

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PAVIA
FACOLTA' DI FARMACIA
DIPARTIMENTO DI CHIMICA FARMACEUTICA



Stazione Sperimentale
per la Seta



Microsfere di alginato, fibroina e argento per il trattamento di piaghe, ferite e ulcere cutanee

**T. Chlapanidas¹, S. Faragò², M. Marazzi³, M. Bucco¹,
U. Conte¹, D. Vigo⁴, M. Faustini⁴, M.L. Torre¹**

¹Dipartimento di Chimica Farmaceutica, Università di Pavia

²Stazione Sperimentale per la Seta, Milano

³Centro di Riferimento Regionale Colture Cellulari, Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano

⁴Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare, Università di Milano

Lesioni cutanee

trattamento topico con agenti antimicrobici

elevata potenza – ampio spettro – azione rapida e persistente – non irritante

Argento

blocca il sistema respiratorio enzimatico
altera il DNA microbico e la parete cellulare
non ha effetti tossici sulle cellule umane *in vivo*

Argento

Polveri per applicazione topica



Polvere micronizzata contenente
argento colloidale

Garze medicate



Lamine di poliestere
ricoperte da argento nanocristallino

Composizione

Svantaggi

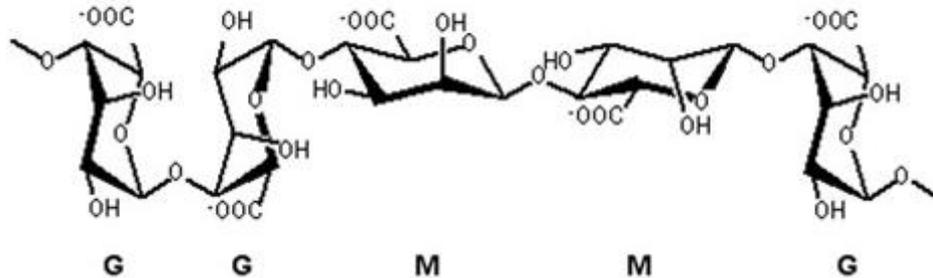
Eccessivo essiccamento
della ferita

Effetto occlusivo
Impediscono il drenaggio dell'essudato
Possono rallentare la cicatrizzazione

Alginato

Fibroina

Alginato



acido α -L-guluronico

acido β -D-mannuronico

Proprietà bioadesive

Assorbe l'essudato

Garantisce drenaggio e idratazione

Biocompatibile, biodegradabile, non tossico
e di consolidato impiego in campo farmaceutico

La seta

Fibra naturale di origine animale (Bombyx Mori o Baco da seta)

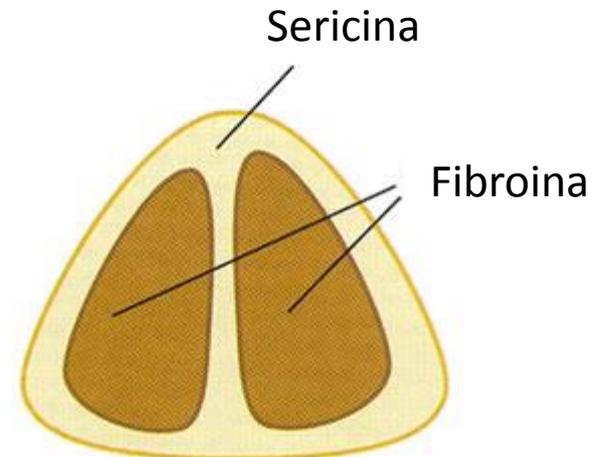
Due molecole proteiche:

sericina (25%) -37% serina
 -17% glicina
 -16% acido aspartico

fibroina (75%) -46% glicina
 -29% alanina
 -12% serina



- ✓ Effetto filmante
- ✓ Resistenza
- ✓ Elasticità
- ✓ Biodegradabilità
- ✓ Non tossica
- ✓ Non lesiva
- ✓ Non immunogenica



Scopo del lavoro

Preparazione di microsfele di alginato e fibroina per la veicolazione di argento, destinate alla somministrazione topica mediante nebulizzazione.





Bozzoli di *Bombyx mori*

Sgommatura



120° C - 30' - 2 Bar

Autoclave



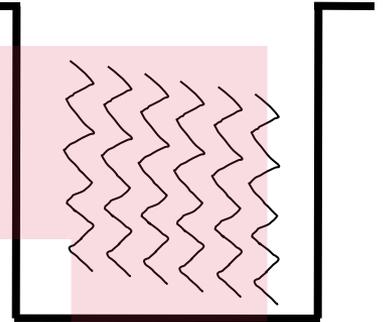
Bozzoli "sgommati"

Lavaggi



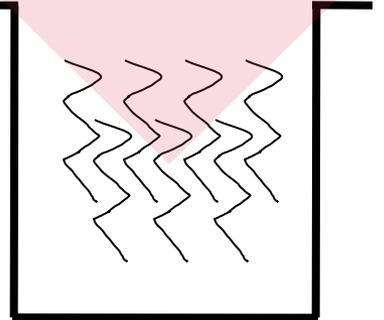
H₂O - 60°C

Silk II



Essiccamento
60°C

Riduzione
dimensione

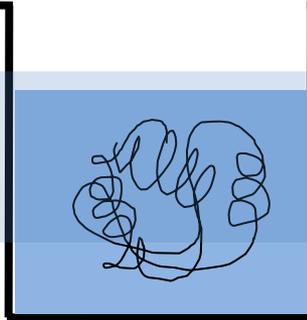


Dialisi



membrane cellulosa

PM 12.000



Silk I

Solubilizzazione

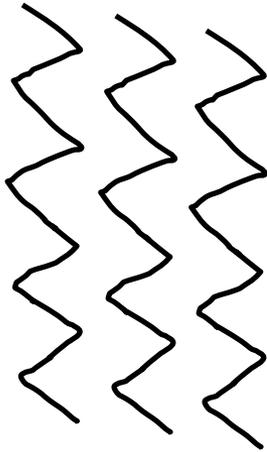


CaCl₂/EtOH

1h - 60°C

Soluzione di fibroina
2% p/v

Silk II

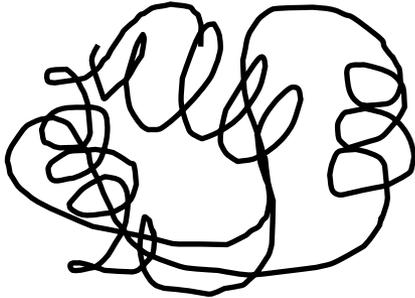


β -sheet antiparallelo

Stabile e insolubile in acqua

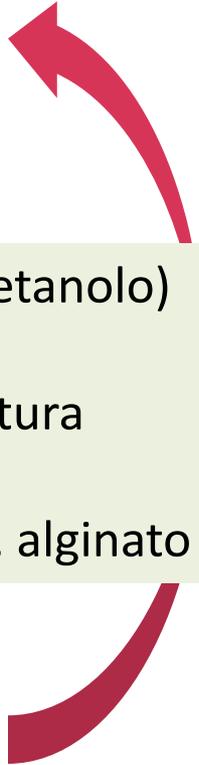
Solventi organici (metanolo, etanolo)
Stress meccanici
Cambiamenti di temperatura
Interazione con polimeri: PEG, alginato

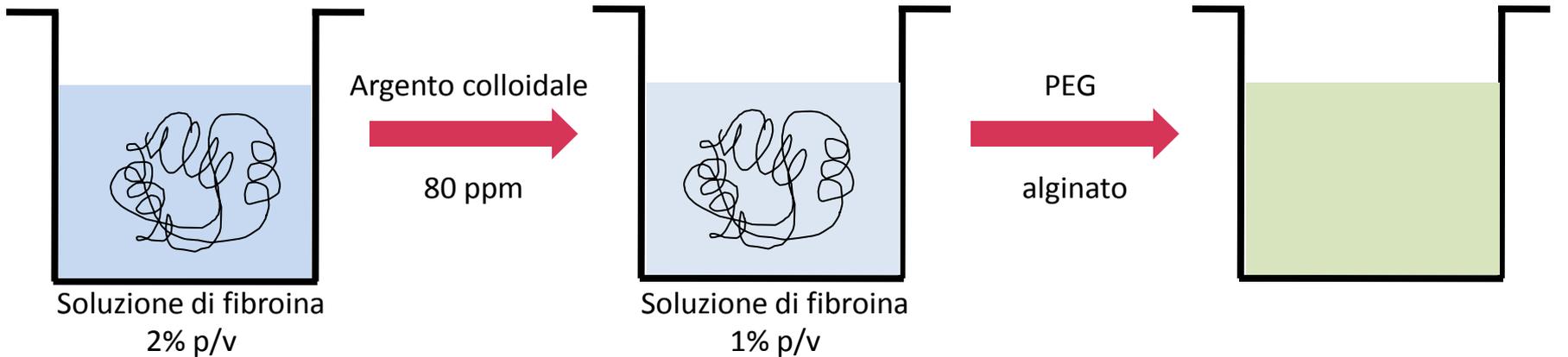
Silk I



Random coil

Metastabile e solubile in acqua





Blu di Coomassie

Microscopio ottico
Assenza di sericina

Analisi SEM
Morfologia

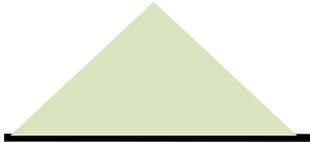
Spettri FTIR
Conformazione della fibroina

Analisi granulometrica
Distribuzione dimensionale

Spettrometria di massa
Efficienza di incapsulazione



Spray-dryer



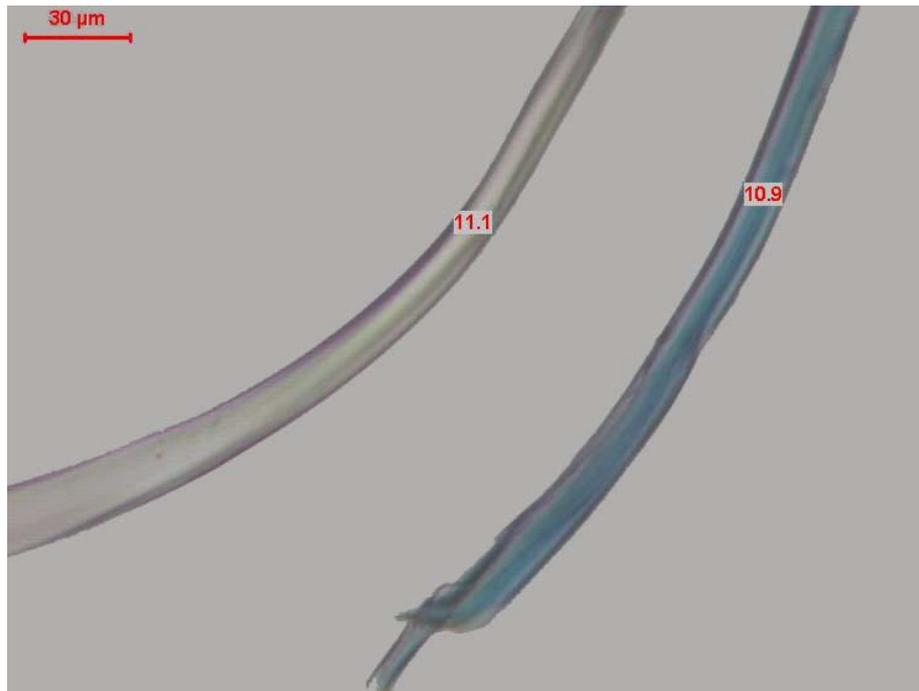
Microsfere

Preparazione delle microsfere

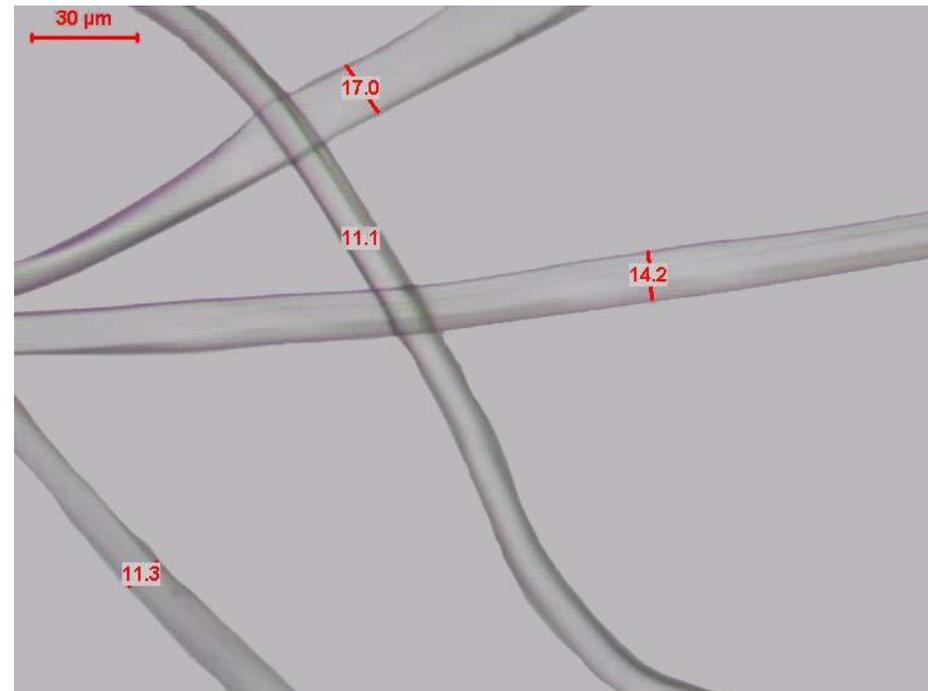


Fibroina	PEG	Alginato
100%		
95%	5%	
90%	10%	
47,5%	2,5%	50%

Processo di sgommatura



Dopo 15 minuti in autoclave



Dopo 30 minuti in autoclave

Colorazione Blu di Coomassie

Amide I

1700-1600 cm^{-1}

Vibrazione C=O

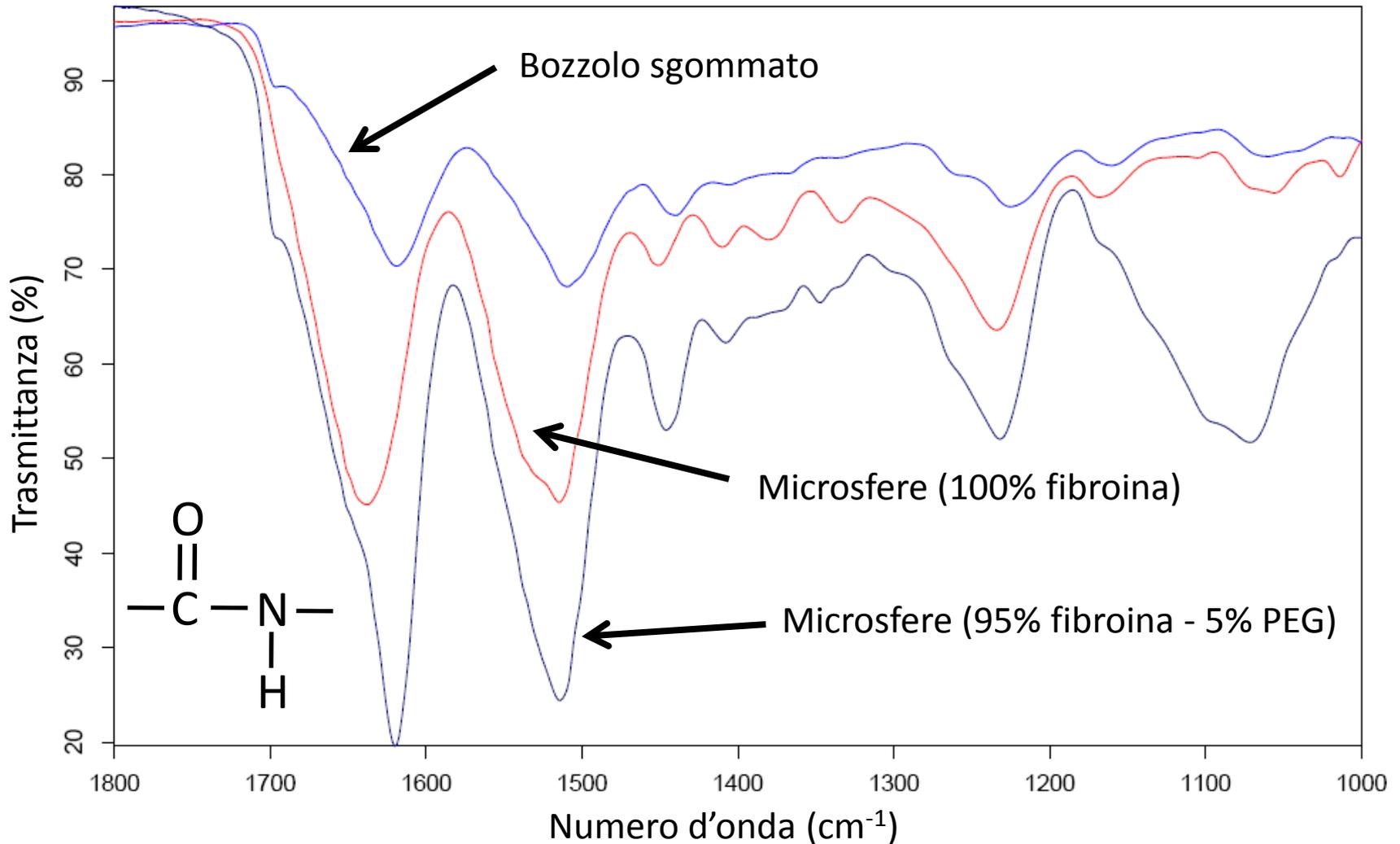
Amide II

1570-1520 cm^{-1}

Deformazione N-H

Vibrazione C-N

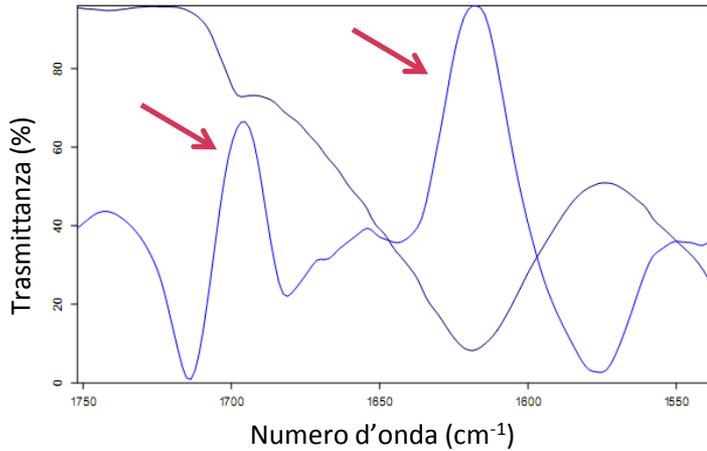
Spettri FTIR



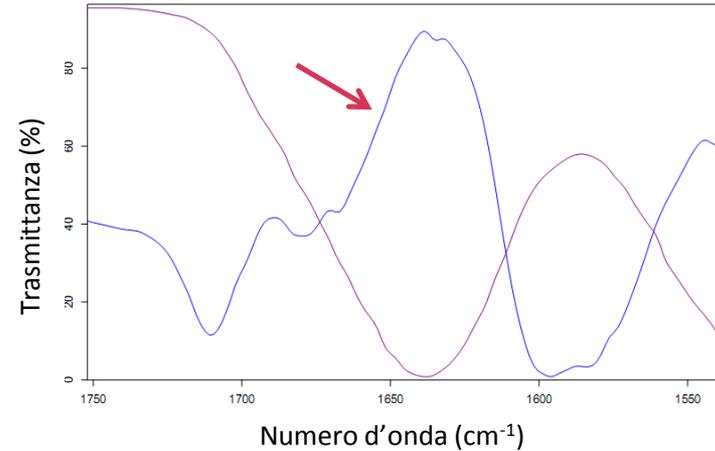
Spettri FTIR derivata seconda

Frequenza (cm ⁻¹)	Struttura secondaria
1621-1640	β-sheet
1641-1647	Random coil
1671-1679	B-sheet

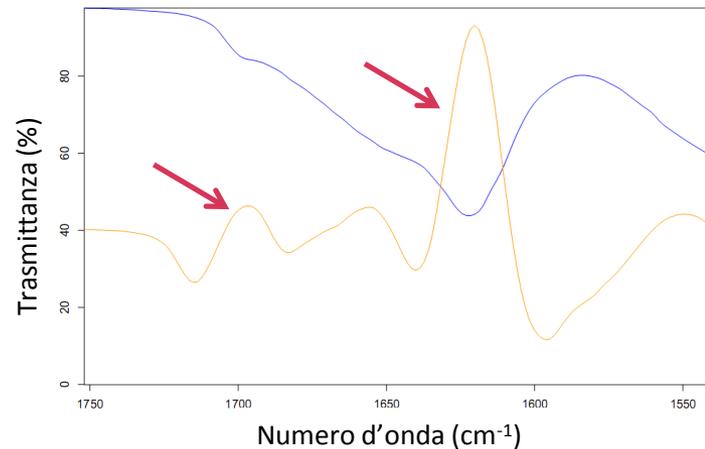
Bozzolo sgommato



Microsfere 100% fibroina

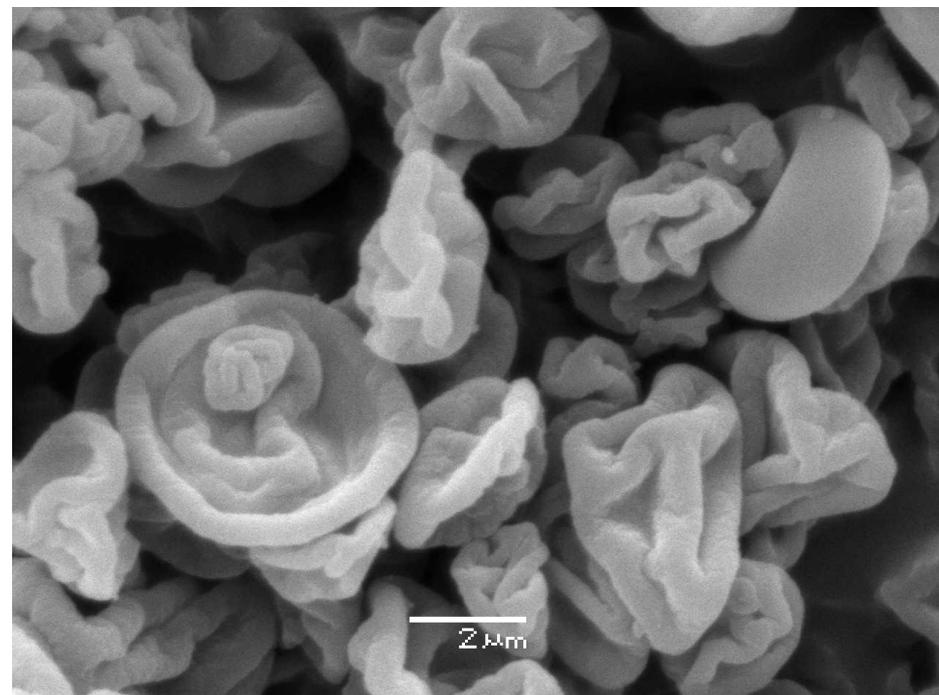
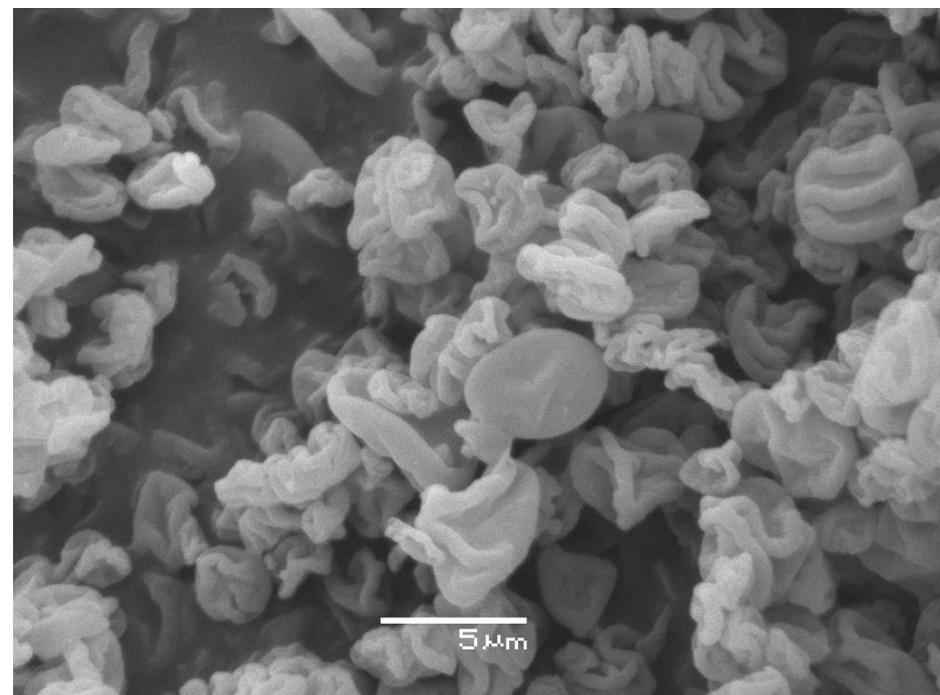


Microsfere 95% fibroina - 5% PEG

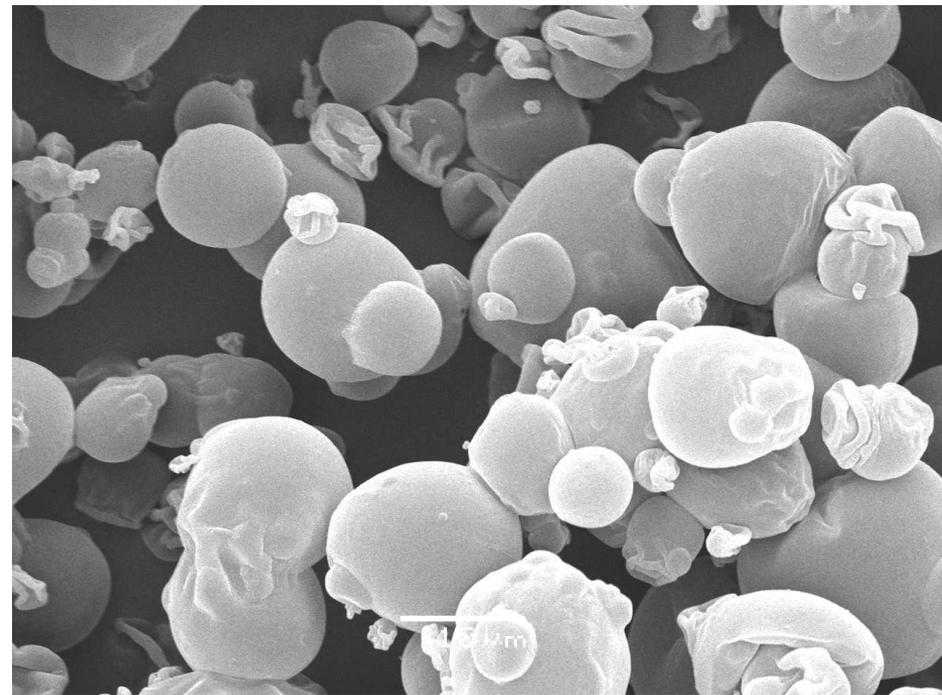


Microsfere

Fibroina 95% - PEG 5%

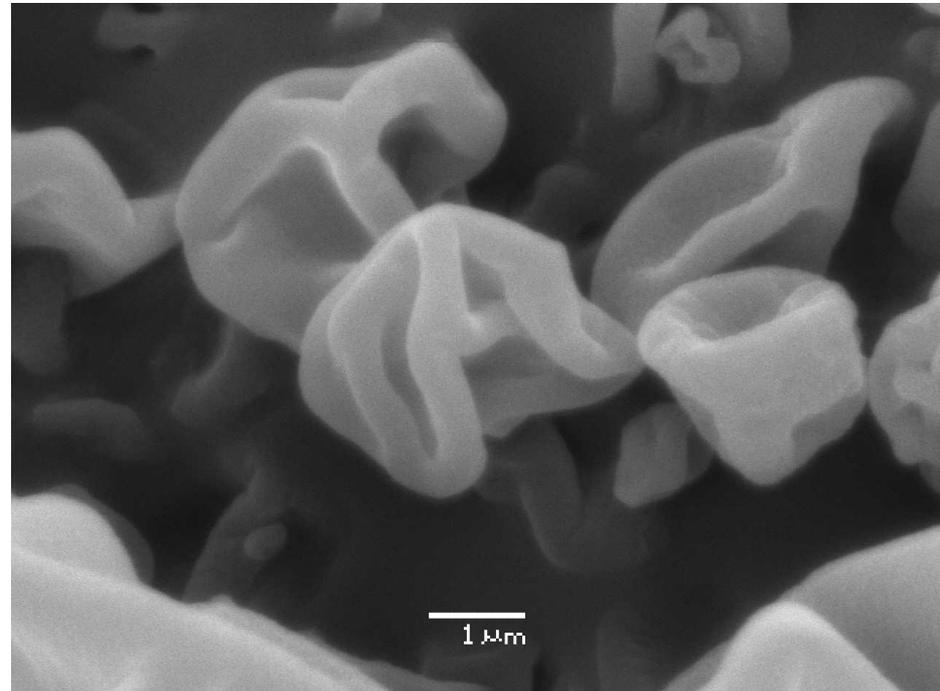
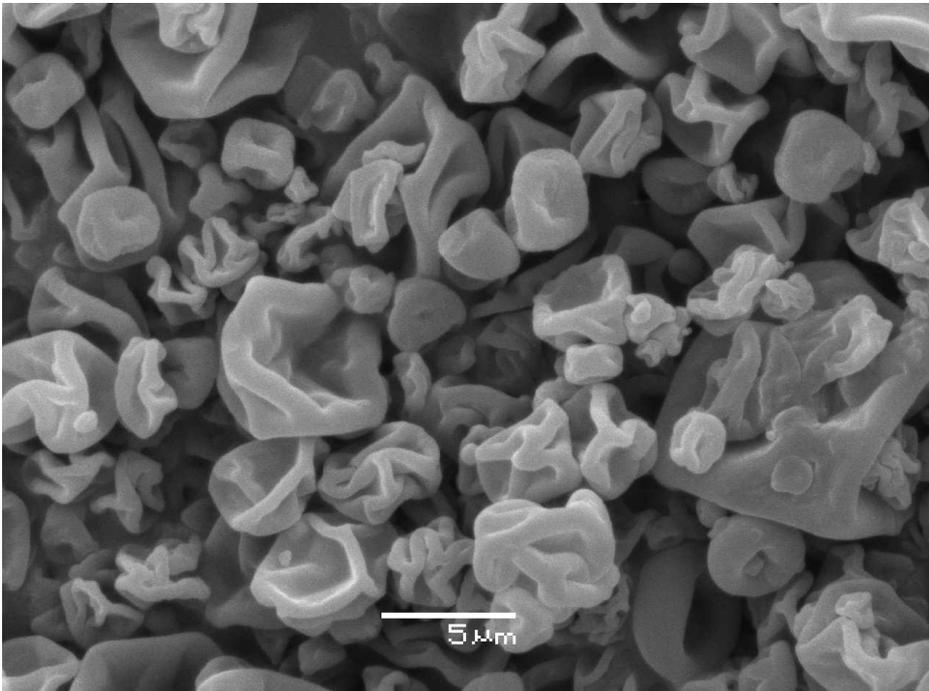


Microsfere Fibroina 100%



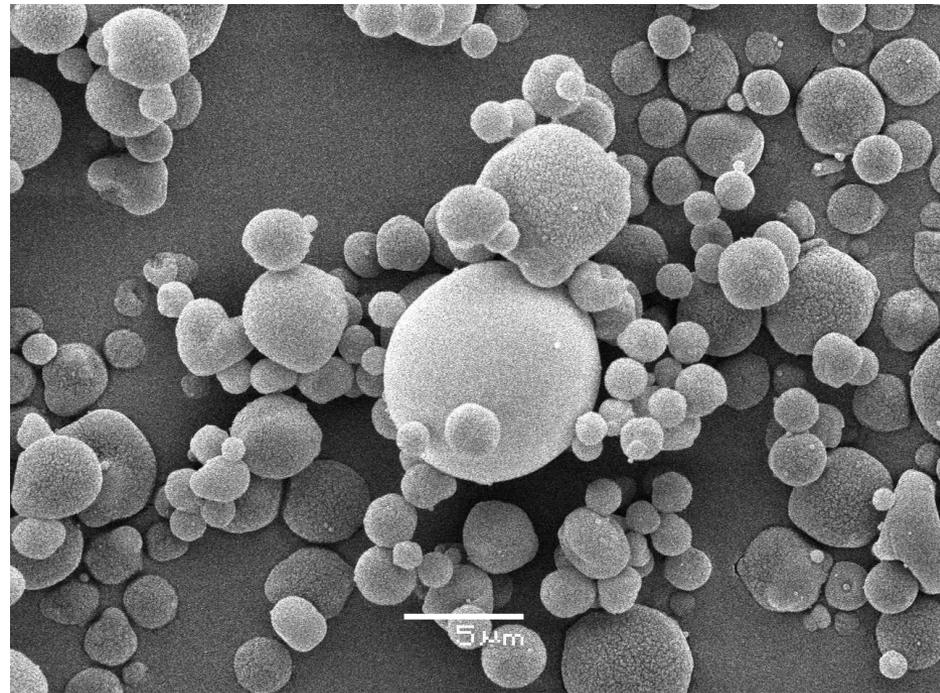
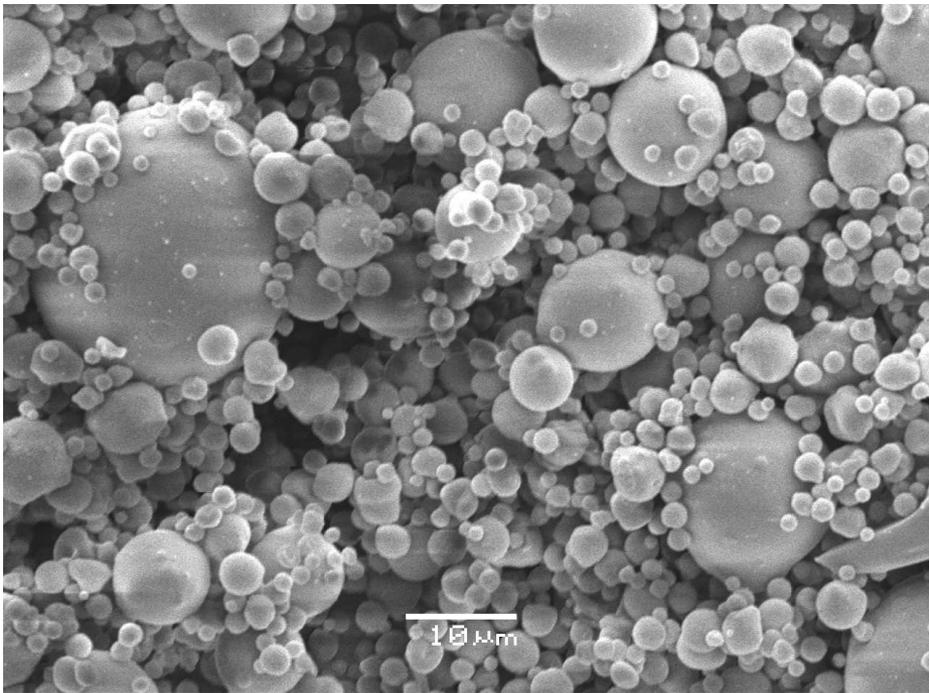
Microsfere

Fibroina 90% - PEG 10%

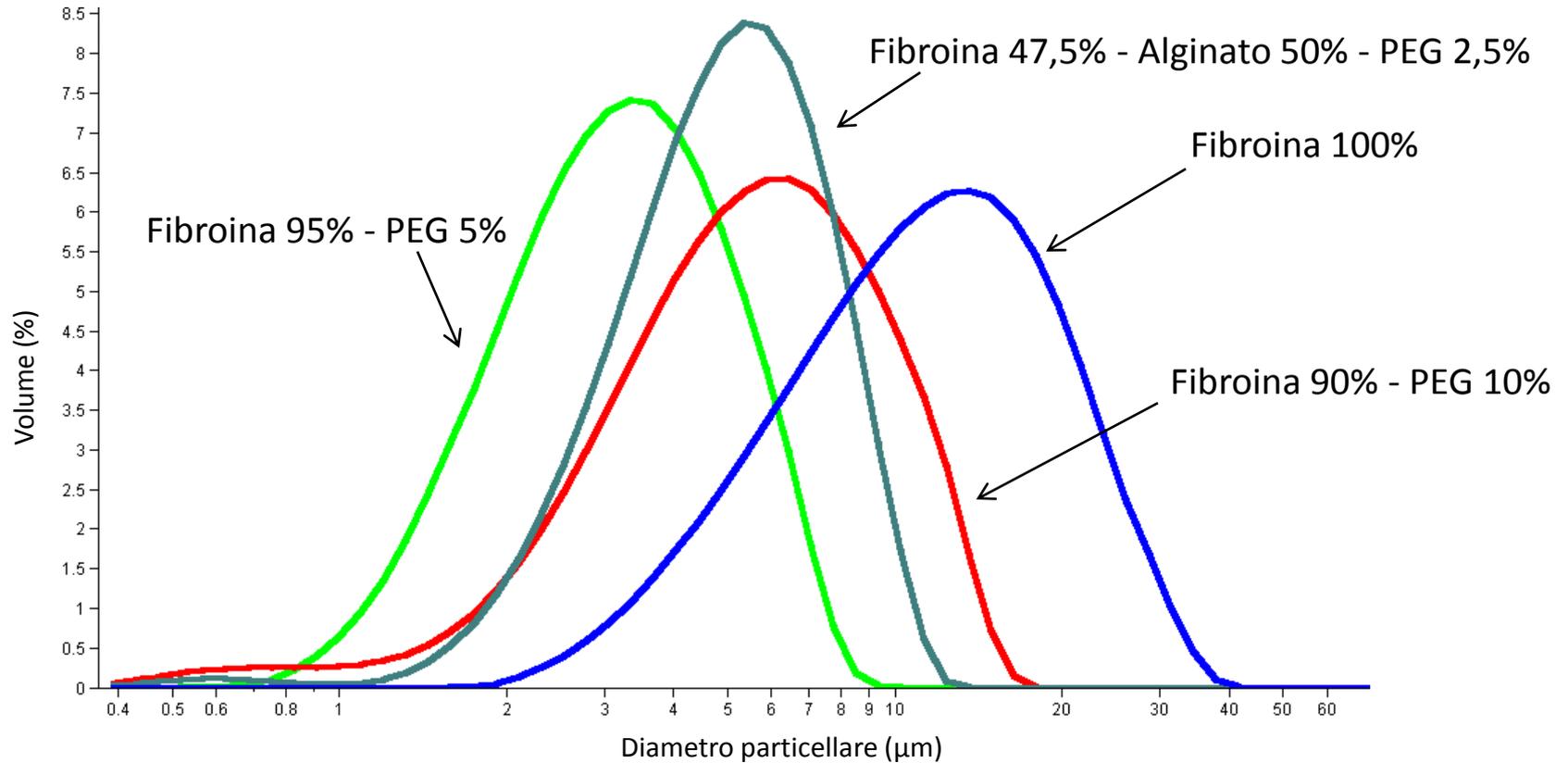


Microsfere

Fibroina 47,5% - PEG 2,5%- Alginato 50%



Analisi granulometriche



	d_s	d_v	SSA	d_{10}	d_{50}	d_{90}
Fibroina 100%	9,214	13,030	6514	4,888	11,560	23,340
Fibroina 95% - PEG 5%	2,702	3,355	22207	1,597	3,110	5,520
Fibroina 90% - PEG 10%	4,031	5,989	14883	2,369	5,487	10,510
Fibroina 47,5% - Alginato 50% - PEG 2,5%	4,144	5,147	14477	2,611	4,941	8,041

Efficienza di incapsulazione %

Spettrometria di massa ICP- MS

$$Ag_{\text{effettivo}} \text{ (ppm)} / Ag_{\text{teorico}} \text{ (ppm)} \times 100$$

Fibroina 47,5% - Alginato 50% - PEG 2,5%
35.32

Fibroina 100%
12.90

Fibroina 95% - PEG 5%
28.30

Fibroina 90% - PEG 10%
10.67

Resa %

Fibroina 47,5% - Alginato 50% - PEG 2,5%
19.83

Fibroina 100%
5.19

Fibroina 95% - PEG 5%
5.25

Fibroina 90% - PEG 10%
5.54

Conclusioni

L'argento colloidale è stato caricato in microsfere contenenti fibroina e alginato.

Il polietilenglicole in piccole quantità induce la stabilizzazione della fibroina nella conformazione β -sheet.

L'alginato migliora la qualità e la morfologia delle microsfere e l'efficienza di incapsulazione.

Microsfere di alginato, fibroina della seta e argento potranno essere impiegate per studi *in vivo*.