



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE**  
**„CAROL DAVILA” din BUCUREȘTI**



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE**  
**„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI**  
**SCOALA DOCTORALĂ**  
**DOMENIUL FARMACIE**

***Studii fizico-chimice comparative pe noi formulări  
farmaceutice realizate din extracte colagenice din  
resursele Mării Negre***

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. RODICA SÎRBU**

**Student-doctorand:**

**PEȘTERĂU ANA-MARIA**

**2026**

---

***Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București***

*Strada Dionisie Lupu nr. 37 București, Sector 2, 020021 România, Cod fiscal:*

*4192910 Cont: RO57TREZ70220F330500XXX, Banca: TREZORERIE sect. 2*

*+40.21 318.0719; +40.21 318.0721; +40.21 318.0722*

| <b>CUPRINS</b>                                                                                                                                                    |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>INTRODUCERE.....</b>                                                                                                                                           | <b>1</b>  |
| <b>I. PARTEA GENERALĂ.....</b>                                                                                                                                    | <b>5</b>  |
| <b>CAPITOLUL 1. STUDII COMPARATIVE ALE COLAGENULUI MARIN PROVENIT DIN MEDUZE AFLATE ÎN MAREA NEAGRĂ ȘI PRINCIPALELE TEHNICI DE EXTRACȚIE.....</b>                 | <b>6</b>  |
| 1.1. Introducere.....                                                                                                                                             | 6         |
| 1.2. Surse marine din care se extrage colagenul marin.....                                                                                                        | 7         |
| 1.3. Diversitatea speciilor de meduze, descriere, habitat, distribuție în apele europene – bazinul Mării Negre .....                                              | 9         |
| 1.4. Descrierea, încadrarea taxonomică și importanța biomedicală a compușilor constituenți speciei de meduze <i>Rhizostoma pulmo</i> din bazinul Mării Negre..... | 11        |
| 1.5. Tehnici de extracție a colagenului marin.....                                                                                                                | 14        |
| <b>CAPITOLUL 2. METODE MODERNE DE ANALIZĂ ȘI CARACTERIZARE A EXTRACTELOR ȘI FORMULĂRILOR TOPICE PE BAZĂ DE COLAGEN DE MEDUZĂ <i>RHIZOSTOMA PULMO</i>.....</b>     | <b>17</b> |
| 2.1. Introducere.....                                                                                                                                             | 17        |
| 2.2. Aplicațiile colagenului marin.....                                                                                                                           | 17        |
| 2.3. Structura și compoziția colagenului marin.....                                                                                                               | 19        |
| 2.4. Implicarea colagenului în tratarea afecțiunilor pielii.....                                                                                                  | 22        |
| 2.5. Factorii care influențează absorbția dermică a substanțelor active.....                                                                                      | 23        |
| 2.6. Formulări farmaceutice cu administrare topică.....                                                                                                           | 24        |
| 2.7. Metode moderne de analiză a biocompușilor.....                                                                                                               | 25        |
| <b>CAPITOLUL 3. IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE.....</b>                                                                                                 | <b>30</b> |
| 3.1. Ipoteza de lucru.....                                                                                                                                        | 30        |
| 3.2. Obiective generale.....                                                                                                                                      | 30        |
| <b>II. CONTRIBUȚII PERSONALE.....</b>                                                                                                                             | <b>32</b> |
| <b>CAPITOLUL 4. EXTRACȚIA ȘI VALIDAREA METODEI DE OBTINERE A COLAGENULUI DIN MEDUZĂ <i>RHIZOSTOMA PULMO</i>.....</b>                                              | <b>33</b> |
| 4.1. Extracția colagenului din meduza <i>Rhizostoma pulmo</i> .....                                                                                               | 33        |
| 4.1.1. Ipoteza de lucru și obiectivele specific.....                                                                                                              | 33        |
| 4.1.2. Material și metodă.....                                                                                                                                    | 33        |
| 4.1.3. Rezultate și discuții.....                                                                                                                                 | 39        |
| 4.2. Validarea metodei de extracție din extractul colagenic de <i>R. pulmo</i> .....                                                                              | 42        |
| 4.2.1. Ipoteza de lucru și obiective specific.....                                                                                                                | 42        |
| 4.2.2. Material și metodă.....                                                                                                                                    | 42        |
| 4.2.3. Rezultate și discuții.....                                                                                                                                 | 46        |
| <b>CAPITOLUL 5. STUDII REFERITOARE LA CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ A COLAGENULUI DE MEDUZA <i>RHIZOSTOMA PULMO</i> DIN BAZINUL MĂRII NEGRE.....</b>              | <b>54</b> |
| 5.1. Caracterizarea fizico-chimică a colagenului de meduză <i>Rhizostoma pulmo</i> .....                                                                          | 54        |
| 5.2. Identificarea și caracterizarea colagenului prin metoda SDS-PAGE.....                                                                                        | 54        |
| 5.2.1. Ipoteza de lucru și obiective specific.....                                                                                                                | 54        |

|                                                                                                                       |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.2.2. Material și metodă.....                                                                                        | 55        |
| 5.2.3. Rezultate și discuții.....                                                                                     | 56        |
| 5.3. Analiza prin spectroscopia dicroismului UV-DC.....                                                               | 57        |
| 5.3.1. Ipoteza de lucru și obiective principale.....                                                                  | 57        |
| 5.3.2. Materiale și metodă.....                                                                                       | 58        |
| 5.3.3. Rezultate și discuții.....                                                                                     | 58        |
| 5.4. Temperatura de denaturare a colagenului de meduză specia <i>R. pulmo</i> .....                                   | 59        |
| 5.5. Analiza prin spectroscopie FT-IR.....                                                                            | 61        |
| 5.5.1. Ipoteza de lucru și obiective generale.....                                                                    | 61        |
| 5.5.2. Material și metodă.....                                                                                        | 61        |
| 5.5.3. Rezultate și discuții.....                                                                                     | 62        |
| 5.6. Analiza termogravimetrică.....                                                                                   | 64        |
| 5.6.1. Ipoteza de lucru și obiective generale.....                                                                    | 64        |
| 5.6.2. Material și metodă.....                                                                                        | 64        |
| 5.6.3. Rezultate și discuții.....                                                                                     | 64        |
| 5.7. Analiza spectrofotometrică în domeniu UV-VIS.....                                                                | 65        |
| 5.7.1. Ipoteză de lucru și obiective generale.....                                                                    | 65        |
| 5.7.2. Material și metodă.....                                                                                        | 66        |
| 5.7.3. Rezultate și discuții.....                                                                                     | 66        |
| 5.8. Analiza de microscopie optică și electronică (SEM).....                                                          | 67        |
| 5.8.1. Ipoteza de lucru și obiective generale.....                                                                    | 67        |
| 5.8.2. Material și metodă.....                                                                                        | 68        |
| 5.8.3. Rezultate și discuții.....                                                                                     | 69        |
| 5.8.4. Concluzii.....                                                                                                 | 70        |
| <b>CAPITOLUL 6. STUDII REFERITOARE LA COMPOZIȚIA BIOCHIMICĂ A COLAGENULUI EXTRAS DIN MEDUZA RHIZOSTOMA PULMO.....</b> | <b>72</b> |
| 6.1. Analiza biochimică a colagenului extras din <i>Rhizostoma pulmo</i> .....                                        | 72        |
| 6.2. Determinarea caracteristicilor biochimice ale colagenului extras din <i>R. pulmo</i> .....                       | 72        |
| 6.3. Determinarea aminoacizilor din meduza <i>R. pulmo</i> .....                                                      | 73        |
| 6.3.1. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....                                                                  | 73        |
| 6.3.2. Material și metodă.....                                                                                        | 74        |
| 6.3.3. Rezultate și discuții.....                                                                                     | 74        |
| 6.4. Determinarea conținutului total de polifenoli din meduza <i>R. pulmo</i> .....                                   | 76        |
| 6.4.1. Ipoteză de lucru și obiective specific.....                                                                    | 76        |
| 6.4.2. Material și metodă.....                                                                                        | 76        |
| 6.4.3. Rezultate și discuții.....                                                                                     | 77        |
| 6.5. Determinarea compușilor fenolici din extractul colagenic prin HPLC.....                                          | 78        |
| 6.5.1. Ipoteză de lucru și obiective specific.....                                                                    | 78        |
| 6.5.2. Material și metodă.....                                                                                        | 79        |
| 6.5.3. Rezultate și discuții.....                                                                                     | 80        |
| 6.6. Concluzii.....                                                                                                   | 83        |

|                                                                                                                                                                                                             |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>CAPITOLUL 7. PROPRIETĂȚILE BIOLOGICE ALE COLAGENULUI EXTRAS DIN MEDUZA <i>RHIZOSTOMA PULMO</i>.....</b>                                                                                                  | <b>84</b>  |
| 7.1. Determinarea activității antioxidante prin metoda DPPH.....                                                                                                                                            | 84         |
| 7.1.1. Ipoteza de lucru și obiective specific.....                                                                                                                                                          | 84         |
| 7.1.2. Material și metodă.....                                                                                                                                                                              | 84         |
| 7.1.3. Rezultate și discuții.....                                                                                                                                                                           | 85         |
| 7.2. Determinarea activității antioxidante prin metoda Reducing Power.....                                                                                                                                  | 87         |
| 7.2.1. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....                                                                                                                                                        | 87         |
| 7.2.2. Material și metodă.....                                                                                                                                                                              | 87         |
| 7.2.3. Rezultate și discuții.....                                                                                                                                                                           | 88         |
| 7.3. Determinarea activității antibacteriene a colagenului de meduză <i>R. pulmo</i> .....                                                                                                                  | 89         |
| 7.3.1. Ipoteza de lucru și obiective specific.....                                                                                                                                                          | 89         |
| 7.3.2. Material și metodă.....                                                                                                                                                                              | 89         |
| 7.3.3. Rezultate și discuții.....                                                                                                                                                                           | 90         |
| 7.4. Concluzii.....                                                                                                                                                                                         | 92         |
| <b>CAPITOLUL 8. STUDII PRIVIND FORMULAREA UNOR PREPARATE FARMACEUTICE TOPICE PE BAZĂ DE COLAGEN DE MEDUZĂ SPECIA <i>RHIZOSTOMA PULMO</i>.....</b>                                                           | <b>93</b>  |
| 8.1. Formularea de hidrogeluri colagenice obținute din <i>Rhizostoma pulmo</i> cu diverse substanțe active.....                                                                                             | 93         |
| 8.1.1. Ipoteza de lucru și obiective specific.....                                                                                                                                                          | 93         |
| 8.1.2. Material și metodă.....                                                                                                                                                                              | 94         |
| 8.1.3. Rezultate și discuții.....                                                                                                                                                                           | 95         |
| 8.2. Formularea de hidrogeluri colagenice cu diferite alge marine.....                                                                                                                                      | 97         |
| 8.2.1. Ipoteza de lucru și obiective specific.....                                                                                                                                                          | 97         |
| 8.2.2. Material și metodă.....                                                                                                                                                                              | 97         |
| 8.2.3. Rezultate și discuții.....                                                                                                                                                                           | 98         |
| 8.3. Formularea de pelicule colagenice din meduză cu diverse substanțe active.....                                                                                                                          | 99         |
| 8.3.1. Ipoteză de lucru și obiective specific.....                                                                                                                                                          | 99         |
| 8.3.2. Material și metodă.....                                                                                                                                                                              | 100        |
| 8.3.3. Rezultate și discuții.....                                                                                                                                                                           | 100        |
| 8.4. Formularea de pelicule colagenice din meduză specia <i>R. pulmo</i> cu alge marine.....                                                                                                                | 101        |
| 8.4.1. Ipoteză de lucru și obiective specific.....                                                                                                                                                          | 101        |
| 8.4.2. Material și metodă.....                                                                                                                                                                              | 101        |
| 8.4.3. Rezultate și discuții.....                                                                                                                                                                           | 102        |
| 8.5. Concluzii.....                                                                                                                                                                                         | 103        |
| <b>CAPITOLUL 9. STUDIUL CAPACITĂȚII DE VINDECARE A RĂNILOR PE BAZA UNOR PREPARATE CU COLAGEN EXTRAS DIN MEDUZA <i>RHIZOSTOMA PULMO</i>.....</b>                                                             | <b>104</b> |
| 9.1. Studiul unui nou biocompozit din colagen de meduză, specia <i>Rhizostoma pulmo</i> în combinație cu alga <i>Cystoseira barbata</i> și analiza proprietăților de recuperare și vindecare a rănilor..... | 104        |
| 9.2. Studiu reologic al hidrogelurilor compozite JPC-ALG.....                                                                                                                                               | 106        |
| 9.3. Vindecarea rănilor prin testul de zgâriere a fibroblastelor.....                                                                                                                                       | 109        |

|                                                                                                                                                                                                                                  |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 9.4. Vindecarea rănilor prin testul de zgâriere cu keratocite.....                                                                                                                                                               | 111        |
| <b>CAPITOLUL 10. STUDII PRIVIND EVALUAREA <i>IN VITRO</i> A EFECTELOR ANTITUMORALE ÎN CAVITATEA BUCALĂ A UNUI BIOCOMPOZIT DIN COLAGEN DE MEDUZA <i>RHIZOSTOMA PULMO</i> ȘI CIUPERCA MEDICINALĂ <i>GANODERMA LUCIDUM</i>.....</b> | <b>115</b> |
| 10.1. Studiul unui nou biocompozit din colagen de meduză specia <i>Rhizostoma pulmo</i> și ciuperca medicinală <i>Ganoderma lucidum</i> .....                                                                                    | 115        |
| 10.2. Studiul activității antibacteriene a biocompozitului din colagen de meduză, specia <i>Rhizostoma pulmo</i> și ciuperca specia <i>Ganoderma lucidum</i> .....                                                               | 115        |
| 10.3. Determinarea activității antitumorale a biocompozitelor din <i>R. pulmo</i> și <i>G. lucidum</i> .....                                                                                                                     | 118        |
| 10.4. Concluzii.....                                                                                                                                                                                                             | 121        |
| <b>CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE.....</b>                                                                                                                                                                                   | <b>123</b> |
| <b>BIBLIOGRAFIE.....</b>                                                                                                                                                                                                         | <b>127</b> |

## INTRODUCERE

Teza de doctorat intitulată ”*Studii fizico-chimice comparative pe noi formulări farmaceutice realizate din extracte colagenice din resursele Mării Negre*” abordează o problemă de actualitate pentru domeniul medical.

*Elementul de noutate* al acestei teze de doctorat îl reprezintă extracția și studierea caracteristicilor colagenului marin din specia de meduze *Rhizostoma pulmo*, din bazinul Mării Negre și formularea de noi biocompozite obținute din extracte colagenice de meduză în combinație cu substanțe medicamentoase, alți compuși marini sau compuși din extracte naturale terestre. A fost stabilită o metodă de extragere a colagenului din meduza *R. pulmo* din Marea Neagră, care a fost și validată cu ajutorul parametrilor de validare specifici, fiind o noutate prelucrarea meduzei *R. pulmo* din Marea Neagră.

Teza de doctorat este structurată în două părți: primele două capitole ale tezei reprezintă partea generală din punct de vedere teoretic a lucrării și constă în prezentarea importanței colagenului de origine marină ca resursă alternativă. Capitolul 1 cuprinde proprietățile colagenului și studiul meduzelor din punct de vedere al diversității speciilor, descrierea, habitatul, distribuția în apele europene, în mod special bazinul Mării Negre precum și importanța acestora în biodiversitatea marină. Capitolul 2 al tezei se axează pe studiul structurii și al compoziției colagenului marin, modalitățile de penetrare prin piele a substanțelor active, analiza sistemului transdermic de administrare a substanțelor medicamentoase, analiza structurii și reologiei preparatelor topice cu structură de gel și studiul metodelor de analiză fizico-chimice și biologice folosite în cadrul tezei. În cel de-al treilea Capitol sunt enumerate obiectivul general și cele specifice fiecărui studiu realizat, ipoteza de lucru a tezei și metodologia de lucru abordată.

Partea de contribuții personale a debutat cu Capitolul 4 care prezintă metoda de extracție utilizată, calculul randamentului obținut din colagenul de meduză *R. pulmo* și validarea metodei de lucru prin determinarea conținutului de hidroxiprolină din colagenul extras. Capitolul 5 prezintă analiza fizico-chimică și microscopică a colagenului de meduză *R. pulmo*. Capitolul 6 are în vedere identificarea aminoacizilor, a conținutului total de polifenoli, a compușilor polifenolici prin metoda cromatografică (HPLC) și caracterizarea biochimică a colagenului de meduză specia *Rhizostoma pulmo* extrasă din bazinul Mării Negre. În Capitolul 7 sunt analizate proprietățile biologice ale colagenului de meduză *R. pulmo* prin determinarea activității antioxidante prin două metode: metoda DPPH și metoda Reducing Power și studiul activității antibacteriene. Capitolul cu numărul 8 cuprinde

formularea unor preparate farmaceutice provenite din *Rhizostoma pulmo* impregnate cu substanțe medicamentoase și trei specii diferite de alge din bazinul Mării Negre. Capitolul 9 vizează un studiu *in vitro* pe baza testului de zgâriere în care se dorește demonstrarea capacității de vindecare a rănilor, de reepitelizare a țesutului cu ajutorul unui nou biocompozit din collagen de meduză din specia *Rhizostoma pulmo* și alga brună specia *Cystoseira barbata*, ambele extrase din bazinul Mării Negre. Capitolul 10 prezintă studiul citotoxicității unui biocompozit inovativ obținut din collagen de meduză, specia *R. pulmo* și ciuperca medicinală *Ganoderma lucidum*, precum și activitatea antibacteriană a noii formulări topice obținute cu aplicații medicale anti-tumorale la nivel cavitații bucale.

## **I. PARTEA GENERALĂ**

### **CAPITOLUL 1. STUDII COMPARATIVE ALE COLAGENULUI MARIN PROVENIT DIN MEDUZE AFLATE ÎN MAREA NEAGRĂ ȘI PRINCIPALELE TEHNICI DE EXTRAȚIE**

Obiectivul general al acestui capitol este analiza collagenului, a surselor din care provine, evidențierea avantajelor și dezavantajelor utilizării collagenului din surse marine, precum și studiul comparativ al tehnicilor de extracție, în mod special al collagenului de meduză specia *Rhizostoma pulmo* din bazinul Mării Negre. Sunt descrise date de literatură referitoare la diversitatea speciilor de meduze, descrierea, habitatul, și distribuția acestor surse de collagen marin în apele europene – bazinul Mării Negre precum și importanța lor în domeniul farmaceutic, medical, nutraceutic și chiar al industriei alimentare.

Colagenul este cea mai întâlnită proteină din organism. Aceste proteine formează fibre care ajută la construirea și menținerea părților corpului, sunt prezente și în mușchi, păr, piele, oase, tendoane și ligamente. Cercetătorii au identificat cel puțin 29 de tipuri de collagen, dar cele clasificate ca tip I, II și III reprezintă 80% până la 90% din collagenul total (Deyl, 2003).

Colagenul are o gamă largă de aplicații datorită caracteristicilor sale speciale, care au o biocompatibilitate ridicată, o bună bioactivitate și o antigenicitate redusă. Proteinele marine, obținute din diverse pești, meduze, bureți sau alte forme de viață marină, sunt produse funcționale excelente pentru industria cosmetică, dar și pentru formularea de noi preparate farmaceutice pentru uz dermatologic (**Pesterau, 2022**). Colagenul marin este extras atât din creaturi marine vertebrate, cât și nevertebrate. Extractele collagenice marine au fost studiate pentru aplicații în diferite domenii: biomateriale, vindecarea rănilor, utilizarea în diete și produse cosmetice (Cadar, 2023; Gaspar-Pintilescu, 2021; Benayahu,

2020; Gallo, 2020). S-a demonstrat că meduzele joacă un rol important în ecosistemele marine, fiind utilizate în domenii diverse, cele mai importante fiind: alimentar, medical, cosmetic și biotehnologic. Deși meduzele sunt o resursă marină bogată și naturală, acestea sunt încă subutilizate pentru compușii săi bioactivi în comparație cu alte animale marine. Avantajele colagenului din sursă marină sunt cu mult mai numeroase decât dezavantajele, principalele avantaje fiind siguranța, biocompatibilitatea, absorbția superioară, eliminarea barierei religioase și capacitatea de sclare a producției acestui tip de colagen.

## **CAPITOLUL 2. METODE MODERNE DE ANALIZĂ ȘI CARACTERIZARE A EXTRACTELOR ȘI FORMULĂRILOR TOPICE PE BAZĂ DE COLAGEN DE MEDUZĂ *RHIZOSTOMA PULMO***

Analiza colagenului este relevantă pentru o serie de domenii, cum ar fi ingineria țesuturilor, medicina regenerativă, dezvoltarea și administrarea medicamentelor, precum și biomecanica. În prezent, există mai multe metode de identificare și cuantificare a colagenului, dintre care majoritatea nu sunt suficient de sensibile, specifice sau rentabile (Cadar, 2024). Capitolul 2 prezintă datele de structură ale colagenului și aplicațiile sale. Sunt sistematizate și tipurile de analize prin care este caracterizat colagenul de meduză precum și biocompozitele realizate pe bază de colagen marin. Este analizată și forma farmaceutică de hidrogel care este cea mai des întâlnită între formulările farmaceutice colagenice cu aplicație topică. Pentru aprecierea stabilității acestui tip de formulare a fost realizat studiul reologic al formelor. Formele de viață marine sunt, de asemenea, o sursă considerabilă de colagen, care poate fi extras din bureți, pești și meduze (Song, 2021). Acești colageni sunt folosiți pe scară largă în industrie, dar mai puțin pentru cercetare și utilizare clinică (Lin, 2009).

În cazul colagenului de meduze, ca urmare a acestei variații genetice, este puțin probabil ca secvențele peptidice ale colagenelor provenite de la diferite specii să fie identice, fiind necesare caracterizări separate ale colagenelor derivate de la fiecare specie înainte ca aplicațiile biomedicale să poată fi stabilite și exploatate pentru fiecare specie de meduză în parte. A fost discutată și structura de triplu helix, dar și diferența de masă moleculară dintre colagen (300.000 Da), gelatină (2.000- 200.000 Da) și peptidele de colagen (300-8.000 Da). Ryu et al. (2021) au arătat că enzimele proteolitice pot descompune proteinele în hidrolizate care conțin peptide mici formate din 2-20 aminoacizi (Ryu, 2021). Greutatea moleculară, lungimea și secvența peptidelor, precum și compoziția lor aminoacidică influențează

proprietățile lor bioactive, hidrolizatele produc forme de aminoacizi care sunt utile în susținerea diverselor funcții biologice umane, după cum afirmă Yathisha și colaboratorii săi (Yathisha, 2018).

Aplicațiile topice cu utilizarea căii transdermice sunt importante în tratamentul diferitelor boli dermice, aplicații cosmetice și în vindecarea rănilor. Calea transdermică de administrare a multor medicamente este limitată, deoarece foarte puține medicamente pot fi administrate la o rată viabilă folosind această cale (Yu, 2021). Gelurile au devenit populare în cosmetică și în tratamentele medicinale topice, ca un exemplu fiind vindecarea rănilor, care în ultimii ani datorită proprietăților lor avantajoase, (nu sunt grase, se întind ușor și se îndepărtează rapid). Formele de viață marine sunt, de asemenea, o sursă considerabilă de collagen, care poate fi extras din bureți, pești și meduze (Song, 2021). Acești colageni sunt folosiți pe scară largă în industrie, dar mai puțin pentru cercetare și utilizare clinică (Lin, 2009).

### **CAPITOLUL 3. IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE**

Teza de doctorat are la bază mai direcții de cercetare care au avut ipoteze distincte. O primă ipoteză de lucru are la bază dezideratul inițial al acestei teze și anume identificarea unei metode viabile de extracție a collagenului marin, validarea acestei metode prin determinarea conținutului de hidroxiprolină, precum și caracterizarea biochimică a collagenului obținut din meduza *Rhizostoma pulmo* aflată în bazinul Mării Negre. O altă ipoteză de lucru vizează caracterizarea fizico-chimică și biologică ale collagenului extras din meduză, specia *Rhizostoma pulmo*. Cea de a treia direcție de lucru a fost concretizată în studiul formulărilor farmaceutice pe bază de collagen și peptide collagenice sub formă de higrogel, filme, matrici și biocompozite cu alte substanțe sau extracte de origine marină (alge) sau terestră (fungi) cu destinație ulterioară pentru tratamente medicale sau cosmetice.

Principalele direcții de studiu care se bazează pe metodologii specifice de cercetare vizează: fixarea unui proces biologic și tehnologic de extracție inovativ a collagenului din specia *Rhizostoma pulmo* din Marea Neagră și validarea metodei de extracție a collagenului de meduză, specia *Rhizostoma pulmo* din Marea Neagră. S-a realizat caracterizarea fizico-chimică a collagenului de meduză prin intermediul: SDS-PAGE, spectroscopia dicroismului UV-DC, determinarea temperaturii de denaturare a collagenului de meduză, analiza prin spectroscopia FT-IR, analiza termogravimetrică, spectrofotometria UV-VIS, microscopia prin metoda optică și electronică. După s-a făcut analiza biochimică a collagenului de meduză

și identificarea aminoacizilor și a compușilor fenolici din *R. pulmo* prin HPLC, dar și conținutul total de polifenoli prin metoda Folin-Ciocalteu. Proprietățile biologice ale collagenului marin *R. pulmo* s-au analizat prin determinarea activității antioxidante și antibacteriene.

Un obiectiv important a fost obținerea și caracterizarea unor noi formulări farmaceutice pe bază de collagen de meduză și alte surse marine, vegetale sau substanțe medicamentoase sub formă de: hidrogeluri, pelicule, membrane, matrici cu utilizare topică. Ultimele două obiective au vizat realizarea unor studii *in vitro* a formelor farmaceutice cu aplicație topică din collagen de meduză cu alge și stabilirea gradului de epitelizare prin testul de zgâriere, precum și obținerea și analiza capacității de vindecare a unor biocompozite din extracte collagenice de meduză și ciuperca *Ganoderma lucidum* în vederea testării preliminare a capacității de vindecare *in vitro* a unor cancere la nivel bucal de tip (OSCC).

#### **CAPITOLUL 4. EXTRAȚIA ȘI VALIDAREA METODEI DE OBȚINERE A COLAGENULUI DIN MEDUZĂ *RHIZOSTOMA PULMO***

Ipoteza de lucru a acestui capitol a fost descrierea metodei de extracție a collagenului din meduze, specia *Rhizostoma pulmo* din Marea Neagră. Printre obiectivele specifice au fost: pregătirea materialului, pretratarea și extracția propriu-zisă a collagenului marin. Metodele utilizate pentru extracția collagenului sunt: metoda collagenului solubilizat în acid (ASC), extracții cu collagen solubilizat în pepsină (PSC), cu solvent eutectic profund (DES) și cu fluid supercritic (SF), acestea sunt metodele majore raportate în literatură (Addad, 2011) pentru izolarea collagenului. Materialele folosite pentru extracție sunt reprezentate de o meduză din bazinul Mării Negre de dimensiune de aproximativ 30-40 de cm lungime, greutate 877-1200 g țesut umed (vezi Figura 4.1. și 4.2.).



**Figura 4.1. *Rhizostoma pulmo* meduză din Marea Neagră**



**Figura 4.2. Lungimea meduzei *Rhizostoma pulmo***

În Tabelul IV.2 sunt prezentate principalele metode de izolare a collagenului marin comparând metoda de extracție a collagenului de meduză prin (ASC) metoda acidă cu acid

acetic și cea enzimatică cu pepsină (PSC) având în vedere etapele parcurse de fiecare metodă în parte.

**Pregătirea meduzei:** prima operațiune realizată este spălarea de mai multe ori cu apă curată, apoi mărunțirea ei și pregătirea pentru operațiunile viitoare necesare extracției de collagen.

**Extracția collagenului solubil prin procedeul ASC.** Extracția s-a efectuat în trei etape diferite: precipitarea, filtrarea și apoi centrifugarea. Meduza a fost spălată cu atenție pentru îndepărtarea reziduurilor (Figura 4.9.), după această etapă s-a pregătit materialul pentru efectuarea pretratării (Figura 4.10.), ulterior au fost separate brațele orale de clopot (Figura 4.11.), meduza a fost cântărită și apoi introdusă în acid acetic 0.5 M.



Figura 4.9. Spălarea cu apă a meduzei



Figura 4.10. Pregătirea meduzei de pretratare

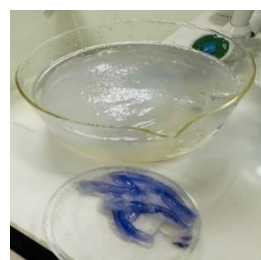


Figura 4.11. Separarea clopotului de brațele orale

La intervale de 24 de ore, supernatantul a fost îndepărtat, iar reziduul din vas a fost acoperit din nou cu soluție proaspătă de acid acetic 0.5 M.

**Precipitarea:** Amestecul opalescent obținut s-a tratat cu clorură de sodiu (NaCl) 0.9 M pentru obținerea unui precipitat omogen. Cristatele de NaCl au intrat în structura collagenului extras din meduza *R. pulmo* prin metoda acidă (ASC), acest lucru a dus la o soluție omogenă (Figura 4.13.). Se poate observa în Figura 4.12 că supernatantul 1 (F1) este ușor roz, numărul 2 (F2) este un galben pal, iar cel de-al treilea (F3) este aproape incolor. Supernatantul poate fi descris ca fiind un lichid cu aspect vâscos, de culoare albă opalescentă.

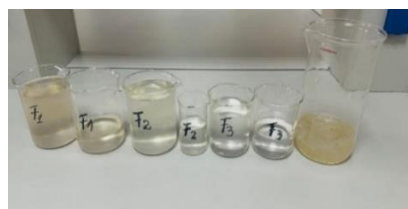


Figura 4.12. Filtratele după cele 72 h supuse extracției cu acid acetic 0.5M



Figura 4.13. Precipitarea filtratului reunit cu NaCl 0,9M

**Filtrarea:** amestecurile au fost trecute prin sită cu ochiuri de 0,5 mm și prin filtre de tifon, la final, reunirea precipitatelor a condus la obținerea unui amestec opalescent.

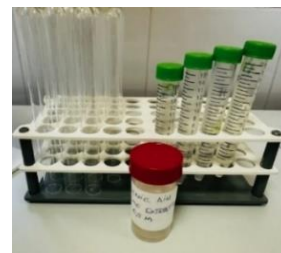
**Centrifugarea:** precipitatul colagenic obținut din meduză a fost separat prin centrifugare (Figura 4.17.). Produsul final (Figura 4.19.) a constat într-un hidrolizat colagenic de culoare albă, cu aspect de gel, obținut în urma extracției cu acid acetic 0.5 M.



**Figura 4.17. Pregătirea probelor**



**Figura 4.18. Centrifugarea probelor de collagen**



**Figura 4.19. Hidrolizatele colagenice centrifugate**

**Reticularea:** s-a efectuat folosind 10% acid tanic, cantitate suficientă pentru a reticula collagenul extras din meduză. Scopul reticulării chimice este reducerea antigenității biomaterialelor prin prevenirea degradării collagenului. Figura 4.20. prezintă hidrolizatului colagenic de meduză înainte de reticulare. În urma procesului, s-a obținut un produs final cu o concentrație de 2%, de culoare albă, omogen și cu aspect gelatinos (Figura 4.21).



**Figura 4.20. Hidrolizatului colagenic de meduză înainte de reticulare**



**Figura 4.21. Reticularea cu acid tanic a hidrolizatului colagenic de meduză**

**Liofilizarea:** collagenul liofilizat din specia de meduză *Rhizostoma pulmo* (Figura 4.23.) se prezintă sub forma unei pelicule albe, neregulate, ușor spongioase, denumită matrice, având calități asemănătoare matricei extracelulare. Prin liofilizare s-a obținut collagen sub formă de pulbere de culoare albă.

**Randamentul** obținut din meduza *Rhizostoma pulmo* prin cele două metode de extracție (ASC) și (PSC). Randamentul cel mai bun de collagen a fost obținut folosind în special brațele orale cu pentru *Rhizostoma pulmo* și metoda de extracție cu pepsină (2-10 mg collagen/g țesut umed). Extracția cu pepsină este un procedeu îmbunătățit de extracție a collagenului, care permite scindarea regiunilor telopeptidice ale triplei helix, facilitând ieșirea peptidelor de collagen în soluție și creșterea randamentelor de extracție.

#### **Validarea metodei de obținere**

Metoda utilizată în vederea determinării conținutului de hidroxiprolină în produsele proteice din meduză a fost validată în concordanță cu criteriile de performanță existente.

Curba standard obținută este liniară, coeficientul de variație al metodei este  $V_{x_0} = 4,03 < 10\%$ , coeficientul de corelație  $R = 0,997 > 0,995$ , iar valoarea informatorului comparativ  $F = 4,54$ , liniaritatea a fost respectată pe întreg domeniul de lucru stabilit, în acest caz curba de calibrare îndeplinește criteriile de performanță (limita de detecție și de cuantificare, acuratețea, fidelitatea, stabilitatea, robustețea, repetabilitatea și incertitudine de măsurare) (Peșterău 2025). Criteriile de performanță se încadrează în cerințe, ceea ce arată că metoda este viabilă pentru analiza conținutului de hidroxiprolină din extractul obținut de meduză specia *Rhizostoma pulmo*.

## **CAPITOLUL 5. STUDII REFERITOARE LA CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ A COLAGENULUI DE MEDUZA *RHIZOSTOMA PULMO* DIN BAZINUL MĂRII NEGRE**

În Capitolul 5 s-a dorit realizarea unui studiu fizico-chimic și microscopic de caracterizare avansată, a colagenului extras din meduza *Rhizostoma pulmo* care se află în bazinul Mării Negre, cu scopul de a evalua potențialul său ca resursă biotehnologică valorificabilă în mai multe domenii.

**Identificarea și caracterizarea colagenului extras din meduza *Rhizostoma pulmo* prin metoda SDS-PAGE.** Prezența lanțurilor  $\alpha 1$  și  $\alpha 2$  este vizibilă, atât la colagenul din meduza *R. pulmo*, cât și la cea din pielea de pește *Grey Mullet*, iar lanțurile  $\beta$  și  $\gamma$  sunt identificate în zone diferite, dar mai mari la colagenul de pește față de cel de meduză. Cele două metode de extracție (ASC și PSC) au evidențiat caracteristici similare.

Modelul electroforetic este caracteristic colagenului de tip I, cu lanțuri  $\alpha$  distincte  $\alpha 1$  și  $\alpha 2$  de mobilitate diferită. Analiza SDS-PAGE a evidențiat mai multe benzi proteice majore pentru colagenul extras din meduze, ceea ce este în concordanță cu publicațiile anterioare privind greutatea moleculară a colagenilor extrași din *R. pulmo* realizate de (De Domenico, 2019; Addad, 2011; Widdowson, 2018; Paradiso, 2019).

**Analiza prin spectroscopia dicroismului UV-DC.** Prin această analiză se dorește demonstrarea stucturii helicoidale a colagenului de meduză *R. pulmo*, iar printre obiectivele principale se numără și determinarea gradului de denaturare și renaturare a probelor de colagen marin extras din acest nevertebrat. Comparând rezultatele obținute în urma analizei spectrului UV-DC al colagenului din meduză putem afirma că acesta este în concordanță cu literatura de specialitate validând structura de triplu-helix tipică colagenului.

### **Temperatura de denaturare a colagenului de meduză specia *R. pulmo***

Temperatura de topire a colagenului de meduză analizat a fost de aproximativ 28,9°C, se poate remarca faptul că este semnificativ mai mică decât temperatura de denaturare a colagenului din sursă animală (37°C), acest fapt este determinat de habitatul mai temperat al meduzei *R. pulmo* și, prin urmare, temperatura fiziologică mai scăzută necesară pentru remodelarea țesuturilor *in vivo* (Subhan, 2015).

**Analiza prin spectroscopie FT-IR.** S-a dorit demonstrarea tipului de colagen existent în meduza *Rhizostoma pulmo* și caracterizarea acestuia prin spectroscopia în infraroșu cu transformanță Fourier (FT-IR), acesta este un instrument analitic puternic care a fost utilizat pentru caracterizarea proteinelor și peptidelor de-a lungul anilor. FT-IR poate fi utilizat pentru a prezice conținutul de colagen în probele de proteine hidrolizate (Kristoffersen, 2023).

Modelele spectrale ale benzilor amidice ale colagenului extras din meduza *R. pulmo* au fost comparabile cu sursele de colagen din mamifere, precum și frecvențele de vârf ale amidelor I, II, III. Amida I a fost în punctul 1647 cm<sup>-1</sup> la *R. pulmo*, iar picul amidei II a fost de 1550 cm<sup>-1</sup>. Amida III a prezentat o frecvență de vârf la 1238 cm<sup>-1</sup> la *R. pulmo*. Analiza FT-IR a confirmat structura de triplu helix a colagenului de meduză, structura intermoleculară ridicată și structura secundară similară a proteinelor între sursele diferite de colagen.

**Analiza termogravimetrică.** Conform rezultatelor TGA din colagenul extras din meduză, apa s-a deshidratat la aproximativ 100°C și a reprezentat 12,87% din greutatea totală a colagenului. Profilul analizei termogravimetrice al colagenului de meduză specia *R. pulmo*, arată faptul că pierderea de masă a colagenului are loc treptat în două etape. Componentele colagenului de meduză au fost 24,36% (componentă organică), 70,28% fiind apă, iar după 600°C au rămas numai componentele anorganice (cenușa) în valoare de 5,36%.

**Analiză spectrofotometrică UV-VIS.** În domeniul ultraviolet (200–280 nm), pelicula revelată oferă protecție împotriva radiațiilor UV (transmisia radiațiilor se apropie de zero).

**Analiza de microscopie optică și electronică (SEM).** Colagenul de meduză are un model fibros neregulat și dens care conține pori de dimensiuni neregulate și forme fibrilare complexe, cum ar fi filamente sub formă de panglică și ramificate precum au fost raportate și în studiile de specialitate. Microstructura distinctă a colagenului este bazată pe un model fibros dens, neregulat, această morfologie unică este o caracteristică esențială atunci când se studiază adecvarea colagenului de meduză ca biomaterial, de exemplu, în ingineria tisulară așa cum a menționat și literatura de specialitate anterior (Balıkcı, 2024).

## CAPITOLUL 6. STUDII REFERITOARE LA COMPOZIȚIA BIOCHIMICĂ A COLAGENULUI EXTRAS DIN MEDUZA *RHIZOSTOMA PULMO*

### Analiza biochimică a colagenului extras din *Rhizostoma pulmo*

În Tabelul VI.1. sunt reprezentate rezultatele analizei colagenului extras din meduza *R. pulmo* prin determinarea biocompoziției acestuia și exprimarea numerică a conținutului de proteine, lipide și carbohidrați ca procent din greutatea uscată (țesut uscat) în diferite părți anatomice ale meduzei: corpul întreg, clopot, brațe orale și gonade (Pesterau, 2025).

Tabelul VI.1. Caracteristicile biochimice ale colagenului din *R. pulmo*

| Caracteristicile hidrogelului       | Extract colagenic din <i>R. pulmo</i> cu 10% pepsină            | Referințe                                                                              |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Umiditate % (țesut uscat)           | 15,1 ± 0,1                                                      | -                                                                                      |
| Cenușă 600–800 °C % (țesut uscat)   | 0,55 ± 0,1                                                      | -                                                                                      |
| Proteine % (țesut uscat)            | 60,48 ± 1,72<br>23,59 ± 1,89 B; 32 ± 1,19 OA;<br>17,56 ± 1,98 G | 61,8 (Leone, 2015)<br>6 W; 8,7–13,7 B; (D'Ambra, 2022)<br>27 OA; 18 G (D'Ambra, 2022)  |
| Conținut de colagen % (țesut uscat) | 57,1 ± 0,6                                                      | 56,3 (De Domenico, 2019)                                                               |
| Lipide % (țesut uscat)              | 4,9 ± 0,81 W; 1,95 ± 0,3 G                                      | 2,3 W; (D'Ambra, 2022)<br>4,0 ± 0,1 W; 0,8 Brațe orale;<br>1.2 Gonade; (D'Ambra, 2022) |
| Carbohidrați % (țesut uscat)        | 0,59 ± 1,25 W; 0,25 ± 0,65 G                                    | -                                                                                      |

Datele sunt procente din greutatea uscată (DW) în ansamblu (W) sau în diferite părți ale corpului (B, clopot; OA, brațe orale; G, gonade). ±SD pentru n = 3.

### Determinarea aminoacizilor din meduza *R. pulmo*

Conținutul în aminoacizi regăsiți în meduza *R. pulmo* recoltată de pe litoralul românesc al Mării Negre. Ca referință sunt trecute valorile obținute de James et al. (2023) tot prin analizarea conținutului de aminoacizi din *R. pulmo* recoltată din Golful Goa, India (James, 2023). În extractul colagenic de *R. pulmo* din Marea Neagră au fost identificați în cantități mici *cistidină* (Cys), *histidină* (His) și *serină* (Ser).

În urma altor cercetări anterioare efectuate de către James et al. (2023) în cazul meduzei *Rhizostoma pulmo* s-au evidențiat următorii aminoacizi raportați în ordinea: Gly, Glu, Ala, Asp, Leu (James, 2023), comparativ analiza efectuată pe meduza din România unde ordinea este următoarea: Gly, Glu, Leu, Ala, Asp, Lis, Arg (Pesterau, 2025).

### Deteminarea conținutului total de polifenoli din meduza *R. pulmo*

Prin metoda colorimetrică Folin-Ciocalteu s-a confirmat ulterior existența polifenolilor, iar prezența acestora a fost determinată cantitativ prin raportare la etalonul de acid galic. Conținutul total de fenoli al hidrolizatului de colagen din meduză *R. pulmo*

determinat a fost de  $1540 \pm 291$   $\mu\text{g GAE/g DW}$ , un rezultat comparabil cu cele din alte lucrări de specialitate (Leone, 2019). Conform analizei efectuate prin metoda colorimetrică cu reactivul Folin-Ciocalteu asupra extractului colagenic de meduză specia *Rhizostoma pulmo* se poate afirma că există polifenoli în structura acestui nevertebrat, fapt care determină o acțiune antioxidantă a biocompușilor meduzei care este în concordanță cu literatura de specialitate (Leone, 2019).

#### **Determinarea compușilor fenolici din extractul colagenic de meduză specia *Rhizostoma pulmo* prin metoda HPLC**

Datorită faptului că s-a demonstrat existența compusilor fenolici s-a stabilit ca și obiectiv specific cercetarea suplimentară a tipului de polifenoli existenți din extractul colagenic de meduză *R. pulmo* extrasă din bazinul mării Negre prin identificarea și stabilirea denumirii fiecărui component în parte pe baza cromatografiei lichide de înaltă performanță (HPLC) cu detecție diode-array (HPLC-DAD).

În probele de collagen de meduză specia *Rhizostoma pulmo* extrasă din Marea Neagră au fost identificați trei polifenoli: acidul caftaric, galic și siringic. Analiza cromatografică prin metoda HPLC din cele două probe, filtrat și respectiv extract de collagen marin, specia *R. pulmo* a evidențiat prezența a trei polifenoli: acidul caftaric (280 nm), acidul galic (280 nm) și acidul siringic 230 (nm) (Pesterau, 2025). Analiza cromatografică prin metoda HPLC din cele două probe, filtrat și respectiv extract de collagen marin, specia *R. pulmo* a evidențiat prezența a trei polifenoli: acidul caftaric (280 nm), acidul galic (280 nm) și acidul siringic 230 (nm). Numărul de polifenoli identificați prin metoda HPLC în extractul colagenic de meduză nu a fost mare deoarece nu este specific pentru nevertebrate să înmagazineze compuși polifenolici caracteristici regnului vegetal.

## **CAPITOLUL 7. PROPRIETĂȚILE BIOLOGICE ALE COLAGENULUI EXTRAS DIN MEDUZA *RHIZOSTOMA PULMO***

În Capitolul 7 este discutată analiza proprietăților biologice ale collagenului obținut din meduza specia *Rhizostoma pulmo* extrasă din bazinul Mării Negre. S-a testat activitatea antioxidantă prin metoda DPPH și metoda Reducing Power, precum și cea antibacteriană pe mai multe specii de bacterii.

#### **Determinarea activității antioxidante prin metoda DPPH**

Activitatea antioxidantă a collagenului de meduză extras din *R. pulmo* a fost testată folosind două metode diferite: testele DPPH de absorbție și puterea de reducere. Rezultatele

au fost obținute după 30 de minute de la adăugarea soluției DPPH (**Pesterau, 2025**). Conform graficului valoarea maximă a collagenului extras din meduza *R. pulmo* este de 30,62%, față de acidul ascorbic cu un maxim de 98,50%.

Puterea antioxidantă a collagenului de meduză este mai mică comparativ cu standardul utilizat, acidul ascorbic. Valoarea calculată a IC<sub>50</sub> (concentrația de compuși capabili să inhibe 50% din totalul radicalilor DPPH) pentru acidul ascorbic, utilizat ca standard de referință a fost de 187,82 mg/mL, în timp ce valorile pentru probele de collagen de meduză *R. pulmo* (JPC) au fost de 225,74 mg/mL.

### **Determinarea activității antioxidante prin metoda Reducing Power**

Acidul ascorbic prelucrat în aceleași condiții ca și soluțiile de collagen de meduză *R. pulmo* a fost în concentrație de 200 μg/mL a fost utilizat ca standard (**Pesterau, 2025**). Puterea reducătoare a collagenului de meduza este mai mică în comparație cu standardul de acid ascorbic luat în lucru.

Valoarea maximă a puterii reducătoare a extractului din meduza *R. pulmo* a fost 0,552 μg/mL, în timp ce acidul ascorbic a avut un maxim de 2.113 μg/mL.

### **Determinarea activității antibacteriene a collagenului de meduză *R. pulmo***

Acest subcapitol a vizat analiza antimicrobiană a collagenului extras din meduza specia *Rhizostoma pulmo*. Studiile au fost efectuate pe mai multe tipuri de bacterii patogene, dintre bacteriile Gram-pozitive au fost testate: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) și patru specii Gram-negative, *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus mirabilis* (ATCC 25933) și *Escherichia coli* (ATCC 25322). *S. epidermis* a prezentat cea mai mică susceptibilitate față de peptidele collagenice din *R. pulmo*. Studiul microbiologic realizat pe peptidele collagenice din *R. pulmo* atestă că acestea au activitate antimicrobiană față de bacteriile testate.

Activitățile antimicrobiene ale extractelor collagenice din meduza *R. pulmo* (JPC) au fost evaluate utilizând metoda difuziei în puțuri de agar, cu ușoare modificări. Eficacitatea antimicrobiană a fost evaluată prin măsurarea diametrului zonelor de inhibare conform metodei difuzimetrice Kirby-Bauer, iar rezultatele sunt raportate ca medie a trei experimente independente (Hossain, 2024). Măsurătorile de concentrație minimă inhibitorie au fost efectuate pentru hidrolizatele collagenice din *R. pulmo* (JPC), acestea au fost determinate utilizând metoda diluării bulionului, cum este descrisă de Tajbakhsh și colaboratorii săi (Tajbakhsh, 2011). Conform rezultatelor obținute se poate observa faptul că *S. aureus*,

*Streptococcus epidermidis*, bacterii Gram-pozitive și *E. coli* Gram-negativă au dezvoltat cea mai mare concentrație minimă inhibitoare, în timp ce *P. mirabilis* are cea mai modestă activitate antibacteriană pentru probele de collagen *R. pulmo* analizat. O explicație plauzibilă poate implica diferențe în structura peretelui celular și compoziția membranelor între speciile microbiene.

## **CAPITOLUL 8. STUDII PRIVIND FORMULAREA UNOR PREPARATE FARMACEUTICE TOPICE PE BAZĂ DE COLAGEN DE MEDUZĂ SPECIA *RHIZOSTOMA PULMO***

Capitolul 8 prezintă și caracterizează noile preparate farmaceutice obținute care au la bază biomateriale colagenice: hidrogeluri, membrane, pelicule și matrici poroase alcătuite din collagen de meduză cu substanțe din diferite clase de medicamente (antibacteriene, antiseptice, antifungice și cicatrizante) și trei specii de alge din Marea Neagră.

### **Formularea de hidrogeluri colagenice obținute din *Rhizostoma pulmo* cu diverse substanțe active**

Hidrogelurile colagenice (Figura 8.1.) s-au obținut prin amestecarea collagenului *R. pulmo* cu diverse substanțe active, în diferite concentrații prin ajustarea la concentrația de 0,4% și un pH de 7 cu ajutorul trietanolaminei. Hidrogelurile s-au reticulat cu 10% acid tanic (față de collagen) și s-au menținut 24 ore la 4°C. Hidrogelurile din collagen de meduză specia *R. pulmo* cu iodoform se prezintă ca niște structuri gelationase, de culoare galben pal, cu miros puternic, caracteristic de iod, ar putea fi utilizate cu succes în repararea rănilor și vindecarea țesuturilor.



**Figura 8.1. Hidrogel de meduză, specia *Rhizostoma pulmo***

Hidrogelurile cu tetraciclină sunt ușor galbene, fără miros și au efecte specifice substanței active încorporate. În funcție de doză preparatele colagenice cu tetraciclină au rol bactericid sau bacteriostatic asupra unor microorganisme precum: *Borrelia recurrentis*, *Mycobacterium marinum*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* (inclusiv tulpinile rezistente la meticilină – MRSA), *Vibrio vulnificus* și enterococul rezistent la

vancomicină (VRE) (Semenova, 2025). Prepararea și forma finală de hidrogel cu collagen de meduză în amestec cu nistatină se prezintă ca niște hidrogeluri galbene, cu miros specific și rol antifungic. Nistatina se utilizează în tratamentul infecțiilor cu *Candida albicans* la nivelul tractului digestiv și ca terapie adjuvantă în candidoza vaginală și cutanată.

### Formularea de hidrogeluri colagenice cu diferite alge marine

În Figura 8.11. de mai jos sunt prezentate hidrogelurile obținute, atât cel simplu din collagen de meduză, cât și cele în care au fost încorporate specii de alge din Marea Neagră precum: *Ulva lactuca*, *Ceramium rubrum* și *Cladophora vagabunda*. S-au obținut noi formulări farmaceutice pe bază de collagen fibrilar de tip I (nedenaturat) extras din meduză, în care s-au încorporat ulterior extracte de alge.



Figura 8.11. (1) Hidrogel simplu de collagen din meduză  
(2) Hidrogel din meduză cu *Ulva lactuca*  
(3) Hidrogel din meduză cu *Ceramium rubrum*  
(4) Hidrogel din meduză cu *Cladophora vagabunda*

### Formularea de pelicule colagenice din meduză cu diverse substanțe active

Peliclele colagenice de meduză și substanțe active medicamentoase au proprietăți biologice diferite: antibacteriană, antiseptică, dezinfectantă în cazul iodorformului, tetracilinei și antifungice respective, în cazul nistatinei. Toate peliculele sunt de culoare galbenă și au miros caracteristic substanțelor pe care le încorporează.

### Formularea de pelicule colagenice din meduză specia *R. pulmo* cu alge marine

În imaginile de mai jos Figura 8.21, 8.22. sunt prezentate aceste hidrogeluri de collagen marin de meduză, precum și două dintre două specii de alge verzi *Ulva lactuca* și *Cladophora vagabunda*.



Figura 8.12. Peliculă din collagen de meduză



Figura 8.21. Peliculă din collagen de meduză cu *Ulva lactuca*



Figura 8.23. Peliculă din collagen de meduză *Cladophora vagabunda*

## **CAPITOLUL 9. STUDIUL CAPACITĂȚII DE VINDECARE A RĂNILOR PE BAZA UNOR PREPARATE CU COLAGEN EXTRAS DIN MEDUZA *RHIZOSTOMA PULMO***

S-a avut în vedere demonstrarea proprietăților regenerative ale noilor biocompuși de origine marină, în special colagenul extras din meduza *Rhizostoma pulmo* din Marea Neagră, în sinergie cu proprietățile biologice și farmacologice ale biocompușilor din extractele hidroalcoolice obținute din alga brună *Cystoseira barbata*. Este prezentat studiul efectelor compozitelor JPC-ALG și ale extractelor individuale asupra liniilor celulare de fibroblaste și keratocite (Pesterau, 2025).

***Evaluarea biologică a unui nou compozit cu JPC-ALG pentru aplicații în vindecarea rănilor.*** Au fost efectuate studii biologice preliminare utilizând fibroblaste BALB/3T3 clona A31, în conformitate cu standardul ISO 10993-1 (Geneva, Elveția, 2018), având în vedere rolul esențial al acestor fibroblaste în procesul de vindecare a rănilor (ISO 10993-1, 2018). Pentru a determina concentrația optimă în realizarea testului de zgâriere, s-au efectuat mai întâi evaluări ale citotoxicității. Aceste teste au evaluat efectele JPC (peptide de colagen din *R. pulmo*), precum și ale formulărilor compuse JPC-ALG1 (peptide de colagen cu 10% extract de *C. barbata*) și JPC-ALG2 (peptide de colagen cu 20% extract de *C. barbata*). După 24 de ore de incubare, s-a menținut o viabilitate celulară ridicată la concentrații mai mici (0,015–0,125 mg/mL), cu valori cuprinse între 87% și 96% pentru toate probele testate. La concentrații crescute (până la 2 mg/mL), viabilitatea a scăzut treptat, dar s-a menținut între 66–74% după 24 de ore. La 48 de ore, s-a înregistrat o reducere suplimentară a proliferării celulare odată cu creșterea concentrațiilor.

Mai precis, proliferarea celulară a rămas peste 80% la 0,01 mg/mL pentru toate probele, dar a scăzut la 37–40% la 0,5 mg/mL și la 24–26% la 2 mg/mL. Aceste rezultate indică o citocompatibilitate acceptabilă la concentrații mai mici, în concordanță cu descoperirile anterioare privind peptidele de colagen derivate din meduze (JSP), așa cum au raportat Migone et al. (2022) și Li et al. (2017) (Migone, 2022; Li, 2017).

### ***Vindecarea rănilor prin testul de zgâriere a fibroblastelor***

S-a verificat capacitatea de vindecare prin testul de zgâriere a noului biocompozit pe bază de colagen de meduză specia *Rhizostoma pulmo* și extract din alga brună *C. barbata*. Testul de zgâriere este o metodă *in vitro* bine stabilită, utilizată pentru a imita vindecarea rănilor prin crearea mecanică a unui gol într-un monocelular confluent de celule. Acest test

modelează migrația și proliferarea celulelor către locul plăgii, după cum au demonstrat Migone și Morgner (Migone, 2022; Morgner, 2022).

S-a dorit punerea în valoare a puterii de vindecare la nivel dermic a noii formulări farmaceutice cu aplicație topică (JPC-ALG) din collagen de meduză *R. pulmo* și alga brună *C. barbata* ambele fiind extrase din bazinul Mării Negre. Efectele JPC, JPC-ALG 4 și JPC-ALG 2 asupra migrației fibroblastelor au fost evaluate prin monitorizarea închiderii plăgii la 4, 24 și 48 de ore după leziune. Toate probele testate au accelerat semnificativ migrația celulară și au îmbunătățit rata de confluență în comparație cu controlul netratat. La 48 de ore, grupul de control a prezentat o confluență de numai 5%, în timp ce celulele tratate cu JPC au atins o închidere a zgârieturii de 66%. Trebuie menționat faptul că, JPC-ALG 1 și JPC-ALG 2 au demonstrat rate și mai mari de închidere a plăgii, atingând o închidere de aproximativ 86-92%. Aceste descoperiri susțin potențialul diferitelor concentrații ale formulărilor JPC-ALG1 și JPC-ALG2 în regenerarea țesutului cutanat (**Pesterau, 2025**).

#### ***Vindecarea rănilor prin testul de zgâriere cu keratocite***

Testul de zgâriere a fost folosit pentru a evalua efectul formulărilor biocompozite asupra migrației keratinocitelor HaCaT. Folosind o analiză cu o singură cameră, capacitatea de închidere a plăgii a fost monitorizată pe o perioadă de 24 de ore. Răspunsul migratoriu crescut produs de JPC-ALG 1 și JPC-ALG 2, demonstrează eficacitatea lor potențială în promovarea vindecării plăgilor prin motilitatea crescută a keratinocitelor (**Pesterau, 2025**).

Acest test a arătat un comportament diferit în funcție de tratamentul administrat (JPC-ALG1 sau JPC-ALG2) și de perioada de incubare. Atât la 2 ore, cât și la 24 de ore de incubare, ambele grupuri analizate, JPC-ALG1 și JPC-ALG2, au înregistrat valori semnificative din punct de vedere statistic față de control (CTRL) (**Pesterau, 2025**). Această biocompatibilitate a fost observată și în alte fracțiuni de collagen de meduză de către Felician în 2019 și Migone în 2022 (Felician, 2019; Migone, 2022).

## **CAPITOLUL 10. STUDII PRIVIND EVALUAREA *IN VITRO* A EFECTELOR ANTITUMORALE ÎN CAVITATEA BUCALĂ A UNUI BIOCOMPOZIT DIN COLAGEN DE MEDUZA *RHIZOSTOMA PULMO* ȘI CIUPERCA MEDICINALĂ *GANODERMA LUCIDUM***

A fost vizată analiza unui nou biocompozit pe bază de compuși bioactivi din collagen de meduză specia *Rhizostoma pulmo* și ciuperca *Ganoderma lucidum*, destinat evaluării *in vitro* a efectelor antitumorale în cavitatea bucală. S-a efectuat analiza antibacteriană a noului

biocompozit obținut din extractul etanolic de *Ganoderma lucidum* o specie de ciupercă din zona Bistrița-Năsăud, România și extractul colgenic obținut prin metoda enzimatică cu pepsină din meduza specia *Rhizostoma pulmo* din bazinul Mării Negre, zona litoralului Constanța, România.

**Activitatea antimicrobiană.** Rezultatele activității antimicrobiene ale extractului de collagen din *R. pulmo* (JPC), extractului etanolic *Ganoderma lucidum* (GL) și formulării E2 (JPC–GL) recent dezvoltate au fost evaluate în raport cu agenții patogeni comuni ai cavității bucale: *S. mutans*, *S. aureus* și *C. albicans*. Această metodă a fost aplicată peptidelor de collagen extrase din *R. pulmo*, extractului etanolic de *G. lucidum*, biocompozitului E2 (JPC–GL) nou formulat și Amoxicilinei (utilizată ca antibiotic de referință). Trebuie menționată activitatea inhibitoare îmbunătățită a biocompozitului *G. lucidum* și *R. pulmo* împotriva *Staphylococcus aureus* în comparație cu componentele individuale. Acest efect sinergic selectiv nu a fost observat pentru alte microorganisme testate.

#### **Determinarea activității antitumorale a biocompozitelor din *R. pulmo* și *G. lucidum***

Determinarea activității antitumorale a extractului obținut din collagenul de meduză *R. pulmo* și ciupercă medicinală *G. lucidum* (GL), precum și a biocompozitelor E1 (JPC–GL) și E2 (JPC–GL) a fost evaluată utilizând linii celulare de carcinom scuamos oral (OSCC), și anume SCC-9 și HSC-3. Activitatea citotoxică a fost evaluată *in vitro* prin determinarea viabilității celulare pe două linii celulare de carcinom scuamos oral (OSCC): celulele SCC-9 și HSC3. Viabilitatea celulară a scăzut progresiv în timp, și anume la 24 de ore (de la 69-71% la 32-35%), la 48 de ore (de la 66-68% la 26-28%) și la 72 de ore (de la 64-66% la 18-19%). Rezultate demonstrează efectele citotoxice puternice, dependente de timp și de doză, atât ale biocompozitelor JPC–GL, cât și ale extractului de GL asupra celulelor. Ambele formulări, E1 și E2, au prezentat efecte inhibitoare similare asupra viabilității celulelor SCC-9. Evaluarea *in vitro* a celulelor tumorale din cavitatea bucală a demonstrat că formulele E1 (JPC-GL) și E2 (JPC-GL) au determinat o reducere semnificativă, dependentă de doză, a viabilității celulare.

## **CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE**

Prezenta teză de doctorat intitulată ”Studii fizico-chimice comparative pe noi formulări farmaceutice realizate din extracte collagenice din resursele Mării Negre” a vizat obținerea unor noi forme farmaceutice pe bază de collagen de meduză specia *Rhizostoma pulmo* extrasă

din bazinul Mării Negre, analiza acestora și demonstrarea proprietăților biomedicale pe care le posedă biocompozitele realizate din collagen marin și alți bicompuși.

Obiectivele propuse în aceasta teză de doctorat au fost îndeplinite, și anume: extracția collagenului de meduză din bazinul Mării Negre, analiza și caracterizarea fizico-chimică a extractului collagenic precum și a noilor forme farmaceutice cu aplicație topică preparate în vederea demonstrării proprietăților biologice de regenerare tisulară, de vindecarea a rănilor și acțiunea antitumorală la nivelul cancerelor bucale.

Au fost obținute *rezultate ce confirmă că obiectivele propuse* pentru toate cele direcții de cercetare propuse, fapt ce demonstrează aplicabilitatea extractelor collagenice din *Rhizostoma pulmo* și noilor preparatelor formulate în domeniul medico-farmaceutic. Studiile experimentale din partea secundă a tezei se regăsesc în partea de contribuții personale cuprinse în Capitolele 4-10.

**Capitolul 4** prezintă extracția collagenului de meduză prin metoda (ASC) și prin metoda (PSC). Ulterior a fost validat procedeul de extracție utilizat pentru obținerea collagenului marin din meduza *Rhizostoma pulmo* prin îndeplinirea criteriilor de performanță în validare, plecând de la conținutul de hidroxiprolină care este un indicator de prezență a collagenului în probele luate în lucru.

În **Capitolul 5** prin mai multe tipuri de analize fizico-chimice s-a confirmat structura de triplu helix a collagenului de meduză, modelul electroforetic este caracteristic pentru collagenul de tip I. Conform imaginilor de microscopie collagenul de meduză are un model fibros neregulat și dens care conține pori de dimensiuni neregulate și forme fibrilare complexe, cum ar fi filamente sub formă de panglică și ramificate.

Din **Capitolul 6** s-au desprins informații referitoare la principalii aminoacizi prezenți în extractul collagenic de *R. pulmo* sunt: *glicina (Gly)* care este în cantitatea cea mai mare, urmată de *acidul glutamic (Glu)*, iar *triptofanul (Trp)* se regăsește și în meduza *R. pulmo* din Marea Neagră, aminoacizii identificați în cantități mici în probe au fost: *cistidină (Cys)*, *histidină (His)* și *serină (Ser)*. Analiza cromatografică prin metoda HPLC din cele două probe, filtrat și respectiv extract de collagen marin, specia *R. pulmo* a evidențiat prezența a trei polifenoli: acidul caftaric (280 nm), acidul galic (280 nm) și acidul siringic 230 (nm).

**Capitolul 7** relevă proprietățile biologice ale collagenului de meduză *R. pulmo*. Analiza activității antioxidante prin metoda DPPH a evidențiat o valoare maximă a collagenului extras din *R. pulmo* de 30,62%, față standardul ales (acidul ascorbic) care a avut o valoare de 98,50%. Activitatea antioxidantă prin metoda Reducing Power a extractului collagenic din *R. pulmo* a evidențiat capacitatea de reducere a collagenului marin de meduză. În urma

analizei antibacteriene se observă faptul că *S. aureus*, *Streptococcus epidermidis*, bacterii Gram-pozitive și *E. coli* Gram-negativă au dezvoltat cea mai mare concentrație minimă inhibitorie, în timp ce *P. mirabilis* are cea mai modestă activitate antibacteriană pentru probele de collagen *R. pulmo* analizate.

**Capitolul 8** prezintă noile preparate care sunt descrise și analizate macroscopic din collagen de meduză, specia *Rhizostoma pulmo* cu substanțe active precum: iodoform, tetraciclină și nistatină, dar și hidrogeluri, membrane, pelicule și matrici poroase pe bază de collagen de meduză *R. pulmo* cu diverse specii de alge: *Cladophora vagabunda*, *Ulva lactuca* și *Ceramium rubrum*.

**Capitolul 9** a evaluat potențialul *in vitro* de vindecare a rănilor al noii formulări (JPC-ALG) din collagen de meduză, specia *Rhizostoma pulmo* și extractul etanolic de *C. barbata* utilizând testul de zgâriere în culturi celulare. Rezultatele au demonstrat efecte sinergice ale noului biocompozit, sporind migrația și proliferarea fibroblastelor și keratinocitelor, factori-cheie în închiderea rănilor susținând potențiala aplicare a acestui compozit bioactiv de origine marină ca biomaterial promițător pentru terapiile de vindecare a rănilor.

**Capitolul 10** prezintă analiza noilor formulări pe bază de extract collagenic din *R. pulmo* și ciuperca *Ganoderma lucidum* (E1 și E2), acestea au prezentat efecte inhibitoare similare asupra viabilității celulelor SCC-9, rezultatele demonstrează efectele citotoxice puternice, dependente de timp și de doză ale biocompozitelor JPC–GL asupra celulelor OSCC.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Addad S., Exposito J.-Y., Faye C., Ricard-Blum S., Lethias, C. (2011). Isolation, Characterization and Biological Evaluation of Jellyfish Collagen for Use in Biomedical Applications. *Mar. Drugs*. 9, 967–983.
2. Balikci E., Baran, E.T., Tahmasebifar A. (2024). Characterization of Collagen from Jellyfish Aurelia aurita and Investigation of Biomaterials Potentials. *Appl Biochem Biotechnol*. 196, 6200–6221.
3. Benayahu D., Pomeranec, L., Shemesh, S., Heller S., Rosenthal Y., Rath-Wolfson L., Benayahu Y. (2020). Biocompatibility of a Marine Collagen-Based Scaffold In Vitro and In Vivo. *Mar. Drugs*. 18, 420–431.
4. Cadar E., **Pesterau A.M.**, Prasacu I., Ionescu A.M., Pascale C., Dragan A.L., Sirbu R., Tomescu C.L. (2024). Marine Antioxidants from Marine Collagen and Collagen Peptides with Nutraceuticals Applications: A Review. *Antioxidants* (Basel). 13(8):919.
5. Cadar E., **Pesterau A.M.**, Sirbu R., Negreanu-Pirjol B.S., Tomescu C.L. (2023). Jellyfishs - significant marine resources with potential in wound healing process. A Review. *Mar. Drugs*, 21, 201-228.

6. Cherim M., R. Sirbu, A. Tomescu, M.F. Popa, E. Cadar. (2019). Comparative studies on the physico-chemical characteristics of bio-materials with collagen from calf and fish skins from Black Sea. *Mater. Plast* 56 (179), 10.37358.
7. D'Ambra I., Merquiol L. (2022). Jellyfish from Fisheries By-Catches as a Sustainable Source of High-Value Compounds with Biotechnological Applications. *Mar. Drugs* 266(20).
8. De Domenico, S. De Rinaldis, G. Paulmery, M. Piraino, S. Leone, A. (2019). Barrel Jellyfish (*Rhizostoma pulmo*) as Source of Antioxidant Peptides. *Mar. Drugs* 17, 134-155.
9. Deyl Z., Miksik I., Eckhardt A. (2003). Preparative procedures and purity assessment of collagen proteins, *J. Chromatogr. B* 790, 245–275.
10. Felician, F.F. Yu, R.-H. Li, M.-Z. Li, C.-J., Chen H.-Q., Jiang Y Tang, T., Qi, W.-Y., Xu, H.-M. (2019). The wound healing potential of collagen peptides derived from the jellyfish *Rhopilema esculentum*. *Chin. J. Traumatol.* 22, 12–20.
11. Gallo N., Natali M.L., Sannino A., Salvatore L. (2020). An Overview of the Use of Equine Collagen as Emerging Material for Biomedical Applications. *J. Funct. Biomater.* 11(4), 79-106.
12. Gaspar-Pintiliecu, A. Anton, E.D. Iosageanu, A. Berger, D. Matei, C., Mitran, R.A., Negreanu-Pirjol, T. Craciunescu, O. Moldovan, L. (2021). Enhanced Wound Healing Activity of Undenatured Type I Collagen Isolated from Discarded Skin of Black 1111 Sea Gilthead Bream (*Sparus aurata*) Conditioned as 3D Porous Dressing. *Chemistry & Biodiversit.* 18, 1–14.
13. Hossain M.J., Azad A.K., Shahid M.S.B., Shahjahan M., Ferdous J. (2024). Prevalence, antibiotic resistance pattern for bacteriuria from patients with urinary tract infections. *Health Sci. Rep.* 7(4):e2039.
14. ISO-10993-1; Biological Evaluation of Medical Devices—Part 1: Evaluation and Testing within a Risk Management Process. International Organization for Standardisation: Geneva, Switzerland, 2018. Disponibil online la <https://www.iso.org/standard/68936.html>.
15. James S., Tilvi, S., Khandeparker R., Sreepada R.A., Thakur N., Gauthankar M. (2023). Jellyfish *Rhizostoma pulmo* collected off Goa Coast (India) as a rich source of tryptophan containing collagen and its enhanced antioxidant potential. *J. Food Sci. Technol.* 60, 2825-2834.
16. Kristoffersen K.A., Måge I., Wubshet S.G., Böcker U., Riiser Dankel K., Lislelid A., Rønningen M.A., Afseth N.K.. (2023). FTIR-based prediction of collagen content in hydrolyzed protein samples. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 301:122919.
17. Leone A., Lecci R., Milisenda G., Piraino S. Mediterranean jellyfish as novel food: Effects of thermal processing on antioxidant, phenolic, and protein contents. (2019). *Eur. Food Res. Technol.* 245, 1611–1627.
18. Leone A., Lecci R.M., Durante M., Meli F., Piraino S. (2015). The Bright Side of Gelatinous Blooms: Nutraceutical Value and Antioxidant Properties of Three Mediterranean. *Mar. Drugs* 13:4654–4681.
19. Li Q.M., Wang J.F., Zha X.Q. Pan L.H., Zhang H.L., Luo J.P., (2017). Structural characterization and immunomodulatory activity of a new polysaccharide from jellyfish. *Carbohydr. Polym.* 159, 188–194.
20. Lin Y., Liu D. (2006). Comparison of physical-chemical properties of type I collagen from different species. *Food Chem.* 99, 244–251.
21. Migone C., Scacciati N., Grassiri B., De Leo M., Braca, A., Puppi D., Zambito Y., Piras A.M. (2022). Jellyfish Polysaccharides for Wound Healing Applications. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 11491.

22. Morgner B., Husmark J., Arvidsson A., Wiegand C. (2022). Effect of a DACC-coated dressing on keratinocytes and fibroblasts in wound healing using an in vitro scratch model. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 33, 22.
23. Paradiso, F., Fitzgerald J., Yao S., Barry F., Taraballi F., Gonzalez D., Francis L. (2019). Marine Collagen Substrates for 2D and 3D Ovarian Cancer Cell Systems. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 7, p.343.
24. Pascale C., Burcea A., Bogdan-Andreescu C.F., Cadar E., Popescu A., Negreanu-Pirjol T., Busuricu F., Pesterau A.-M., Rosca A.C., Sirbu R. (2026). Characterization of a New Biocomposite Based on Bioactive Compounds from *Ganoderma lucidum* and Jellyfish Collagen Destined for In Vitro Evaluation of Antitumor Effects in the Oral Cavity. *Pharmaceuticals*. 19, 108.
25. **Peșterău A.-M.**, R. Sirbu, E. Cadâr. (2022). Method for Obtaining and Physico-Chemical Characterization of Collagenic Extract of *Rhizostoma pulmo* from the Black Sea. *EJNSM*, 5(1), 48-57.
26. **Peșterău A.-M.**, Sirbu R., Cadâr E. (2025). Extraction, Identification and Characterization by Sds-Page Method of Collagen Extracted from *Rhizostoma Pulmo*, A Jellyfish Found in the Black Sea Basin. *EJNSM*. 8(1), 53-61.
27. **Peșterău A.-M.**, Sirbu R., Cadâr E. (2025). Extraction and Method Validation for Collagen Obtained from the Jellysh *Rhizostoma Pulmo* Found on the Romanian Black Sea Coast. *EJNSM*. 7(1), 1-18.
28. **Pesterau A.-M.**, Popescu A., Sirbu R., Cadar E., Busuricu F., Dragan A.-M.L., Pascale C., Ionescu A.-M., Bogdan-Andreescu C.F., Radu M.-D. (2025). Marine Jellyfish Collagen and Other Bioactive Natural Compounds from the Sea, with Significant Potential for Wound Healing and Repair Materials. *Mar. Drugs*. 23, 252.
29. Ryu B., Shin K.H., Kim S.K. (2021). Muscle Protein Hydrolysates and Amino Acid Composition in Fish. *Mar. Drugs*. 19, 377–389.
30. Semenova Y., Makalkina L., Glushkova N., Gaipov A. (2025). Tetracyclines in the Modern Era: Global Consumption, Antimicrobial Resistance, Environmental Occurrence, and Degradation Techniques. *Antibiotics*. 14, 1183.
31. Song Z., Liu H., Chen, L., Chen L., Zhou C., Hong P., Deng C. (2021). Characterization and comparison of collagen extracted from the skin of the Nile tilapia by fermentation and chemical pretreatment. *Food Chem.* 340, 128139.
32. Subhan F., Ikram M., Shehzad A., Ghafoor A. (2015). Marine Collagen: An Emerging Player in Biomedical applications. *J. Food Sci. Technol.* (8):4703-7.
33. Tajbakhsh S., Ilkhani M., Rustaiyan A., Larijani K., Sartavi K., Tahmasebi R., Asayesh, G. (2011). Antibacterial effect of the brown alga *Cystoseira trinodis*. *J. Med. Plants Res.* 5, 4654–4657.
34. Widdowson P., Picton J., Vinc V., Wright C., Mearns-Spragg A. (2018). In vivo comparison of jellyfish and bovine collagen sponges as prototype medical devices. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 106, 1524–1533.
35. Yathisha U.G., Bhat I., Karunasagar I., Mamatha B.S. (2018). Antihypertensive activity of fish protein hydrolysates and its peptides. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 59, 2363–2374.
36. Yu Y.Q., Yang X., Wu X.F., Fan Y.B. (2021). Enhancing Permeation of Drug Molecules Across the Skin via Delivery in Nanocarriers: Novel Strategies for Effective *Transdermal Applications*. *Front Bioeng Biotechnol.* 9:646554.

## LISTA DE LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

### I. ARTICOLE PUBLICATE ÎN REVISTE COTATE ISI WEB OF SCIENCE CU FI > 0.5

1. Cadar E., **Pesterau A.M.**, Sirbu R., Negreanu-Pirjol B.S., Tomescu C.L. Jellyfishes-Significant Marine Resources with Potential in the Wound-Healing Process: A Review. *Marine Drugs*, **2023**, 21(4), 201. **IF 5.4/2023 Q1**.  
<https://doi.org/10.3390/md21040201>  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37103346/>  
34 citări WOS la data 01.04.2026. (Capitolul 2, pag. 21, 23, 27 și Capitolul 6, pag. 75).
2. Cadar, E., **Pesterau, A.-M.**;Prasacu, I.; Ionescu, A.-M.; Pascale, C.; Dragan, A.-M.L.; Sirbu, R.; Tomescu,C.L. Marine Antioxidants from Marine Collagen and Collagen Peptides with Nutraceuticals Applications: A Review. *Antioxidants*, **2024**, 13(8), 919. **IF 6/2024 Q1**.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13080919>  
<https://www.mdpi.com/2890954>  
48 citări WOS la data 01.04.2026. (Capitolul 1, pag. 7, 8 și Capitolul 2, pag. 17, 18, 22).
3. Emin Cadar; Antoanela Popescu; Ana-Maria-Laura Dragan; **Ana-Maria Pesterau**; Carolina Pascale; Valentina Anuta; Irina Prasacu; Bruno Ștefan Velescu; Cezar Laurentiu Tomescu; Claudia Florina Bogdan-Andreescu; Rodica Sirbu; Ana-Maria Ionescu. Bioactive Compounds of Marine Algae and Their Potential Health and Nutraceutical Applications: A Review. *Marine Drugs*, **2025**, 23(4), 152. **IF 5.4/2025 Q1**.  
<https://doi.org/10.3390/md23040152>  
<https://www.mdpi.com/3249700>  
69 citări WOS la data 01.04.2026. (Capitolul 1, pag. 7, 8 și Capitolul 2, pag. 18).
4. **Pesterau, A.-M.**; Popescu, A.; Sirbu, R.; Cadar, E.; Busuricu, F.; Dragan, A.-M.L.; Pascale, C.; Ionescu, A.-M.; Bogdan-Andreescu, C.F.; Radu, M.-D.; et al. Marine Jellyfish Collagen and Other Bioactive Natural Compounds from the Sea, with Significant Potential for Wound Healing and Repair Materials. *Mar. Drugs*, **2025**, 23(6), 252. **IF 5.4/2025 Q1**.  
<https://doi.org/10.3390/md23060252>  
<https://www.mdpi.com/3356832>  
10 citări WOS la data 01.04.2026. (Capitolul 2, pag. 23, 26, 27; Capitolul 6, pag. 72, 74, 80; Capitolul 7, pag. 88; Capitolul 8, pag. 97; Capitolul 9, pag. 104, 105, 106, 111, 112, 113, 114 și Capitolul 10, pag.116).
5. Pascale, C.; Burcea, A.; Bogdan-Andreescu, C.F.; Cadar, E.; Popescu, A.; Negreanu-Pirjol, T.; Busuricu, F.; **Pesterau, A.-M.**; Rosca, A.C.; Sirbu, R. Characterization of a New Biocomposite Based on Bioactive Compounds from Ganoderma lucidum and Jellyfish Collagen Destined for In Vitro Evaluation of Antitumor Effects in the Oral Cavity. *Pharmaceuticals*, **2026**, 19(1), 108. **IF 4.8/2026 Q1**.  
<https://doi.org/10.3390/ph19010108>

<https://www.mdpi.com/3670662>

(Capitolul 2, pag. 26, 28 și Capitolul 10, pag. 116, 118, 119).

## II. ARTICOLE PUBLICATE ÎN REVISTE INDEXATE BDI/PUBMED

1. **Pesterau Ana-Maria**, Rodica Sirbu, Emin Cadar, "Method for Obtaining and Physico-Chemical Characterization of Collagenic Extract of Rhizostoma pulmo from the Black Sea". *EJNSM*, **2022**, 5(1), 48-57.  
[DOI:10.26417/769szy13](https://doi.org/10.26417/769szy13)  
[https://revistia.com/files/articles/ejmn\\_v6\\_i1\\_23/Pesterau.pdf](https://revistia.com/files/articles/ejmn_v6_i1_23/Pesterau.pdf)  
1 citări Google Scholar la data 01.04.2026. (Capitolul 1, pag. 6 și Capitolul 4, pag. 35, 41).
2. **Pesterău Ana-Maria**, Rodica Sirbu, Emin Cadar. "Biomedical Applications Based on Marine Collagen Obtained from the Jellyfish Species Rhizostoma Pulmo Extracted from the Black Sea. *EJNSM*, **2023**, 6(2), 89-99.  
[DOI: 10.2478/ejns-2023-0009](https://doi.org/10.2478/ejns-2023-0009)  
<https://revistia.com/ejmn/article/view/3185>  
6 citări Google Scholar la data 01.04.2026. (Capitolul 2, pag. 19 și Capitolul 8, pag. 99).
3. **Pesterau Ana-Maria**, Sîrbu Rodica, Cadâr Emin. "Extraction and Method Validation for Collagen Obtained from the Jellysh Rhizostoma Pulmo Found on the Romanian Black Sea Coast". *EJNSM*, **2025**, 7(1), 1-18.  
<https://doi.org/10.26417/180g2280>  
<https://revistia.com/ejmn/article/view/3169>  
2 citări Google Scholar la data 01.04.2026. (Capitolul 4, pag. 49, 50, 52, 53).
4. **Pesterău Ana-Maria**, Sirbu Rodica, Cadar Emin "Extraction, Identification and Characterization by Sds-Page Method of Collagen Extracted from Rhizostoma Pulmo, A Jellyfish Found in the Black Sea Basin". *EJNSM*, **2025**, 8(1), 53-61.  
<https://doi.org/10.26417/g9nnp502>  
<https://revistia.com/ejmn/article/view/3165>  
1 citare Google Scholar la data 01.04.2026. (Capitolul 2, pag. 27 și Capitolul 5, pag. 55, 56, 57).

## III. LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE ÎN TIMPUL ANILOR DE STUDIU

1. Cadar Emin, **Pesterău Ana-Maria**, Sirbu Rodica, Negreanu-Pirjol, Bogdan-Stefan, Tomescu Cezar Laurențiu. *Jellyfishes—Significant Marine Resources with Potential in the Wound-Healing Process: A Review. Marine Drugs*, Volume 21, Issue 4, 2023, 201. <https://doi.org/10.3390/md21040201>.
2. **Pesterau Ana-Maria**, Rodica Sirbu, Emin Cadar, "Method for Obtaining and Physico-Chemical Characterization of Collagenic Extract of Rhizostoma pulmo from the Black Sea", *European Journal of Natural Science and Medicine*, Volume 5, Issue 1, 2022, p. 48-57. [https://revistia.com/files/articles/ejmn\\_v6\\_i1\\_23/Pesterau.pdf](https://revistia.com/files/articles/ejmn_v6_i1_23/Pesterau.pdf).
3. **Pesterău Ana-Maria**, Rodica Sirbu, Emin Cadar. "Biomedical Applications Based on Marine Collagen Obtained from the Jellyfish Species Rhizostoma Pulmo

- Extracted from the Black Sea. *EJNSM*, **2023**, 6(2), 89-99. <https://revistia.com/ejmn/article/view/3185>.
4. **Pesterau Ana-Maria**, Sîrbu Rodica, Cadâr Emin. Pharmaceutical Management in the Context of Artificial Intelligence. *EJMN*, 2023, 6(2), 37–43. Retrieved from <https://revistia.com/index.php/ejmn/article/view/6978>.
  5. Emin Cadâr, Laurențiu Tomescu Cezar, **Pesterau Ana-Maria**. Risk Management Considerations and Multiple Responsibilities in Medical Pharmaceutical Practice. *EJMN*, 2023 6(2), 148–160. <https://revistia.org/index.php/ejnm/article/view/6150>.
  6. **Ana-Maria Peșterău**, Nicoleta Mirela Blebea, Interacțiuni între plantele medicinale utilizate în tratamentul afecțiunilor cardiace și medicația antihipertensivă, *Farmacist.ro*.DOI:10.26416/Farm.217.2.2024.9504. <https://www.medichub.ro/reviste-de-specialitate/farmacist-ro/interactiuni-intre-plantele-medicinale-utilizate-in-tratamentul-afectiunilor-cardiace-si-medicatia-antihipertensiva-id-9504-cmsid-62>.
  7. Cadar, E.; **Pesterau**, A.-M.;Prasacu, I.; Ionescu, A.-M.; Pascale, C.; Dragan, A.-M.L.; Sirbu, R.; Tomescu,C.L. Marine Antioxidants from Marine Collagen and Collagen Peptides with Nutraceuticals Applications: A Review. *Antioxidants*, 2024, 13, 919. <https://doi.org/10.3390/antiox13080919>.
  8. **Pesterau Ana-Maria**, Sirbu Rodica, Cadar Emin. "Extraction and Method Validation for Collagen Obtained from the Jellysh Rhizostoma Pulmo Found on the Romanian Black Sea Coast". *EJNSM*, 2025, 7(1), 1-18. <https://revistia.com/ejmn/article/view/3169>.
  9. **Peșterău Ana-Maria**, Sîrbu Rodica, Cadâr Emin (2024) "Extraction, Identification and Characterization by Sds-Page Method of Collagen Extracted from Rhizostoma Pulmo, A Jellyfish Found in the Black Sea Basin". *EJNSM*, 2025, 8(1), 53-61. <https://revistia.com/ejmn/article/view/3165>.
  10. Emin Cadar; Antoanela Popescu; Ana-Maria-Laura Dragan; **Ana-Maria Pesterau**; Carolina Pascale; Valentina Anuta; Irina Prasacu; Bruno Stefan Velescu; Cezar Laurentiu Tomescu; Claudia Florina Bogdan-Andreescu; Rodica Sirbu; Ana-Maria Ionescu. Bioactive Compounds of Marine Algae and Their Potential Health and Nutraceutical Applications: A Review. *Marine Drugs*, 2025, 23, 152. <https://doi.org/10.3390/md23040152>.
  11. **Ana-Maria Peșterău**, Cristina-L Erimia. Legislative aspects of the advertising of medicinal products for human use, Vol.3 Issue 4, 81-86 (2023), DOI: <https://doi.org/10.47577/biochemmed.v3i2.6935>.
  12. **Pesterau, A.-M.**; Popescu, A.; Sirbu, R.; Cadar, E.; Busuricu, F.; Dragan, A.-M.L.; Pascale, C.; Ionescu, A.-M.; Bogdan-Andreescu, C.F.; Radu, M.-D.; et al. Marine Jellyfish Collagen and Other Bioactive Natural Compounds from the Sea, with Significant Potential for Wound Healing and Repair Materials. *Mar. Drugs*, 2025, 23, 252. <https://doi.org/10.3390/md23060252>.
  13. Pascale, C.; Burcea, A.; Bogdan-Andreescu, C.F.; Cadar, E.; Popescu, A.; Negreanu-Pirjol, T.; Busuricu, F.; **Pesterau, A.-M.**; Rosca, A.C.; Sirbu, R. Characterization of a New Biocomposite Based on Bioactive Compounds from Ganoderma lucidum and

Jellyfish Collagen Destined for In Vitro Evaluation of Antitumor Effects in the Oral Cavity. *Pharmaceuticals*, 2026, 19, 108. <https://doi.org/10.3390/ph19010108>.

#### IV. CĂRȚI ȘI CAPITOLE DE CĂRȚI

1. Marine Algae Exploring Their Nutritional, Health, and Nutraceutical Potential, 2025, Edited by Leonel Pereira and Ana Marta Gonçalves, *Marine Drugs* (ISSN 1660-3397), MDPI AG, Grosspeteranlage 5, 4052 Basel, Switzerland, ISBN 978-3-7258-4943-7, pg. 135. [https://mdpi-res.com/bookfiles/book/11471/Marine\\_Algae.pdf?v=1775265098](https://mdpi-res.com/bookfiles/book/11471/Marine_Algae.pdf?v=1775265098).

#### V. PREZENTĂRI, CONFERINȚE, CONGRESE, SIMPOZIOANE

1. Mențiune în cadrul Workshop with international participation Terapii alternative și complementare Participare la Cursul de Medicină Naturistă – Homeopatie/ Fitoterapie, 05-06 Noiembrie 2021, Constanța, România – Prezentare poster – The importance of collagen and its medical applications.
2. Participare Workshop with international participation Terapii alternative și complementare Participare la Cursul de Medicină Naturistă – Homeopatie/ Fitoterapie, 26-27 Martie 2021, Constanța, România – Prezentare poster –Marine collagen from jellyfish species of *Rhizostoma pulmo* from the Black Sea and its uses in alternative therapies.
3. Participare în cadrul Conferinței Internaționale ICMS XXVIII - 28<sup>th</sup> International Multidisciplinary Conference "Recent Research and Ideas" Amsterdam, 12-14 May 2022.
4. Mențiune pentru Poster: Interacțiuni între plantele medicinale utilizate în tratamentul afecțiunilor cardiace și medicația antihipertensivă în cadrul Conferinței Internaționale Dreptul în serviciile de sănătate „Scientific, Educational and Social Interferences”, Ediția a II-a, 5-6 Mai 2023 – Prezentare articol.
5. Participare în cadrul Simpozionul cu participare internațională Terapii alternative și complementare (Homeopatie/Fitoterapie), Ediția a 7-a, 27-28 octombrie 2023, Constanța – România.
6. Simpozionul cu participare internațională - Zilele Facultății de Farmacie din Constanța, 17-19 Septembrie 2024, Constanța. Prezentare poster - Studiul asupra acțiunilor hipocolesterolemizante ale Inclisiranului.
7. Participare în cadrul Simpozionul cu participare internațională Terapii alternative și complementare (Homeopatie/Fitoterapie), Ediția a 8-a, 21-22 noiembrie 2025, Constanța – România. Premiul I – Poster: Conținutul de polifenoli prezent în extracte colagenice de origine marină din bazinul Mării Negre.