

## COLLAGEN-ALBUMIN-GENTAMICIN HYDROGELS USABLE FOR INFECTED WOUND HEALING

### HIDROGELURI PE BAZĂ DE COLAGEN-ALBUMINĂ-GENTAMICINĂ UTILIZATE PENTRU TRATAREA RĂNILOR INFECTATE

Georgeta PĂUNICĂ-PANEA<sup>1,2</sup>, Mihaela Violeta GHICA<sup>3</sup>, Ștefania MARIN<sup>4</sup>, Ana-Maria ENE<sup>5</sup>, Maria Minodora MARIN<sup>4</sup>, Elena DĂNILĂ<sup>4</sup>, Cornelia NIȚPIR<sup>1,6\*</sup>, Mădălina Georgiana ALBU<sup>4</sup>, Ioan CRISTESCU<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Medicine, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Dionisie Lupu 37, 020022, Bucharest, Romania, paunica\_laura@yahoo.com

<sup>2</sup>Surgery Department, "Sfântul Pantelimon" Emergency Clinical Hospital, 340-342 Șoseaua Pantelimon, 021659, Bucharest, Romania, paunica\_laura@yahoo.com

<sup>3</sup>Department of Physical and Colloidal Chemistry, Faculty of Pharmacy, "Carol Davila", University of Medicine and Pharmacy 6, Traian Vuia Str., 020956, Bucharest, Romania, mihaelaghica@yahoo.com

<sup>4</sup>Collagen Department, Leather and Footwear Research Institute, 93 Ion Minulescu Str., 031215, Bucharest, Romania, icpi@icpi.ro

<sup>5</sup>Faculty of Applied Chemistry and Material Science, Politehnica University of Bucharest, 1-7 Polizu Str., 011061 Bucharest, Romania, anamariaene92@gmail.com

<sup>6</sup>Elias Emergency University Hospital, 17, Marasti, Blv. 011461, Bucharest, Romania, nitipir2003@yahoo.com

---

#### COLLAGEN-ALBUMIN-GENTAMICIN HYDROGELS USABLE FOR INFECTED WOUND HEALING

**ABSTRACT.** The aim of this study was to develop new hydrogels for infected wound treatment. The main components of hydrogels were two proteins, one fibrous (type I collagen in the form of gel) and one globular (albumin) in different ratios (10, 20 and 30%), and gentamicin was selected as an antibiotic drug model. The properties of the obtained hydrogels were estimated by rheological measurements and the corresponding lyophilized forms by water up-take capacity. The results showed that the promising hydrogels which can provide good absorbance and antimicrobial properties at the same time are the ones with maximum 20% albumin and 0.2% gentamicin and the *in vitro* tests are further recommended.

**KEY WORDS:** hydrogels, collagen, rheology, albumin

#### HIDROGELURI PE BAZĂ DE COLAGEN-ALBUMINĂ-GENTAMICINĂ UTILIZATE PENTRU TRATAREA RĂNILOR INFECTATE

**REZUMAT.** Scopul acestei lucrări a fost de a dezvolta noi hidrogeluri pentru tratamentul rănilor infectate. Componentii principali ai hidrogelurilor au fost două proteine, una fibroasă (colagen de tip I sub formă de gel) și una globulară (albumina) în proporții diferite (10, 20 și 30%) și gentamicina a fost selectată ca model de antibiotic. Proprietățile hidrogelurilor obținute au fost determinate prin măsurători reologice, iar formele corespunzătoare liofilizate, prin capacitatea de absorbție. Rezultatele au arătat că hidrogelurile cele mai promițătoare care prezintă absorbție bună și în același timp proprietăți antimicrobiene sunt cele cu maxim 20% albumină și 0,2% gentamicină, iar testele *in vitro* sunt recomandate în continuare.

**CUVINTE CHEIE:** hidrogeluri, colagen, reologie, albumină

#### DES HYDROGELS À BASE DE COLLAGÈNE-ALBUMINE-GENTAMICINE UTILISÉS POUR TRAITER LES PLAIES INFECTÉES

**RÉSUMÉ.** Le but de cet article a été de développer de nouveaux hydrogels pour le traitement des plaies infectées. Deux protéines, l'une fibreuse (collagène de type I sous forme de gel) et l'une globulaire (albumine) dans des proportions différentes (10, 20 et 30%) ont été les principaux composants d'hydrogels et la gentamicine a été choisie comme un modèle d'antibiotique. Les propriétés des hydrogels obtenus ont été estimées par des mesures rhéologiques et les formes appropriées lyophilisées, par la capacité d'absorption. Les résultats ont montré que les hydrogels les plus prometteurs qui peuvent fournir une bonne absorption et également des propriétés antimicrobiennes sont ceux qui contiennent un maximum de 20% d'albumine et 0,2% gentamicine et les tests *in vitro* sont toujours recommandés.

**MOTS-CLÉS:** hydrogels, collagène, rhéologie, albumine

---

\* Correspondence to: Cornelia NIȚPIR, Faculty of Medicine, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Dionisie Lupu 37, 020022, Bucharest, Romania, nitipir2003@yahoo.com

## INTRODUCTION

Burn accidents have various sources (heat, chemicals, radiation, electricity, etc.) and are common painful injuries. In case of major injury or inadequate treatment over time the result can vary from permanent scars to death [1]. There are numerous types of dressings with different structures: membranes, scaffolds or hydrogels made from natural or synthetic materials. For a proper healing, the used materials must fulfill several conditions such as: maintaining local humidity, wound protection against infections, wound fluids and exudates absorption, elasticity, non-toxicity, biocompatibility and biodegradability [1].

Hydrogels are polymeric materials with tridimensional structure, moderate cross-linked rate and high hydrophilicity. Due to these characteristics, hydrogels can absorb a high amount of water, thus providing a moist environment for the wound and at the same time absorbing the wound exudates [2].

Depending on the materials used, hydrogels can be natural, synthetic or semi-synthetic. Recently, researchers developed hydrogels from natural polymers like sodium alginate [3], hyaluronic acid [4], chitosan [5], dextran [6], gelatin [7], collagen or albumin, as such, or in combination with other synthetic polymers such as PVA (polyvinyl alcohol) [8].

Collagen is the most common protein in human body. The one extracted from bovine tissue has the nearest structure to the human one [9]. Due to this similarity, devices made from this material present high biocompatibility and they are of great help for wound healing. It can be processed into many forms like fibers, gels, scaffolds, films and successfully used in tissue engineering [10]. Besides biocompatibility and biodegradability, collagen provides a pattern for cell attachment, migration and proliferation [11].

Albumin, the main protein of human plasma, is a hydrophilic protein that can be found mostly in blood vessels and corneal epithelium. It has the role to maintain osmotic pressure and by this typical feature tissue tolerance can be controlled [12]. Many studies showed that albumin is a proper

## INTRODUCERE

Accidentele soldate cu arsuri provenite din diverse surse (căldură, chimicale, radiații, electricitate etc.) sunt cele mai comune și dureroase leziuni. În cazul unor răni majore sau în cazul în care tratamentul de-a lungul timpului nu este cel adecvat, rezultatele pot varia de la cicatrici permanente la moarte [1]. Există numeroase tipuri de pansamente cu structuri diferite: membrane, matrici spongioase sau hidrogeluri, realizate fie din materiale naturale, fie sintetice. Pentru o vindecare propice, materialele utilizate trebuie să îndeplinească numeroase condiții precum: menținerea umidității locale, protecția răni împotriva infecțiilor, absorbția fluidelor și a exudatelor, elasticitate, non-toxicitate, biocompatibilitate și biodegradabilitate [1].

Hidrogelurile sunt materiale polimerice cu structură tridimensională, procent limitat de reticulare și hidrofilie ridicată. Datorită acestor caracteristici, hidrogelurile pot absorbi o cantitate ridicată de apă, așadar oferă răni un mediu umed și în același timp are capacitatea de a absorbi exsudatele produse de aceasta [2].

În funcție de materialele utilizate, hidrogelurile pot fi naturale, sintetice sau semisintetice. Recent, cercetătorii au dezvoltat hidrogeluri din polimeri naturali precum alginatul de sodiu [3], acidul hialuronic [4], chitosanul [5], dextranul [6], gelatina [7], colagenul sau albumina, folosite ca atare sau în combinație cu alți polimeri sintetici precum APV-ul (alcoolul polivinilic) [8].

Colagenul este cea mai întâlnită proteină din corpul uman. Cel extras din piele bovină are cea mai apropiată structură de cel uman [9]. Datorită acestei similitudini, dispozitivele realizate din acest tip de material prezintă biocompatibilitate ridicată și sunt de un real ajutor în vindecarea rănilor. Colagenul poate fi procesat în numeroase forme: fibre, geluri, matrici spongioase, filme, și pot fi utilizate cu succes în ingineria tisulară [10]. Pe lângă biocompatibilitate și biodegradabilitate, colagenul reprezintă și un model pentru atașarea, migrarea și diferențierea celulelor [11].

Albumina, proteina principală din plasma umană, este o proteină hidrofilă ce se poate găsi predominant în vasele de sânge și epiteliul corneal. Are rolul de a menține presiunea osmotică și prin această caracteristică se poate controla toleranța tisulară [12]. Numeroase studii au demonstrat că albumina este un

carrier for fatty acid and it can bind oleic acid. Therefore it was used in dressing materials to transport oleic acid to the wound. This way, the human neutrophil elastase, a cationic protease present in high amount in the non-healing wound, is inhibited [13]. Albumin has been widely applied to the delivery of drugs such as nanoparticle albumin-bound (Nab) for the delivery of paclitaxel (Abraxane) in treating metastatic breast cancer, theranostic albumin nanoparticles physically loaded with an anticancer drug (doxorubicin) [14].

Over the years, gentamicin has been used to treat skin infection due to its action against aerobic gram-negative and gram-positive bacteria [15].

Thus, the purpose of this study was to design and characterize some hydrogels with potential use in infected wound dressings, based on collagen, albumin and gentamicin, and to characterize them by rheological and water uptake and enzymatic degradation measurements. The results of characterization showed us that hydrogels are promising materials and can be *in vitro* tested.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Type I fibrillar collagen gel (Coll) was extracted from calf hide with initial concentration of 2.46%, using technology currently available in Collagen Department of Division Leather and Footwear Research Institute [16]. Albumin (Alb) and glutaraldehyde (GA) were purchased from Merck (Germany), and gentamicin (Gen) from Fluka (USA).

### Collagen Hydrogel Preparation

Collagen hydrogels were obtained by continuous stirring of gels adjusted at 1% and 7.3 pH, using 1M sodium hydroxide, gentamicin with 0.2% (w/v) and different concentrations of albumin (10, 20 and 30%), reported to dry collagen substance. Then, all the composite gels were crosslinked with a specific amount of glutaraldehyde (0.5% reported to collagen dry substance), cast in Petri dishes, kept at 4°C for 24 hours, resulting in hydrogels, named as shown in Table 1.

transportor corespunzător pentru acizii grași și poate lega acidul oleic. Așadar, aceasta a fost utilizată în obținerea pansamentelor pentru transportul acidului oleic către rană. Astfel este inhibată elastaza neutrofilă umană, o protează cationică prezentă în cantitate ridicată în rănile nevindecate [13]. Albumina a fost aplicată pe scară largă în eliberarea de medicamente precum nanoparticule de albumină (Nab), pentru eliberarea paclitaxelului (Abraxane) în tratarea cancerului la sân aflat în metastază, nanoparticule de albumină încărcate cu medicament anticancer (doxorubicină) utilizate în teranostică [14].

De-a lungul timpului, gentamicina a fost utilizată pentru a trata infecțiile tisulare datorită activității sale împotriva bacteriilor aerobe gram-negative și gram- pozitive [15].

Astfel, scopul acestei lucrări a fost de a proiecta hidrogeluri cu utilizare potențială ca pansamente pentru răni infectate, pe bază de collagen, albumină și gentamicină, cu ajutorul măsurătorilor reologice și absorbției de apă. Rezultatele caracterizărilor ne-au arătat că hidrogelurile sunt materiale promițătoare ce pot fi testate *in vitro*.

## MATERIALE ȘI METODE

### Materiale

Gelul de collagen fibrilar de tip I (Coll) a fost extras din piele de vițel cu concentrație inițială de 2,46%, utilizând tehnologia prezentă în Departamentul de Collagen din cadrul Institutului de Cercetări Pielărie Încălțăminte [16]. Albumina (Alb) și glutaraldehida (GA) au fost achiziționate de la Merck (Germania) și gentamicina (Gen) de la Fluka (USA).

### Prepararea hidrogelurilor colagenice

Hidrogelurile colagenice au fost obținute prin amestecare continuă a gelurilor ajustate la concentrație de 1% și pH 7,3, utilizând hidroxid de sodiu 1M, a gentamicinei cu o concentrație de 0,2% (w/v) și diferite concentrații de albumină (10, 20, 30%), raportate la substanță uscată. Apoi, toate gelurile compozite au fost reticulate cu cantitatea specifică de glutaraldehidă (0,5% raportată la substanță uscată de collagen), turnate în vase Petri, ținute la o temperatură de 4°C timp de 24 de ore, rezultând hidrogeluri denumite așa cum arată Tabelul 1.

Table 1: Collagen hydrogel composition  
 Tabelul 1: Compoziția hidrogelurilor de colagen

Collagen hydrogels <i>Hidrogeluri colagenice</i>	Coll, %	Alb, %	Gen, %	GA, %
A1	1	-	-	0.5
A2	1	10	-	0.5
A3	1	20	-	0.5
A4	1	30	-	0.5
A5	1	-	0.2	0.5
A6	1	10	0.2	0.5
A7	1	20	0.2	0.5
A8	1	30	0.2	0.5

### Rheological Studies

The flow properties of the designed hydrogels were determined with a rotational viscometer MultiVisc-Rheometer, Fungilab, equipped with standard spindle TR 9 and ultrathermostat ThermoHaake P5. The rheological measurements were carried out at 37°C±0.5°C. The operational conditions were detailed in our previous studies [17]. The viscosity of the hydrogels was evaluated as a function of shear rate and the corresponding curves were recorded. To quantify the rheological behaviour of hydrogels, the Power law model was applied (eq. 1):

$$\eta = m \cdot \dot{\gamma}^{-n} \quad (1)$$

where m and n are flow parameters correlated with the designed hydrogels composition and determined through the linearization of eq. (1) by double logarithmic method [18].

After rheological determinations the collagen gels were freeze-dried with Delta 2-24 LSC (Martin Christ, Germany) freeze-dryer, using the lyophilization program previously described [19] and collagen matrices were obtained. They were coded from P1 to P8 having the same composition as A1 ÷ A8 hydrogels.

### Water Uptake

Collagen matrices obtained by lyophilization were tested in terms of water absorption. They were firstly immersed in water at 36°C then withdrawn and weighed at fixed time intervals. The equation

### Analize reologice

Proprietățile de curgere ale hidrogelurilor proiectate au fost determinate cu un viscozimetru de rotație MultiVisc-Rheometer, Fungilab, echipat cu un ax standard TR 9 și un ultratermostat ThermoHaake P5. Măsurătorile reologice au fost realizate la 37°C±0,5°C. Condițiile de operare au fost detaliate în lucrările anterioare [17]. Viscositatea hidrogelurilor a fost evaluată ca o funcție a vitezei de forfecare și curbele corespunzătoare au fost înregistrate. Pentru a cuantifica comportamentul reologic al hidrogelurilor, a fost aplicat modelul legii de tip putere (ec. 1):

unde m și n sunt parametrii de curgere corelați cu compoziția hidrogelurilor proiectate și determinați prin liniarizarea ec. (1) prin metoda dublu logaritmică [18].

După determinările reologice, gelurile de colagen au fost liofilizate utilizând liofilizatorul Delta 2-24 LSC (Martin Christ, Germania), folosind programul de liofilizare prezentat anterior [19] și au fost obținute matrici colagenice. Acestea au fost notate de la P1 la P8 având aceeași compoziție cu hidrogelurile A1 ÷ A8.

### Absorbția de apă

Matricile colagenice obținute în urma liofilizării au fost testate din punctul de vedere al absorbției de apă. Acestea au fost inițial imersate în apă la 36°C apoi scoase și cântărite la intervale de timp fixe. Ecuația

used (eq. 2) for water absorption determination was:

$$\% \text{Water up-take} / \% \text{Absorbție apă} = (W_t - W_d) / W_d \text{ (g/g)} \quad (2)$$

where  $W_t$  is the weight of the swollen samples at immersion time  $t$ , and  $W_d$  denotes the weight of the dry samples. All the samples were studied in triplicate.

## RESULTS AND DISCUSSION

The influence of formulation factors on the rheological behaviour of the tested hydrogels, plotted as viscosity versus shear rate, is shown in Figure 1a (series A1-A4) and Figure 1b (series A5-A8).

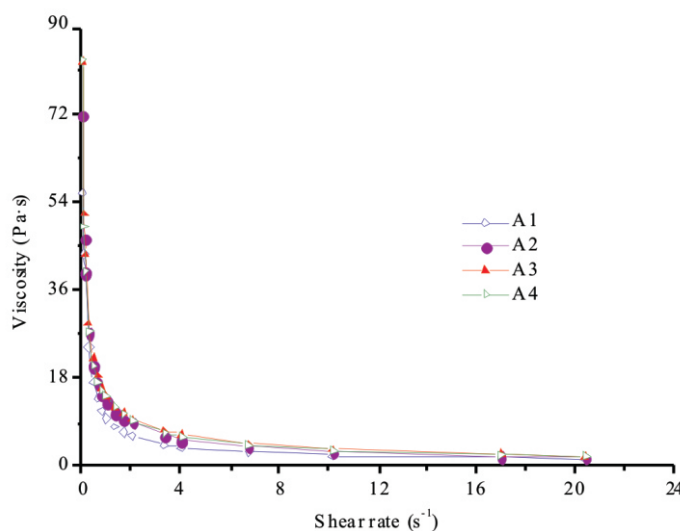


Figure 1a. Plots of viscosity as a function of shear rate for the collagen-albumin hydrogels (series A1-A4) evaluated at 37°C

Figura 1a. Graficul viscozității în funcție de viteza de forfecare pentru hidrogelurile colagen-albamină (seriile A1-A4) evaluate la 37°C

As it can be seen in Figure 1 a-b similar flow profiles were recorded for all hydrogels without (A1-A4) and with gentamicin (A5-A8), the viscosity decreasing with shear stress increase. This behaviour leads to pseudoplastic properties of the samples which facilitate the formulations flow and consequently their suitable manipulation [20].

utilizată (ec. 2) pentru determinările de absorbție de apă a fost:

$$\% \text{Water up-take} / \% \text{Absorbție apă} = (W_t - W_d) / W_d \text{ (g/g)} \quad (2)$$

unde  $W_t$  este greutatea probei imersate la timpul  $t$  și  $W_d$  este greutatea probei uscate. Toate probele au fost studiate în triplicat.

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Influența factorilor de formulare asupra comportamentului reologic al hidrogelurilor testate, reprezentați grafic ca viscozitate în funcție de viteza de forfecare, este prezentată în Figura 1a (probele A1-A4) și Figura 1b (probele A5-A8).

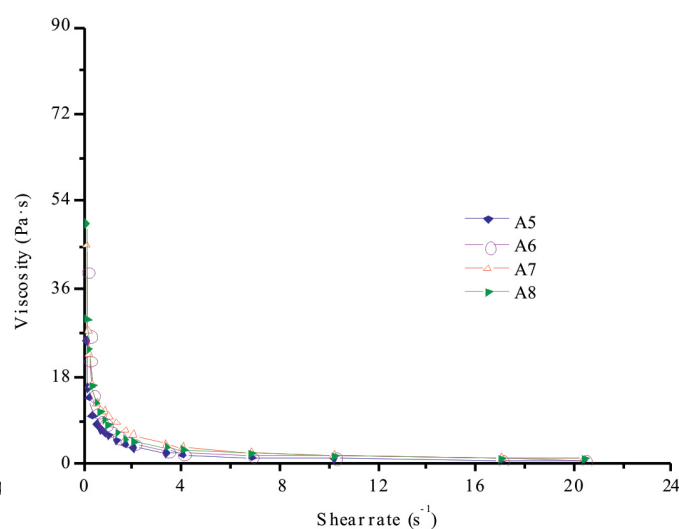


Figure 1b. Plots of viscosity as a function of shear rate for the collagen-albumin hydrogels with gentamicin (series A5-A8) evaluated at 37°C

Figura 1b. Graficul viscozității în funcție de viteza de forfecare pentru hidrogelurile colagen-albamină cu gentamicină (seriile A5-A8) evaluate la 37°C

Așa cum se poate observa în Figura 1 a-b, au fost înregistrate profiluri de curgere similare pentru toate hidrogelurile fără (A1-A4) și cu gentamicină (A5-A8), viscozitatea scăzând cu creșterea tensiunii de forfecare. Acest comportament duce la proprietăți pseudoplastice ale probelor care facilitează curgerea formulărilor și, în consecință, manipularea adecvată a acestora [20].

The Power law equation applied to rheological data led to flow parameters,  $m$  and  $n$ , mentioned in Materials and Methods section, and listed in Table 2. The coefficient value determinations, ranging between 0.9828 and 0.9967, indicate that this rheological model fitted well the experimental data.

Ecuția legii de tip putere aplicată datelor reologice a dus la parametrii de curgere  $m$  și  $n$ , menționați în secțiunea Materiale și metode și listați în Tabelul 1. Determinările valorilor coeficienților, variind între 0,9828 și 0,9967, indică faptul că acest model reologic se potrivește cu datele experimentale.

Table 2: Power law model fitting parameters and the corresponding coefficients value determinations for collagen hydrogels analyzed at 37°C

Tabelul 2: Parametrii de fitare ai modelului legii de tip putere și determinările valorilor coeficienților corespunzători pentru hidrogelurile colagenice analizate la 37°C

Hydrogel Hidrogel	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8
$m$	10.921	12.812	13.605	12.483	5.162	6.676	8.357	7.121
$n$	0.732	0.738	0.767	0.799	0.667	0.769	0.703	0.823
$R^2$	0.9914	0.9964	0.9939	0.9866	0.9917	0.9967	0.9828	0.9904

From Table 2 it can be noticed that the presence of albumin in hydrogel formulations (A1-A4) leads to a higher  $m$  value (associated with the viscosity recorded for the shear rate of  $1 \cdot s^{-1}$ ) [18, 21, 22] than the one corresponding to the sample without albumin (A1). For both hydrogel series, A1-A4 and A5-A8, the highest  $m$  value was obtained for a concentration of 20% albumin, about 1.25 and 1.62 times higher in comparison with the reference collagen hydrogels A1 and A5.

Din Tabelul 2 se poate observa că prezența albuminei în compoziția hidrogelurilor (A1-A4) conduce la o valoare  $m$  (asociată cu viscozitatea înregistrată pentru viteza de forfecare de  $1 \cdot s^{-1}$ ) [18, 21, 22] mai mare decât cea corespunzătoare probelor fără albumină (A1). Pentru ambele serii de hidrogeluri, A1-A4 și A5-A8, cea mai mare valoare a lui  $m$  a fost obținută la o concentrație de albumină de 20%, de 1,25 și 1,62 de ori mai mare în comparație cu hidrogelul de referință din colagen A1 și A5.

The addition of gentamicin in formulations (A5-A8) leads to a marked decrease of  $m$  parameter, between 38.5-52.8%.

Adăugarea gentamicinei în compoziție (A5-A8) duce la o scădere accentuată a parametrului  $m$ , între 38,5-52,8%.

The water up-take studies showed that all the matrices were very absorbent, even from the first minutes and this property is influenced both by albumin and gentamicin contents. In Figure 2 are presented the water up-take for samples with albumin and gentamicin compared with the control one.

Studiile de absorbție de apă au arătat că toate matricile au fost foarte absorbante, chiar din primele minute și această proprietate este influențată atât de conținutul de albumină, cât și de gentamicină. În Figura 2 sunt prezentate absorbțiile de apă pentru probele cu albumină și gentamicină comparate cu proba de referință.

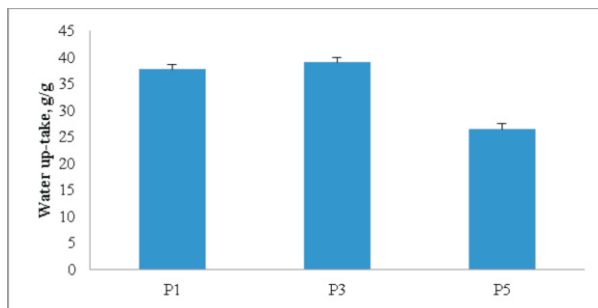


Figure 2. The water up-take for matrices: P1 (control), P3 (collagen with albumin) and P5 (collagen with gentamicin)

Figura 2. Absorbția de apă pentru matricile: P1 (martor), P3 (colagen cu albumină) și P5 (colagen cu gentamicină)

As we can see in Figure 2, the albumin, being a globular protein, increased the hydrophilicity of matrices, meanwhile the gentamicin which is an aminoglycoside, crosslinked the collagen, obtaining more dense structures.

As Figure 3 showed, among the samples with albumin and gentamicin, the maximum water absorption is for sample P7, with 20% albumin and 0.2% gentamicin.

Așa cum putem observa în Figura 2, albumina, fiind o proteină globulară, crește hidrofilicitatea matricilor, în timp ce gentamicina, care este un aminoglicozid reticulat de colagen, duce la obținerea unei structuri mai dense.

Așa cum prezintă Figura 3, dintre probele cu albumină și gentamicină, capacitatea maximă de absorbție o prezintă proba P7, cu 20% albumină și 0,2% gentamicină.

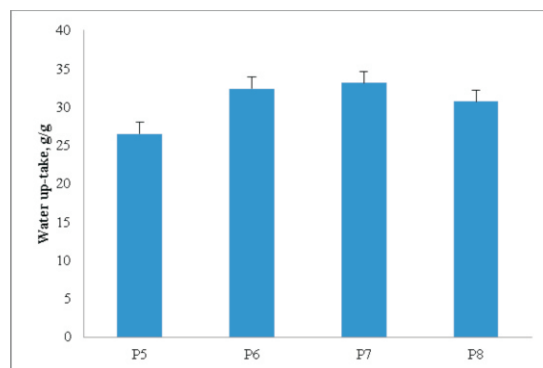


Figure 3. The water up-take for Series 2 of matrices  
Figura 3. Absorbția de apă pentru matricile din seria 2

This behavior showed that an amount higher than 20% albumin is not as efficient and could make the hydrogel unstable.

Acest comportament arată că o cantitate mai mare de 20% de albumină nu este eficientă și poate duce la instabilitatea hidrogelului.

## CONCLUSIONS

Collagen-albumin hydrogels with and without gentamicin were prepared and characterized by rheological analysis and water uptake. The results showed that high amount of albumin results in high viscosity and gentamicin content decreases the viscosity. The rheological analysis was in correlation with water up-take and showed that the maximum amount of albumin is 20% reported to collagen (dry substance) in order to obtain a stable and hydrophilic composition. Based on these results the obtained hydrogels are promising to be used in infected wound healing.

### Acknowledgement

Authors acknowledge financial support from the UEFISCDI through PN II 155/2014 project: acronym

## CONCLUZII

Hidrogelurile din colagen-albumină cu și fără gentamicină au fost obținute și caracterizate prin analiză reologică și absorbție de apă. Rezultatele ilustrează că o cantitate mai mare de albumină duce la creșterea viscozității și cantitatea de gentamicină duce la scăderea viscozității. Rezultatele analizei reologice au fost în corelație cu absorbția de apă și au arătat că, pentru a obține o compoziție stabilă și hidrofilă, valoarea maximă de albumină este de 20% raportată la colagen (substanță uscată). Pe baza acestor rezultate, hidrogelurile obținute sunt promițătoare pentru vindecarea rănilor infectate.

### Mulțumiri

Autorii recunosc suportul financiar din partea UEFISCDI prin proiectul PN II 155/2014, acronim

GREENVET. This work received financial support through the project entitled “CERO - Career Profile Romanian Researcher”, grant no. POSDRU/159/1.5/S/135760, co-financed by the European Social Fund for Sectoral Operational Programme Human Resources Development 2007-2013.

GREENVET. Acest articol a primit suport financiar prin proiectul intitulat “CERO - Career Profile Romanian Researcher” grant nr. POSDRU/159/1.5/S/135760, cofinanțat de Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013.

## REFERENCES

1. Elbadawy, A.K., Xin, C., Mohamed, S.M.E., El-Refaie, S.K., *Arab. J. Chem.*, **2015**, 8, 1, 1–14.
2. Gan, L.L., Nong, L.P., *Chem. Bioeng.*, **2010**, 27, 9, 33-35.
3. Singer, A.J., Clark, R.A., *N. Engl. J. Med.*, **1999**, 341, 738–746.
4. Toole, B.P., *Nat. Rev. Cancer*, **2004**, 4, 7, 528–539.
5. Fan, M., Hu, Q., Shen, K., *Carbohydr. Polym.*, **2009**, 76, 1, 66–71.
6. Kamoun, E.A., Menzel, H., *J. Appl. Polym. Sci.*, **2010**, 117, 3128–3138.
7. Pereda, M., Ponce, A.G., Marcovich, N.E., Ruseckaite, R.A., Martucci, J.F., *Food Hydrocolloids*, **2011**, 25, 5, 1372–1381.
8. Kenawy, E., Kamoun, E.A., Mohy Eldin, M.S., El-Meligy, M.A., *Arab. J. Chem.*, **2014**, 7, 372–380.
9. Albu, M.G., Titorescu, I., Ghica, M.V., Collagen-based drug delivery systems for tissue engineering in “Biomaterials Applications for Nanomedicine”, Intech Open Acces Publisher, Pignatello, R. (ed.), Rijeka, **2011**, 339.
10. Akturk, O., Tezcaner, A., Bilgili, H., Deveci, M.S., Gecit, M.R., Keskin D., *J. Biosci. Bioeng.*, **2011**, 112, 3, 279–288.
11. Sai, K.P., Babu, M., *Burns*, **2000**, 26, 54–62.
12. Shinji, I., Hiromi, S., Yuko, M.B., Masutaka, F., Takao, T., Takeo, N., Junko, S., Katsunori, F., Masahiro, T., Keiko, T., Yoshiki, M., *Am. J. Clin. Nutr.*, **2011**, 30, 738-745.
13. Edwards, J.V., Howley, P., Davis, R., Mashchak, A., Goheen, S.C., *Int. J. Pharm.*, **2007**, 340, 42–51.
14. Zhu, X., Anquillare, L.B.E., Farokhzad, O.C., Shi J., Polymer- and Protein-Based Nanotechnologies for Cancer Theranostics, in Cancer Theranostics, X. Chen and S. Wong (Eds.), Academic Press, Oxford, **2014**, 419-436.
15. Hwang, M.R., Kim, J.O, Lee, J.H., Kim, Y.I., Kim, J.H., Chang, S.W., Jin, S.G., Kim, J.A., Lyoo, W.S., Han, S.S., Ku, S.K., Yong, C.S., Choi, H.G., *A. A. P. S. J.*, **2010**, 11, 3, 1092-1103.
16. Albu, M.G., Collagen gels and matrices for biomedical applications, Lambert Academic Publishing, Saarbrücken, **2011**, 23-24.
17. Ghica, M.V., Albu, M.G., Dinu-Pîrvu, C., Moiescu, Ș., *Rev. Chim.*, **2012**, 63, 9, 929-935.
18. Ghica, M.V., Albu, M.G., Coară, G., Dinu-Pîrvu, C., The influence of crosslinking agent on kinetic release and rheological behaviour of some collagen-niflumic acid hydrogels, Proceedings of the ICAMS 2012 - 4th International Conference on Advanced Materials and Systems (ICAMS), Bucharest, September 27-29, **2012**, 267-272.
19. Marin, S., Marin, M.M., Ene, A-M., Türker, İ.K., Chelaru, C., Albu, M.G., Ghica, M.V., Collagen-doxycycline spongiuous forms for infected tissues treatment, Proceedings of ICAMS 2014 – 5th International Conference on Advanced Materials and Systems, **2014**, 249-254.
20. Orțan, A., Dinu-Pîrvu, C., Ghica, M.V., Popescu, L.M., Ioniță, L., *Rom. Biotech. Lett., Suppl.*, **2011**, 16, 1, 47-54.
21. Albu, M.G., Ghica, M.V., Tang, K., Liu, J., Coara, GH., *Revista de Pielarie Incaltaminte (Leather and Footwear Journal)*, **2012**, 12, 3, 193-200.
22. Albu, M.G., Fica, A., Lungu, A., *Revista de Pielarie Incaltaminte (Leather and Footwear Journal)*, **2010**, 10, 3, 39-50.

Article received/Data primirii articolului: 30.11.2015

Accepted/Acceptat la data: 15.12.2015