



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

**Implicarea proprietăților chitosanului în dezvoltarea
unor sisteme intranazale de eliberare a insulinei vizând
afecțiuni la nivel SNC**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. LĂCRĂMIOARA POPA

Student-doctorand:

POPESCU ROXANA

2024

Cuprins

Introducere.....	1
I. Partea generală.....	4
1. Chitosanul. Aspecte generale ale aplicării chitosanului în formularea produselor medicamentoase.....	5
1.1. Aspecte generale.....	5
1.2. Proprietățile chitosanului și ale derivaților acestuia.....	6
1.2.1. Acțiunea mucoadezivă și potențatoare a permeabilității la nivelul mucoasei nazale.....	6
1.2.2. Proprietățile superficiale.....	8
1.2.3. Potențialul zeta de suprafață.....	9
1.2.4. Interacțiunile chitosanului cu diverse molecule.....	10
1.3. Acțiunile biologice proprii ale chitosanului și ale derivaților acestuia.....	13
1.3.1. Acțiunea antibacteriană și antifungică.....	13
1.3.2. Acțiunea antitumorală.....	15
1.3.3. Acțiunea antioxidantă.....	15
1.3.4. Acțiunea hemostatică.....	16
1.3.5. Efectul imunostimulator.....	17
2. Chitosanul în formularea sistemelor medicamentoase cu administrare intranazală.....	19
2.1. Aspecte anatomo-fiziologice ale căii nazale.....	19
2.2. Chitosanul în formularea vaccinurilor intranazale.....	20
2.3. Forme farmaceutice care conțin chitosan, cu administrare intranazală.....	22
2.3.1. Hidrogeluri.....	22
2.3.2. Nanoparticule.....	23
2.3.3. Microparticule.....	25
2.3.4. Pulberi și microsfele.....	25
2.3.5. Emulsii.....	26
2.3.6. Nanoparticule lipidice acoperite cu chitosan.....	27
2.4. Administrarea intranazală a insulinei în afecțiuni asociate sistemului nervos central.....	28
II. Contribuții personale.....	31
3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....	32
4. Metodologia generală a cercetării.....	35

4.1.	Metodologia determinării pH-ului	35
4.2.	Metodologia determinării proprietăților superficiale.....	36
4.2.1.	Unghiul de contact	36
4.2.2.	Tensiunea superficială.....	38
4.2.3.	Lucrul de adeziune	39
4.2.4.	Lucrul de coeziune.....	39
4.2.5.	Coefficientul de etalare.....	40
4.2.	Metodologia determinării profilului reologic al sistemelor hidrocoloidale ...	40
4.3.1.	Vâscozimetrul Multi Visc.....	40
4.3.2.	Vâscozimetrul Lamy Rheology	41
4.4.	Studii de cedare <i>in vitro</i>	43
5.	Dezvoltarea și evaluarea preliminară a sistemelor hidrocoloidale intranazale pe bază de chitosan cu insulină	45
5.1.	Cercetări preliminare privind obținerea unor sisteme hidrocoloidale pe bază de chitosan pentru administrarea intranazală a insulinei.....	45
5.1.1.	Ipoteza de lucru și obiective specifice	45
5.1.2.	Materiale și metode	46
	<i>Materiale.....</i>	46
	<i>Obținerea soluțiilor hidrocoloidale.....</i>	46
	<i>Determinarea pH-ului</i>	47
	<i>Evaluarea vizuală a vâscozității.....</i>	47
	<i>Determinarea proprietăților superficiale.....</i>	47
	<i>Obținerea sistemelor hidrocoloidale cu insulină</i>	47
	<i>Evaluarea sistemelor în timpul depozitării. Aspecte privind stabilitatea sistemelor hidrocoloidale.....</i>	47
5.1.3.	Rezultate	47
5.1.4.	Discuții	50
5.1.5.	Concluzii.....	50
5.2.	Dezvoltarea și evaluarea preliminară a sistemelor hidrocoloidale intranazale pe bază de chitosan și PVA cu insulină, pentru afecțiuni asociate sistemului nervos central... ..	51
5.2.1.	Ipoteza de lucru și obiective principale	51
5.2.2.	Materiale și metode	52
	<i>Materiale.....</i>	52

<i>Obținerea soluțiilor hidrocoloidale</i>	52
<i>Observarea sistemelor în timpul depozitării</i>	53
<i>Determinarea pH-ului</i>	53
<i>Determinarea unghiului de contact</i>	54
<i>Determinarea tensiunii superficiale prin metoda „Pedant drop”</i>	54
<i>Lucrul de adeziune</i>	54
<i>Lucrul de coeziune</i>	55
<i>Coeficientul de etalare</i>	55
<i>Studii reologice</i>	55
<i>Analiza proiecție experimentale</i>	55
5.2.3. Rezultate	56
<i>Prepararea soluțiilor hidrocoloidale pe bază de chitosan și PVA</i>	56
<i>Observarea sistemelor în timpul depozitării</i>	56
<i>Determinarea pH</i>	57
<i>Determinarea unghiului de contact</i>	57
<i>Determinarea tensiunii superficiale</i>	59
<i>Lucrul de adeziune</i>	62
<i>Lucrul de coeziune</i>	62
<i>Coeficientul de etalare</i>	63
<i>Studii reologice</i>	64
<i>Analiza Designului Experimental</i>	65
5.2.4. Discuții	74
5.2.5. Concluzii	76
6. Caracterizarea fizico-chimică și evaluarea inițială a sistemelor hidrocoloidale intranazale cu insulină pe bază de carboximetil chitosanului – hialuronan	78
6.1. Ipoteza de lucru și obiective specifice	79
6.2. Materiale și metode	80
6.2.1. Materiale	80
6.2.2. Prepararea sistemelor hidrocoloidale și designul experimental	80
6.2.2. Determinarea aspectului vizual și al pH-ului	81
6.2.3. Determinarea unghiului de contact	81
6.2.4. Determinarea tensiunii superficiale	81
6.2.5. Determinarea lucrului de adeziune, lucrului de coeziune și a coeficientului de etalare, pe baza proprietăților superficiale	81

6.2.6.	Analiza reologică	82
6.2.7.	Studii de cedare <i>in vitro</i> a insulinei	82
6.2.8.	Evaluarea designului experimental.....	82
6.3.	Rezultate	83
6.3.1.	Prepararea sistemelor hidrocoloidale și designul experimental.....	83
6.3.2.	Determinarea aspectului vizual și al pH-ului.....	83
6.3.3.	Determinarea unghiului de contact	84
6.3.4.	Determinarea tensiunii superficiale.....	84
6.3.5.	Determinarea lucrului de adeziune, lucrului de coeziune și a coeficientului de etalare, pe baza proprietăților superficiale	86
6.3.6.	Analiza reologică	87
6.3.7.	Studii de cedare <i>in vitro</i> a insulinei	90
6.3.8.	Evaluarea designului experimental.....	92
6.4.	Discuții	105
6.5.	Concluzii	109
7.	Concluzii și contribuții personale	110
	Bibliografie.....	114

Introducere

Creșterea numărului de persoane diagnosticate cu afecțiuni ale sistemului nervos central ne-au motivat să supunem atenției administrarea pe cale nazală a substanțelor [1, 2]. Acest tip de administrare este mai puțin utilizat, dar prezintă multiple avantaje și necesită să fie explorat în vederea creșterii biodisponibilității ingredientelor farmaceutice active. Până în prezent au fost efectuate o serie de studii pentru administrarea intranasală a medicamentelor cu acțiune locală și sistemică, un mai mare interes fiind alocat pentru cele cu acțiune la nivelul creierului.

Caracteristicile binecunoscute ale polimerilor chitosan și carboximetil chitosan au stat la baza dezvoltării sistemelor hidrocoloidale cu administrare nazală, deoarece impactul proprietăților mucoadezive și de potențare a permeabilității ingredientului farmaceutic activ prin mucoasa nazală este unul benefic, favorizând astfel biodisponibilitatea acestora la nivelul sistemului nervos central. Studiile realizate până în prezent au arătat că polimerul și derivații lui sunt biodegradabili, biocompatibili și nu prezintă toxicitate, ceea ce îi face compatibili cu administrarea pe mucoase.

Insulina este actualmente un hormon utilizat pentru tratarea diabetului zaharat, însă mai puțin cunoscut este că aceasta prezintă acțiuni și la nivelul sistemului nervos central. Insulina este considerată o neuroproteină deoarece s-a demonstrat că are posibile efecte terapeutice benefice în afecțiuni asociate sistemului nervos central, cum ar fi boala Alzheimer, boala Parkinson și deficiențe cognitive. De asemenea are capacitatea de a modula pofta de nicotină și limitează simptomele asociate sindromului de abinență și favorizând renunțarea la fumat.

1. Chitosanul. Aspecte generale ale aplicării chitosanului în formularea produselor medicamentoase

Chitosanul este un polizaharid natural, obținut în general din sursă marină [3]. Chitosanului și derivații săi prezintă proprietăți mucoadezive [4, 5], potențează permeabilitatea la nivelul mucoasei nazale datorită sarcinii pozitive date de grupările amino stimulând astfel biodisponibilitatea substanțelor [6].

Referitor la tensiunea superficială a polimerului, aceasta scade odată cu creșterea concentrației de chitosan [7, 8].

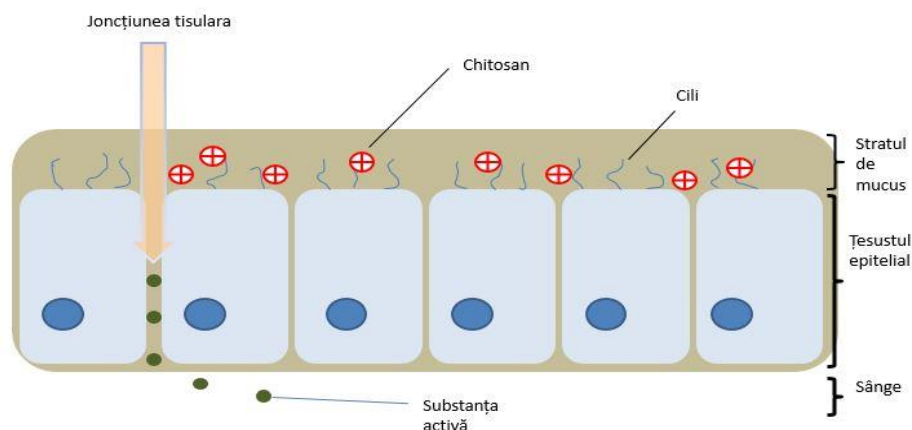


Figura 1.1. Mucoadeziunea chitosanului și deschiderea joncțiunii tisulare (Adaptare după Popescu, R., M.V. Ghica, C.E. Dinu-Pirvu, V. Anuta, D. Lupuliasa, and L. Popa, New Opportunity to Formulate Intranasal Vaccines and Drug Delivery Systems Based on Chitosan. *Int J Mol Sci* 2020, 21 [6])

Interacțiunile dintre chitosan și proteine [9], lipide [10] sau alte molecule [11] duc la compuși care au aplicații proprii sau la modificarea caracteristicilor substanțelor implicate în legătură (modificări conformaționale [12], solubilitate crescută [13], etc.) .

Chitosanul și derivații săi au acțiuni proprii (antibacteriană [14, 15], antifungică [16], antitumorală [17], antioxidantă [18], hemostatică [19], imunostimulatoare [20], neuroprotectivă [21] etc.) și pot fi folosiți ca atare sau în combinație cu alte molecule din aceeași clasă pentru a obține un efect sinergic [22-24].

Studierea proprietăților chitosanului și derivaților săi este necesară pentru a evalua influența pe care o au aceștia în dezvoltarea formulărilor cu administrare nazală. Studiile realizate până în prezent au arătat că chitosanul este biodegradabil, biocompatibil și nu prezintă toxicitate ceea ce îl face potrivit pentru administrarea mucoasei, ducând la formularea sistemelor nazale de administrare a medicamentelor [25-27].

2. Chitosanul în formularea sistemelor medicamentoase cu administrare intranasală

Calea nazală prezintă biodisponibilitate mai mare față de calea orală, evitând metabolismul hepatic [28] și intestinal [29]. Substanțele biologice active ajung direct la creier, din cavitatea nazală, de-a lungul nervului trigemen și prin sistemul olfactiv, ocolind bariera hematoencefalică într-un mod non-invaziv [28, 30], sau se absorb prin epiteliul nazal în circulația sistemică și apoi trec prin BHE în SNC [31]. Sistemele care pun la dispoziția organismului moleculele biologice active, fără a fi invazive și fără a penetra BHE sunt considerate de generația a treia [32].

Variantele de vaccin nazal pot fi utilizate pentru a depăși dezavantajele celor convenționale, injectabile [30]. Acestea pot preveni focarele sau pandemiile, conducând la o gestionare mai eficientă a bolilor transmisibile. Utilizarea vaccinurilor nazale poate crește procentul de persoane imunizate [33]. Întrucât calea nazală este neinvazivă și rapidă [34], vaccinul poate fi administrat cu ușurință la domiciliu, fără a fi nevoie de personal medical calificat [28]. Utilizarea chitosanului ca adjuvant în formularea vaccinurilor nazale ajută la obținerea unui răspuns imun superior [35].

Conform literaturii de specialitate, numeroase studii includ forme farmaceutice ce conțin chitosan sau derivații lui pentru administrare intranasală și care încorporează diferite substanțe active, cum ar fi: hidrogeluri cu ropinirol sau insulină [36], nanoparticule cu metilprednison sau insulină [37], microsfele cu carvedilol sau diltiazem [38], emulsii cu quetiapină sau zolmatriptan [39] și altele.

Pe lângă proprietatea binecunoscută a insulinei de a regla metabolismul glucozei în tratamentul diabetului [39, 40], administrarea insulinei pe cale intranasală prezintă efecte favorabile și în bolile asociate SNC [41, 42] prin acțiunea sa neuroprotectoare [43]. Diferite studii clinice au ca scop investigarea potențialelor efecte terapeutice ale insulinei în boli precum: deficiența de memorie, boala Alzheimer, boala Parkinson, sindromul de abținere la tutun, etc [44].

3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Cercetarea prezentată în lucrarea de doctorat s-a bazat pe caracteristicile biodegradabile, biocompatibile și non-toxice ale chitosanului, dar cel mai important, pe proprietățile mucoadezive și pe capacitatea acestuia de a îmbunătăți penetrarea prin mucoasa nazală a substanțelor active în general, și a insulinei, în special.

Studiile efectuate până în prezent au arătat beneficiile administrării intranasale a insulinei, iar în această lucrare ne propunem să evaluăm proprietățile sistemelor hidrocoloidale pe bază de chitosan și derivații acestuia care conțin insulină.

Obiectivul principal al lucrării de doctorat este reprezentat de formularea și evaluarea sistemelor hidrocoloidale pe bază de chitosan și respectiv, folosind derivatul - carboximetil chitosan, care încorporează insulină, cu scopul de a transporta substanța activă de la nas la creier.

4. Metodologia generală a cercetării

Metodologia generală de cercetare, care a fost dezvoltată în cadrul colectivului Disciplinei de Chimie-Fizică și Coloidală a Facultății de Farmacie, din cadrul Universității de Medicină și Farmacie “Carol Davila” din București.

Evaluarea pH-ului s-a realizat folosind pH-metrul METTLER TOLEDO Seven Compact. Calibrarea aparatului s-a efectuat o soluție standard cu pH 4, apoi cea de pH 7 înainte de efectuarea măsurărilor.

Evaluarea proprietăților superficiale a constat în determinarea unghiului de contact prin metoda picăturii sesile și a tensiunii superficiale prin metoda picăturii care cade cu ajutorul goniometrului CAM 101 (KSV Instruments, Finlanda) care are la bază ecuația Young-Laplace. Rezultatele obținute în urma celor două determinări au fost incluse în calcularea lucrului de adeziune, lucrului de coeziune și a coeficientului de etalare a sistemelor hidrocoloidale.

Determinare profilului reologic al sistemelor s-a realizat cu vâscozimetrul Multi Visc (Fungilab SA, Barcelona, Spania), folosind adaptorul pentru vâscozități reduse pentru sistemele pe bază de chitosan și PVA. Experimentele s-au realizat la temperatura de condiționare (4 – 8 °C), iar pentru determinarea vâscozității s-a folosit modelarea matematică a profilelor reologice. Pentru cel de-al doilea studiu, s-a utilizat vâscozimetrul Lamy Rheology RM100 Plus (Lamy Rheology Instruments, Champagne au Mont d’Or, France), la o temperatura de 35 °C. Modelul Legii Puterii Matematice (Power Law Model) a fost aplicat pentru a analiza comportamentul curgerii.

Studiile de cedare *in vitro*, corespunzătoare celui de-al doilea experiment s-au efectuat pe celule de difuzie Franz (aparatură Hanson), folosind membrană sintetică de acetat de celuloză și tampon fosfat, la 35 °C. La intervale predefinite de timp s-au prelevat probe, care au fost analizate spectrofotometric la 271 nm.

5. Dezvoltarea și evaluarea preliminară a sistemelor hidrocoloidale intranazale pe bază de chitosan cu insulină

Primul studiu a cuprins dezvoltarea, formularea și evaluarea preliminară a sistemelor hidrocoloidale intranazale pe bază de chitosan și alcool polivinilic cu insulină. Cercetarea s-a concentrat pe determinarea proprietăților superficiale ale sistemelor hidrocoloidale, în special mucoadezivitatea, precum și a profilurilor reologice, ca factori cheie pentru a depăși clearance-ul mucociliar și pentru a îmbunătăți eficacitatea terapeutică după administrarea intranazale a medicamentelor.

Pentru proiectarea matricei experimentale din cadrul acestui studiu, a fost folosit programul Modde 13, în care sunt 3 variabile independente X1: concentrația de chitosan (1%, 1,5%, 2%); X2: raportul dintre chitosan și PVA 1% (1:2, 1:1, 2:1); X3: cantitatea de insulină (5 UI/g, 7,5 UI/g, 10 UI/g) [45]. În plus, programul statistic Minitab a fost utilizat pentru a genera ecuațiile de regresie pentru fiecare răspuns.

Valorile unghiului de contact pentru sistemele hidrocoloide analizate în cadrul acestui studiu au fost cuprinse între $54,84 \pm 1,52^\circ$ și $66,74 \pm 0,59^\circ$; ceea ce indică o capacitate de umectare crescută și o capacitate de etalare bună a sistemelor. Valorile tensiunii superficiale obținute în urma determinărilor sunt mai mici decât cea a mucoasei nazale [4].

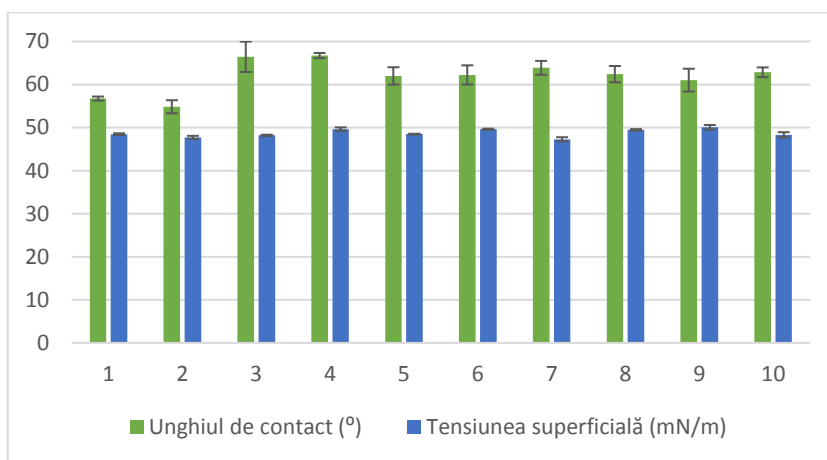


Figura 5.1. Reprezentare grafică a unghiului de contact și a tensiunii superficiale

Conform reprezentării grafice a coeficienților de regresie, creșterea concentrației de chitosan are o influență invers proporțională asupra forțelor de adeziune și proporțională cu vâscozitatea.

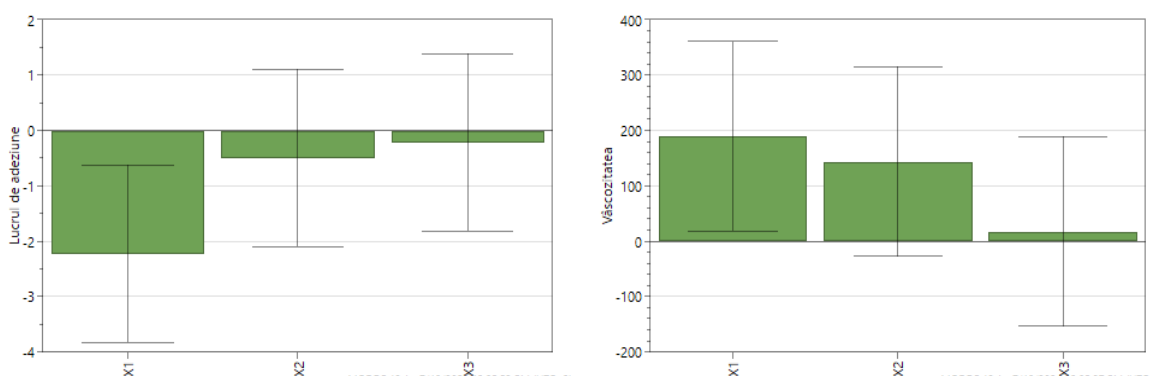


Figure 5.2. Coeficienții de regresie corespunzători lucrului de adeziune și vâscozității

Reunind rezultatele studiului, privind proprietățile suprafeței și profilele reologice, sistemul hidrocoloidal 1 (chitosan 1%, chitosan:PVA = 2:1, insulina = 5 IU/g) poate fi considerat proba optimă și poate fi utilizat pentru cercetări ulterioare.

6. Caracterizarea fizico-chimică și evaluarea inițială a sistemelor hidrocoloidale intranazale cu insulină pe bază de carboximetil chitosanului – hialuronan

Scopul acestui studiu a fost dezvoltarea și caracterizarea sistemelor nazale bazate pe carboximetil chitosan (derivatul solubil al chitosanului [46]) și hialuronat de sodiu cu insulină, care să combine proprietățile mucoadezive ale polimerilor și să stimuleze absorbția insulinei [47-49]. Am evaluat influența factorilor de formulare asupra proprietăților suprafeței, reologiei și eliberării in vitro a insulinei utilizând complementar strategiile Design of Experiments.

A fost elaborat un plan factorial de 2^3 , în care există trei variabile independente la două niveluri de variație, unde X1 – concentrația CMC (1% sau 2%), X2 – raportul dintre CMC și NaHA (1/1 sau 1/2), X3 - cantitatea de insulină (20 UI/ml sau 30 UI/ml).

Toate probele studiate au înregistrat valori ale unghiului de contact mai mici de 90° . Determinările făcute în acest experiment au arătat că formularea S1 a avut cea mai apropiată valoare de tensiunea superficială fiziologică a mucoasei nazale. Lucrul de adeziune calculat pe baza unghiului de contact și tensiunii superficiale a fost de peste 80 mN/m pentru toate sistemele. Comportamentul de curgere al celor opt sisteme a fost pseudoplastic.

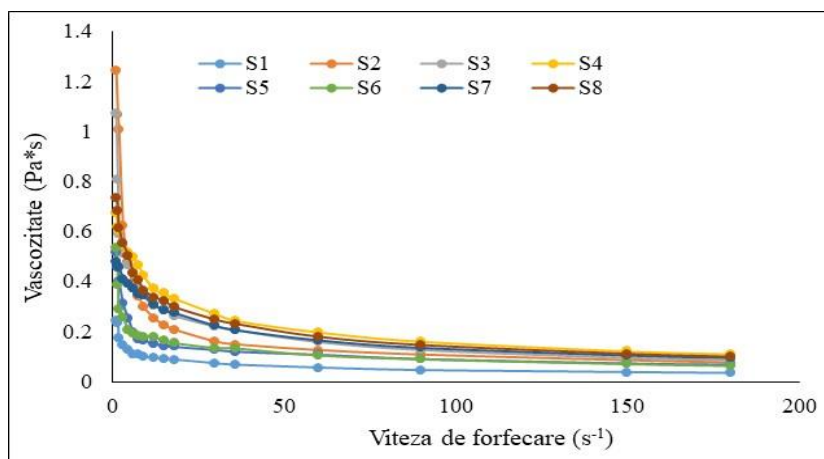


Figura 6.1. Influența vitezei de forfecare asupra vâscozității

Cinetica de eliberare a urmat modelul de ordinul zero pentru S1, S4, S7 și S8, cu R^2 mai mare de 0,9934, iar restul modelul Legii puterii cu $R^2 > 0.9958$ și toate probele au avut procent de cedare cumulativ de peste 60 %.

Software-ul Modde a fost utilizat pentru a proiecta planul experimental și pentru a oferi reprezentarea 3D a suprafeței de răspuns și a conturului de răspuns pentru a observa tendința variabilelor de răspuns pe baza modificărilor parametrului de formulare [50]. Software-ul statistic Minitab a fost folosit pentru a analiza datele și pentru a completa

screening-ul oferit de programul Modde, prin generarea ecuațiilor de regresie și a diagramelor Pareto pentru fiecare factor de răspuns.

Lucrul de adeziune a fost influențat de cantitatea de insulină (X3); și de raportul CMC/NaHA (X2). Raportul CMC/NaHA a avu semnificație pronunțată în ceea ce privește indicele de consistență și eliberarea de cantității de substanță activă.

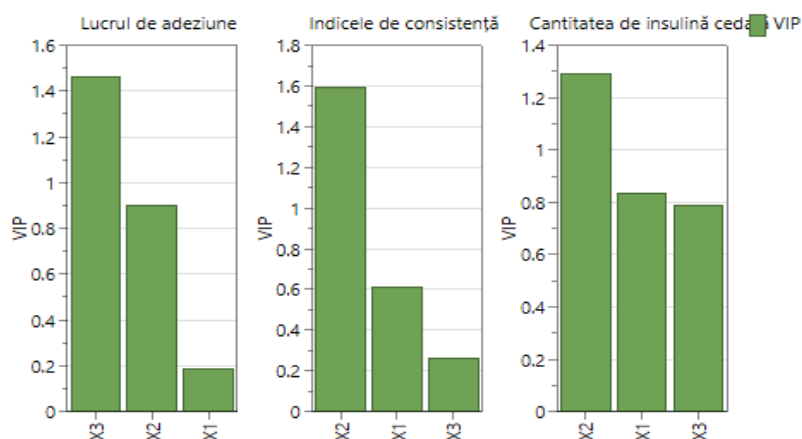


Figura 6.2. Importanță variabilelor în proiecție (VIP) asupra variabilelor de răspuns

Sistemul S7 este cel mai elocvent sistem în comparație cu valoarea de referință predictivă generată cu ajutorul programului Modde.

7. Concluzii și contribuții personale

Lucrarea de doctorat intitulată „*Implicarea proprietăților chitosanului în dezvoltarea unor sisteme intranazale de eliberare a insulinei vizând afecțiuni la nivel SNC*” vizează depășirea limitărilor date de bariera hematoencefalică asupra substanțelor active cu acțiune la nivelul sistemului nervos central, prin conturarea caracteristicilor chitosanului și ale derivaților acestuia în formularea sistemelor medicamentoase cu administrare nazală.

Obiectivele propuse în aceasta teză de doctorat au fost îndeplinite, și anume: selectarea unei substanțe medicamentoase cu aplicații noi descoperite în cadrul afecțiunilor asociate sistemului nervos central; formularea și dezvoltarea a două sisteme hidrocoloïdale pe bază de chitosan, respectiv carboximetil chitosan asociați cu alți polimeri pentru a potența proprietățile polimerilor; evaluarea impactului parametrilor de formulare asupra variabilelor de răspuns cu ajutorul a doua programe statistice. Aceste interpretări pot fi utilizate ca punct de plecare pentru studii ulterioare.

Asceste sisteme hidrocoloïdale pot fi incluse în alte cercetări, pentru administrarea pe mucoasa nazală sau cu aplicativitate pe alte mucoase și în care să se încorporeze și alte substanțe active din diferite clase medicamentoase, oferind noi oportunități de tratament.

Bibliografie

1. Mureșanu DF, Chira D, Dobran Ș-A, Gherman A. The 2nd edition of the Romanian National Neurology Forum: from idea to implementation in the health system – here, now, together! *Journal of Medicine and Life*. 2024;17(2):129-32.
2. Collaborators GBDNSD. Global, regional, and national burden of disorders affecting the nervous system, 1990-2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet Neurol*. 2024;23(4):344-81.
3. TM MW, Lau WM, Khutoryanskiy VV. Chitosan and Its Derivatives for Application in Mucoadhesive Drug Delivery Systems. *Polymers (Basel)*. 2018;10(3):1-37.
4. Mati-Baouche N, Elchinger P-H, de Baynast H, Pierre G, Delattre C, Michaud P. Chitosan as an adhesive. *European Polymer Journal*. 2014;60:198-212.
5. Popa L, Ghica MV, **Popescu R**, Irimia T, Dinu-Pîrvu C-E. Development and Optimization of Chitosan-Hydroxypropyl Methylcellulose In Situ Gelling Systems for Ophthalmic Delivery of Bupivacaine Hydrochloride. *Processes*. 2021;9(10).
6. **Popescu R**, Ghica MV, Dinu-Pîrvu CE, Anuta V, Lupuliasa D, Popa L. New Opportunity to Formulate Intranasal Vaccines and Drug Delivery Systems Based on Chitosan. *Int J Mol Sci*. 2020;21(14).
7. Elsabee MZ, Morsi RE, Al-Sabagh AM. Surface active properties of chitosan and its derivatives. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2009;74(1):1-16.
8. Nilsen-Nygaard J, Strand S, Vårum K, Draget K, Nordgård C. Chitosan: Gels and Interfacial Properties. *Polymers*. 2015;7(3):552-79.
9. Azevedo JR, Sizilio RH, Brito MB, Costa AMB, Serafini MR, Araújo AAS, et al. Physical and chemical characterization insulin-loaded chitosan-TPP nanoparticles. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2011;106(3):685-9.
10. Vemireddy S, M CP, Halmuthur MS. Chitosan stabilized nasal emulsion delivery system for effective humoral and cellular response against recombinant tetravalent dengue antigen. *Carbohydr Polym*. 2018;190:129-38.
11. Fini A, Orienti I. The Role of Chitosan in Drug Delivery. *American Journal of Drug Delivery*. 2003;1(1):43-59.
12. Shariatinia Z. Pharmaceutical applications of chitosan. *Adv Colloid Interface Sci*. 2019;263:131-94.
13. Boonsongrit Y, Mitrevej A, Mueller BW. Chitosan drug binding by ionic interaction. *Eur J Pharm Biopharm*. 2006;62(3):267-74.

14. Benltoufa S, Miled W, Trad M, Slama RB, Fayala F. Chitosan hydrogel-coated cellulosic fabric for medical end-use: Antibacterial properties, basic mechanical and comfort properties. *Carbohydr Polym.* 2020;227:115352.
15. Islam MM, Islam R, Mahmudul Hassan SM, Karim MR, Rahman MM, Rahman S, et al. Carboxymethyl chitin and chitosan derivatives: Synthesis, characterization and antibacterial activity. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications.* 2023;5.
16. Munoz-Tebar N, Perez-Alvarez JA, Fernandez-Lopez J, Viuda-Martos M. Chitosan Edible Films and Coatings with Added Bioactive Compounds: Antibacterial and Antioxidant Properties and Their Application to Food Products: A Review. *Polymers (Basel).* 2023;15(2).
17. Ju H, Yu C, Liu W, Li H-H, Fu Z, Wu Y-C, et al. Polysaccharides from marine resources exhibit great potential in the treatment of tumor: A review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications.* 2023;5.
18. Desai N, Rana D, Salave S, Gupta R, Patel P, Karunakaran B, et al. Chitosan: A Potential Biopolymer in Drug Delivery and Biomedical Applications. *Pharmaceutics.* 2023;15(4).
19. Zhang Hu, Sitong Lu, Yu Cheng, Songzhi Kong, Sidong Li, Chengpeng Li, et al. Investigation of the Effects of Molecular Parameters on the Hemostatic Properties of Chitosan. *Molecules.* 2018;23:1-14.
20. Li M, Wang Y, Sun Y, Cui H, Zhu SJ, Qiu HJ. Mucosal vaccines: Strategies and challenges. *Immunol Lett.* 2020;217:116-25.
21. Ojeda-Hernandez DD, Canales-Aguirre AA, Matias-Guiu J, Gomez-Pinedo U, Mateos-Diaz JC. Potential of Chitosan and Its Derivatives for Biomedical Applications in the Central Nervous System. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:389.
22. Yu Z, Rao G, Wei Y, Yu J, Wu S, Fang Y. Preparation, characterization, and antibacterial properties of biofilms comprising chitosan and epsilon-polylysine. *Int J Biol Macromol.* 2019;141:545-52.
23. Julia Radwan-Pragłowska, Marek Pi, Volodymyr Deineka, Łukasz Janus, Viktoriia Korniienko, Evgenia Husak, et al. Chitosan-Based Bioactive Hemostatic Agents with Antibacterial Properties—Synthesis and Characterization. *Molecules.* 2019;24:1-17.
24. Yingying Hua, Chenjun Ma, Tiantian Wei, Zhang L, Shen J. Collagen/Chitosan Complexes: Preparation, Antioxidant Activity, Tyrosinase Inhibition Activity, and Melanin Synthesis. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020;21:1-15.

25. Martau GA, Mihai M, Vodnar DC. The Use of Chitosan, Alginate, and Pectin in the Biomedical and Food Sector-Biocompatibility, Bioadhesiveness, and Biodegradability. *Polymers (Basel)*. 2019;11(11):1-28.
26. George A, Shah PA, Shrivastav PS. Natural biodegradable polymers based nano-formulations for drug delivery: A review. *Int J Pharm*. 2019;561:244-64.
27. Upadhyaya L, Singh J, Agarwal V, Tewari RP. Biomedical applications of carboxymethyl chitosans. *Carbohydr Polym*. 2013;91(1):452-66.
28. Pacheco C, Sousa F, Sarmiento B. Chitosan-based nanomedicine for brain delivery: Where are we heading? *Reactive and Functional Polymers*. 2020;146:104430.
29. Fan LW, Carter K, Bhatt A, Pang Y. Rapid transport of insulin to the brain following intranasal administration in rats. *Neural Regen Res*. 2019;14(6):1046-51.
30. Wang Q, Zuo Z, Cheung CKC, Leung SSY. Updates on thermosensitive hydrogel for nasal, ocular and cutaneous delivery. *Int J Pharm*. 2019;559:86-101.
31. Khosa A, Saha RN, Singhvi G. Drug delivery to the brain. *Nanomaterials for Drug Delivery and Therapy* 2019. p. 461-514.
32. Pandey SP, Shukla T, Dhote VK, K. Mishra D, Maheshwari R, Tekade RK. Use of Polymers in Controlled Release of Active Agents. *Basic Fundamentals of Drug Delivery* 2019. p. 113-72.
33. Bhavana V, Thakor P, Singh SB, Mehra NK. COVID-19: Pathophysiology, treatment options, nanotechnology approaches, and research agenda to combating the SARS-CoV2 pandemic. *Life Sci*. 2020;261:118336.
34. Lochhead JJ, Kellohen KL, Ronaldson PT, Davis TP. Distribution of insulin in trigeminal nerve and brain after intranasal administration. *Sci Rep*. 2019;9(1):2621.
35. Wu D, Zhu L, Li Y, Zhang X, Xu S, Yang G, et al. Chitosan-based Colloidal Polyelectrolyte Complexes for Drug Delivery: A Review. *Carbohydrate Polymers*. 2020:116126.
36. Liu L, Gao Q, Lu X, Zhou H. In situ forming hydrogels based on chitosan for drug delivery and tissue regeneration. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;11(6):673-83.
37. Ansari R, Sadati SM, Mozafari N, Ashrafi H, Azadi A. Carbohydrate polymer-based nanoparticle application in drug delivery for CNS-related disorders. *European Polymer Journal*. 2020;128:109607.

38. Tiozzo Fasiolo L, Manniello MD, Tratta E, Buttini F, Rossi A, Sonvico F, et al. Opportunity and challenges of nasal powders: Drug formulation and delivery. *Eur J Pharm Sci.* 2018;113:2-17.
39. Awad R, Avital A, Sosnik A. Polymeric nanocarriers for nose-to-brain drug delivery in neurodegenerative diseases and neurodevelopmental disorders. *Acta Pharmaceutica Sinica B.* 2022.
40. ***. The United States Pharmacopeia and National Formulary. USP 36, NF 31. 2013.
41. Santiago JCP, Hallschmid M. Outcomes and clinical implications of intranasal insulin administration to the central nervous system. *Exp Neurol.* 2019;317:180-90.
42. Wingrove J, Swedrowska M, Scherliess R, Parry M, Ramjeeawon M, Taylor D, et al. Characterisation of nasal devices for delivery of insulin to the brain and evaluation in humans using functional magnetic resonance imaging. *J Control Release.* 2019;302:140-7.
43. Talati CP, Lee JW, Lu S, Ojeda NB, Prakash V, Dankhara N, et al. Intranasal insulin attenuates hypoxia-ischemia-induced short-term sensorimotor behavioral disturbances, neuronal apoptosis, and brain damage in neonatal rats. *Curr Res Neurobiol.* 2024;6:100123.
44. ClinicalTrials.gov. <https://www.clinicaltrials.gov>. accessed on 10.07.2024.
45. **R. Popescu**, C-E Dinu-Pîrvu, M.V. Ghica, V. Anuța, L. Popa. Development and preliminary evaluation of intranasal hydrocolloidal systems based on chitosan and PVA with insulin, for central nervous system-associated diseases. *Farmacia.* 2024;72:963-74.
46. Pang HT, Chen XG, Park HJ, Cha DS, Kennedy JF. Preparation and rheological properties of deoxycholate-chitosan and carboxymethyl-chitosan in aqueous systems. *Carbohydrate Polymers.* 2007;69(3):419-25.
47. Wong CYJ, Baldelli A, Hoyos CM, Tietz O, Ong HX, Traini D. Insulin Delivery to the Brain via the Nasal Route: Unraveling the Potential for Alzheimer's Disease Therapy. *Drug Deliv Transl Res.* 2024.
48. Mourya VK, Inamdara N, Ashutosh Tiwari N. Carboxymethyl Chitosan And Its Applications. *Advanced Materials Letters.* 2010;1(1):11-33.
49. Cuomo F, de Nigris A, Zeppa L, Lopez F, Ambrosone L. Viscosimetric properties of sodium hyaluronate and hypromellose solutions for medical devices. *Journal of Molecular Liquids.* 2024;398.
50. **Popescu R**, Dinu-Pîrvu C-E, Ghica MV, Anuța V, Popa L. Physico-Chemical Characterization and Initial Evaluation of Carboxymethyl Chitosan–Hyaluronan Hydrocolloid Systems with Insulin Intended for Intranasal Administration. *International Journal of Molecular Sciences.* 2024;25(19):10452.

Lista de lucrări științifice elaborate în legătură cu tema de cercetare

ARTICOLE PUBLICATE ÎN REVISTE INDEXATE ISI CU FACTOR DE IMPACT

1. **Popescu R**, Dinu-Pîrvu C-E, Ghica MV, Anuța V, Popa L. *Physico-Chemical Characterization and Initial Evaluation of Carboxymethyl Chitosan–Hyaluronan Hydrocolloid Systems with Insulin Intended for Intranasal Administration*. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(19), 10452.

<https://doi.org/10.3390/ijms251910452> , ISSN 1422-0067, IF – 4,9/2023.

<https://www.mdpi.com/1422-0067/25/19/10452> (Capitolul 6).

2. **R. Popescu**, C.E. Dinu-Pîrvu, M.V. Ghica, V. Anuța, L. Popa, *Development and preliminary evaluation of intranasal hydrocolloidal systems based on chitosan and PVA with insulin, for central nervous system-associated diseases*. Farmacia **2024**, 72(4), 963-974.

<https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.4.25>, ISSN 2065-0019, IF - 1,4/2023.

<https://farmaciajournal.com/issue-articles/development-and-preliminary-evaluation-of-intranasal-hydrocolloidal-systems-based-on-chitosan-and-pva-with-insulin-for-central-nervous-system-associated-diseases/> (Capitolul 5).

3. Popa, L., M.V. Ghica, **R. Popescu**, T. Irimia, and C.-E. Dinu-Pîrvu, *Development and Optimization of Chitosan-Hydroxypropyl Methylcellulose In Situ Gelling Systems for Ophthalmic Delivery of Bupivacaine Hydrochloride*. Processes **2021**, 9(10), 1694.

<https://doi.org/10.3390/pr9101694>, ISSN 2227-9717, IF – 3,352/2021.

<https://www.mdpi.com/2227-9717/9/10/1694>

4. **Popescu, R.**, M.V. Ghica, C.E. Dinu-Pîrvu, V. Anuta, D. Lupuliasa, and L. Popa, *New Opportunity to Formulate Intranasal Vaccines and Drug Delivery Systems Based on Chitosan*. Int J Mol Sci **2020**, 21(14), 5016.

<https://doi.org/10.3390/ijms21145016>, ISSN 1422-0067, IF – 5,5924/2020

<https://www.mdpi.com/1422-0067/21/14/5016> (Capitolul 1 și 2)

STUDII PUBLICATE ÎN REZUMAT ÎN REVISTE ȘI ÎN VOLUMELE UNOR MANIFESTĂRI ȘTIINȚIFICE INTERNAȚIONALE

1. Popa L., **R. Popescu**, M.V. Ghica, C.E. Dinu-Pîrvu, V. Anuța, M.T. Talianu, *Unveiling chitosan-based hydrocolloidal systems incorporating insulin for nasal administration*, lucrare poster (Poster 7, Board A - Secțiunea Formulation 2) prezentată la Congressus Pharmaceuticus Hungaricus (CPH) XVII and EUFEPS Annual Meeting, Debrecen, Ungaria, 23-25 mai 2024, volum de rezumate, 2024, p. 384-385.

https://clubservice-event.hu/pdf-egyeb/abstracts_CPH2024.pdf

STUDII PUBLICATE ÎN REZUMAT ÎN REVISTE ȘI ÎN VOLUMELE UNOR MANIFESTĂRI ȘTIINȚIFICE NAȚIONALE CU ISBN/ISSN

1. **R. Popescu**, L. Popa, M.V. Ghica, C.E. Dinu-Pîrvu, V. Anuța, R.M. Prisada, *Applying chitosan properties in designing of innovative systems for intranasal insulin delivery*, lucrare e-poster (ID 711) prezentată la Congresul Universității de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, ediția a 11-a, București, 26-28 octombrie 2023, volum de rezumate: Supliment Maedica - a Journal of Clinical Medicine, 2023, Vol.18, p. 14, ISSN 2501-6903.

<https://www.congresumf.ro/supliment-maedica/>

<https://www.congresumf.ro/editia-2023/>

2. **R. Popescu**, L. Popa, M.V. Ghica, C.E. Dinu-Pîrvu, V. Anuța, R.M. Prisada, *Biopolimerul chitosan în sisteme farmaceutice cu administrare pe mucoase: evoluție, provocări și perspective*, lucrare comunicare orală prezentată în cadrul Aniversării a 100 de ani de la înființarea Învățământului Universitar Farmaceutic autonom în România – Sărbătorirea Centenarului Facultății de Farmacie din București, 12-15 iunie 2023, București, volum de rezumate, p. 90, ISSN 2457-3027.