singh, A. Role of protein adsorption in the bio corrosion of metallic implants – A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2019**, *176*, 494-506, doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.01.038
- 5 Souza, J.C.M.; Apaza-Bedoya, K.; Benfatti, C.A.M.; Silva, F.S.; Henriques, B. A Comprehensive Review on the Corrosion Pathways of Titanium Dental Implants and Their Biological Adverse Effects. *Metals* **2020**, *10*, 1272, doi.org/10.3390/met10091272
- 6 Badhe, R.V.; Akinfosile, O.; Bijukumar, D.; Barba, M.; Mathew, M.T. Systemic toxicity eliciting metal ion levels from metallic implants and orthopedic devices – A mini review. *Toxicology Letters* **2021**, *350*, 213-224, doi.org/10.1016/j.toxlet.2021.07.004
- 7 Chouirfa, H.; Bouloussa, H.; Migonney, V.; Falentin-Daudré, C. Review of titanium surface modification techniques and coatings for antibacterial applications. *Acta Biomater.* **2019**, *83*, 37-54, doi.org/10.1016/j.actbio.2018.10.036
- 8 Chen, Y.; Han, P.; Dehghan-Manshadi, A.; Kent, D.; Ehtemam-Haghighi, S.; Jowers, C.; Bermingham, M.; Li, T.; Cooper-White, J.; Dargusch, M.S. Sintering and biocompatibility of blended elemental Ti-xNb alloys. *J Mech Behav Biomed Mater.* **2020**, *104*, 103691, doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.103691
- 9 Li, K.; Liu, S.; Hu, T.; Razanau, I.; Wu, X.; Ao, H.; Huang, L.; Xie, Y.; Zheng, X. Optimized nanointerface engineering of micro/nanostructured titanium implants to enhance cell-nanotopography interactions and osseointegration. *ACS Biomater Sci Eng.* **2020**, *6*, 969-83, doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b01717
- 10 Stepanovska, J.; Matejka, R.; Rosina, J.; Bacakova, L.; Kolarova, H. Treatments for enhancing the biocompatibility of titanium implants. *Biomed Pap Palacky Univ Olomouc Czech Repub.* **2020**, *164*, 23-33, doi: 10.5507/bp.2019.062.
- 11 Kazimierczak, P.; Przekora, A. Osteoconductive and Osteoinductive Surface Modifications of Biomaterials for Bone Regeneration: A Concise Review. *Coatings* **2020**, *10*, 971, doi.org/10.3390/coatings10100971
- 12 Hussain, M.; Rizvi, S.H.A.; Abbas, N.; Sajjad, U.; Shad, M.R.; Badshah, M.A.; Malik, A.I. Recent Developments in Coatings for Orthopedic Metallic Implants. *Coatings* **2021**, *11*(7), 791, doi.org/10.3390/coatings11070791
- 13 Ciocca, L.; Lesci Isidoro, G.; Ragazzini, S.; Gioria, S.; Valsesia, A.; Parrilli, A.; Spadari, A.; Dozza, B.; Mora, P.; Piattelli, A.; Iezzi, G.; Tarsitano, A.; Baldissara, P. Nanostructured surface bioactive composite scaffold for filling of bone defects. *Biointerface Research in Applied Chemistry* **2020**, *10*, 5038-5047, doi.org/10.33263/BRIAC102.038047.
- 14 Liu, Y.; Rath, B.; Tingart, M.; Eschweiler, J. Role of implants surface modification in osseointegration: A systematic review. *J Biomed Mater Res Part A.* **2020**, *108*, 470-484, doi: 10.1002/jbm.a.36829
- 15 Li, J.; Zhou, P.; Attarilar, S.; Shi, H. Innovative Surface Modification Procedures to Achieve Micro/Nano-Graded Ti-Based Biomedical Alloys and Implants. *Coatings* **2021**, *11*(6), 647, doi.org/10.3390/coatings11060647
- 16 Roy, A.K.; Kumar, K. Sustainability in bio-metallic orthopedic implants. *Biointerface Research in Applied Chemistry* **2019**, *9*, 3825-3829, doi:10.33263/briac91.825829.
- 17 Sandhu, H.S.; Phull, G.S.; Saini, M.S.; Singh, J.I.P., Gulati, P. A Review: Bio-compatible Thermal Spray Coating on Bio-implant, in *Book Recent Trends in Engineering Design*, Parey, A.; Kumar, R.; Singh, M. Eds.; Springer, Singapore, 2021.
- 18 Özmeriç, A.; Tanoğlu, O.; Ocak, M.; Çelik, H.H.; Fırat, A.; Kaymaz, F.F.; Koca, G.; Şenes, M.; Alemdaroğlu, K.B.; İltar, S.; Hacaloğlu, T.; Kaftanoğlu, B. Intramedullary implants coated with cubic boron nitride enhance bone fracture healing in a rat model. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **2020**, *62*, 126599 doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126599
- 19 Chen, C.S.; Chang, J.H.; Srimaneepong, V.; Wen, J.Y.; Tung, O.-H.; Yang, C.-H.; Lin, H.-C.; Lee, T.-H.; Han, Y.; Huang, H.-H. Improving the in vitro cell differentiation and in vivo osseointegration of titanium dental implant

through oxygen plasma immersion ion implantation treatment. *Surface and Coatings Technology* **2020**, 399, 126125, doi.org/10.1016/j.surfcoat.2020.126125

20 Buxadera-Palomero, J.; Fricke, K.; Reuter, S.; Gil, F.J.; Rodriguez, D.; Canal, C. One-step liquid phase polymerization of HEMA by atmospheric-pressure plasma discharges for Ti dental implants. *Appl. Sci.* **2021**, 11, 662, doi.org/10.3390/app11020662

21 Duta, L. In Vivo Assessment of Synthetic and Biological-Derived Calcium Phosphate-Based Coatings Fabricated by Pulsed Laser Deposition: A Review. *Coatings* **2021**, 11(1), 99, doi.org/10.3390/coatings11010099

22 Abhijith, N.V.; Priyanka, C.P.; Sudeep, U.; Ramachandran, K.K. Crystallinity and wettability induced osteogenic behaviors of commercially pure Ti and Ti-6Al-4V alloy implant surfaces having multiscale surface topography. *Materials Today: Proceedings* **2021**, 46(19), 9405-9411, doi.org/10.1016/j.matpr.2020.03.057

23 Kedia, S.; Bonagani, S.K.; Majumdar, A.G.; Kain, V.; Subramanian, M.; Maiti, N.; Nilaya, P. Nanosecond laser surface texturing of type 316L stainless steel for contact guidance of bone cells and superior corrosion resistance. *Colloid and Interface Science Communications* **2021**, 42, 100419, doi.org/10.1016/j.colcom.2021.100419

24 Kelly, C.N.; Wang, T.; Crowley, J.; Wills, D.; Pelletier, M.H.; Westrick, E.R.; Adams, S.B.; Gall, K.; Walsh, W.R. High-strength, porous additively manufactured implants with optimized mechanical osseointegration. *Biomaterials* **2021**, 279, 121206, doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.121206

25 Gherasim, O.; Grumezescu, A.M.; Fica, A.; Grumezescu, V.; Holban, A.M.; Gălăţeanu, B.; Hudîţă, A. Composite P(3HB-3HV)-CS Spheres for Enhanced Antibiotic Efficiency. *Polymers* **2021**, 13(6), 989, doi.org/10.3390/polym13060989

26 Dumitrescu, L.N.; Neacsu, P.; Necula, M.G.; Bonciu, A.; Marascu, V.; Cimpean, A.; Moldovan, A.; Rotaru, A.; Dinca, V.; Dinescu, M. Induced Hydrophilicity and In Vitro Preliminary Osteoblast Response of Polyvinylidene Fluoride (PVDF) Coatings Obtained via MAPLE Deposition and Subsequent Thermal Treatment. *Molecules* **2020**, 25(3), 582, doi.org/10.3390/molecules25030582

27 Marturano, V.; Abate, F.; Ambrogio, V.; Califano, V.; Cerruti, P.; Pepe, G.P.; Vicari, L.R.M.; Ausanio, G. Smart Coatings Prepared via MAPLE Deposition of Polymer Nanocapsules for Light-Induced Release. *Molecules* **2021**, 26(9), 2736, doi.org/10.3390/molecules26092736

28 Icriverzi, M.; Rusen, L.; Brajnicov, S.; Bonciu, A.; Dinescu, M.; Cimpean, A.; Evans, R.W.; Dinca, V.; Roseanu, A. Macrophage in vitro Response on Hybrid Coatings Obtained by Matrix Assisted Pulsed Laser Evaporation. *Coatings* **2019**, 9(4), 236.

29 Grumezescu, V.; Negut, I.; Cristescu, R.; Grumezescu, A.M.; Holban, A.M.; Iordache, F.; Chifiriuc, M.C.; Narayan, R.J.; Chrisey, D.B. Isoflavonoid-Antibiotic Thin Films Fabricated by MAPLE with Improved Resistance to Microbial Colonization. *Molecules* **2021**, 26(12), 3634, doi.org/10.3390/molecules26123634

30 Kreller, T.; Sahm, F.; Bader, R.; Boccaccini, A.R.; Jonitz-Heincke, A.; Detsch, R. Biomimetic Calcium Phosphate Coatings for Bioactivation of Titanium Implant Surfaces: Methodological Approach and In Vitro Evaluation of Biocompatibility. *Materials* **2021**, 14(13), 3516, doi.org/10.3390/ma14133516

31 Cao, J.; Lian, R.; Jiang, X.; Rogachev, A.C. In vitro degradation assessment of calcium fluoride-doped hydroxyapatite coating prepared by pulsed laser deposition. *Surface and Coatings Technology* **2021**, 416, 127177, doi.org/10.1016/j.surfcoat.2021.127177

32 Beig, B.; Liaqat, U.; Farooq Khan Niazi, M.; Douna, I.; Zahoor, M.; Bilal Khan Niazi, M. Current Challenges and Innovative Developments in Hydroxyapatite-Based Coatings on Metallic Materials for Bone Implantation: A Review. *Coatings* **2020**, 10(12), 1249, doi.org/10.3390/coatings10121249

33 Pu'ad, N.; Chuan, L.T.; Salman, N.S.; Selimin, M.A.; Latif, A.F.A.; Muhamad, M.S.; Abdullah, H.Z.; Idris, M.; Mustapha, S.N.H. Synthesis of bioactive calcium phosphate from cockle shell for biomedical applications. *Biointerface Research in Applied Chemistry* **2020**, 10, 5787-5791, doi:10.33263/briac104.787791.

34 Zhao, R.; Xie, P.; Zhang, K.; Tang, Z.; Chen, X.; Zhu, X.; Fan, Y.; Yang, X.; Zhang, X. Selective effect of hydroxyapatite nanoparticles on osteoporotic and healthy bone formation correlates with intracellular calcium homeostasis regulation. *Acta Biomater.* **2017**, 59, 338-350, doi: 10.1016/j.actbio.2017.07.009

35 Hidalgo-Robatto, B.M.; López-Álvarez, M.; Azevedo, A.Z.; Dorado, J.; Serra, J.; Azevedo, N.F.; González, P. Pulsed laser deposition of copper and zinc doped hydroxyapatite coatings for biomedical applications. *Surface & Coatings Technology* **2018**, 333, 168-177, doi.org/10.1016/j.surfcoat.2017.11.006

36 Hidalgo-Robatto, B.M.; Aguilera-Correa, J.J.; López-Álvarez, M.; Romera, D.; Esteban, J.; González, P.; Serra, J. Fluor-carbonated hydroxyapatite coatings by pulsed laser deposition to promote cell viability and antibacterial properties. *Surface and Coatings Technology* **2018**, 349, 736-744, doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.06.047

- 37 Massit, A.; El Yacoubi, A.; Rezzouk, A.; El Idrissi, B.C. Thermal Behavior of Mg-Doped Calcium-Deficient Apatite and Stabilization of beta Tricalcium Phosphate. *Biointerface Research in Applied Chemistry* **2020**, *10*, 6837-6845, doi:10.33263/briac106.68376845.
- 38 Mareci, D.; Trincă, L.C.; Căilean, D.; Souto, R.M. Corrosion resistance of ZrTi alloys with hydroxyapatite-zirconia-silver layer in simulated physiological solution containing proteins for biomaterial applications. *Applied Surface Science* **2016**, *389*, 1069-1075, doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.08.046
- 39 Qiao, H.; Song, G.; Huang, Y.; Yang, H.; Han, S.; Zhang, X.; Wang, Z.; Ma, J.; Bue, X.; Fud, L. Si, Sr, Ag co-doped hydroxyapatite/TiO₂ coating: enhancement of its antibacterial activity and osteoinductivity. *RSC Advances* **2019**, *9*, 13348-13364, doi.org/10.1039/C9RA01168D
- 40 Liu, S.; Qin, S.; He, M.; Zhou, D.; Qin, Q.; Wang, H. Current applications of poly (lactic acid) composites in tissue engineering and drug delivery, *Composites Part B Engineering* **2020**, *199*, 108238, doi.org/10.1016/j.compositesb.2020.108238
- 41 Li, G.; Zhao, M.; Xu, F.; Yang, B.; Li, X.; Meng, X.; Teng, L.; Sun, F.; Li, Y. Synthesis and Biological Application of Polylactic Acid. *Molecules* **2020**, *25*(21), 5023, doi.org/10.3390/molecules25215023
- 42 Horst, J.D.; De Andrade, P.P.; Duvoisin, C.A.; Vieira, R.D. Fabrication of Conductive Filaments for 3D-printing: Polymer Nanocomposites. *Biointerface Research in Applied Chemistry* **2020**, *10*, 6577-6586, doi:10.33263/briac106.65776586.
- 43 Nofar, M.; Sacligil, D.; Carreau, P.J.; Kamal, M.R.; Heuzey, M.C. Poly (lactic acid) blends: Processing, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules* **2019**, *125*, 307-360, doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.002
- 44 Englert, C.; Brendel, J.C.; Majdanski, T.C.; Yildirim, T.; Schubert, S.; Gottschaldt, M.; Windhab, N.; Schubert, U. Pharmapolymers in the 21st century: Synthetic polymers in drug delivery applications. *Progress in Polymer Science* **2018**, *87*, 107-164, doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2018.07.005
- 45 Bharadwaz, A.; Jayasuriya, A.C. Recent trends in the application of widely used natural and synthetic polymer nanocomposites in bone tissue regeneration. *Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl.* **2020**, *110*, 110698, doi.org/10.1016/j.msec.2020.110698
- 46 Dwivedi, A.; Mazumder, A.; Nasongkla, N. Layer-by-layer nanocoating of antibacterial niosome on orthopedic implant. *International Journal of Pharmaceutics* **2018**, *547*(1-2), 235-243, doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.05.075
- 47 Karacan, I.; Ben-Nissan, B.; Wang, H.A.; Juritza, A.; Swain, M.V.; Müller, W.H.; Chou, J.; Stamboulis, A.; Macha, I.J.; Taraschi, V. Mechanical testing of antimicrobial biocomposite coating on metallic medical implants as drug delivery system. *Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications* **2019**, *104*, 109757, doi.org/10.1016/j.msec.2019.109757
- 48 Backes, E.H.; Pires, L.D.N.; Beatrice, C.A.G.; Costa, L.C.; Passador, F.R.; Pessan, L.A. Fabrication of biocompatible composites of poly (lactic acid)/hydroxyapatite envisioning medical applications. *Polymer Engineering and science* **2020**, *60*(3), 636-644, doi.org/10.1002/pen.25322
- 49 Karacan, I.; Macha, I.J.; Choi, G.; Cazalbou, S.; Ben-Nissan, B. Antibiotic Containing Poly Lactic Acid/Hydroxyapatite Biocomposite Coatings for Dental Implant Applications. *KEM* **2017**, *758*, 120-125, doi.org/10.4028/www.scientific.net/kem.758.120
- 50 Monireh Ganjali, S.M.A.; Karimi, M. Surface modification of 316L stainless steel by laser-treated HA-PLA nanocomposite films toward enhanced biocompatibility and corrosion-resistance in vitro. *Surface and Coatings Technology* **2019**, *363*, 236-243, doi.org/10.1016/j.surfcoat.2019.02.052.
- 51 Mehdikhani-Nahrkhalaji, M.; Fathi, M.H.; Mortazavi, V.; Mousavi, S.B.; Akhavan, A.; Haghighat, A.; Hashemi-Beni, B.; Razavi, S.M.; Mashhadiabbas, F. Biodegradable nanocomposite coatings accelerate bone healing: in vivo evaluation. *Dent. Res. J.* **2015**, *12*, 89-99, doi: 10.4103/1735-3327.150342
- 52 Lademann, F.; Hofbauer, L.C.; Rauner, M. The Bone Morphogenetic Protein Pathway: The Osteoclastic Perspective. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* **2020**, *8*, 586031, doi: 10.3389/fcell.2020.586031.
- 53 Sampath, T.K.; Vukicevic, S. Biology of bone morphogenetic protein in bone repair and regeneration: A role for autologous blood coagulum as carrier. *Bone* **2020**, *141*, 115602, doi.org/10.1016/j.bone.2020.115602
- 54 Tahmasebi, E.; Alam, M.; Yazdani, M.; Tebyanian, H.; Yazdani, A.; Seifalian, A.; Mosaddad, S.A. Current biocompatible materials in oral regeneration: a comprehensive overview of composite materials. *Journal of Materials Research and Technology* **2020**, *9*(5), 11731-11755, doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.08.042.
- 55 Collon, K.; Gallo, M.C.; Lieberman, J.R. Musculoskeletal tissue engineering: Regional gene therapy for bone repair. *Biomaterials* **2021**, *275*, 120901, doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.120901

- 56 Gillman, C.E.; Jayasuriya, A.C. FDA-approved bone grafts and bone graft substitute devices in bone regeneration. *Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications* **2021**, *130*, 112466, doi: 10.1016/j.msec.2021.112466.
- 57 Begam, H.; Nandi, S.K.; Chanda, A.; Kundu, B. Effect of bone morphogenetic protein on Zn-HAp and Zn-HAp/collagen composite: A systematic in vivo study. *Research in Veterinary Science* **2017**, *115*, 1-9, doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.01.012.
- 58 Zhou, P.; Wu, J.; Xia, Y.; Yuan, Y.; Zhang, H.; Xu, S.; Lin, K.; Loading BMP-2 on nanostructured hydroxyapatite microspheres for rapid bone regeneration. *Int J Nanomedicine* **2018**, *13*, 4083-4092, doi: 10.2147/IJN.S158280
- 59 Lee, D.K.; Ki, M.R.; Kim, E.H.; Park, C.J.; Ryu, J.J.; Jang, H.S.; Pack, S.P.; Jo, Y.K.; Jun, S.H. Biosilicated collagen/ β -tricalcium phosphate composites as a BMP-2-delivering bone-graft substitute for accelerated craniofacial bone regeneration. *Biomater Res.* **2021**, *25*(1), 13, doi: 10.1186/s40824-021-00214-w.
- 60 Rincón-López, J.A.; Hermann-Muñoz, J.A.; Giraldo-Betancur, A.L.; De Vizcaya-Ruiz, A.; Alvarado-Orozco, J.M.; Muñoz-Saldaña, J. *Synthesis, characterization and in vitro study of synthetic and bovine-derived hydroxyapatite ceramics: A comparison.* *Materials* **2018**, *9*(3), 333.
- 61 Hammood, A.S.; Hassan, S.S.; Alkhafagy, M.T.; Jaber, H.L. *Effect of calcination temperature on characterization of natural hydroxyapatite prepared from carp fish bones.* *SN Applied Sciences* **2019**, *1*(5), 436.
- 62 Predoi, S.A.; Ciobanu, C.S.; Motelica-Heino, M.; Chifiriuc, M.C.; Badea, M.L.; Iconaru, S.L. *Preparation of porous hydroxyapatite using cetyl trimethyl ammonium bromide as surfactant for the removal of lead ions from aquatic solutions.* *Polymers* **2021**, *13*(10), 1617.
- 63 Ahmed, Y.M.Z.; El-Sheikh, S.M.; Zaki, Z.I. *Changes in hydroxyapatite powder properties via heat treatment.* *Bulletin of Materials Science* **2015**, *38*(7), 1807-1819.
- 64 Agbabiaka, O.G.; Oladele, I.O.; Akinwekomi, A.D.; Adediran, A.A.; Balogun, A.O.; Olasunkanm, O.G.; Olayanju, T.M.A. *Effect of calcination temperature on hydroxyapatite developed from waste poultry eggshell.* *Scientific African* **2020**, *8*, e00452.
- 65 Liang, W.; Niu, Y.; Ge, S.; Song, S.; Su, J.; Luo, Z. *Effects of hydrothermal treatment on the properties of nanoapatite crystals.* *International Journal of Nanomedicine* **2012**, *7*, 5151-5158.
- 66 Dumitrescu, C.R.; Neacsu, I.A.; Surdu, V.A.; Nicoara, A.I.; Iordache, F.; Trusca, R.; Ciocan, L.T.; Fica, A.; Andronescu, E. *Nano-hydroxyapatite vs. Xenografts: Synthesis, characterization, and in vitro behavior.* *Nanomaterials* **2021**, *11*(9), 2289.
- 67 Peón, E.; Fuentes, G.; Galván, J.C. *Controlled rate thermal analysis (crt) as a fast and effective method for the development of ceramic powders of synthetic hydroxyapatite at low temperatures.* *Biointerface Research in Applied Chemistry* **2021**, *11*(3), 11031-11041.
- 68 Lin, D.J.; Lin, H.L.; Haung, S.M.; Liu, S.M.; Chen, W.C. *Effect of ph on the in vitro biocompatibility of surfactant-assisted synthesis and hydrothermal precipitation of rod-shaped nano-hydroxyapatite.* *Polymers* **2021**, *13*(17), 2994.
- 69 Vidhya, G.; Suresh Kumar, G.; Kattimani, V.S.; Girija, E.K. *Comparative study of hydroxyapatite prepared from eggshells and synthetic precursors by microwave irradiation method for medical applications.* *Materials Today: Proceedings* **2019**, *15*, 344-352.
- 70 Madhavasarma, P.; Veeraragavan, P.; Kumaravel, S.; Sridevi, M. *Studies on physiochemical modifications on biologically important hydroxyapatite materials and their characterization for medical applications.* *Biophysical Chemistry* **2020**, *267*, 106474.
- 71 Capitelli, F.; Dida, B.; Ventura, G.D.; Baldassarre, F.; Capelli, D.; Senesi, G.S.; Mele, A.; Siliqi, D. *Functional nano-hydroxyapatite for applications in conservation of stony monuments of cultural heritage.* *Proceedings* **2021**, *62*(1), 11.
- 72 Manju, P.; Krishnan, P.S.G.; Nayak, S.K. *Effect of morphology and hydroxyl groups of different nanoparticles on the properties of pla bionanocomposites.* *Materials Today: Proceedings* **2019**, *41*, 1169-1174.
- 73 Sharma, S.; Majumdar, A.; Butola, B.S. *Tailoring the biodegradability of polylactic acid (pla) based films and ramie-pla green composites by using selective additives.* *International Journal of Biological Macromolecules* **2021**, *181*, 1092-1103.
- 74 Shams, M.; Karimi, M.; Heydari, M.; Salimi, A. *Nanocomposite scaffolds composed of Apacite (apatite-calcite) nanostructures, poly (ϵ -caprolactone) and poly (2-hydroxyethylmethacrylate): The effect of nanostructures on*

physico-mechanical properties and osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells in vitro. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* **2020**, *117*, 111271, doi: 10.1016/j.msec.2020.111271

75 Lu, M.; Chen, H.; Yuan, B.; Zhou, Y.; Min, L.; Xiao, Z.; Zhu, X.; Tu, C.; Zhang, X. Electrochemical Deposition of Nanostructured Hydroxyapatite Coating on Titanium with Enhanced Early Stage Osteogenic Activity and Osseointegration. *Int J Nanomedicine*. **2020**, *15*, 6605–6618, doi: 10.2147/IJN.S268372

76 Vallet-Regi, M.; Arcos Navarrete, D. Biological Apatites in Bone and Teeth. In *Nanoceramics in Clinical Use: From Materials to Applications*, 2nd ed.; Vallet-Regi, M., Arcos Navarrete, D., Eds.; Royal Society of Chemistry: London, UK, 2015; pp. 1–29.

[Polymers] Manuscript ID: polymers-1495635 - Submission Received

De la: Editorial Office (polymers@mdpi.com)

Către: valentina_grumezescu@yahoo.com

Cc: oana.fufa@gmail.com; grumezescu@yahoo.com; ecaterina.andronesco@upb.ro; negut.irina@inflpr.ro; ada_birca@yahoo.com; bianca.galateanu@bio.unibuc.ro; arianahudita@yahoo.com

Data: sâmbătă, 20 noiembrie 2021, 13:01 EET

Dear Dr. Grumezescu,

Thank you very much for uploading the following manuscript to the MDPI submission system. One of our editors will be in touch with you soon.

Journal name: Polymers

Manuscript ID: polymers-1495635

Type of manuscript: Article

Title: Bioactive coatings loaded with osteogenic protein for metallic implants

Authors: Oana Gherasim, Alexandru Mihai Grumezescu, Valentina Grumezescu *,

Ecaterina Andronesco, Irina Negut, Alexandra Cătălina Bîrcă, Bianca

Gălăţeanu, Ariana Hudîţă

Received: 20 November 2021

E-mails: oana.fufa@gmail.com, grumezescu@yahoo.com,

valentina_grumezescu@yahoo.com, ecaterina.andronesco@upb.ro,

negut.irina@inflpr.ro, ada_birca@yahoo.com, bianca.galateanu@bio.unibuc.ro,

arianahudita@yahoo.com

Submitted to section: Biomacromolecules, Biobased and Biodegradable Polymers,

https://www.mdpi.com/journal/polymers/sections/Biomacromol_Biobased_Biodegradable_Polymers

Biopolymers for Biomedical Applications II

https://www.mdpi.com/journal/polymers/special_issues/biopoly_biomed_appl_II

You can follow progress of your manuscript at the following link (login required):

https://susy.mdpi.com/user/manuscripts/review_info/f69832d279e2c4810307d27090768d8a

The following points were confirmed during submission:

1. Polymers is an open access journal with publishing fees of 2200 CHF for an accepted paper (see <https://www.mdpi.com/about/apc/> for details). This manuscript, if accepted, will be published under an open access Creative Commons CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), and I agree to pay the Article Processing Charges as described on the journal webpage (<https://www.mdpi.com/journal/polymers/apc>). See <https://www.mdpi.com/about/openaccess> for more information about open access publishing.

Please note that you may be entitled to a discount if you have previously received a discount code or if your institute is participating in the MDPI Institutional Open Access Program (IOAP), for more information see <https://www.mdpi.com/about/ioap>. If you have been granted any other special discounts for your submission, please contact the Polymers editorial office.

2. I understand that:

a. If previously published material is reproduced in my manuscript, I will provide proof that I have obtained the necessary copyright permission. (Please refer to the Rights & Permissions website:

<https://www.mdpi.com/authors/rights>).

b. My manuscript is submitted on the understanding that it has not been published in or submitted to another peer-reviewed journal. Exceptions to this rule are papers containing material disclosed at conferences. I confirm that I will inform the journal editorial office if this is the case for my manuscript. I confirm that all authors are familiar with and agree with submission of the contents of the manuscript. The journal editorial office reserves the right to contact all authors to confirm this in case of doubt. I will provide email addresses for all authors and an institutional e-mail address for at least one of the co-authors, and specify the name, address and e-mail for invoicing purposes.

If you have any questions, please do not hesitate to contact the Polymers editorial office at polymers@mdpi.com

Kind regards,

Polymers Editorial Office
St. Alban-Anlage 66, 4052 Basel, Switzerland
E-Mail: polymers@mdpi.com
Tel. +41 61 683 77 34
Fax: +41 61 302 89 18

 ** This is an automatically generated email ***