

ABSTRACT De Cicco Felicetta, Dottorato Scienze Farmaceutiche, XIV ciclo NS, 2015/2016

Il progetto di dottorato intitolato “New Encapsulation technologies for the development of *in situ* gelling micro-nano particulate systems for the wound healing” aveva come obiettivo lo sviluppo di formulazioni topiche innovative tramite l’utilizzo di tecnologie moderne come quelle basate sull’utilizzo di CO₂ supercritica (SC-CO₂) e il nanospray drying. Obiettivo specifico era il design e lo sviluppo di formulazioni gelificanti *in situ* in forma di polveri secche o aerogel per il wound healing utilizzando polimeri biodegradabili e biocompatibili, attivi nei processi di riparazione tissutale, come carrier per i farmaci incapsulati. Parametri quali l’uniforme riempimento del letto della ferita, la sua traspirazione e il rilascio controllato degli attivi sono stati usati per valutare la qualità dei diversi dispositivi.

Durante il primo anno la tecnica tandem prilling/supercritical antisolvent extraction (SAE) e la tecnica supercritical assisted atomization (SAA) sono state studiate.

La tecnica prilling/SAE è stata messa a punto per la prima volta per la produzione di aerogel beads. Sono stati ottenuti con successo aerogel di alginato con stretta distribuzione dimensionale e alta capacità di assorbire essudati. Questi risultati derivavano da uno studio accurato dei parametri di processo da utilizzare e delle condizioni di solvent exchange richiesto per la tecnica SAE per la fase di curing.

La tecnica SAA è stata utilizzata per la produzione di una polvere secca gelificante *in situ*, caricata con gentamicina (GS). Alginato ad elevato contenuto di residui mannuronici (M) e pectina a basso grado di metilazione sono stati usati come carrier. Sono state ottenute rese di processo molto alte (fino al 71%), e la polvere ottenuta tramite SAA ha mostrato proprietà tecnologiche davvero interessanti, oltre a riuscire a superare il problema della elevata igroscopicità della gentamicina. Quando in contatto con fluidi da ferita simulati, le polveri diventavano rapidamente gel permettendo, inoltre, un rilascio prolungato dell’attivo (tra 6 e 10 giorni). Inoltre, le formulazioni aumentavano e prolungavano l’attività antimicrobica della GS su entrambi *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

Il secondo anno di corso è stato dedicato alla tecnica nano-spray drying. Questa è stata utilizzata per la produzione di una polvere secca nanoparticellare gelificante *in situ* utilizzando un blend di pectina e alginato come eccipiente per formulazioni di gentamicina. I parametri operativi sono stati ottimizzati in modo da produrre particelle in dimensione nanometrica (~350 nm) con elevate rese di processo (92%) e buone efficienze di incapsulazione (83%). Le polveri erano in grado di gelificare rapidamente quando in contatto con fluidi da ferita simulati, I gel formati presentavano, inoltre, buona traspirabilità e proprietà adhesive adeguate ad un uso topico, ed erano in grado di prolungare il rilascio dell’ attivo *in vitro* (fino a 6 giorni). L’attività antimicrobica delle formulazioni contenenti GS risultava prolungata su entrambi *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

Nello stesso anno, è stato sviluppato un idrogel di alginato ad elevato contenuto di residui M o di chitosano a basso peso molecolare caricato con il peptide Ac2-26, frammento N-terminale dell'Annessina 1. L'intento era quello di studiare la possibilità di veicolare tale peptide e di testarne le sue note proprietà di promozione della guarigione. La stabilità dell' Ac2-26 risultava aumentata, grazie alla formazione di interazioni ioniche tra peptide e polimeri. Le formulazioni di alginato- Ac2-26 sono state testate su modelli murini feriti chirurgicamente. Gli esperimenti *in vivo* hanno evidenziato l'efficacia della formulazione che era in grado di aumentare la chiusura della ferita con una velocità maggiore del 60% rispetto al controllo.

Durante il terzo anno, al fine di migliorare le proprietà tecnologiche delle polveri gelificanti *in situ* prodotte l'anno precedente, un blend polimerico a tre componenti (alginato, chitosano e pectina amidata) è stato usato per testare la tecnologia nano spray drying. Come antibiotico è stata usata la doxiciclina per la sua nota attività inibitoria di MMP9, cosa che può favorire il processo di wound healing. Le formulazioni prodotte tramite nano spray drying, presentavano rese di processo molto elevate (fino al 99%) ed alte encapsulation efficiency (fino al 98%) così come il tempo di gelificazione delle polveri a contatto con essudati simulati era ridotto a soli 5 minuti, permettendo una rapida e completa copertura della ferita. Le interazioni farmaco/polimero determinavano un rilascio prolungato dell'attivo così come una attività contro *S. aureus* prolungata fino a 7 giorni, se confrontata con il farmaco raw material.

La doxiciclina è stata usata come farmaco modello anche per testare l'applicabilità della tecnica tandem prilling/SAE per produrre aerogel core/shell. Queste particelle sono state ottenute utilizzando il prilling in configurazione co-assiale, utilizzando pectina amidata nel core e alginato ad elevato contenuto di residui M nello shell. Le particelle erano in grado di gelificare rapidamente quando in contatto con essudati a causa dell'elevata area superficiale esposta degli aerogel, in grado di assorbire elevate quantità di liquidi. Core e shell erano ben separati, con la doxiciclina concentrata solo nel core. Gli aerogel presentavano, pertanto, elevata encapsulation efficiency (fino all'87%) e rilascio prolungato dell'attivo fino a 48 ore.

Infine, durante il terzo anno, sono stata tre mesi presso l' Università di Santiago de Compostela per studiare l'applicabilità della tecnica di impregnazione supercritica accoppiata con il prilling e l'essiccamento supercritico per produrre aerogel da utilizzare per il wound healing. Ketoprofene e norfloxacin sono state usate come molecole modello grazie alla loro solubilità in SC-CO₂. Come atteso, gli aerogel presentavano elevata porosità, utile per assorbire elevate quantità di essudati. Il processo di impregnazione si è rivelato adatto al ketoprofene, mentre gli aerogel caricati con norfloxacin presentavano bassi drug content.