



**UNIVERSITATEA NAȚIONALĂ DE ȘTIINȚĂ ȘI TEHNOLOGIE "POLITEHNICA"
BUCUREȘTI**

Școala Doctorală de Inginerie Chimică și Biotehnologii

Teză de doctorat

**Biomateriale polimerice compozite cu diferite arhitecturi
pentru aplicații în ingineria tisulară**

– *Rezumat* –

Student doctorand: Ing. Elena COJOCARU

Conducător de doctorat: Prof. Dr. Ing. Horia IOVU

București

2023

Cuprins

Abstract.....	8
Rezumat	9
Capitolul 1. Studiu critic al datelor de literatură	10
1.1. Perspective în Ingineria Tisulară	10
1.2. Ingineria Țesuturilor Cutanate	14
1.3. Biomateriale polimerice compozite cu aplicații în pansamente pentru răni	19
1.3.1. Polizaharide.....	20
1.3.1.1. Chitină și chitosan	21
1.3.1.2. Alginat	24
1.3.1.3. Acid hialuronic	34
1.3.1.4. Sulfat de condroitină	34
1.3.1.5. Heparină.....	40
1.3.2. Proteine	40
1.3.2.1. Colagen.....	41
1.3.2.2. Gelatină și gelatină metacrilată	42
1.3.3. Biomateriale polimerice compozite pe bază de oxid de grafenă	45
1.4. Metode utilizate în obținerea suporturilor	54
1.4.1. Turnare în formă	55
1.4.2. Liofilizare	56
1.4.3. Electrofilare.....	56
1.4.4. Imprimare 3D	59
Capitolul 2. Contribuții originale	61
2.1. Materiale și metode de caracterizare	61
2.1.1. Materiale	61
2.1.1.1. Polimeri naturali	61
2.1.1.2. Polimeri sintetici.....	61
2.1.1.3. Materiale pe bază de grafenă.....	61
2.1.1.4. Agenți bioactivi	61
2.1.1.5. Solvenți și alte substanțe chimice/materiale.....	62
2.1.2. Metode de caracterizare	63
2.1.2.1. Caracterizare structurală	63
2.1.2.2. Investigare morfologică.....	63
2.1.2.3. Testare reologică	64

2.1.2.4.	Caracterizare hidrodinamică.....	64
2.1.2.5.	Caracterizare termică.....	64
2.1.2.6.	Evaluare mecanică.....	65
2.1.2.7.	Investigarea umectabilității	65
2.1.2.8.	Studii de gonflare și degradare <i>in vitro</i>	65
2.1.2.9.	Studii de încărcare cu medicament <i>in vitro</i>	66
2.1.2.10.	Studii de eliberare a medicamentului <i>in vitro</i>	66
2.1.2.11.	Evaluarea răspunsului celular <i>in vitro</i>	66
2.1.2.12.	Activitatea imunomodulatoare <i>in vitro</i>	67
2.1.2.13.	Activități antibacteriene și anti-biofilm <i>in vitro</i>	67
2.1.2.14.	Analiză statistică	68
2.2.	Obiectivele și originalitatea tezei de doctorat	69
2.3.	Supporturi compozite din chitosan și oxid de grafenă carboxilat ca materiale încurajatoare pentru ingineria tisulară	73
2.3.1.	Sinteza suporturilor compozite CS/GO-COOH.....	73
2.3.2.	Rezultate și discuții.....	74
2.3.2.1.	Caracterizare structurală prin spectrometrie FTIR	74
2.3.2.2.	Caracterizare structurală prin spectrometrie Raman	76
2.3.2.3.	Investigare morfologică prin scanare μ -CT.....	77
2.3.2.4.	Caracterizare termică prin analiza DSC	78
2.3.2.5.	Caracterizare termică prin TGA	80
2.3.2.6.	Investigare mecanică prin studii de compresiune.....	81
2.3.3.	Concluzii.....	83
2.4.	Sinteza și caracterizarea suporturilor compozite electrofilate pe bază de chitosan-oxid de grafenă carboxilat cu potențiale aplicații biomedicale.....	84
2.4.1.	Formularea soluțiilor/dispersiilor pentru electrofilare	86
2.4.2.	Procesul de electrofilare și optimizarea parametrilor	86
2.4.3.	Reticularea suporturilor nanofibroase electrofilate.....	87
2.4.4.	Rezultate și discuții.....	87
2.4.4.1.	Caracterizare hidrodinamică prin analiza DLS	87
2.4.4.2.	Caracterizare structurală prin spectrometrie ATR-FTIR.....	88
2.4.4.3.	Caracterizare structurală prin spectrometrie Raman	90
2.4.4.4.	Investigare morfologică prin analiza SEM.....	93
2.4.4.5.	Testare mecanică prin tehnica nanoindentării	94
2.4.4.6.	Caracterizare termică prin analiza DSC	95

2.4.4.7.	Investigarea umectabilității prin măsurarea unghiului de contact	97
2.4.4.8.	Studii de degradare <i>in vitro</i>	98
2.4.4.9.	Evaluarea citocompatibilității și citotoxicității <i>in vitro</i>	99
2.4.5.	Concluzii	100
2.5.	Membrane nanofibroase electrofilate pe bază de chitosan funcționalizat cu acid citric conținând rGO-TEPA cu potențiale aplicații în pansamente pentru răni	102
2.5.1.	Sinteza CsA.....	104
2.5.2.	Prepararea sistemelor pentru electrofilare	104
2.5.3.	Optimizarea parametrilor de electrofilare	105
2.5.4.	Reticularea membranelor electrofilate	105
2.5.5.	Rezultate și discuții	105
2.5.5.1.	Caracterizarea structurală a materiei prime funcționalizate (CsA) prin spectroscopie ¹ H- și ¹³ C-RMN și spectrometrie ATR-FTIR	105
2.5.5.2.	Studii reologice ale sistemelor precursoare	108
2.5.5.3.	Caracterizare structurală a membranelor nanofibroase prin spectrometrie ATR- FTIR	109
2.5.5.4.	Caracterizare structurală a membranelor electrofilate prin spectrometrie Raman	111
2.5.5.5.	Investigare morfologică a membranelor electrofilate prin analiză SEM.....	112
2.5.5.6.	Investigarea umectabilității membranelor electrofilate prin măsurarea unghiului de contact	114
2.5.5.7.	Caracterizare termică prin analiza DSC	115
2.5.5.8.	Evaluarea citocompatibilității și citotoxicității <i>in vitro</i>	116
2.5.5.9.	Activitatea anti-biofilm a membranelor electrofilate	117
2.5.6.	Concluzii	119
2.6.	Suporturi bicomponente electrofilate/impritate-3D co-încărcate cu un promedicament și un medicament cu proprietăți antibacteriene și imunomodulatoare	121
2.6.1.	Sinteza gelatinei metacrilate (GM)	123
2.6.2.	Sinteza promedicamentului pe bază de indometacină (pIMC)	124
2.6.3.	Fabricarea membranei electrofilate Fp ca componentă exterioară	125
2.6.4.	Fabricarea hidrogelului Ht ca componentă interioară.....	126
2.6.5.	Construcția suportului bicomponent BiFp@Ht	126
2.6.6.	Rezultate și discuții	127
2.6.6.1.	Caracterizare structurală a GM prin spectroscopie ¹ H-RMN și spectrometrie ATR-FTIR.....	127

2.6.6.2.	Caracterizare structurală a pIMC prin spectroscopie ¹ H-RMN și spectrometrie ATR-FTIR.....	128
2.6.6.3.	Investigare morfologică a membranei Fp prin analiza SEM.....	132
2.6.6.4.	Investigarea umectabilității și degradarea membranei Fp <i>in vitro</i>	133
2.6.6.5.	Studii de eliberare <i>in vitro</i> a IMC din pIMC și din membrana Fp	134
2.6.6.6.	Investigare morfologică a hidrogelului Ht.....	137
2.6.6.7.	Studii de gonflare și degradare <i>in vitro</i> a hidrogelului Ht	137
2.6.6.8.	Studii de eliberare <i>in vitro</i> a TCH din hidrogelul Ht.....	139
2.6.6.9.	Investigare morfologică a suportului BiFp@Ht	140
2.6.6.10.	Evaluarea răspunsului celular <i>in vitro</i> a suportului BiFp@Ht prin testele MTT, LDH și Live/Dead.....	141
2.6.6.11.	Evaluarea activității imunomodulatoare <i>in vitro</i> a suportului BiFp@Ht	144
2.6.6.12.	Activitatea antimicrobiană <i>in vitro</i> a suportului BiFp@Ht	146
2.6.7.	Concluzii	147
Capitolul 3. Conluzii generale.....		149
Diseminarea rezultatelor		153
	Publicații	153
	Prezentări orale la conferințe internaționale	154
Anexe.....		155
	Lista de abrevieri.....	155
Referințe.....		159

Cuvinte cheie: biomateriale compozite, chitosan, oxid de grafenă, electrofilare, imprimare 3D, inginerie tisulară.

Primul capitol al tezei de doctorat prezintă un studiu critic al datelor din literatură despre perspectivele ingineriei tisulare și ingineria țesutului cutanat, apoi sunt prezentate cele mai noi biomateriale polimerice compozite cu aplicații în pansamentele pentru răni, incluzând clasa polizaharidelor (chitosan, alginat), proteinelor (colagen, gelatină) și biomaterialelor compozite pe bază de oxid de grafenă. De asemenea, sunt descrise pe scurt metodele utilizate în prepararea suporturilor folosite în inginerie tisulară, precum turnarea în formă, liofilizarea, electrofilarea și imprimarea 3D.

Al doilea capitol constă în prezentarea extinsă a contribuțiilor originale, pornind de la materialele și metodele de caracterizare utilizate, continuând cu obiectivele și originalitatea tezei de doctorat, apoi sunt prezentate studiile de cercetare care stau la baza acestei teze.

În contextul necesității urgente de a dezvolta noi biomateriale pe fondul progreselor continue în domeniul biotehnologiei, obiectivul general al tezei constă în proiectarea și dezvoltarea biomaterialelor compozite avansate pe bază de chitosan (CS) cu diverse trăsături arhitecturale și caracteristici adecvate pentru a fi utilizate ca materiale eficiente în ingineria țesuturilor cutanate, și în mod particular, în pansamente pentru răni.

Caracteristicile remarcabile ale CS, incluzând biocompatibilitatea, biodegradabilitatea, activitatea antibacteriană, și versatilitatea în formulare și în funcționalizare, determină utilizarea sa extinsă sub formă de structuri polimerice în domeniul ingineriei tisulare, în special, în dezvoltarea pansamentelor pentru răni. Cu scopul de a crea noi biomateriale inovatoare cu atribute biologice și morfologice unice, CS este folosit fie ca matrice polimerică în structura suporturilor compozite, fie ca și componentă auxiliară în asamblarea unor suporturi complexe cu mai multe componente.

Biomaterialele polimerice compozite prezentate în această teză au fost sintetizate prin încorporarea a diferiți derivați de oxid de grafenă funcționalizați cu grupări carboxil (GO-COOH) sau unități aminice (rGO-TEPA), polimeri sintetici (oxid de polietilenă) și alți polimeri naturali (alginatul de sodiu-SA ca polizaharidă sau gelatina metacrilată-GM ca proteină). Acest lucru a condus la îmbunătățirea rezistenței mecanice, a stabilității fizice și a biocompatibilității materialelor sintetizate. De asemenea, anumiți agenți bioactivi, precum promedicamentul pe bază

de indometacină (pIMC) și clorhidratul de tetraciclină (TCH), sunt integrați în matricile polimerice pentru a îmbunătăți calitățile terapeutice ale suporturilor proiectate.

Teza explorează o gamă largă de tehnici de fabricație care au un impact semnificativ asupra proprietăților finale ale suporturilor. Aceasta începe cu utilizarea metodelor tradiționale precum turnarea în formă și liofilizarea, rezultând formarea unor structuri poroase cu conținut de oxid de grafenă carboxilat (GO-COOH) în matricea de CS. Ulterior, studiul abordează electrofilarea, o tehnică consacrată care permite fabricarea unor structuri nanofibroase formate din matrice polimerică de CS/PEO cu conținut de GO-COOH și matrice polimerică formată din CS funcționalizat cu acid citric (CsA)/PEO cu conținut de rGO-TEPA. Cercetarea se finalizează cu combinarea a două tehnologii inovative, imprimarea 3D și electrofilarea, în scopul de a obține un ansamblu biocomponent cu arhitectură complexă, constând într-un strat poros sub formă de hidrogel imprimat 3D alcătuit din SA/GM și un strat nanofibros sub formă de membrană electrofilată din CS/PEO.

Pentru a realiza obiectivul general descris anterior, întreaga activitate de cercetare este focalizată pe urmărirea a patru obiective specifice. Teza cuprinde patru studii de cercetare organizate în subcapitole, fiecare fiind ghidat de un obiectiv specific denumit "S.O."

- **S.O. 1:** Dezvoltarea unor suporturi compozite din CS și GO-COOH cu o arhitectură foarte poroasă folosind metodele de turnare în formă și liofilizare și explorarea interacțiunilor chimice dintre cei doi compuși;
- **S.O. 2:** Proiectarea și fabricarea suporturilor compozite din CS și GO-COOH cu structură nanofibroasă folosind tehnica electrofilării pentru potențiale aplicații în ingineria tisulară și investigarea efectului concentrației de GO-COOH asupra abilității de electrofilare și caracteristicilor structurale, morfologice și biologice ale suporturilor electrofilate;
- **S.O. 3:** Proiectarea rațională a membranelor nanofibroase compozite realizate din CsA și rGO-TEPA utilizând tehnica electrofilării ca materiale antibacteriene eficiente folosite în ingineria tisulară cutanată și investigarea efectului concentrației de rGO-TEPA asupra proprietăților structurale, reologice, morfologice și biologice ale membranelor electrofilate;
- **S.O. 4:** Construirea unor suporturi bicomponente complexe bazate pe o membrană nanofibroasă din CS/PEO încărcată cu promedicament pe bază de IMC și un hidrogel din SA/GM încărcat cu TCH, folosind strategia de combinare a tehnologiilor de electrofilare

și imprimare 3D, și evaluarea performanțelor *in vitro* ale acestora pentru utilizarea ca pansamente eficiente pentru răni.

Primul studiu prezentat în **subcapitolul 2.3.** s-a focusat pe dezvoltarea suporturilor compozite din CS/GO-COOH cu o arhitectură extrem de poroasă și pe explorarea interacțiunilor chimice dintre cei doi compuși. Contribuția originală a acestui studiu constă într-o nouă abordare chimică de sinteză a structurilor compozite din CS cu conținut de GO-COOH, folosind metodele convenționale de turnare în formă și liofilizare. Pentru a obține structuri complexe de CS/GO-COOH, este esențial să se genereze o cantitate semnificativă de grupări -COOH pe suprafața GO, în timp ce se utilizează condiții chimice blânde. Procesele de ultrasonicare a foilor de GO-COOH în matricea din CS, turnarea în forme și liofilizarea, au fost abordate în sinteză, cu scopul de a obține atât o dispersie uniformă a foilor de GO-COOH, cât și o structură poroasă a suporturilor. Tehnicile spectrofotometrice au confirmat interacțiunea la nivel molecular dintre grupările -OH și -NH₂ din structura CS și grupările -COOH din structura GO-COOH, validând astfel această interacțiune chimică. Spectrometria ATR-FTIR a confirmat prezența interacțiunilor necovalente, precum legăturile de hidrogen, dar și formarea de noi legături covalente amidice. Rezultatele analizei Raman au arătat că dispersia optimă a foilor de GO-COOH a avut loc în structura suportului CS/GO-COOH 0.5%. În plus, a fost examinat efectul concentrației de GO-COOH asupra morfologiei și proprietăților mecanice și termice ale suporturilor compozite. Analiza μ -CT a evidențiat o microstructură poroasă și rarefiată a suportului cu cea mai mare concentrație de GO-COOH (1%). Această observație se aliniază cu rezultatele testelor de compresiune, care au indicat o scădere a proprietăților mecanice atribuită aglomerării foilor de GO-COOH în concentrații mai mari. Cu toate acestea, tehnica TGA a evidențiat o îmbunătățire a stabilității termice a suporturilor compozite, prin scăderea procentului total de pierdere de masă odată cu creșterea conținutului de GO-COOH, de la 77% pentru CS/GO-COOH 0.1% la 67% pentru CS/GO-COOH 1%.

Al doilea studiu prezentat în **subcapitolul 2.4.** contribuie la extinderea domeniului științific prin dezvoltarea de noi suporturi compozite care conțin matrice polimerică din CS/PEO și GO-COOH, cu o structură nanofibroasă. Studiul și-a propus să proiecteze și să fabrice suporturi compozite CS/GO-COOH prin tehnica electrofilării și să examineze impactul concentrației de GO-COOH asupra capacității de electrofilare și caracteristicilor structurale, morfologice și biologice *in vitro* ale suporturilor nanofibroase. Încorporarea GO-COOH în matricea polimerică CS/PEO oferă avantajul îmbogățirii sistemului cu funcționalități -COOH, care pot amplifica atât

interacțiunile necovalente, cât și legăturile covalente dintre componente, îmbunătățind în cele din urmă integritatea materialelor nanofibroase. În acest sistem complex de interacțiuni chimice, glutaraldehida servește ca agent de reticulare pentru suporturile electrofilate și participă la formarea legăturilor covalente iminice și a punților de acetal cu grupările funcționale ale CS și ale GO-COOH, sporind astfel stabilitatea materialelor rezultate. Interacțiunile au fost verificate prin spectrometria FTIR și Raman, împreună cu tehnica DLS, care a permis evaluarea proprietăților hidrodinamice ale componentelor sistemului. Rezultatele Raman au evidențiat o distribuție uniformă a foilor de GO-COOH în structura suporturilor compozite electrofilate CS/PG 0.1% și CS/PG 0.2%. Microstructura nanofibroasă și dispersia uniformă a foilor GO COOH de-a lungul nanofibrelor composite au fost observate în imaginile SEM. În plus, s-a constatat că diametrul mediu al nanofibrelor a scăzut odată cu creșterea concentrației de GO-COOH, de la 141 nm pentru CS/PG 0.1% până la 119 nm pentru CS/PG 0.5%. În plus, rezultatele au indicat faptul că aceste interacțiuni au condus la o îmbunătățire semnificativă a elasticității materialului, care a fost examinată la scară nanometrică folosind tehnica ultramodernă de nanoindentare. Rezultatele testelor biologice *in vitro* au indicat că după 72 de ore de incubare a materialelor cu culturile celulare, suporturile compozite CS/PG 0.1% și CS/PG 0.2% au promovat proliferarea celulelor fibroblaste. CS/PG 0.5% a prezentat un efect citotoxic asupra culturii celulare testate, care se atribuie aglomerării foilor de GO-COOH, după cum arată și analizele Raman și SEM. Caracteristicile generale ale CS/PG 0.5% au fost impactate negativ de prezența aglomeratelor de GO-COOH.

Al treilea studiu a fost prezentat în **subcapitolul 2.5.**, iar contribuția sa originală constă în încorporarea CS funcționalizat cu acid citric (CA) și rGO-TEPA într-un suport compozit cu structură nanofibroasă. Studiul a avut ca scop proiectarea și fabricarea membranelor compozite CsA/rGO-TEPA destinate aplicațiilor de pansamente pentru răni, utilizând tehnica electrofilării și investigarea efectului concentrației de rGO-TEPA asupra proprietăților structurale, reologice, morfologice și biologice ale structurilor electrofilate. Prin funcționalizarea covalentă a CS cu CA, confirmată prin spectrometrie FTIR și spectroscopie ^1H - și ^{13}C -RMN, au fost introduse numeroase grupări -COOH, având un dublu scop: creșterea hidrofilicității materialului electrofilat și promovarea interacțiunii cu grupările -NH₂ prezente în structura rGO-TEPA. Pe baza rezultatelor Raman, s-a observat că foile de rGO-TEPA au fost dispersate uniform în membrana nanofibroasă compozită CsA/PG₇₅, indicând cel mai înalt grad de exfoliere. Proprietățile reologice și analiza

SEM au indicat o legătură între comportamentul de curgere al sistemelor precursore și formarea de nanofibre fără defecte. Sistemul compozit CsA/PG_{T5} a produs nanofibre netede și fără defecte care conțin foi de rGO-TEPA dispersate uniform de-a lungul nanofibrelor compozite. Testele DSC au demonstrat că odată cu creșterea concentrației de rGO-TEPA, s-a îmbunătățit stabilitatea termică a materialelor compozite, prin creșterea temperaturii de topire de la 65.6°C în CsA/PEO la 68.0°C în CsA/PG_{T5}. În ceea ce privește analizele biologice *in vitro*, materialul CsA/PG_{T2} a prezentat cea mai mare viabilitate celulară, așa cum a indicat testul MTT și, în consecință, cel mai mic impact citotoxic asupra celulelor fibroblaste NCTC, conform testului LDH. În plus, toate membranele nanofibroase au prezentat proprietăți anti-biofilm eficiente împotriva tulpinilor de bacterii *P. aeruginosa* și *S. aureus*, cu rezultate deosebite împotriva bacteriilor Gram-negative.

Al patrulea studiu prezentat în **subcapitolul 2.6.** contribuie semnificativ la avansarea domeniului de pansamente pentru răni, prin dezvoltarea unor suporturi bicomponente, folosind o combinație de diferiți biopolimeri (incluzând polizaharide și proteine modificate chimic), care au fost procesați prin tehnologiile de electrofilare și imprimare 3D, cu integrarea a diferiți compuși bioactivi, care sporesc procesul de vindecare a rănilor. Această cercetare și-a propus să creeze suporturi bicomponente complexe BiFp@Ht constând dintr-o membrană nanofibroasă din CS/PEO încărcată cu un promedicament pIMC (Fp) ca strat exterior și un hidrogel din SA/GM încărcat cu TCH (Ht) ca strat interior, folosind strategia de combinare a tehnologiilor de electrofilare și imprimare 3D, și să le evalueze performanțele generale *in vitro* pentru a determina aplicabilitatea lor ca pansamente eficiente pentru răni. Compușii terapeutici au fost încărcăți în matricile polimerice menționate anterior, utilizând metode diferite de încorporare care să le faciliteze eliberarea, în funcție de stratul care interacționează cu rana și de mecanismul de acțiune. Pe de o parte, suprafața hidrogelului imprimat 3D a fost încărcată prin adsorbție fizică cu TCH, un medicament antibacterian recunoscut pentru capacitatea sa de a inhiba local sinteza proteinelor bacteriene. Pe de altă parte, IMC ca promedicament IMC-PEG-IMC, a fost încorporat în amestecul polimeric CS/PEO înainte de procesul de electrofilare. IMC, un medicament antiinflamator, a fost transformat în promedicamentul IMC-PEG-IMC prin legarea chimică cu H₂N-PEG-NH₂, pentru a-i îmbunătăți biodisponibilitatea și eficacitatea terapeutică. Această proiectare a urmărit două scopuri: în primul rând, o eliberare mai rapidă a medicamentului antibacterian la contactul cu rana, prevenind astfel infecția, ceea ce este crucial pentru o regenerare eficientă a răni; și în al doilea rând, o eliberare controlată și susținută a IMC, pentru o activitate imunomodulatoare eficientă în

întregul sistem. Un aspect esențial în proiectarea unui pansament bicomponent eficient pentru răni este arhitectura ambelor componente. În consecință, imaginile SEM au fost foarte sugestive în demonstrarea caracteristicilor structurale ale suportului bicomponent BiFp@Ht, evidențiind morfologia nanofibroasă a membranei electrofilate (Fp) și structura poroasă a hidrogelului imprimat 3D (Ht). Pe baza rezultatelor experimentelor biologice *in vitro*, BiFp@Ht a demonstrat o biocompatibilitate excepțională. Membrana Fp a prezentat cea mai mare viabilitate celulară și rată de proliferare, conform testului MTT, în timp ce hidrogelul Ht a prezentat cel mai mare nivel de citotoxicitate, potrivit testului LDH, după 72 de ore de incubare. Rezultatele testului calitativ Live/Dead au susținut rezultatele testelor MTT și LDH. Suportul BiFp@Ht a prezentat proprietăți antiinflamatorii și proangiogenice impresionante, dar și o eficacitate remarcabilă împotriva tulpinilor bacteriene *E. coli* și *S. aureus*. Evaluarea răspunsurilor celulare a evidențiat capacitatea suportului bicomponent de a stimula aderența și creșterea celulelor HeLa, facilitând în același timp formarea de noi vase de sânge care promovează vindecarea țesutului deteriorat.

Prima lucrare intitulată “*Carboxylated graphene oxide integrated chitosan composite scaffolds as encouraging materials for tissue engineering*”, a fost scrisă de către autorii: E. Cojocaru, A. M. Onaș, și H. Iovu, și a fost publicată în Buletinul Științific U.P.B., Seria B, volumul 82, numărul 4, 2020, ISSN 1454-2331.

A doua lucrare intitulată “*Synthesis and characterization of electrospun composite scaffolds based on chitosan-carboxylated graphene oxide with potential biomedical applications*”, a fost scrisă de către autorii: E. Cojocaru, J. Ghitman, E. I. Biru, G. G. Pircalabioru, E. Vasile, și H. Iovu, și a fost publicată în Materials MDPI, volumul 14, numărul 10, 2021, 2535.

A treia lucrare intitulată “*Electrospun nanofibrous membranes based on citric acid-functionalized chitosan containing rGO-TEPA with potential application in wound dressings*”, a fost scrisă de către autorii: E. Cojocaru, J. Ghitman, G. G. Pircalabioru, C. Stavarache, A. Serafim, E. Vasile, și H. Iovu, și a fost publicată în Polymers MDPI, volumul 14, numărul 2, 2022, 294.

A patra lucrare intitulată “*Electrospun/3D-printed bicomponent scaffold co-loaded with a prodrug and a drug with antibacterial and immunomodulatory properties*”, a fost scrisă de către autorii: E. Cojocaru, J. Ghitman, G. G. Pircalabioru, A. Zaharia, H. Iovu, și A. Sarbu, și a fost publicată în Polymers MDPI, volumul 15, numărul 13, 2023, 2854.

Al treilea capitol prezintă concluziile generale ale tezei, iar diseminarea rezultatelor s-a realizat prin publicații în reviste internaționale și prezentări orale la conferințe internaționale.