

**UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE  
ASACHI" DIN IAȘI**



**REZUMAT - Teza de doctorat:**

**CERCETĂRI PRIVIND ELIBERAREA UNUI MEDICAMENT DINTR-UN HIDROGEL DE  
PE O STRUCTURĂ TEXTILĂ ÎNTR-O TERAPIE CUTANATĂ**

**Conducător de doctorat :  
Cezar Doru Radu**

**Doctorand:  
Laura – Lu Cuturicu**

IAȘI, 2024

UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI  
RECTORATUL

Către

---

---

Vă facem cunoscut că, în ziua de **22 mai 2024** la ora **10.00** în **Sala de Consiliu a Facultății DIMA, Tex1 1, Parter**, va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat intitulată:

***"Cercetări privind eliberarea unui medicament dintr-un hidrogel de pe o structură textilă într-o terapie cutanată"***

elaborate de doamna ing. **CUTURICU LAURA LU** în vederea conferirii titlului științific de doctor.

Comisia de doctorat este alcătuită din:

- |  |                        |
|--|------------------------|
| 1. Prof.univ.dr.ing.hab. <b>Blaga Mirela</b><br>Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași                     | președinte             |
| 2. Prof.univ.dr.ing. <b>RADU Cezar Doru</b><br>Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași                      | conducător de doctorat |
| 3. Prof.univ.dr.ing. <b>Pui Aurel</b><br>Universitatea "Alexandru Ioan Cuza" Iași                                    | referent oficial       |
| 4. Prof.dr.ing.hab. <b>Luca Cătălina Mihaela</b><br>Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa" din Iași | referent oficial       |
| 5. Prof.univ.emerit dr.ing. <b>Mureșan Augustin</b><br>Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași              | referent oficial       |

Cu această ocazie vă invităm să participați la susținerea publică a tezei de doctorat.

RECTOR,

Prof.dr.ing. Dan Cașcaval

Secretar universitate,

Ing. Naț Cristina



## Cuprins

	Introducere	6
	<b>PARTEA I – STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</b>	<b>7</b>
<b>Cap.1</b>	<b>Pielea</b>	7
1.1.	Structura și funcțiile pielii	7
1.2.	Plăgi arse. Patologie	8
1.3.	Topice și pansamente pentru tratarea plăgii cronice	11
<b>Cap. 2</b>	<b>Rifampicina</b>	16
2.1.	Aspecte biomedicale specifice	16
2.1.1.	Acțiune farmacodinamică	16
2.1.2.	Proprietăți farmacocinetice	16
2.1.3.	Doză terapeutică	16
2.1.4.	Structură chimică	16
2.2.	Alte considerații	17
<b>Cap.3.</b>	<b>Hidrogeluri</b>	18
3.1	Considerații generale	18
3.2.	Caracterizarea hidrogelurilor	21
3.2.1.	Organizare morfologică	21
3.2.2.	Caracterizări fizico – chimice	21
3.2.2.1.	Determinarea capacității de umflare	21
3.2.2.2.	Determinarea conținutului de umiditate	22
3.2.2.3.	Determinarea porozității și densității hidrogelurilor	22
3.2.2.4.	Determinarea fracției libere	23
3.2.2.5.	Profilul pierderii greutatei <i>in vitro</i>	23
3.2.2.6.	Determinarea gradului de reticulare	23
3.3.	Modelarea matematică a regimului de eliberare a medicamentului	23
3.4.	Cinetica și ecuația Korsmeyer-Peppas	24
3.5.	Considerații asupra proceselor de umflare și dizolvare	26
3.6.	Hidrogeluri din polimeri sintetici	27
3.6.1.	Derivați de polietilen glicol	27
3.6.2.	Derivați de acid acrilic	27
3.6.3.	Polimeri semisintetici	27
3.6.3.1.	Metacrilat de gelatină	27
3.6.3.2.	Hidroxi metil propil celuloza	28
3.6.3.3.	Ciclodextrine	28
3.7.	Hidrogeluri din polimeri naturali	29
3.7.1.	Acid hialuronic	29
3.7.2.	Alginatul	29
3.7.3.	Agaroza	30
3.7.4.	Gelatina	30
3.7.5.	Matrigel	31
3.7.6.	Celuloza	31
3.7.7.	Chitosanul	31

3.7.7.1.	Interacțiuni între chitosan și NaOH	33
3.8.	Aplicații ale hidrogelurilor	34
3.8.1.	Reeptielizarearea plăgii	35
3.8.2.	Capacitatea de sorbție a sărurilor metalice sub acțiunea chitosanului	35
	PARTEA A II-a CONTRIBUȚII PERSONALE	37
Cap. 4	<b>Justificarea temei de doctorat</b>	37
Cap. 5	<b>Considerații experimentale</b>	38
5.1.	Materiale	38
5.2.	Metode	38
5.2.1.	Protocol de preparare a hidrogelului de chitosan	38
5.2.2.	Determinarea gradului de umflare	39
5.2.3.	Determinarea porozității hidrogelului	39
5.2.4.	Determinarea cineticii de eliberare a Rif din hidrogel	39
5.2.5.	Determinări morfologice prin SEM	40
5.2.6.	Spectroscopie FTIR	40
5.2.7.	Analize termogravimetrice	40
5.2.8.	Teste antibacteriene	41
Cap.6	<b>Rezultate și discuții</b>	42
6.1.	Determinarea curbei de etalonare a Rif	42
6.2.	Caracterizarea hidrogelurilor	44
6.3.	Teste FTIR pentru hidrogeluri	46
6.4.	Determinarea NaOH inclus în hidrogel	48
6.5.	Eliberarea medicamentului din hidrogel	48
6.6.	Determinări morfologice	53
6.7.	Analize termogravimetrice	58
6.8.	Teste antibacteriene	68
6.9.	Dispozitive textile pentru fixarea hidrogelurilor	69
6.9.1.	Tehnologia obținerii unui tricot tubular destinat plăgilor	73
Cap.7.	<b>Concluzii</b>	74
Cap.8.	Referințe bibliografice	78
Cap.9.	Activitatea științifică în cadrul activității de doctorat	91

## Partea I-a. Stadiul actual al cunoașterii

### Capitolul 1. Pielea

#### 1.1. Structura și funcțiile pielii

Pielea este organul corpului cu o suprafață receptorie vastă comparativ cu alte organe, care face legătura între organism și mediul înconjurător. Are funcții multiple: de barieră, împiedicând accesul agenților patogeni în organism (bacterii, substanțe toxice, radiații), de organ de simț asigurând o sensibilitate diversă, de termoreglare, cu rol în procesele imunologice, participă la secretarea unor

produse finale ale metabolismului, execută funcțiile de respirație, conține rezerve energetice, are rol reparatoriu prin cicatrizare.

### 1.3. Topice și pansamente pentru tratamentul plăgilor cronice

Plăgile cronice manifestă o frecvență consistentă în patologia întâlnită în clinicile chirurgicale și medicale, iar vindecarea lor este majoritar incompletă, respectiv necesită mari resurse prin spitalizare îndelungată, numeroase intervenții chirurgicale și alocări de fonduri importante. Procesul reepitelizării plăgii cronice depinde decisiv de comorbidități (mai multe afecțiuni prezente simultan la aceeași persoană) sau dezechilibrele metabolice (diabet, insuficiență, de orice natură renală, hepatică, etc.) precum și de caracteristicile particulare ale fiecărui pacient [14, 15].

Noul dispozitiv potential recomandat terapiei plăgilor cronice folosește o structură textilă proiectată în cadrul acestei lucrări ca suport pentru hidrogelul care are acțiune terapeutică la interfața cu plaga. Dispozitivul textil este personalizat în ideea că urmărește dimensiunea membrului afectat de plagă sau a trunchiului pacientului fiind o mărime tehnologică de tricotare sau o modalitate de ansamblare a unei structuri țesute.

## Capitolul 2. Rifampicina

### 2.1. Aspecte biomedicale specifice

În situații clinice punctuale, plăgile cronice au o evoluție nefavorabilă terapeutic la administrarea antibioticelor comune. Prin urmare, datorită comportării specifice există posibilitatea ca antibioticele nespecifice plăgilor cutanate să fie administrate, pe baza experienței clinice a patologiilor infecțioase, așa cum este cazul Rifampicinei [30].

Se are în vedere folosirea Rifampicinei, antibiotic, ca agent antistafilococic, într-o aplicație topică pentru realizarea unor textile medicale.

#### 2.1.1. Acțiune farmacodinamică

Grupa farmacoterapeutică din care face parte Rif este a medicamentelor administrate în tratamentul tuberculozei, antibiotice având Cod ATC: J04A B02. Astfel, Rif este un chimioterapeutic antituberculos major, fiind un derivat semisintetic al rifamicinei B (antibiotic produs de *Streptomyces mediterranei*). Spectrul de acțiune cuprinde micobacterii, coci gram-pozitiv și gram-negativ, bacterii enterice, chlamidii și poxvirusuri.

#### 2.1.3. Doza terapeutică

Doza terapeutică utilizată în terapia curentă este 10 mg Rif / kg corp / 24 ore, timp de 10 zile, pentru infecții cutanate [30].

#### 2.1.4. Structură chimică

Rifampicina este derivatul 3-(4-metil-1-piperazinil) - minometil al rifamicinei SV[32]. În fig.9 este ilustrată structura chimică a rifampicinei.

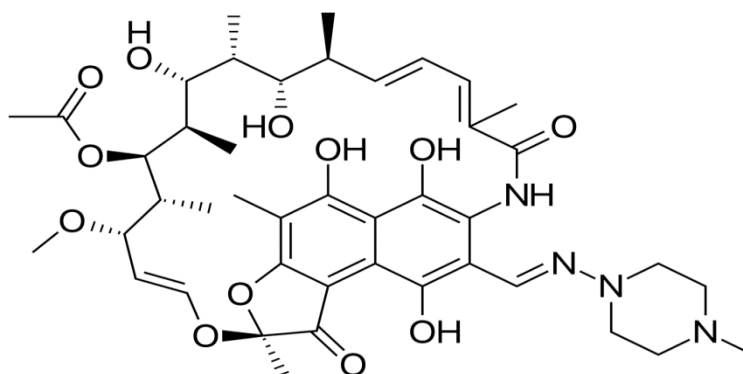


Figura 9. Structura chimică a Rifampicinei

Rifampicina este o polichetidă aparținând clasei compușilor denumiți ansamicine, denumită astfel datorită structurii lor heterociclice conținând un miez de naftochinonă întins de un lanț ansa alifatic. Cromoforul naftochinonic conferă rifampicinei o structură cristalină, cu o culoare specifică roșu-portocalie, cu activitate cromatică în domeniul vizibil.

## 2.2. Alte considerații

Pentru a preveni rezistența față de medicament, **Rif** este combinată frecvent cu alți agenți antimicrobieni [35]. În acest context, testele *in vitro* au arătat eficacitatea combinației tedizolid (antibiotic din clasa oxazolidinonei care inhibă sinteza proteinelor bacteriene și s-a dovedit a fi eficient în tratamentul anumitor infecții bacteriene Gram-pozitive la nivelul cutanat) și Rif [36], împotriva tulpinilor MRSA (Stafilococul Auriu Meticilino-Rezistent, care este, în mod obișnuit, o bacterie găsită pe suprafața corpului și care manifestă rezistență la anumite antibiotice).

## Capitolul 3. Hidrogeluri

### 3.1. Considerații generale

Hidrogelurile, deosebit de studiate în ultimele decenii, sunt macrostructuri tri-dimensionale cu o organizare poroasă și implicit deosebit de absorbantă, cu mare potențial de înglobare a apei și a unor principii active cum sunt și medicamentele. Ele manifestă o capacitate mare de înmagazinare a apei în structura hidrogelului atingând valori de ordinul miilor de procente. Această trăsătură caracteristică este datorată abilității legăturilor de hidrogen, care se stabilesc între grupele funcționale ale polimerului și moleculele de apă, fără autodizolvare, în condițiile conservării structurii intacte a hidrogelului [39].

Au o structură favorabilă organizării țesuturilor biologice fiind în mare majoritate materiale biocompatibile [38, 40, 41].

Cele două caracteristici, conținutul umidității și biocompatibilitatea, permit implantarea și dezvoltarea celulelor vii în rețeaua hidrogelului care poate fi formatată și structurată sub diferite geometrii [42, 43]. În fapt, conținutul mare de umiditate determină o bună biocompatibilitate [44].

Hidrogelurile sunt importante prin: capacitatea de umflare în mediul apos, biocompatibilitate, sensibilitate la pH și temperatură, dar și la alți stimuli și pot fi utilizați ca sisteme de eliberare cu o cinetică de ordin zero ( $C=C_0 - k \cdot t$ ;  $\lg \alpha = -k$ ), dacă difuzia medicamentului se suprapune cu viteza de transport a principiului activ către receptorii durerii, de exemplu.

### 3.2. Caracterizarea hidrogelurilor

Hidrogelurile sunt o clasă de substanțe macromoleculare cu organizare specifică și aplicații biomedicale [64], de aceea, caracterizarea lor este utilă prin prisma anticipării performanțelor aplicative.

#### 3.2.1. Organizarea morfologică

#### 3.2.2. Caracterizări fizico-chimice

##### 3.2.2.1. Determinarea capacității de umflare

##### 3.2.2.2. Determinarea conținutului de umiditate

##### 3.2.2.3. Determinarea porozității și densității hidrogelurilor

##### 3.2.2.4. Determinarea fracției libere

##### 3.3.2.5. Profilul pierderii greutatei *in vitro*

##### 3.3.2.6. Determinarea gradului de reticulare

### 3.3. Modelarea matematică a eliberării medicamentului

Pe baza experimentelor și a modelării matematice au fost stabilite mai multe modele cinetice de evaluare a regimului de eliberare a unui solvit (medicament) din interiorul hidrogelului.

**Cinetică de ordin zero:**

**Cinetică de ordinul unu:**

**Cinetică de tip Higuchi:**

### 3.4. Cinetica și ecuația Korsmeyer-Peppas

$$M_t/M_\infty = K_{KP} \cdot t^n \quad (11)$$

În ecuația 11, mărimile  $M_t$  și  $M_\infty$  sunt cantități cumulative la timpul  $t$  și la echilibru ;  $k$  este o constantă determinată de caracteristicile geometrice și structurale ale sistemului de eliberare; "n" este un indicativ important, care evaluează mecanismului eliberării medicamentului sau mai precis, reprezintă **indicele de eliberare a medicamentului**.

Funcție de valorile indicelui de eliberare a medicamentului,  $n$ , sunt semnalate următoarele situații:

Pentru un film subțire avem:  $n=0,5$ , care sugerează o difuzie conform legii Fick:

Pentru  $0,5 < n < 1,0$  eliberarea medicamentului înseamnă un mecanism de transport non Fick (atât difuzional cât și un transport datorat relaxării structurii polimerice).

Pentru  $n=1,0$  este cazul de difuzie II, difuzie printr-un mecanism de transport datorat relaxării polimerului, independent de timp, model de ordin zero.

Datele experimentale obținute la eliberare se figurează ca de exemplu pentru ec. Korsmeier-Peppas.

$M_t$  este cantitatea medicamentului eliberată la durata  $t$  (min),

$M_\infty$  este cantitatea de medicament eliberată la echilibru (24, 72 de ore).

Logaritmăm ec.11 și se obține:

$$\ln M_t - \ln M_\infty = \ln K_{KP} + n \ln t \quad (12)$$

Reșezăm termenii:

$$\ln(M_t / M_\infty) = n \ln t + \ln K_{KP} \quad (13)$$

În figura 10 este ilustrată reprezentarea grafică a ecuației Korsmeier-Peppas, unde indicele de eliberare al medicamentului,  $n$ , este calculat ca panta dreptei  $\ln M_t = n \ln t + \ln K_{KP} + \ln M_\infty$  din ecuația (15) față de orizontală.

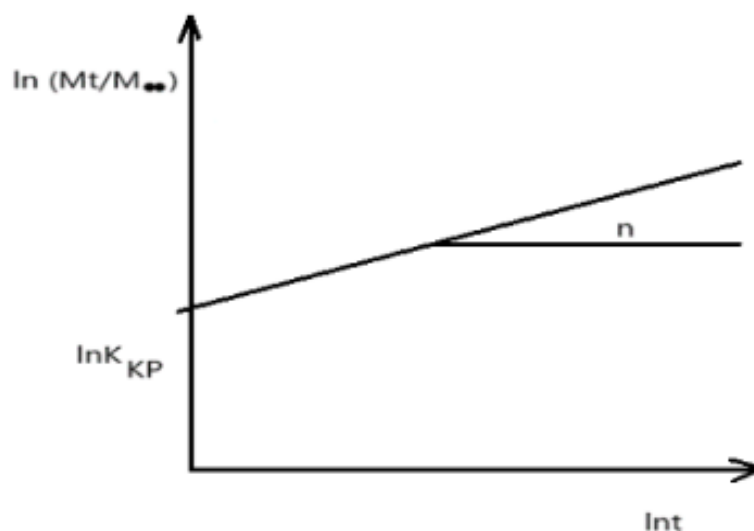


Figura 10. Reprezentarea grafică a ecuației Korsmeier-Peppas în acord cu ecuația (13)

### 3.7. Hidrogeluri din polimeri naturali

Dintre reprezentanți avem: acid hialuronic, alginat, agaroză, celuloză, gelatină, gelan, chitosan, etc.

**3.7.7. Chitosanul** este o polizaharidă liniară constând din beta-(1-4)-D-glucosamină și N-acetil-D-glucosamină fiind derivată parțial din deacetilarea chitinei cu greutatea moleculară de la 300-1000 Kda. Succint, CS este un biopolimer derivat din chitină, o substanță frecvent extrasă din crustacee, insecte și ciuperci. Acest polimer este format din unități de glucosamină și N-acetil glucosamină este cunoscut pentru proprietățile sale biocompatibile, biodegradabile și antibacteriene. Datorită acestor caracteristici, chitosanul a atras atenția în domenii precum medicina, industria alimentară și tehnologia materialelor.

Este un polimer cationic, care are o grupă amino și două grupe hidroxil la fiecare unitate glucozidică. Grupările OH participă la reacții de esterificare și eterificare. Grupele amino pot cuaterniza specific sau reacționează cu grupe aldehydice în condiții blânde prin aminare reductivă.

În condiții bazice, CS este insolubil în apă (aspect deficitar), dar poate fi dizolvat în acizi diluați la pH < 6 [145]. În fig.13 este ilustrată structura chimică a CS.

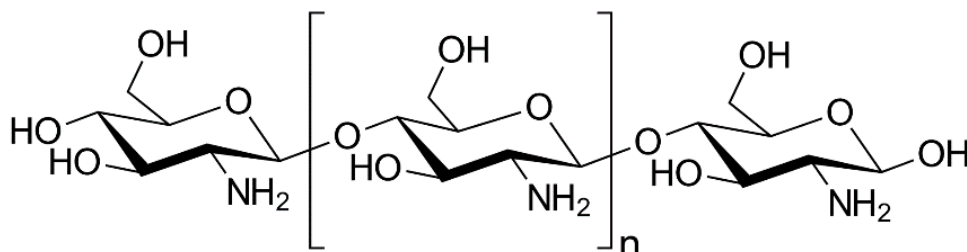


Fig.13. Structura chimică a chitosanului

Capacitatea de a forma hidrogeluri este determinată de valoarea pHului și se bazează pe capacitatea de a forma legături de hidrogen. CS poate fi complexat de polianioni datorită densității mari de sarcină când se obțin compozite reticulate tridimensionale [145, 146]. CS poate fi funcționalizat la grupele hidroxil sau amino. CS, ca amino polizaharid este, în principiu degradat, *in vivo*, prin hidroliza mediată enzimatic de către lizozimă [145]. În pofida avantajelor datorate: biocompatibilității, biodegradării, ușoara funcționalizare, formare complexelor în prezența polianionilor, dezavantajul major al aplicării chitosanului este urmarea problemelor de solubilitate [145, 146].

În termeni de activitate antimicrobiană evaluată *in vivo*, atât bacteriile aerobe și anaerobe se diferențiază sensibil față de acțiunea CS. Astfel CS cu diferite valori de masă moleculară influențează eficacitatea și mecanismele antimicrobiene. Studii comunicate recent au arătat ca CS cu masa moleculară mică are cea mai bună activitate antimicrobiană față de bacteriile aerobe [149]. Pe de altă parte, se cunoaște că grupele aminice încărcate pozitiv acționează distructiv la nivelul peretelui membranei celulare prin interacțiune electrostatică cu componentele încărcate negativ de pe suprafața celulară microbiană.

Din cauza dezideratului medical de a suprima dezvoltarea infecțiilor cauzate de infecții, predispus la preluarea genelor cu rezistență sau deja rezistente la antibiotice, am realizat teste cu hidrogel de CS care acționează ca un adjuvant al Rif fiind potrivit aplicării topice (creme, geluri) în plăgi infectate.

Combinarea Rif cu CS ar putea reduce doza antibioticului și astfel efectele adverse, în timp ce de asemenea este posibilă reducerea riscului de rezistență la antibiotic, extinderea domeniului activității antimicrobiene și facilitarea absorbției locale. Hidrogelurile de CS funcționalizate cu Rif pot fi astfel folosite în terapia de primă urgență a plăgilor infectate, astfel încât efectul de sinergie ale celor două structuri antimicrobiene poate preveni dispersarea infecției și promovarea vindecării. Scopul prezentei cercetări a fost determinarea comportării Rif ca o funcție a proprietăților fizico – chimice, difuzionale și antibacteriene ale hidrogelului de CS.

În acest context, după o serie de experimente efectuate pe derivați cheratinici și alți polimeri fibroși, am optat pentru obținerea experimentală a unui hidrogel din CS.

### 3.7.7.1. Interacțiuni între Chitosan și NaOH

În contextul acestei lucrări, diversele variante experimentale testate asupra hidrogelurilor alese cu rol de depozit temporar de Rif, respectiv de resursă și depozit difuzional pentru acoperirea perioadei de tratare a dermei traumatizate și a cantității de antibiotic necesare terapiei pentru o durată de 10 zile a unui pacient cu plagă cronică au condus către varianta optimă și anume cea de obținere a hidrogelului



de CS prin metoda cu NaOH. De aceea, se acordă o atenție particulară acestui subiect. Metoda de obținere a hidrogelului este semnificativ mai rapidă comparativ cu metodele testate în cadrul acestui program pentru obținerea unui hidrogel din cheratina extrasă din păr uman. Dar și din punctul de vedere al consumurilor de chimicale și a duratelor de procesare. În acest context, pentru pregătirea materiei prime cheratinice prin degresare cu un amestec de doi solvenți ( $\text{CH}_3\text{OH}+\text{CHCl}_3$ ) erau necesare durate mai mari de 12 ore, apoi urmează mărunțirea avansată folosind o moară specială și final procesarea chimică a cheratinei alte 12 ore. De aceea, metoda de obținere a hidrogelului din CS și NaOH a fost o soluție cu bună reproductibilitate, care după solubilizarea la cald a CS într-o soluție acidă (cu  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) adăugarea prin agitare a soluției de NaOH necesită durate de agitare de ordinul a câteva minute necesare obținerii hidrogelului.

În literatură sunt frecvente comunicări care menționează avantajele utilizării CS în aplicații medicale [155-158] cum sunt cele referitoare la absența toxicității, biodegradabilitate, biocompatibilitate și respectiv capacitatea de a fi regenerabil.

Pe de altă parte, există însă relativ puține comunicări privind evaluarea și caracterizarea interacțiunii dintre NaOH și CS [155, 159-161]. CS este solubil în soluții acide datorită grupărilor aminice, dar devine insolubil în apă la valori de pH mai mari. Una dintre interacțiunile semnificative ale CS are loc atunci când este expus la NaOH, care este o bază puternică. Când CS intră în contact cu NaOH, are loc o reacție de saponificare. Grupările amino prezente în structura CS reacționează cu ionii de hidroxid formați în soluția de NaOH. **Reacția determină tranziția stării CS ului, de la insolubil în apă, la solubil în soluții alcaline.** Această interacțiune este folosită în diverse aplicații. De exemplu, solubilitatea crescută a CS în soluții alcaline permite utilizarea sa în tehnologii de eliberare controlată a medicamentelor, precum și în procese de tratare a apei și producției de materiale biodegradabile. În plus, CS tratat cu NaOH poate suferi modificări chimice care îi măresc versatilitatea și utilitatea în diverse aplicații, cum ar fi producerea de filme comestibile, materiale medicale sau chiar în domeniul alimentar pentru îmbunătățirea proprietăților unor produse.

Interacțiunea CS cu soluții molare de NaOH determină saponificarea CS prin deacetilare cu repercusiuni de rearanjare a lanțurilor polimere prin paralelizare și ordonare respectiv prin favorizarea accesării legăturilor de hidrogen intercatenare. Prezența ionilor de sodiu,  $\text{Na}^+$ , cu volum ionic mic, în mediul de reacție, dispuși aleatoriu printre catenele CS induce atracția anionilor  $\text{HO}^-$  din apă care are, în ansamblu, un efect de umflare. Reacția determină tranziția stării CS, de la insolubil în apă, la solubil în soluții alcaline.

## PARTEA a II-a

### CONTRIBUȚII PERSONALE

#### Capitolul 4. Justificarea temei de doctorat

Obiectivul tezei de doctorat îl reprezintă ameliorarea problemelor clinice evidențiate la reepitelizarea (vindecarea) plăgilor cronice dificile aducând o contribuție legată de realizarea unui hidrogel care conține un antibiotic dozat pentru o terapie aseptică, într-un mediu umed creînd condiții favorabile terapeutice. Importanța temei rezidă și din folosirea unui antibiotic folosit clinic în terapia pacienților cu tuberculoză prin administrare orală, care în cadrul cercetării a fost direcționat către o aplicație topică destinată plăgilor cronice de diferite cauze (traumatisme mecanice, arsuri, etc). Integrarea antibioticului în hidrogel și a hidrogelului pe o plagă cronică se face prin intermediul unui dispozitiv textil. Aceste elemente legate între ele ca posibilitate de uzanță reprezintă cele trei dezvoltări ale lucrării.

Utilizarea neconvențională a Rifampicinei a fost o inițiativă care se bazează pe observații clinice fiind o soluție limită propusă în Clinica de Infecțioase a Spitalului Universitar "Sfântul Spiridon" din Iași. Obținerea hidrogelului este rodul unei evoluții experimentale de la obținerea hidrogelului din cheratină la obținerea unui hidrogel din CS, pe baza interacțiunii amino polizaharidului cu NaOH. Deși obținerea hidrogelului în urma interacțiunii cu NaOH este cunoscută

în literatură, totuși aria aplicabilității în terapii cutanate este sever restrânsă, dacă nu mai degrabă este unică.

Luînd în considerare și aspectul practic direct al unei aplicații topice în cadrul unei colectivități academice cu preocupări textile nu s-a abordat ideea proiectării unei vestimentații complicate pacientului, ci s-au propus structuri textile simple țesute și asamblate prin confecționare, sau tricotate sub formă tubulară cu diametru adaptat dimensional torsului, sau membrului afectat. Aceste structuri propuse au rolul de a fixa hidrogelul pe plagă oferind pacientului opțiunea deplasării în cadrul clinicii. Se preconizează și alte structuri textile pentru fixarea hidrogelului pe plagă sub formă de mânășă adaptată palmei sau ciorap adaptat dimensional tălpii sau gleznei pacientului. Obținerea acestei soluții de fixarea hidrogelului de CS cu Rif într-o structură fixată în jurul torsului sau membrului afectat sau oricare variantă textilă spre folosința terapeutică a pacientului cu o plagă deschisă este o realizare cel puțin la nivel conceptual.

Deși sunt numeroase posibilități de a obține un astfel de rezervor de medicament, în speță, matrici polimere, ciclodextrine, orientarea lucrării a fost încă de la început direcționată către realizarea unui hidrogel capabil să elibereze către țesutul afectat doza terapeutică de **Rif**. Este vorba de doza de 10 mg/kg corp/ 24 ore [30]. Pe de altă parte, CS și Rif sunt într-o potențare reciprocă ca acțiune anti inflamatorie în rezolvarea plăgilor cronice. Lucrarea a demonstrat practic și a făcut posibilă sinergia între acțiunea antibioticului și grupa funcțională aminică a CS, ca acțiune antimicrobiană.

## Capitolul 5. Considerații experimentale

### 5.1. Materiale:

### 5.2. Metode

#### 5.2.1. Protocol de preparare a hidrogelului de chitosan

- Pentru prepararea hidrogelului se folosește o soluție acidă de 2%  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (20 ml) în care se dizolvă o cantitate de CS (0,48 g) prin agitare magnetică (125 rpm) și încălzire ușoară (50°C) timp de aproximativ 2 ore. Apoi, la soluția de chitosan, s-au adăugat 20 ml soluție de NaOH (40 g/l), sub agitare la rece, timp de 30 min; S-a obținut hidrogel de chitosan (versiunea NaOH).
- Se cântăresc 0,48 g de CS și se dizolvă prin agitare magnetică (125 rpm) în 20 ml soluție 2% de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (v/v) caldă (50°C) timp de 3 ore. Apoi s-au adăugat 20 ml soluție de soluție salină tampon fosfat (PBS), pH=7,4, sub agitare la rece, timp de 6 ore; S-a obținut gel de chitosan (versiunea PBS).

Soluția salină tamponată cu fosfat (PBS, de la Phosphate Buffer Saline) este un tampon comun utilizat la pH = 7,4 pentru sistemele biologice. Soluția se găsește în flacoane preparate la diferite capacități (500, 1000 ml, etc.). Soluția PBS este concepută și adaptată presiunii osmotice și puterii ionice a fluidelor specifice corpului uman. Cel mai comun protocol pentru prepararea unei soluții de PBS este dizolvarea a 8,0 g NaCl, 0,20 g KCl, 1,44 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  și 0,240 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  la 1000 mL de apă.

Introducerea Rif (0,070 g) în hidrogel se face prin două procedee:

- în etapa de sinteză a hidrogelului când CS este amestecat prin agitare magnetică cu Rif (0,070g) sub formă de pulbere și NaOH soluție 40 g/l; respectiv cu PBS soluție în altă variantă;
- prin absorbția Rif dintr-o suspensie (preparată prin dispersarea a 0,7 g Rif în 50 mL apă dublu distilată) în care hidrogelul sintetizat anterior etapei de absorbție a antibioticului se pastrează la rece timp de 24 de ore.

Varianta experimentală studiată pe tot parcursul lucrării este obținerea hidrogelului din CS și NaOH cu introducerea antibioticului, fie în faza de sinteză a hidrogelului, fie prin absorbția Rif dintr-o dispersie post sinteză. Varianta de obținere a hidrogelului folosind PBS este doar o mențiune privind o altă posibilitate de obținere a hidrogelului. Obținerea hidrogelului folosind PBS s-a realizat practic, dar experimentele prezentate în lucrare au folosit exclusiv varianta cu NaOH.

#### 5.2.2. Determinarea gradului de umflare

Gradul de umflare se calculează prin formula (1):

$$\text{Grad umflare} = (\text{masa umedă} - \text{masa usc.}) \times 100 / \text{masa usc.} \quad (1)$$

### 5.2.3. Determinarea porozității hidrogelului

Formula porozității este:

$$\text{Porozitate} = (M_2 - M_1)\rho V \quad (3)$$

unde:  $M_1$  este masa hidrogelului uscat și  $M_2$  este masa hidrogelului după imersarea în alcool etilic (100%);  $\rho$  este densitatea etanolului absolut și  $V$  volumul hidrogelului determinat prin imersarea în hexan și apoi determinarea volumului prin diferență într-un cilindru gradat. Porozitatea, ca mărime fizică, este adimensională sau poate fi exprimată ca procent. În alte exprimări, porozitatea poate fie evaluată ca un solvit (în grame) dispersat într-o masă materială, exprimată în grame încât final porozitatea să aibă ca unități de măsură,  $g^2$ .

### 5.2.4. Determinarea cineticii de eliberare a Rif din hidrogel

Introducerea Rif în Hidrogel s-a făcut prin:

1 – sinteză, la obținerea hidrogelului din CS și NaOH (40 mg CS + 20 ml  $CH_3COOH$  (2%) + 10 ml sol. NaOH (1M) + 70 mg Rif);

2 – absorbția Rif dintr-o dispersie de Rif în apă bidistilată (700 mg Rif + 50 ml apă bidistilată) la o cantitate de 15 g hidrogel, timp de 24 h, la temperatura mediului ambiant, sub agitare magnetică 125 rot/min.

Medicamentul a fost eliberat prin acțiune difuzivă din probele de hidrogel cu Rif introduse în chit-ul de transpirație [82] la 37°C, la un raport de lichid de 1:50 (w/v).

Experimentele au fost organizate în două variante. Într-o variantă, hidrogelul a fost acoperit cu un material poros, o membrană PU (0,2 micrometri diametrului mediului al porilor) pentru limitarea burst – efectului, și în altă variantă, hidrogelul a fost liber, fără membrană.

Pentru experimentul cu membrană, hidrogelul cu Rif a fost depus pe o țesătură de bumbac 100%. Membrana a fost fixată peste hidrogel, și s-a fixat pe marginile țesăturii cu un sistem termorigid prin laminare (apăsare la 120°C, 5 secunde). S-a format un sandwich etanș (conține Rif în interiorul hidrogelului) care s-a introdus într-un pahar care conține soluția chit-ului de transpirație la 37°C, temperatura normală a corpului uman sau în alte experimente în apă bidistilată.

Pentru varianta fără membrană, hidrogelul cu Rif se introduce liber (fără membrană) în paharul cu soluție de chit-ul de transpirație sau apă bidistilată, în aceleași condiții ca cele din varianta precedentă.

Soluțiile probelor de hidrogel se mențin cu agitare magnetică la 37°C timp de 6 ore și se extrag probe de 1 ml soluție la diferite intervale de timp. Probele de soluție sunt fotocolorimetrice (la  $\lambda=475$  nm cu ajutorul unui spectrometru Camspec MR01 UV-VIS) și se obțin cantitățile de Rif,  $Mt_1$ ,  $Mt_2$ ,  $Mt_3$ , ....., iar proba extrasă la 72 de ore este considerată cantitatea de medicament eliberată la echilibru,  $M_\infty$ .

### 5.2.5. Determinări morfologice prin SEM

Pentru analiza morfologiei hidrogelurilor a fost utilizat un microscop electronic Bruker QUANTA 200 - 3D DUAL BEAM 179 EDS cu două sisteme (SEM și fascicul de ioni focalizat) Facultatea de Mecanică. Prin trimiterea unui fascicul de 180 de electroni pe probe, s-au obținut imagini cu grade de mărire diferite.

### 5.2.6. Spectroscopie FTIR

Spectrogramele FT-IR înregistrate pentru cazurile de CS, Rif și CS-Rif au fost obținute cu ajutorul unui spectrometru FT-IR Biorad FTS 575C, în domeniul situat între 4000  $cm^{-1}$  și 500  $cm^{-1}$ , efectuând 32 de scanări, pentru o rezoluție de referință de 4  $cm^{-1}$ . Procesarea spectrelor a fost realizată cu un soft Horizon MB™ FT-IR.

### 5.2.7. Analize termogravimetrice

Testele sunt determinate folosind balanța model STA 449F1 Jupiter (Netzsch–Germania). Balanța cu performanțe termogravimetrice este calibrată la temperatura de 700 °C pentru o sensibilitate

acceptabilă, cu metale standard (In, Sn, Bi, Zn și Al) de la temperatura de 25 °C. S-a folosit azot, drept gaz circulant, dezvoltând un flux de 50 ml / min și curățire protectoare cu azot (de puritate de 99,1 %) pentru termobalanță cu debitul de 20 ml / min. Probele sunt încălzite într-un creuzet de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> deschis și folosind, de asemenea, drept material de referință, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Stocarea și prelucrarea datelor este realizată cu softul G60 Proteus®.

### 5.2.8 Teste antibacteriene

Pentru evaluarea *in vitro* a activității antimicrobiene este utilizată procedura difuzimetrică Kirby-Bauer, adaptată pentru testarea hidrogelurilor. Metoda este standardizată pentru testarea susceptibilității bacteriene la diferite antibiotice [189].

Potențialul antimicrobian al hidrogelurilor de chitosan încărcate cu Rif a fost testat față de:

- patru tulpini bacteriene Gram-pozitive: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus rezistent la meticilină* ATCC 33591, *Staphylococcus aureus rezistent la meticilină* ATCC 43300, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615
- două tulpini bacteriene Gram-negative: *Escherichia coli* ATCC 25922 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

În practica testării convenționale, ATCC (American Type Culture Collection) acestea sunt utilizate ca tulpini bacteriene de referință.

Probele de hidrogel (CS+NaOH) Rif și (CS+NaOH+Rif) și hidrogel (CS+NaOH) au fost cântărite (7 mg) și modelate sub formă de disc cu diametrul de 6 mm, similar discului cu antibiotic (Gentamicină 30 μg) folosit ca martor pozitiv.

Toate probele sunt amplasate pe suprafața mediului și plăcile astfel preparate sunt incubate la 37°C. După 24 de ore, activitatea antimicrobiană a probelor prezentate este evaluată prin măsurarea diametrelor zonelor de inhibare microbiană. Probele sunt testate în trei exemplare.

Activitatea antimicrobiană a fost evaluată prin compararea diametrelor medii de inhibiție determinate în mai multe teste:

- Efectul antimicrobian al hidrogelului din chitosan (CS+NaOH), hidrogelului (CS+NaOH)Rif și (CS+NaOH+Rif) și Rif(30 μg) față de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 (1);
- Efectul antimicrobian al hidrogelului din chitosan (CS+NaOH), hidrogelului (CS+NaOH)Rif și (CS+NaOH+Rif) și Rif(30 μg) față de *Escherichia coli* ATCC 25922 (2);
- Efectul antimicrobian al hidrogelului din chitosan (CS+NaOH), hidrogelului (CS+NaOH)Rif și (CS+NaOH+Rif) și Rif(30 μg) față de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (3);
- Efectul antimicrobian al hidrogelului din chitosan (CS+NaOH), hidrogelului (CS+NaOH)Rif și (CS+NaOH+Rif) și Rif(30 μg) față de *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* ATCC 33591(4),
- Efectul antimicrobian al hidrogelului din chitosan (CS+NaOH), hidrogelului (CS+NaOH)Rif și (CS+NaOH+Rif) și Rif(30 μg) față de *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (5),
- Efectul antimicrobian al hidrogelului din chitosan (CS+NaOH), hidrogelului (CS+NaOH)Rif și (CS+NaOH+Rif) și Rif(30 μg) față de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (6)

## Capitolul 6. Rezultate si discuții

### 6.1. Determinarea curbei de etalonare a Rif

Rif este o polichetidă aparținând clasei chimice a compușilor denumiți ansamicine, denumită astfel datorită structurii lor heterociclice conținând un miez de naftochinonă întins de un lanț ansa alifatic. Rif având o structură cristalină posedă un cromofor naftochinonic, acesta îi conferă antibioticului o culoare specifică, roșu-portocalie.

Pentru evitarea eventualei toxicități a solventului, în eventualitatea unei aplicații farmaceutice, pentru determinarea curbei de etalonare s-a dispersat Rif în apă bidistilată și am obținut

o suspensie pe care am fotocolorimetrat-o în domeniul vizibil, la lungimea de undă  $\lambda=475$  nm folosind un spectrometru Camspec M501 UV-VIS. În fapt, s-a ales această lungime de undă după scanarea întregului spectru vizibil de la 380 la 790 nm, alegând porțiunea de absorbție maximă. Pentru dozări ale medicamentului prin fotocolorimetrare s-a trasat curba de etalonare.

S-au dispersat 0,25 g Rifampicină într-un flacon cotat de 100 ml de chit de transpirație, la rece, prin agitare mecanică la 250 rotații/min. Ulterior, în flacoane cotate de 50 ml s-au adăugat 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 și 8 ml de Rifampicină preluați din soluția de 2,5 mg Rifampicină/ml care s-au fotocolorimetrat la  $\lambda = 475$  nm. În fig.16 este ilustrată curba de etalonare obținută.

În mod obișnuit, curba de etalonare a unui produs solubil într-un mediu lichid este o dreaptă care intersectează ordonata și abscisa prin zero. Utilizarea chitului de transpirație modelează comportarea cinetică a medicamentului în condiții apropiate de situația reală de la nivel cutanat. Din acest motiv determinările cinetice prezentate s-au efectuat în chitul de transpirație folosind datele de eliberare prelucrate prin intermediul curbei de etalonare din figura 16.

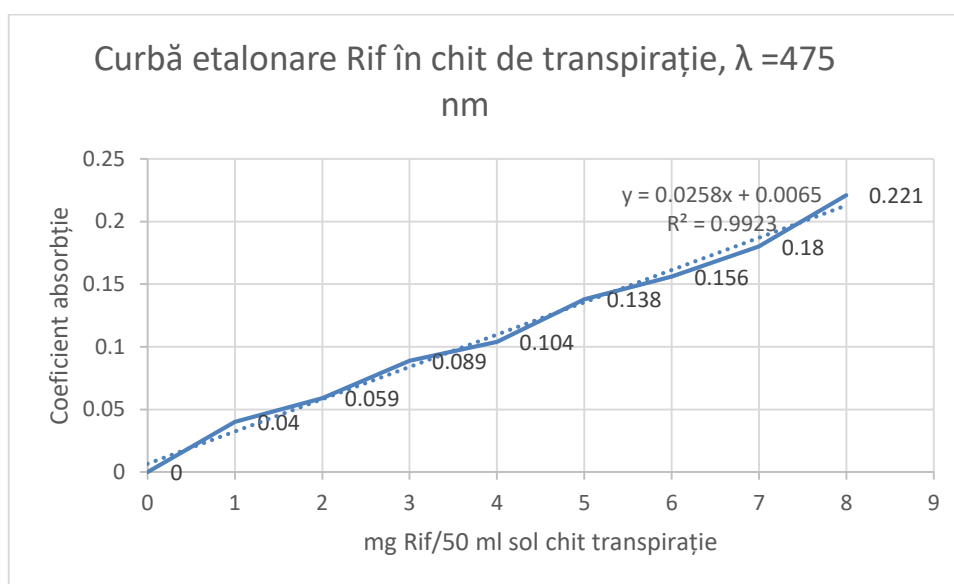


Figura 16. Curba de etalonare a Rifampicinei în chit de transpirație, fotocolorimetrare la  $\lambda = 475$  nm

## 6.2. Caracteristicile hidrogelului

În tabelul 2 sunt ilustrate valorile **gradului de umflare** obținute pentru trei probe de hidrogel calculate cu formula (1).

**Tabelul 2.** Valorile gradului de umflare și ale porozității hidrogelului din CS și NaOH

Nr.	Masa umedă (g)	Masa uscată (g)	Grad umflare (%)	Media (%)
1	10.3039	0.4110	2406	2659.6
2	9.8605	0.3282	2904	
3	8.3617	0.3282	2669	
Nr.	Porozitate calculată cu formula (3)	Media porozității	Porozitatea (%) în funcție de masa uscată	Media (%)
1	0.052	0.073	7.57	9.46
2	0.106		11.35	
3	0.062		9.46	

Din valorile prezentate în tabelul 2 rezultă că gradul mediu de umflare este de 2659 %, care este în acord cu valorile de umflare curente ale altor hidrogeluri, iar valorile porozității sunt în mai mici decât cele comunicate pentru hidrogelul din cheratină (20.8%) determinate prin tehnica ESEM [190].

Gradul de umflare obținut este în medie de 2659 % caracterizând materialele tipic poroase cu o capacitate mare în absorbție a unui lichid cu proprietăți diferite (grad de umflare) față de un solid omogen. În general, hidrogelurile manifestă caracteristica de materiale tipic poroase. Porozitatea având o desfășurare de 9,46% arată accesibilitatea hidrogelului față de difuzia antibioticului din interior către interfața biologică afectată.

### 6.3. Teste FTIR

În figurile 17 sunt ilustrate graficele benzilor de absorbție FTIR pentru CS, Rif și hidrogel CS-Rif, în fig.18 pentru Rif, în fig.19 pentru CS și în fig.20 pentru hidrogelul CS - Rif.

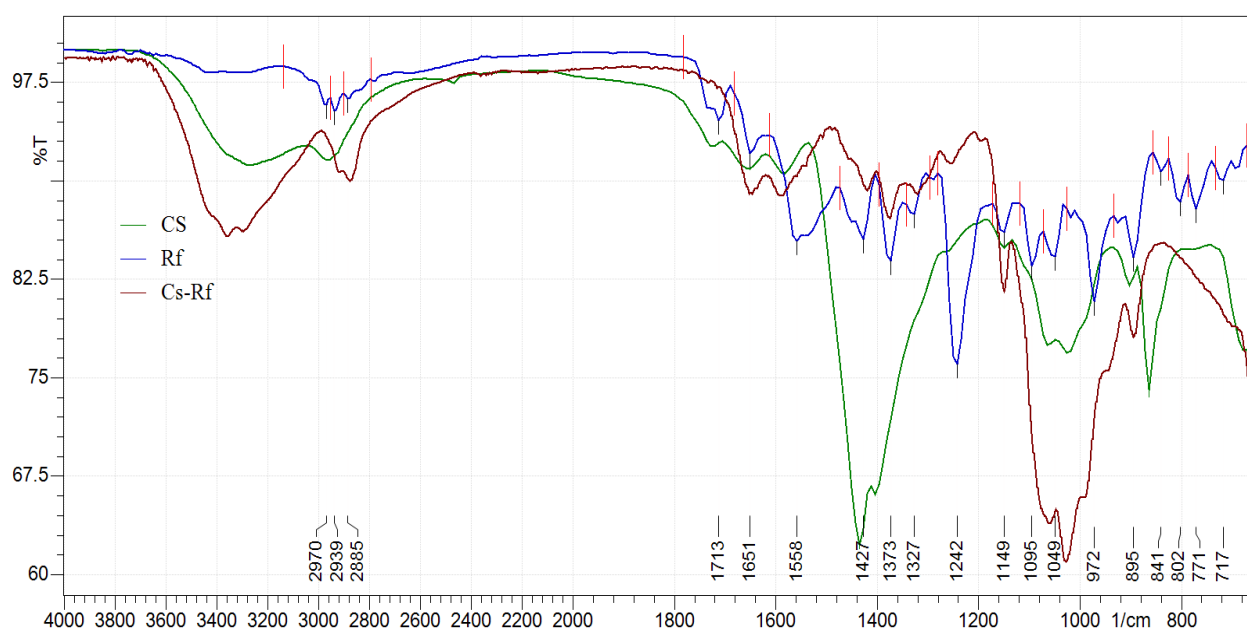


Figura 17. Spectrul FTIR al Chitosanului, Rifampicinei și hidrogelului CS – Rif

În spectrele IR ale hidrogelurilor CS-Rif se observă benzile caracteristice ale următoarelor grupe funcționale ale CS [192,193]:  $3296\text{ cm}^{-1}$  ( $-\text{NH}_2$ ),  $2920\text{ cm}^{-1}$  ( $-\text{OH}$ ),  $1420\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2$ ) și  $1028\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ). De asemenea, putem observa apariția unor noi benzi de absorbție specifice Rif datorită prezenței sale în matricea polimerică CS. Carbonilul ( $-\text{C}=\text{O}$ ) din gruparea ester a Rif este dovedit printr-o bandă de absorbție îngustă de intensitate medie la  $1647\text{ cm}^{-1}$ . De asemenea, putem observa prezența unei benzi de absorbție de intensitate medie la  $1589\text{ cm}^{-1}$  datorită vibrației de întindere antisimetrică a dublei legături cumulate ( $\text{C}=\text{C}$ ) din miezul de naftalină al Rif. Gruparea amidică este confirmată de apariția în spectrul IR a benzilor caracteristice pentru grupa  $-\text{NH}-$  la  $3364\text{ cm}^{-1}$ .

Formarea unui complex intermolecular între CS și Rif, ca urmare a interacțiunii electrostatice a grupărilor cationice  $\text{NH}_3^+$  ale CS cu cele anionice (cinci grupe hidroxil, ale punții anse și inelului naftol) ale Rif este dovedită de prezența benzii la  $1589\text{ cm}^{-1}$  [192,193].

### 6.4. Determinarea NaOH inclus în hidrogel

Cunoscând cantitatea inițială a NaOH respectiv 0,8 g NaOH conținută în 20 ml soluție 1M, s-a determinat prin diferență cantitatea de NaOH prezentă în hidrogel, care are o valoare de 0,78978 g. Aceasta reprezintă 5,6 % NaOH din masa hidrogelului.

### 6.5. Eliberarea medicamentului din hidrogel

În conformitate cu metoda de obținere a hidrogelului și includerea Rif în hidrogel, în lucrare s-au făcut următoarele notații.

(CS+NaOH)Rif PU – versiunea de pregătire prin amestecarea CS și NaOH cu formarea hidrogelului; urmează introducerea hidrogelului într-o suspensie de Rif și staționare 24 de ore pentru absorbția Rif în hidrogel; introducerea în exteriorul hidrogelului a unei folii din poliuretano PU, care are rol de încetini difuzia Rif din hidrogel către soluția chitului de transpirație pentru diminuarea burst effect-ului. Folia are pori cu diametrul de 0.2 microni.

(CS+NaOH) Rif – este versiunea identică cu cea anterioară cu deosebirea că nu are folie din PU pe suprafață și astfel difuzia medicamentului în soluția chitului de transpirație este liberă.

(CS+NaOH+Rif)PU – este versiunea de preparare a hidrogelului cu CS, NaOH la care se adaugă și Rif în procesul de sinteză a hidrogelului; în exterior se aplică folia PU pentru frânarea difuziei și diminuarea burst effect-ului.

(CS+NaOH+Rif) - este versiunea de preparare a hidrogelului cu CS, NaOH la care se adaugă și Rif în procesul de sinteză a hidrogelului; difuzia medicamentului este liberă, fără membrana PU.

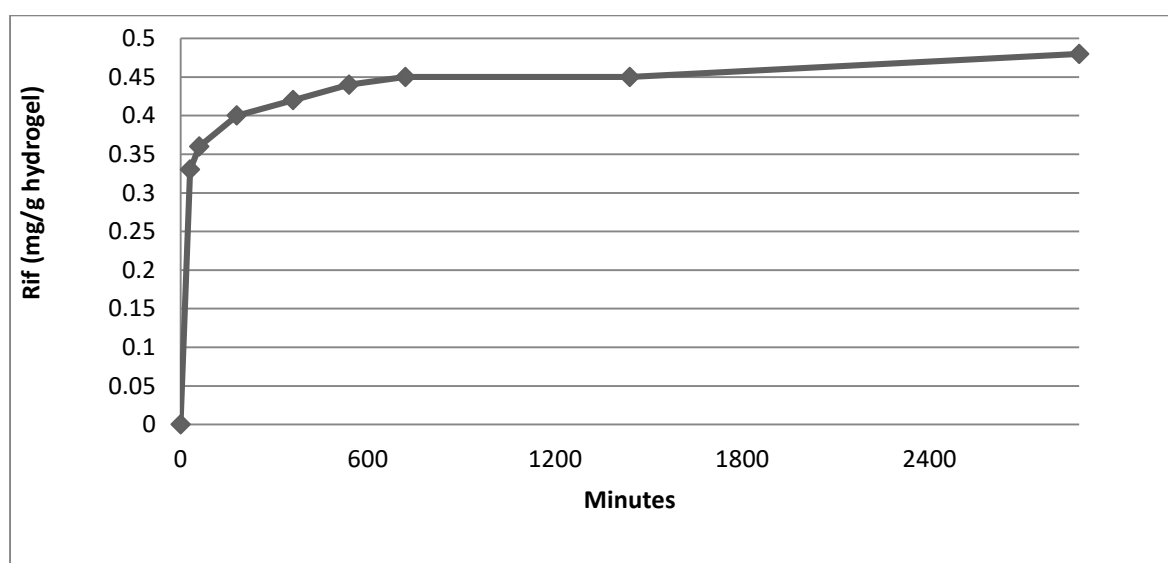


Figura 22. Cinetica de eliberare a Rif din hidrogel (CS+NaOH) Rif PU

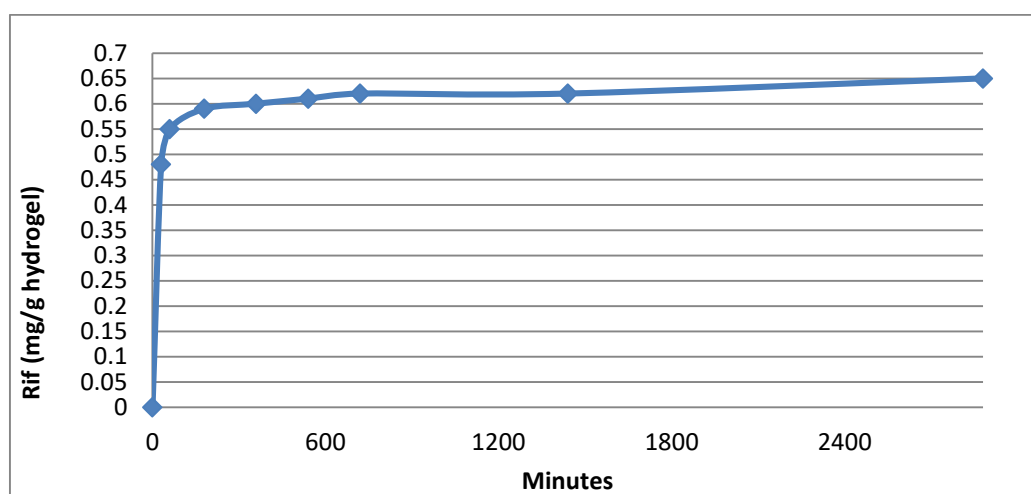


Figura 23. Cinetica de eliberare a Rif din hidrogel (CS+NaOH) Rif

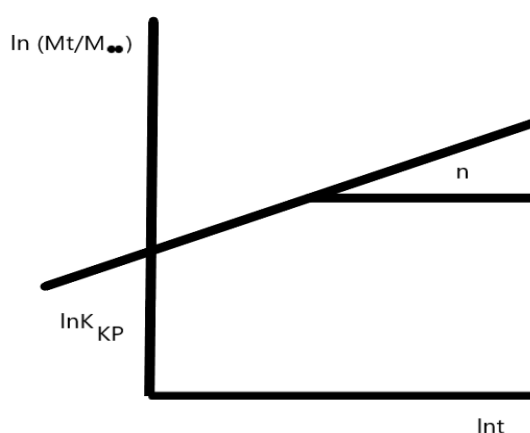
Eliberarea medicamentului dintr-un hidrogel într-un mediu specific se modelează cu ecuația Korsmeier-Peppas [84,194,195]:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_{KP} \cdot t^n \quad (11)$$

Unde:  $M_t$  și  $M_\infty$  sunt cantități cumulative la timpul  $t$ , respectiv la echilibru ( $\infty$ );  $k$  este o constantă legată de aspecte structural geometrice și "n" este indicele de eliberare a medicamentului. Această valoare numerică oferă informații privind tipul difuziei din hidrogel către interfața biologică. Astfel, se logaritmează ecuația (11) și se ordonează termenii după cum urmează:

$$\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = n \cdot \ln t + \ln K_{KP} \quad (13)$$

Unde (12) devine ecuația unei drepte în care  $y = \ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right)$ , iar panta dreptei este  $n$ , iar  $x$  este  $\ln t$ . Termenul  $\ln K_{KP}$  este o constantă, care exprimă mărimea tăieturii dreptei. Se preiau din datele experimentale valorile  $M_{t1}$ ,  $M_{t2}$ , etc situate pe porțiunea dreaptă a curbei experimentale de determinare a cantității de Rif eliberate la duratele  $t_1$ ,  $t_2$ , etc și se trasează graficul  $\frac{M_t}{M_\infty} = f(t)$ . Apoi prin reprezentare grafică a termenului  $\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right)$  funcție de  $\ln t$  se obține o dreaptă echivalentă ecuației (12) a cărei pantă este indicele de eliberare  $n$ , așa cum este ilustrat în fig.26.



**Figura 26.** Determinarea grafică a indicelui de eliberare,  $n$ , a Rif prin intermediul relației (13) Korsmeyer Peppas (este identică cu fig.10 de la pag.25)

**Tabel 3.** Valori experimentale obținute în studiul cinetic de eliberare a Rif

Nr	Experiment	$M_{t1}$	$M_{t2}$	$M_\infty$	$t_1$	$t_2$	N
1	(CS+NaOH)Rif PU BE (71,7%)	0.33	0.36	0.46	30	60	0.76
2	(CS+NaOH) Rif BE (76,1%)	0.48	0.55	0.63	30	60	1.58
3	(CS+NaOH+Rif) PU BE (66,2 %)	0.32	0.35	0.483	30	60	1.05
4	(CS+NaOH+Rif) BE (57,7 %)	0.4	0.49	0.693	30	60	2.04

Prin BE se exprimă burst effect ul calculat ca masă de Rif eliberată la 30 minute față de masa de Rif eliberată la echilibru =  $(M_t / M_\infty)100$

Tabelul 3 compară valorile specifice ale cineticii de eliberare a antibioticelor conform experimentelor efectuate. Astfel, pentru experimentele 1 și 3 care utilizează membrana PU, cantitățile de medicament eliberate atât la timp intermediari, cât și la echilibru sunt mai mici decât la difuzia liberă fără utilizarea membranei. Aceasta înseamnă că membrana a încetinit difuzia.



Tabelul 4 prezintă date din literatura de specialitate [196] privind interpretarea difuzională a valorii exponentului de eliberare,  $n$  din ecuația Korsmeyer- Peppas (11). Din datele prezentate în tabelul 4 se observă la experimentele 1 și 3 valori ale indicelui de eliberare mai mici decât pentru experimentele fără membrană de PU respectiv experimentele 2 și 4. Aceasta indică o diminuare a valorii indicelui de eliberare pentru experimentele cu membrană. În acord cu valorile exponenților de eliberare pentru experimentul (CS+NaOH)Rif PU **este vorba de o difuzie considerată ca un transport anormal de medicament între hidrogel și mediul exterior.**

**Tabelul 4.** Interpretarea valorilor exponentului de eliberare din formula Korsmeyer-Peppas.

Nr. experim.	Valoare $n$	Mecanism de transport Rif	Viteza ca funcție de timp
1	0.5	Difuzie Fick	$t^{-0.5}$
2	$0.5 < n < 1.0$	Transport anormal	$t^{n-1}$
3	1.0	Transport cazul II	Eliberare de ordin zero
4	$n > 1$	Super transport cazul II	$t^{n-1}$

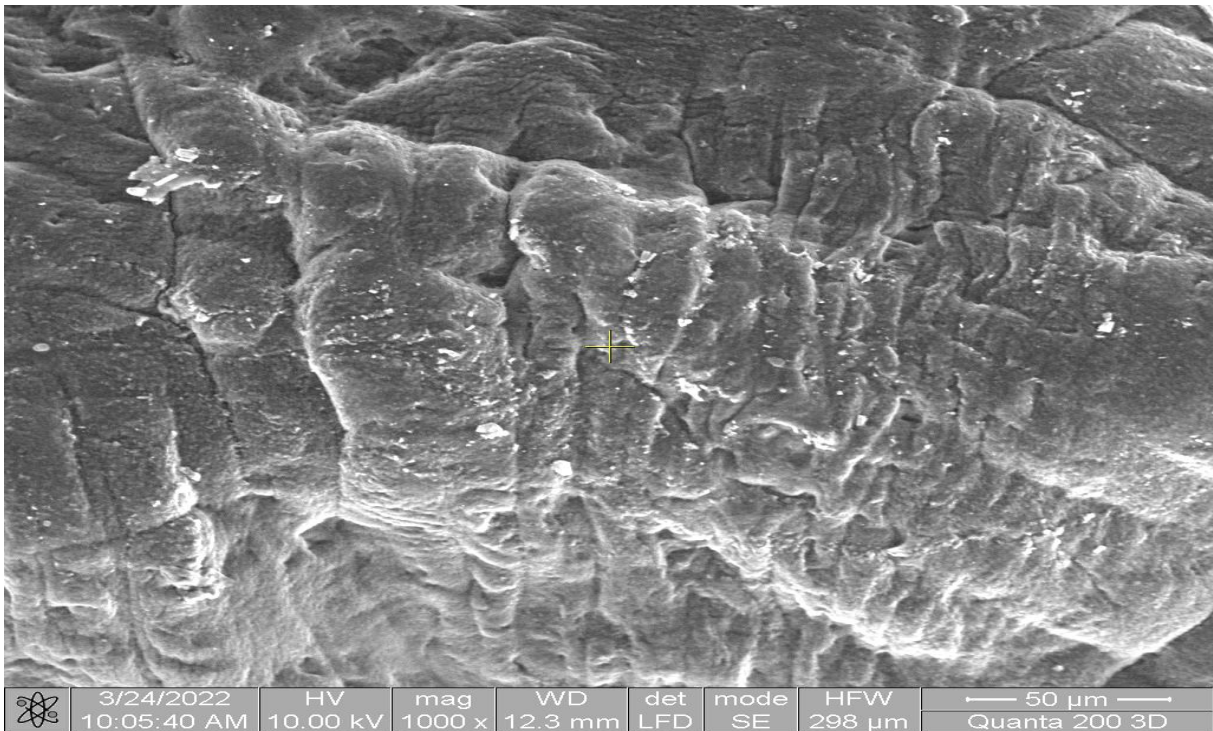
Pentru același experiment ca mod de organizare a hidrogelului dar în absența membranei exterioare se obține valoarea de 1.58 **care difuzional este un super transport de tipul II.** Pentru experimentul III și IV, care sunt (CS+NaOH+Rif) PU respectiv (CS+NaOH+Rif) valoarea exponentului de eliberare indică, de asemenea, **un super transport cazul II.**

Există comunicări pentru care concluziile experimentelor *in vitro* devin suport teoretic privind anticiparea comportării *in vivo* [171, 172].

Eliberarea Rif din hidrogelul de CS obținut în prezența NaOH arată manifestări ale unei difuzii a medicamentului sub forma unui transport neperturbat de posibilele interacțiuni cu structuri morfologice ale hidrogelului, transport facilitat de porozitatea avansată specifică a materialului. Frecvența macroporilor este majoritară comparativ cu mezoporii și microporii prezenți de asemenea în morfologia hidrogelurilor.

## 6.6. Determinări morfologice

Imaginile de mai jos ilustrează microfotografiile care vizualizează aspectul suprafeței hidrogelului. Membrana PU joacă doar un rol în difuzie, nu intră în structura hidrogelului și nu apare în imaginile fotografice.

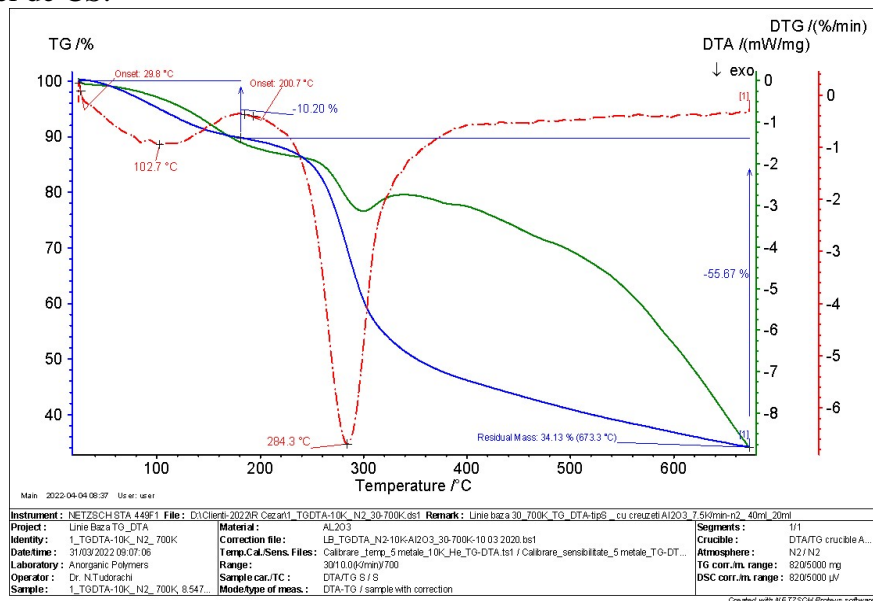


**Figura 31.** Microfotografia hidrogelului (CS+Rif+NaOH)

Din imaginea ilustrată în fig. 31 realizată la o magnitudine de x1000 se identifică aspecte morfologice de suprafață sub formă de formațiuni poroase, predominant macroporoase, specifice organizării hidrogelului.

## 6.7. Analize termogravimetrice

Curbele TG au fost realizate și înregistrate prin măsurarea pierderilor masice între 30°C și 660°C, efectuate cu o viteză de încălzire de 10°C.min<sup>-1</sup> în atmosferă de azot. Scopul acestor analize a fost identificarea stabilității termice a mostrelor de hidrogel examinat, evaluarea unor corelații cu testele FTIR și coroborarea cu alte teste efectuate. Figura 32 prezintă curbele TG, DTA și DTG pentru proba de hidrogel de CS.



**Figura 32.** Curbele TG, DTA și DTG pentru hidrogel de CS.

Din evaluarea curbelor TG, DTG și DTA pentru hidrogelul de CS ilustrat în **fig.32** le putem considera ca etalon în ideea că CS este substanța majoritară care conturează profilul general al manifestărilor legate de scăderea masei pe seama creșterii temperaturii modelate sub forma graficelor TG, DTG și DTA. La adăugarea celorlalți ingrediente în masa hidrogelului avem o contribuție de 90,2 % a CS, 5,6% a NaOH și de 4,2 % a antibioticului.

Curba TG din **fig.32** reprezintă scăderea masei hidrogelului cu avansarea temperaturii s-a obținut o dreaptă înclinată pînă la temperaturi de circa 120°C, care semnifică, în principal, vaporarea apei adsorbite. Hidrogelul este o entitate polimeră hidrofilă ca urmare a posibilității structurale a CS de stabilire a legăturilor de hidrogen cu apa, dar și a morfologiei poroase favorabile reținerii și transferului umidității. După care scăderea masei devine principialul proces evidențiat printr-o evoluție abruptă a curbei DTG avînd un minim situat în intervalul 200,7-284,3°C (**fig.32**). Practic în minimul curbei DTG au loc procese degradative prin decarboxilare cu eliberarea de H<sub>2</sub>O, C, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> sub formă gazoasă dar și a amoniacului prin scindarea grupei aminice din catena CS [207]. Intervalul de degradare maximă corespunde celei mai mari pierderi de masă atribuită degradării CS cînd se dezvoltă procese pirolitice și depolimerizări ale polizaharidului. După acest interval, viteza de modificare a masei scade pînă atinge o temperatură de circa 345°C cînd convexitatea curbei este schimbată, după care curba urmează un profil liniar al vitezei de desfășurare a proceselor degradative finale, care sunt depolimerizări, carbonizări, cînd final rezultă un reziduu solid. Aceasta o putem considera ca o caracteristică generală a modificării CS odată cu creșterea nivelului termic la care este solicitat. Din punctul de vedere al transformării energetice cu eliberare sau absorbție de căldură curba DTA din (**fig.32**) evaluată în miliwați/miligram hidrogel CS arată o scădere a vitezei de modificare calorică cu un minim la 299°C care practic **este un pic exoterm**, deci un proces cu degajare de căldură prin efect pirolitic, care semnifică o schimbare de fază la nivelul polimerului [203-206]. După finalizarea picului exotermic curba DTA atinge nivelul de 680°C cu obținerea unui reziduu solid de 34,13% din masa inițială a hidrogelului. S-au evidențiat **două etape degradative** a căror detalii cantitative sunt ilustrate în tabelul 5 de la pagina 64.

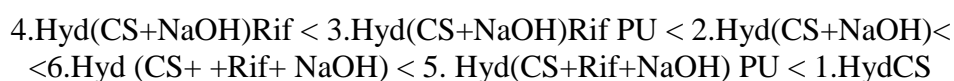
Tab. 5. Valori numerice privind comportamentul termogravimetric al hidrogelurilor din CS

Mostră	Vit. încălz. °C. min <sup>-1</sup>	Etapă degrad.	T <sub>init</sub> °C	T <sub>pic</sub> °C	W %	T <sub>20</sub> °C	T <sub>30</sub> °C
1.HydCS	10	I	30	103	10.20	266	284
		II	201	284	<b>55.6</b>		
		Reziduu			34.1		
2.Hyd(CS+NaOH)	10	I	26	146	12.6	261	275
		II	249	276	<b>37.5</b>		
		III	400	451	16.0		
		Reziduu			33.6		
3.Hyd(CS+NaOH)Rif PU	10	I	33	155	8.16	253	270
		II	232	265	<b>53.2</b>		
		Reziduu			38.8		
4. Hyd(CS+NaOH)Rif	10	I	35	128	8.5	252	269
		II	224	266	<b>51.4</b>		
		Reziduu			40.0		
5. Hyd(CS+Rif+NaOH) PU	10	I	29	-	5.45	269	283
		II	245	272	<b>39.3</b>		
		III	346	353	3.50		
		IV	491	499	7.20		

	V	540	548	5.00		
	Reziduu			39.3		
6.Hyd(CS+Rif+NaOH)	10	I	33	-	16.2	263 280
		II	248	273	45.5	
		Reziduu			38.4	

$T_{init}$  – temperatura la care începe degradarea termică;  $T_{pic}$  – temperatura la care viteza degradării este maximă.  $T_{20, 30}$  – temperaturi corespunzătoare pierderilor de masă de 20% și 30 %;  $W$  – pierderi de masă și reziduu în procente. Valorile din tabel marcate cu albastru reprezintă etapa degradativă cu valoare numerică maximă.

Analizând stabilitatea termică a probelor prin atribuirea temperaturilor la care s-au înregistrat pierderile de masă de 20% și 30% (Tabelul 5), se consideră că stabilitatea termică crește în următoarea ordine:



Testele gravimetrice efectuate pentru probele analizate se manifestă ca o comportare individuală fiind o amprentă a interacțiunilor care se manifestă în cadrul hidrogelului între cele trei componente: CS, NaOH și Rif. Complexitatea sistemului evaluat este datorată în principal, moleculei Rif care are o structură complexă atașată la un nucleu naftochinonic, cu grupe carboxilice, hidroxilice și iminice. Răspunsul hidrogelului la avansarea temperaturii și modul de manifestare a fiecărei componente cu creșterea nivelului termic generează un surplus de informații privind înțelegerea manifestărilor structurale la nivel biologic. Cea mai bună stabilitate termică o manifestă hidrogelul de CS. Imediat după această comportare, o stabilitate bună o manifestă hidrogelurile cu componentele CS, Rif și NaOH împreună, comportare care confirmă valabilitatea criteriilor de analiză a probelor evaluate.

## 6.8. Teste antibacteriene

Potențialul antimicrobian al celor două prototipuri de hidrogel de chitosan + rifampicină și controalele de hidrogel de chitosan și rifampicină a fost testat față de șase tulpini bacteriene de referință cunoscute pentru patogenitatea și efectele lor asupra sănătății umane și animale.

Conform testelor efectuate, s-a constatat că toate probele de hidrogel au activitate antimicrobiană împotriva tuturor culturilor bacteriene testate: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* ATCC 33591, *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Amploarea efectului inhibitor a fost influențată semnificativ de compoziția prototipului de hidrogel ((CS +NaOH) Rif și (CS + NaOH + Rif)) și de tulpina bacteriană împotriva căreia a fost efectuat testul (Fig. 39). Rezultatele valorice obținute sunt afișate în tabelul 6.

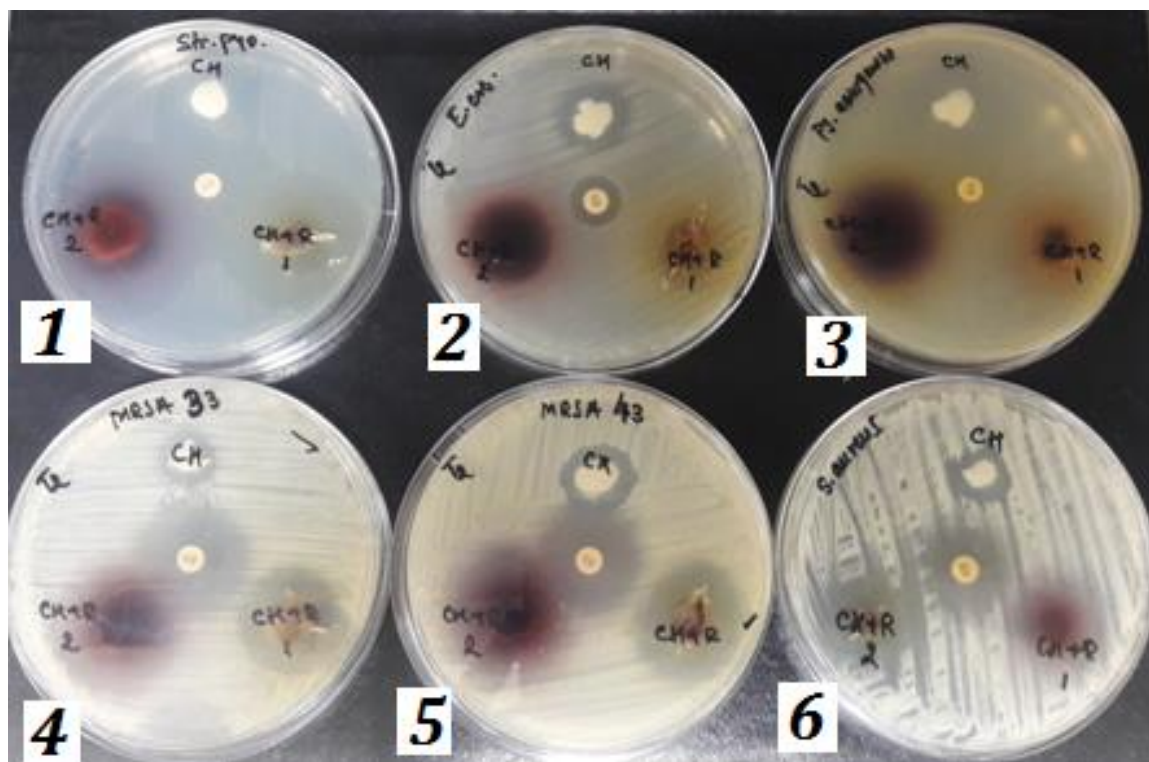


Figura 39. Efectul antimicrobian al hidrogelului din chitosan (CS+NaOH), hidrogelului (CS+NaOH)Rif și (CS+NaOH+Rif) și Rif(30 μg) împotriva *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 (1); *Escherichia coli* ATCC 25922 (2); *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (3); *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* ATCC 33591(4), *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (5), *aureus* ATCC 25923 (6).

Tabelul 6. Valorile zonelor medii de inhibiție (mm) pentru probele investigate

Mostre tip 6 mm	Bacterii gram pozitive			Bacterii gram negative		
	<b>Staphylo coccus aureus ATCC 25923</b>	<b>MRSA ATCC 33591</b>	<b>MRSA ATCC 43300</b>	<b>Streptococcus pyogenes ATCC 19615</b>	<b>Escherichia coli ATCC 25922</b>	<b>Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027</b>
	$\bar{X}$ /SE mm	$\bar{X}$ /SE mm	$\bar{X}$ /SE mm	$\bar{X}$ /SE mm	$\bar{X}$ /SE mm	$\bar{X}$ /SE mm

(CS+NaOH)	10,66±0,33	10,76±0,39	16,33±0,33	24,33±0,33	13±1,0	6*
(CS+NaOH) Rif	20,36±0,31	24,16±0,16	26,9±0,49	35,4±0,30	10±0,11	10,5±0,28
(CS+Rif+NaOH)	26,33±0,88	27,26±0,37	30±0,57	47,43±0,56	20,53±0,29	17,1±0,20
Rif (30 µg)	20	24	22	30	12	6*

<sup>x</sup>-fără activitate antimicrobiană;  $\bar{X}$ - Medie; SE<sub>x</sub>- Eroare standard;

Analiza datelor obținute a arătat că hidrogelul (CS + NaOH + Rif) a avut cea mai bună activitate antimicrobiană dintre toate prototipurile testate.

Aceste rezultate sunt în concordanță cu literatura de specialitate. Se știe că Rif este un agent antimicrobian cu spectru larg împotriva bacteriilor Gram-pozitive, cu eficacitate maximă împotriva micobacteriilor, dar nu are același efect antimicrobian împotriva bacteriilor Gram-negative [212]. Mecanismul antibacterian al Rif este inhibarea ARN polimerazei bacteriene, enzima responsabilă de transcripția ADN-ului [213].

Rif poate induce rapid rezistență antimicrobiană atunci când este administrată ca atare (în cazul monoterapiei). Combinarea acestui antibiotic cu alți agenți antimicrobieni poate reduce apariția mutațiilor genetice în subunitatea β a ARN polimerazei bacteriene (RNAP) [214] și poate fi chiar încorporată într-o matrice naturală cu proprietăți antibacteriene, precum CS.

Dintre bacteriile testate, *Pseudomonas aeruginosa* are cea mai mare capacitate de a dobândi rezistență multiplă la antibiotice (MDR) [215].

Analiza datelor obținute a arătat că *Pseudomonas aeruginosa* a devenit susceptibilă sub acțiunea prototipurilor de hidrogel (CS + NaOH) Rif; (10,5 ± 0,28 mm) și hidrogel (CS + Rif + NaOH) (17,1 ± 0,20 mm), având în vedere că atât Rif, cât și hidrogelul de CS nu au inhibat cultura. Aceste rezultate necesită investigații suplimentare pentru a explica sinergismul in vitro.

La toate celelalte specii bacteriene, același efect antimicrobian a fost observat datorită efectului sinergic al rifampicinei cu chitosanul. De o importanță deosebită este activitatea antibacteriană a acestor prototipuri de hidrogel împotriva tulpinilor de *Staphylococcus aureus* rezistente la metilina. MRSA este unul dintre cei mai importanți agenți patogeni nosocomiali rezistenți la antibiotice [216] și a fost asociat cu infecții ale plăgilor chirurgicale, pneumonie și sepsis [217].

Activitatea antimicrobiană a celor două prototipuri împotriva acestor microorganisme indică aplicabilitatea lor la infecțiile cutanate.

Având în vedere că Rif nu trebuie utilizată singură pentru terapia antimicrobiană [40], iar CS nu este toxic și are proprietăți antibacteriene bune, compusul lor obținut sub formă de hidrogel ar putea avea o aplicabilitate clinică importantă.

## 6.9. Dispozitive textile pentru fixarea hidrogelului

Plecând de la premisele că un pacient cu o plagă cronică trebuie să aibă mobilitate în clinică cel puțin din punctul de vedere al igienei personale, dar și pentru menținerea unui tonus normal s-a conceput un sistem textil țesut sau tricostat, pe care se aplică cu o spatulă hidrogelul sau prin fulardare pe suprafața activă a țesăturii sau tricostatului, după care se face o preuscare mențată a suportului textil cu un flux de aer la maxim 40°C timp de 15 minute. Obținerea ruloului în jurul trunchiului sau membrilor afectate se face personalizat cu copci aplicate prin confecționare. Nu se impun structuri speciale de țesere. În cazul unei plăgi cronice la nivelul pumnului sau a tălpii se folosește un dispozitiv tricostat sub formă de mănușă sau șosetă realizat din fir cu o compoziție fibroasă de 67 % Pes + 33% Bbc, cu finețea Nm =70/1. Anterior țeserii, firele suportă o etapă de fierbere alcalină, spălare fierbinte, spălare rece și albire cu apă oxigenată, spălare, uscare și apoi țesere, în condiții de procesare uzuale

(temperatură, concentrații și durate de tratare). Aceeași procedură urmează și firele destinate tricotării [218].

Cap. 6.9.1. **Tehnologia obținerii unui tricot tubular destinat plăgilor** (material creat și obținut prin bunăvoința prof. Blaga M)

### **Mașini circulare cu diametru mare**

Producerea tricoturilor cu structură interlock (Figura 42) s-a efectuat pe mașini circulare de tricotat cu diametru mare, cu 28 de sisteme, de finețe 18E, fiecare variantă fiind executată cu trei trepte de desime. Tricoturile rezultate au fost definite ca având o compactitate: *ridicată* (diviziune mașină =3.2), *medie* (diviziune mașină = 5.2) și *scăzută* (NP =7.2). Fiecare structură a fost realizată din diferite tipuri de fire cu cele trei valori ale adâncimii de buclare, rezultând o matrice experimentală cu un număr de 45 de mostre, care au fost ulterior supuse analizei.

### **Mașini circulare de tricotat cu diametru mic**

Au fost proiectate variante de tricoturi cu structură glat tubular (Figura 43) care au fost executate pe o mașină circulară de tricotat cu diametru mic, respectiv  $3\frac{3}{4}$  inch, cu un singur sistem, 240 ace, alimentare negativă și viteza de rotație a cilindrului cuprinsă între 0 și 450 r p m.

După tricotare, mostrele au fost lăsate la relaxat în stare uscată, iar apoi finisate prin spălarea cu o soluție de spălare, conform standardului SR EN ISO 6330:2012 “Materiale textile. Metode casnice de spălare și uscare pentru încercarea materialelor textile”. În urma tratamentului de finisare, au fost determinate valorile parametrilor structurali ai tricotului: desimea ochiurilor pe verticală (r/50mm), desimea ochiurilor pe orizontală (s/50mm), lungimea firului din ochi (mm), factorul de acoperire Kover (mm), grosimea tricotului (mm) și masa pe unitatea de suprafață (g/m<sup>2</sup>).

## **Capitolul 7. Concluzii**

Lucrarea “ Cercetari privind eliberarea unui medicament de pe o structură textilă într-o terapie cutanată” abordează obținerea și caracterizarea unui hidrogel din CS în prezența NaOH care include, depozitează și eliberează un antibiotic, care este Rif fiind folosit pentru reepitelizarea plăgilor cronice de orice cauză agresivă (traumatism prin împungere, forfecare, tăiere, ardere, acțiune chimică acută, iradiere, etc). În practica chirurgicală, rezolvarea plăgilor cronice poate cuprinde o paletă mare de manifestări clinice și procedee terapeutice uzuale. Folosirea preconizată în cadrul acestei lucrări a hidrogelului din chitosan cu intensificarea reepitelizării plăgii pe principiul deterției datorate conținutului de umiditate și acțiunii standard antibacteriene a Rif și respectiv a CS reprezintă o perspectivă. Utilizarea CS împreună cu Rif determină o sinergie antibacteriană datorată grupelor aminice ale chitosanului și potențialul antimicrobian al antibioticului. Noutatea este și includerea Rif într-o terapie la nivel cutanat, pentru că uzanța clinică a antibioticului este aceea pentru terapia tuberculoasă administrată oral și nu topic.

Din cauza dezideratului medical de a suprima dezvoltarea infecțiilor cauzate de infecții, predispus la preluarea germenilor cu rezistență sau deja rezistente la antibiotice, am realizat teste cu hidrogel de CS care acționează ca un adjuvant al Rif fiind potrivit aplicării topice (creme, geluri) în plăgi infectate. Combinarea Rif cu CS poate reduce doza antibioticului și respectiv efectele adverse, în timp ce este posibilă reducerea riscului de rezistență la antibiotic, extinderea domeniului activității antimicrobiene și facilitarea absorbției locale. Hidrogelele de CS functionalizate cu Rif pot fi astfel folosite în terapia de primă urgență a plăgilor infectate, astfel încât efectul de sinergie ale celor două structuri antimicrobiene poate preveni dispersarea infecției și promovarea vindecării. Scopul prezentei cercetari a fost determinarea comportării Rif ca o funcție a proprietăților fizico – chimice, difuzionale și antibacteriene în cadrul hidrogelului de CS.

Hidrogelul obținut din CS și NaOH este o premieră pentru o aplicație cutanată din cauza acțiunii caustice a NaOH rezolvabilă prin spălarea finală a hidrogelului pînă la o reacție neutră a apelor de spălare. Totuși utilizarea NaOH are avantajul obținerii reproductibile a hidrogelului și solubilizarea Rif în interiorul hidrogelului, care înseamnă o activare a acțiunii antibacteriene. Pe de altă parte, acțiunea caustică a însemnat depășirea probelelor de dozare a antibioticului din cauza insolubilității în apă a Rif. Reacția determină tranziția stării CS, de la insolubil în apă, la solubil în soluția alcalină obținută în cazul hidrogelului. Interacțiunea CS cu soluții molare de NaOH determină saponificarea CS prin deacetilare cu repercursiuni privind rearanjarea lanțurilor polimere prin paralelizare și ordonare respectiv prin favorizarea accesării legăturilor de hidrogen intercatenare. Prezența ionilor de sodiu,  $\text{Na}^+$ , cu volum ionic mic, în mediul de reacție, dispuși aleatoriu printre catenele CS induce ulterior atracția anionilor voluminoși de  $\text{HO}^-$  din apă care are, în ansamblu, un efect de umflare datorită volumului ionic majorat al acestora din urmă. Reacția determină tranziția stării CS, de la insolubil în apă, la solubil în soluții alcaline.

Prin investigații FTIR în domeniul lungimilor de undă cuprinse între 3500 și 1500  $\text{cm}^{-1}$  protonarea grupelor aminice ale CS este sugerată de două picuri atribuite grupelor aminice pozitive,  $\text{NH}_3^+$ . Atracția electrostatică între  $\text{NH}_3^+$  și anionul acetat (provenit din soluția de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  folosită pentru solubilizarea CS la cald) este interacțiunea principală responsabilă de solubilizarea CS. În filmele de CS-NaOH modificarea benzilor FTIR în domeniul 3500-1500  $\text{cm}^{-1}$  este datorată deprotonării grupului aminic ( $\text{NH}_3^+ = \text{NH}_2 + \text{H}^+$ ) cînd filmele de CS vin în contact cu soluția de NaOH. Această deprotonare reduce hidratarea învelișului exterior al grupelor aminice și permite formarea de noi legături de hidrogen între lanțurile de CS.

Pe ansamblu, NaOH produce deprotonarea CS și anihilarea grupelor  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ , care favorizează formarea de noi legături de hidrogen între catenele învecinate, dar și o deacetilare avansată a CS. S-a comunicat că diminuarea acetilării majorează interacțiunile hidrofobe între catenele de CS determinînd un efect de ranforsare la nivelul materialului polimeric

Hidrogelul, ca purtător de medicament stabil, poate depăși, în mare măsură constrîngerile sistemelor polimere, în ideea de a prelungi durata acțiunii medicamentului și de a evita administrarea repetată (specifică administrării orale).

Hidrogelul obținut are posibilitatea de a sprijini eliberarea de Rif pe suprafața plăgii. O variantă care merită atenție este obținerea hidrogelului cu Rif folosind o soluție de PBS, care necesită însă durate mari de procesare. Ca medicament, Rif este eficient local în aplicarea pe piele prin utilizarea unui hidrogel. Interacțiunea dintre NaOH și Rif nu afectează acțiunea antistafilococică a antibioticului, așa cum s-a menționat anterior. Sistemul de eliberare a medicamentului din hidrogel este un sistem complex de difuzie datorită faptului că anumite detalii structurale nu sunt deosebit de clare din punct de vedere științific.

În condițiile experimentale prezentate, hidrogelul CS determină în prezența Rif tendința de a forma un complex intermolecular la care participă ionic grupările de amoniu ale CS și grupările hidroxil negative ale Rif; deși a fost folosită o membrană PU pentru a încetini difuzia medicamentului din hidrogel în soluția exterioară, așa-numitul burst - effect nu este complet eliminat. Formarea complexului CS și Rif are o perspectivă terapeutică asupra aplicării topice a antibioticului în plăgile cronice severe.

Doza terapeutică utilizată în terapia curentă este 10 mg Rif / kg corp / 24 ore, timp de 10 zile, pentru infecții cutanate.



Rifampicina este o polichetidă aparținând clasei compușilor denumiți ansamicine, denumită astfel datorită structurii lor heterociclice conținând un miez de naftochinonă întins de un lanț ansa alifatic. Cromoforul naftochinonic conferă Rif o structură cristalină, cu o culoare specifică roșu-portocalie, cu activitate cromatică în domeniul vizibil. Posedă în structură 5 grupe hidroxilice, o grupă carboxilică și o alta iminică.

Interacțiunea CS cu soluții molare de NaOH determină saponificarea CS prin deacetilare cu repercursiuni de rearanjare a lanțurilor polimere prin paralelizare și ordonare respectiv prin favorizarea accesării legăturilor de hidrogen intercatenare. Prezența ionilor de sodiu,  $\text{Na}^+$ , cu volum ionic mic, în mediul de sinteză, dispuși aleatoriu printre catenele CS induce ulterior atracția anionilor  $\text{HO}^-$  din soluție, care are, în ansamblu, un efect de spațiere, umflare pentru a permite accesul grupelor OH voluminoase. Determinări analitice ale NaOH staționar în interiorul hidrogelului au arătat o pondere de 5,6%.

Introducerea Rif în hidrogel s-a realizat prin două procedee:

- în etapa de sinteză a hidrogelului când CS este amestecat prin agitare magnetică cu Rif sub formă de pulbere și NaOH soluție 40 g/l; respectiv cu PBS soluție în altă variantă;
- prin absorbția Rif dintr-o suspensie (preparată prin dispersarea a Rif în apă dublu distilată) în care hidrogelul sintetizat anterior etapei de absorbție a antibioticului se păstrează la rece timp de 24 de ore.

S-au determinat curbe de etalonare pentru Rif în metanol, apă bidistilată și chit de transpirație. Determinările fotocolorimetrice s-au determinat în domeniul roșu al spectrului vizibil, la lungimea de undă,  $\lambda=475$  nm. Rezultate reproductibile s-au obținut în chitul de transpirație pentru dispersia de Rif.

Gradul de umflare obținut este în medie de 2659 % caracterizând hidrogelurile, care sunt materialele tipic poroase, cu o capacitate mare înglobare a unui lichid cu proprietăți tipic diferite (grad de umflare) față de un solid izotrop. Porozitatea având o desfășurare de 9,46% arată accesibilitatea hidrogelului față de difuzia antibioticului din interior către interfața biologică afectată.

Formarea unui complex intermolecular între CS și Rif, ca urmare a interacțiunii electrostatice a grupărilor cationice  $\text{NH}_3^+$  ale CS cu cele anionice (cinci grupe hidroxil, ale punții ansa și inelului naftol) ale Rif este dovedită de prezența benzii FTIR de la  $1589\text{ cm}^{-1}$ .

Determinări ale cineticii de eliberare a Rif din hidrogel în chit de transpirație cu ajutorul formulei Korsmeyer-Peppas pentru determinarea indicelui de eliberare au caracterizat o difuzie considerată ca un transport anormal de medicament între hidrogel și mediul exterior, fie un super transport de tipul II. Eliberarea Rif din hidrogelul de CS obținut în prezența NaOH arată manifestări ale unei difuzii a medicamentului sub forma unui transport neperturbat de posibilele interacțiuni cu structuri morfologice ale hidrogelului, transport facilitat de porozitatea avansată specifică a materialului. Frecvența macroporilor este majoritară comparativ cu mezoporii și microporii prezenți, de asemenea, în morfologia hidrogelurilor.

Testele gravimetrice efectuate pentru probele analizate se manifestă ca o comportare individuală fiind o amprentă a interacțiunilor care se manifestă în cadrul hidrogelului între cele trei componente: CS, NaOH și Rif. Complexitatea sistemului evaluat este datorată în principal, moleculei Rif care are o structură complexă atașată la un nucleu naftochinonic, cu grupe carboxilice, hidroxilice și iminice. Răspunsul hidrogelului la avansarea temperaturii și modul de manifestare a fiecărei componente cu creșterea nivelului termic generează un surplus de informații privind înțelegerea manifestărilor la nivel biologic. Cea mai bună stabilitate termică o manifestă hidrogelul de CS. Imediat după această comportare, o stabilitate bună o manifestă și hidrogelurile cu componentele CS, Rif și NaOH împreună, comportare care confirmă valabilitatea criteriilor de analiză a probelor evaluate.

În urma rezultatelor testelor antibacteriene efectuate asupra hidrogelurilor obținute și având în vedere că Rif nu trebuie utilizată singular pentru terapia antimicrobiană, iar CS nu este toxic și are proprietăți antibacteriene corespunzătoare, se confirmă astfel că formarea unui compus din cele două componente sub formă de hidrogel poate avea o aplicabilitate clinică importantă. Hidrogelul, ca purtător de medicament stabil, poate depăși, în mare măsură constrângerile sistemelor polimere, în ideea de a prelungi durata acțiunii medicamentului și de a evita administrarea repetată (specifică administrării orale).

Ultima noutate în acest studiu este folosirea unui ansamblu textil pe care se depune hidrogelul cu antibiotic, ansamblu realizat prin tricotare sub formă tubulară la dimensiuni personalizate cu diametrele necesare adaptării învelirii membrului sau bustul pacientului, fie sub formă țesută care ulterior se assemblează tot ca un tub, fie sub formă de mănușă sau ciorap pentru alte părți anatomice.

Pentru aplicații clinice sunt unele detalii experimentale necesare a fi încă optimizate.

## Capitolul 9. Activitate științifică în cadrul activității doctorale

### Lucări ISI

1. **Laura Lu Cuturicu**, C.D. Radu, A.R. Rusu, C. Lacatusu, A. Danila, C.M. Rimbu, C. Munteanu, B. Istrate, V. Scripcariu, G.F. Lupascu, S. Luca, Studies on release of rifampicin from chitosan-based hydrogel, *Cellulose Chem. Technol.*, **57** (3-4), 281-294 (2023), factor de impact = 1,387
2. **L.L. Cuturicu**, V.C. Macarel, R.A. Rusu, C. Lacatusu, A. Danila, L. Statescu, C.M. Rimbu, C.D. Radu, S. Luca, A textile device for the therapy of patients with burn wounds by the use of a drug delivery from a hydrogel to dermis, *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, Vol.18: 1–10, 2023, factor de impact=2,9  
DOI: 10.1177/15589250231166113

Alte comunicări în cadrul Școlii doctorale fără factor de impact

3. **L.L. Cuturicu**, C.D. Radu. "A Hydrogel From A Textile Support Used In Therapy Of Wounds". The 18th Romanian Textiles and Leather Conference - CORTEP 2022 Iași, 17-19 Novembre, 2022 (lucrare prezentată în plen).