UNIVERSITATEA NAȚIONALĂ DE ȘTIINȚĂ ȘI TEHNOLOGIE POLITEHNICA BUCUREȘTI

Facultatea de Inginerie Chimică și Biotehnologii

Departamentul de Știința și Ingineria Materialelor Oxidice și Nanomaterialelor

---

Teză de doctorat - Rezumat

Sisteme antimicrobiene polimerice utilizate în tratamentul afecțiunilor cutanate

---

Conducător

Prof. Dr. Ing. Anton FICAI

Doctorand

Chim. Alina-Ionela STANCU

BUCUREȘTI

2025

CUPRINS

PART I. Stadiul Actual al Cercetării

Capitolul 1. Sănătatea Pielii: Fiziologie, Microbiom Și Terapie -2-
1.1.Introducere -2-
1.2.Pielea: structură, funcție și interacții -2-
1.3.Microbiota pielii și rolul acesteia în menținerea echilibrului imunologic local -2-
1.4.Infecțiile cutanate: bacteriene, virale, fungice, parazitare – manifestări și complicații -3-
1.5.Tratamentul infecțiilor cutanate: medicamente topice, antibiotice, antifungice, terapii emergente -3-
1.6.Probleme în tratamentul infecțiilor cutanate: complicații și patogeni nosocomiali -4-
Capitolul 2. Compuși naturali și extracte vegetale cu activitate antimicrobiană -4-
2.1. Generalități -5-
2.2. Mecanismele de acțiune antimicrobiană ale compușilor naturali -5-
2.3. Compuși naturali care potențează activitatea antibioticelor împotriva tulpinilor rezistente -5-
2.4. Forme farmaceutice și suplimente ce conțin compuși naturali și prezența acestora pe piața globală -5-
Capitolul 3. Sisteme utilizate în formulările farmaceutice pentru livrarea substanțelor active -6-
3.1. Ciclodextrine -6-
3.2. Geluri polimerice -7-
3.2.1. Acidul alginic și alginații -7-
3.2.2. Chitosan -7-
3.2.3. Acid poliacrilic (Carbopol) -7-
3.3. Abordări în caracterizarea gelurilor polimerice -8-
PART II. Contribuții originale
Capitolul 4. Obiective generale și specifice ale cercetării -9-
Capitolul 5. Complecși de incluziune ai β-ciclodextrinei cu activitate antimicrobiană -12-
Capitolul 6. Noi geluri Carbopol cu complex de ciclodextrină și uleiuri volatile -19-
Capitolul 7. Formulări de gel cu complex de ciclodextrină și uleiuri volatile -24-
Capitolul 8. Concluzii generale și elemente de originalitate -31-
Referințe -34-

PART I. Stadiul Actual al Cercetării

CAPITOLUL 1. Sănătatea Pielii: Fiziologie, Microbiom Și Terapie

1.1. Introducere

Pielea este un organ multifuncțional, esențial pentru supraviețuire, ale cărui activități depășesc cu mult rolul de simplă barieră care separă țesuturile interne de mediul extern. Aceasta contribuie la termoreglare, menținerea echilibrului hidro-electrolitic, homeostazie, percepție senzorială și protecție imunologică. Prin urmare, pielea poate fi considerată un element-cheie al sănătății sistemice. Din punct de vedere structural, reprezintă o membrană de țesut conjunctiv vascularizată, care acoperă întregul corp și se continuă cu mucoasele și semimucoasele la nivelul cavităților naturale.

1.2. Pielea: structură, funcție și interacții

Din punct de vedere structural, pielea este alcătuită din trei straturi: hipodermul, dermul și epidermul. Deși fiecare strat are propria compoziție celulară și un rol fiziologic distinct, acestea funcționează într-o manieră integrată pentru a menține integritatea pielii și homeostazia sistemică [1].

Hipodermul, situat sub derm, reprezintă compartimentul cel mai profund al pielii. Acesta este alcătuit din lobuli de țesut adipos, terminații nervoase senzoriale, rețele vasculare și anexe cutanate, precum foliculii piloși.

Epidermul și **dermul** sunt unite prin membrana bazală, care constituie o interfață structurală și funcțională între cele două. Dermul cuprinde regiuni conjunctive papilară și reticulară, care se continuă una în cealaltă fără o delimitare clară. Cel mai profund strat al epidermului este stratul bazal (stratum basale). Lamina bazală îl separă de derm, iar hemidesmozomii îl ancorează ferm de aceasta [2,3].

Pe lângă rolul său fizic, pielea îndeplinește și funcții fiziologice, senzoriale și imunologice, contribuind astfel la menținerea homeostaziei.

1.3. Microbiota pielii și rolul acesteia în menținerea echilibrului imunologic local

Bacteriile reprezintă componente importante ale microbiotei cutanate, cele mai frecvente genuri fiind *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium* (recent redenumit *Cutibacterium*) și *Micrococcus*. Acestea concurează cu agenții patogeni pentru nutrienți și spațiu, produc substanțe antimicrobiene care inhibă dezvoltarea microorganismelor patogene și pot sintetiza compuși ce influențează alte microorganisme, precum fungii din genul *Malassezia* prezenți în zonele bogate în lipide, dar și virusurile și bacteriofagii, care pot modifica structura comunităților bacteriene prin mecanisme de reglare genetică și transfer orizontal de gene.

Astfel, majoritatea bacteriilor asociate pielii sunt încadrate în patru filoane principale: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* și *Proteobacteria*. [4–6].

1.4. Infecțiile cutanate: bacteriene, virale, fungice, parazitare – manifestări și complicații

Infecțiile cutanate reprezintă un grup eterogen de afecțiuni cauzate de agenți patogeni care colonizează sau invadează pielea, afectând diferitele straturi ale acesteia și anexele cutanate. Ele sunt clasificate, în funcție de etiologie, în infecții bacteriene, virale, fungice și parazitare. Deși în multe cazuri sunt autolimitante, pot deveni severe sau sistemice dacă nu sunt tratate corespunzător. Manifestările clinice și complicațiile sunt puternic influențate de agentul cauzal, terenul imunologic al pacientului și localizarea infecției [7–9]. Infecțiile bacteriene ale pielii se numără printre cele mai frecvente și sunt cauzate în principal de *Staphylococcus aureus* și *Streptococcus pyogenes*. Complicațiile pot include abcesul, limfangita, tromboflebita și, în cazurile severe, septicemia [7,10–12]. Infecțiile cutanate virale sunt cauzate de diverși viruși, dintre cei mai frecvenți fiind virusul varicelo-zosterian, virusurile HPV, virusul herpes simplex și poxvirusurile [13,14]. Infecțiile fungice ale pielii, cunoscute sub denumirea de micoze cutanate, sunt cauzate de dermatofiți (*Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*), levuri (*Candida* spp.) și fungi oportuniști [15,16]. Infecțiile cutanate parazitare includ scabia (cauzată de acarienii Sarcoptes scabiei) și pediculoza (infestarea cu păduchi) [17].

Infecțiile cutanate reprezintă un domeniu vast, cu etiologii multiple și manifestări clinice variate. Aceste tipuri de afecțiuni pot fi prevenite și tratate printr-o combinație de măsuri terapeutice, igienice și educaționale, iar cunoașterea atât a tipurilor de infecții, cât și a modului lor de transmitere contribuie semnificativ la menținerea sănătății pielii și la evitarea complicațiilor sistemice.

1.5. Tratamentul infecțiilor cutanate: medicamente topice, antibiotice, antifungice, terapii emergente

Medicamentele topice reprezintă prima opțiune în tratamentul infecțiilor cutanate superficiale și localizate. Acestea se prezintă sub formă de creme, unguente, loțiuni și geluri, formulate cu antibiotice, antifungice, antivirale sau agenți antiinflamatori. De exemplu, mupirocina și acidul fusidic sunt frecvent utilizate în tratamentul impetigo-ului și al foliculitei stafilococice. [18]. În schimb, pentru infecțiile fungice sunt recomandate substanțe precum clotrimazolul, miconazolul sau terbinafina. Preparatele topice au avantajul aplicării directe pe leziune, limitând efectele sistemice și reducând riscul apariției rezistenței microbiene [16,19–21].

Antibioticele sistemice sunt indicate în formele moderate sau severe ale infecțiilor bacteriene cutanate, precum celulita, erizipelul, abcesele recurente sau infecțiile extinse la pacienții imunocompromiși [22–24].

În ultimii ani, terapiile emergente au căpătat o importanță tot mai mare în dermatologie. Acestea implică utilizarea probioticelor, prebioticelor și postbioticelor topice pentru susținerea microbiomului cutanat și prevenirea dezechilibrelor florei care pot conduce la infecții recurente [4,25]. De asemenea, terapia fotodinamică, terapia cu peptide antimicrobiene sintetice sau utilizarea bacteriofagilor specifici reprezintă direcții inovatoare în tratamentul infecțiilor produse de microorganisme rezistente la antimicrobienele convenționale [26,27]. Nanotehnologia oferă, de asemenea, noi vehicule pentru administrarea eficientă a medicamentelor prin piele, crescând eficiența tratamentului și reducând toxicitatea [28,29].

1.6. Probleme în tratamentul infecțiilor cutanate: complicații și patogeni nosocomiali

Deși tratamentele antibiotice pentru infecțiile cutanate (topice sau sistemice) sunt, în general, eficiente și bine tolerate, acestea pot fi asociate cu diverse complicații locale sau sistemice, în special în contextul utilizării pe termen lung, necorespunzătoare, sau în prezența unor factori individuali favorizanți, precum imunosupresia, polimedicația sau dezechilibrul microbiomului cutanat [30,31]. Una dintre cele mai frecvente complicații ale antibioticelor topice este iritația cutanată sau dermatita alergică de contact, în special în cazul substanțelor precum neomicina, bacitracina sau mupirocina [32–34]. Un alt aspect semnificativ este apariția disbiozei cutanate, adică dezechilibrul florei normale a pielii, care poate surveni în urma utilizării necontrolate a antimicrobienelor și care favorizează colonizarea cu agenți patogeni oportuniști, precum *C. albicans*, *S. aureus* MRSA sau *P. aeruginosa* [35–37].

În ceea ce privește infecțiile cutanate nosocomiale, acestea apar frecvent în timpul spitalizărilor prelungite, în special în secțiile de terapie intensivă sau în unitățile pentru mari arși. Pielea pacienților cu arsuri extinse este profund afectată din punct de vedere structural și imunologic, pierzându-și complet rolul de barieră, fapt ce facilitează colonizarea rapidă și invazia bacteriilor, fungilor sau virusurilor provenite din mediul spitalicesc.

CAPITOLUL 2. Compuși Naturali Și Extracte Vegetale Cu Activitate Antimicrobiană

2.1. Generalități

Infecțiile induse de microorganisme rezistente la antibiotice reprezintă o preocupare globală. Din acest motiv, cercetarea s-a orientat tot mai mult către surse naturale, în special către compuși bioactivi de origine vegetală, care au demonstrat proprietăți antimicrobiene eficiente împotriva unei game largi de bacterii, fungi și chiar virusuri. Acești compuși oferă o alternativă sau un adjuvant promițător pentru tratamentele clasice, în special datorită mecanismelor multiple prin care acționează și riscului mai redus de dezvoltare a rezistenței microbiene.

Printre cele mai studiate categorii de substanțe naturale cu acțiune antimicrobiană se numără fenolii volatili, terpenele, flavonoidele, taninurile, acizii fenolici și alcaloizii. Aceștia pot fi izolați din plante aromatice precum cimbrul (*Thymus vulgaris*), oregano (*Origanum vulgare*), cuișoarele (*Syzygium aromaticum*), dar și din conifere, fructe de pădure sau semințe [107–112].

2.2. Mecanismele de acțiune antimicrobiană ale compușilor naturali

Eficacitatea compușilor naturali împotriva microorganismelor nu se datorează doar prezenței unei substanțe active, ci mai ales modului complex în care aceștia interferează cu funcționarea celulelor microbiene. Spre deosebire de numeroase antibiotice clasice, care au o singură țintă celulară (precum inhibarea sintezei peretelui celular sau blocarea ribozomilor), compușii activi din extractele vegetale intervin simultan în mai multe procese esențiale pentru supraviețuirea microorganismelor, reducând semnificativ probabilitatea apariției rezistenței [44]. Studiile recente confirmă potențialul major al compușilor naturali și al extractelor vegetale în combaterea infecțiilor microbiene, atât ca agenți direcți, cât și ca adjuvanți. Aceștia acționează prin mecanisme multiple, ceea ce îi face eficienți împotriva bacteriilor rezistente și îngreunează capacitatea acestora de adaptare la astfel de agenți [45].

2.3. Compuși naturali care potențează activitatea antibioticelor împotriva tulpinilor rezistente

În contextul în care infecțiile cu bacterii multirezistente devin din ce în ce mai frecvente, cercetătorii caută strategii prin care compușii naturali să fie utilizați nu doar ca agenți antimicrobieni direcți, ci și ca adjuvanți capabili să potențeze efectul antibioticelor existente, să inverseze parțial rezistența și să reducă dozele necesare de antibiotic.

Un exemplu este soforaflavanona G, un flavonoid izolat din rădăcinile plantelor din genul *Sophora*, care a fost testat împotriva a 27 de tulpini de MRSA și a demonstrat inhibiție completă la concentrații extrem de scăzute (3–6 μg/mL) [46]. Compușii derivați din ardeiul iute și ghimbir au primit o atenție tot mai mare pentru capacitatea lor de potențare a antibioticelor. Un studiu publicat în 2019 a demonstrat că capsaicina, dihidrocapsaicina, 6-gingerolul și 6-shogaolul pot inhiba tulpini de MRSA care exprimă pompe de eflux (TetK, MsrA, NorA), valorile CMI (MIC) situându-se în intervalul 8–256 mg/L [47].

2.4. Forme farmaceutice și suplimente care conțin compuși naturali și prezența acestora pe piața globală

În ultimele două decenii, presiunea globală generată de infecțiile produse de bacterii rezistente a determinat nu doar accelerarea cercetării în domeniul antibioticelor, ci și reevaluarea unor compuși naturali cunoscuți de secole. O parte dintre acești compuși au depășit stadiul experimental și sunt în prezent integrați în produse farmaceutice autorizate, disponibile pe scară largă. Într-un context în care autoritățile de reglementare (FDA, EMA) impun standarde stricte, doar substanțele cu profil de siguranță și eficacitate clar demonstrat pot fi formulate în produse destinate uzului uman sau veterinar.

Printre cei mai utilizați compuși naturali în tratamentele antimicrobiene se numără timolul și carvacrolul, doi constituenți principali ai uleiurilor esențiale de cimbru și oregano. Timolul este recunoscut de FDA ca „Generally Recognized as Safe" (GRAS), iar extractele de *Thymus vulgaris* sunt documentate în Farmacopeea Europeană, cu specificații clare privind puritatea și originea. Acesta este utilizat ca ingredient activ în numeroase produse farmaceutice, în special pentru igiena orală și afecțiuni ale tractului respirator superior [48,49]. Cea mai cunoscută aplicație este formularea apei de gură antiseptice **Listerine®**, unde timolul este asociat cu mentol, eucaliptol și salicilat de metil. Această combinație este recunoscută pentru acțiunea sa antimicrobiană cu spectru larg, contribuind la reducerea plăcii bacteriene, controlul halitozei și prevenirea gingivitei [50].

CAPITOLUL 3. Sisteme Utilizate În Formulările Farmaceutice Pentru Livrarea Substanțelor Active

---

Sistemele de drug-delivery desemnează ansamblul tehnologiilor prin care substanțele active sunt transportate și eliberate în organism, atât prin alegerea căii de administrare (de exemplu, comprimate orale, vaccinuri injectabile), cât și prin proiectarea purtătorului (de exemplu, micele, nanoparticule) care protejează medicamentul și facilitează traversarea barierelor fiziologice până la ținta terapeutică. Domeniul a evoluat rapid în

ultimele decenii, însă numeroase terapii rămân limitate de efecte adverse generate de distribuția nespecifică în țesuturile sănătoase, în special în oncologie, bolile neurodegenerative și infecțioase. Prioritatea actuală este creșterea specificității și a indicelui terapeutic prin direcționare țintită și control fin al expunerii. [51,52].

3.1. Ciclodextrinele

Ciclodextrinele sunt oligozaharide ciclice formate prin unirea mai multor subunități de glucopiranoză prin legături α-(1,4). Există trei tipuri principale de ciclodextrine: α-ciclodextrina, β-ciclodextrina și γ-ciclodextrina, alcătuite din șase, șapte, respectiv opt unități de α-glucopiranoză legate prin legături 1–4.

Ciclodextrinele sunt utilizate frecvent în numeroase procese industriale, tehnologii și metode analitice datorită capacității lor de a forma complecși de incluziune cu substanțe hidrofobe. Un alt aspect important este citotoxicitatea redusă, care le face adecvate pentru aplicații variate în domeniul farmaceutic, cosmetic și alimentar [53].

Literatura de specialitate raportează numeroase complexe de **β-ciclodextrină** cu uleiuri esențiale extrase din diferite părți ale plantelor, precum *Eugenia caryophyllata*, *Lippia berlandieri* [54], *Thymus catharinae* [55], *Cinnamomum verum* [217], *Satureja montana* [57], *Origanum vulgare*, *Coriandrum sativum* [58], *Lippia gracilis* [59]and *Mentha* × *villosa* [60], *Cymbopogon flexuosus*, *Pelargonium graveolens*, *Eucalyptus citriadora* [58] și *Aloysia citriodora* [61].

3.2. Geluri polimerice

Polimerii sunt macromolecule constituite din unități repetitive de monomeri cu structură similară, iar polimerii sintetici au un rol fundamental în descoperirea și dezvoltarea produselor farmaceutice. În mod tradițional, cercetarea și aplicațiile lor s-au concentrat asupra utilizării ca excipienți și purtători inactivi ai substanțelor cu activitate farmacologică, însă progresele recente au evidențiat și utilizarea lor alternativă ca agenți farmacologic activi (medicamente polimerice), cu aplicații în sechestrare, activitate antimicrobiană, antivirală, anticanceroasă și antiinflamatoare.

Polimerii naturali, obținuți din plante, animale sau microorganisme, prezintă avantaje semnificative față de cei sintetici, fiind în general mai ieftini, netoxici și disponibili în mod abundent în natură

[62,63].

3.2.1. Acidul alginic și alginații

Alginatii sunt polizaharide anionice naturale, extrase în principal din pereții celulari ai algelor brune (*Laminaria*, *Macrocystis*, *Ascophyllum* și *Sargassum*) [64,65].

Una dintre caracteristicile alginaților este capacitatea lor de a forma geluri tridimensionale printr-un proces de reticulare ionică atunci când sunt expuși la ioni divalenți, cei mai utilizați fiind ionii de calciu (Ca^{2+}). Acest fenomen, cunoscut sub denumirea de „modelul cutiei cu ouă" (egg-box model), constă în legarea ionilor de Ca^{2+} de blocurile G ale lanțurilor de acid alginic, rezultând o rețea gelificată stabilă [66]. Gelurile de alginat sunt utilizate în managementul leziunilor cutanate cronice, precum escarele și arsurile, datorită proprietății de a menține un mediu umed și de a absorbi exsudatul. Prin aceste mecanisme, gelurile de alginat favorizează procesul de vindecare și reduc potențialul de infecție. În plus, eliberarea treptată a agenților antimicrobieni sau antiinflamatori în zona afectată contribuie la o eficiență terapeutică ridicată [67,68].

3.2.2. Chitosan

Chitosanul este un polimer natural obținut prin deacetilarea chitinei, un biopolimer prezent în exoscheletul crustaceelor, al insectelor sau în pereții celulari ai fungilor. Prin această modificare chimică, chitina devine solubilă în medii ușor acide, iar polimerul rezultat dobândește proprietăți biologice și fizico-chimice care îl recomandă pentru numeroase aplicații, în special în domeniul biomedical și farmaceutic [69].

Una dintre cele mai valoroase forme de formulare a chitosanului este gelul. Gelurile de chitosan sunt rețele tridimensionale capabile să absoarbă cantități considerabile de apă sau fluide biologice, păstrând în același timp o structură semisolidă. Acestea pot fi obținute prin procese de reticulare fizică (prin ajustarea pH-ului sau a temperaturii) sau chimică (prin adăugarea unor agenți de reticulare precum glutaraldehida sau genipina).

Spre deosebire de gelurile sintetice, gelurile pe bază de chitosan prezintă biocompatibilitate, biodegradabilitate și activitate antibacteriană intrinsecă, ceea ce le face potrivite pentru aplicații în dermatologie, oftalmologie, stomatologie sau în administrarea transdermică a medicamentelor [69–72].

3.2.3. Acid poliacrilic (Carbopol)

Carbopolul este un polimer de acid poliacrilic reticulat, capabil să formeze geluri clare, stabile, cu vâscozitate controlabilă, fiind utilizat atât pentru proprietățile sale reologice, cât și pentru compatibilitatea cu numeroase substanțe active [73].

Gelurile de Carbopol pot fi preparate prin dispersarea directă a pulberii în apă, urmată de neutralizare cu un agent alcalin, precum trietanolamina sau hidroxidul de sodiu. Procesul este sensibil la viteza de amestecare, tipul de apă utilizat (fiind preferată apa deionizată) și natura ingredientelor adăugate ulterior. În funcție de concentrația folosită (de obicei între 0,2% și 1,5%), gelurile obținute pot avea o consistență variind de la fluidă la semisolidă, fiind astfel adaptabile pentru diverse aplicații terapeutice [74].

3.3. Approaches in polymeric gels characterization

Metodele de caracterizare a gelurilor polimerice sunt esențiale pentru evaluarea compoziției lor chimice, precum și a proprietăților fizice, dar și pentru înțelegerea comportamentului acestora atunci când sunt stimulate din exterior de diverși factori. Astfel, caracterizarea lor poate fi realizată atât din punct de vedere structural, chimic, mecanic, reologic, cât și funcțional [75].

Caracterizarea hidrogelurilor poate fi realizată prin numeroase metode, incluzând tehnici fizico-chimice precum FTIR, NMR, spectrofotometrie UV–Vis, studii de umflare (swelling), măsurători de pH și conductivitate, precum și analize elementare (XPS, EDX); analize structurale și morfologice prin SEM, TEM, CLSM și AFM; evaluări mecanice și reologice prin reometrie, teste de compresie/întindere și DMA; analize termice utilizând TGA, DSC și DTA; precum și evaluări biologice și farmacologice, incluzând teste de biocompatibilitate (MTT, Alamar Blue, Live-Dead), activitate antimicrobiană (MIC, MBEC, teste de zonă de inhibiție), studii de eliberare controlată (dializă, celule de difuzie Franz) și teste de citotoxicitate/inflamație (ELISA, ROS).

PART II. Contribuții originale

CAPITOLUL 4. Obiective Generale Și Specifice Ale Cercetării

Infecțiile rămân o cauză majoră de morbiditate, mortalitate și costuri pentru sistemele de sănătate, iar creșterea rezistenței antimicrobiene amplifică semnificativ această povară. La nivel global, în anul 2019, rezistența bacteriană a fost responsabilă direct pentru aproximativ 1,27 milioane de decese și asociată cu aproximativ 4,95 milioane de decese, depășind povara unor boli infecțioase prioritare precum HIV/SIDA sau malaria. În Europa, Organizația Mondială a Sănătății a estimat 133.000 de decese atribuite rezistenței antimicrobiene și 541.000 asociate acesteia. Aceste date validează necesitatea cercetării unor noi strategii pentru prevenirea și tratamentul infecțiilor, inclusiv dezvoltarea de formulări cu acțiune locală și profil de siguranță superior. Dincolo de creșterea rezistenței antimicrobiene, povara clinică a sindroamelor infecțioase severe rămâne, de asemenea, foarte ridicată [76,77].

În acest context, alegerea unei teme axate pe tratamentul infecțiilor este justificată atât științific, cât și social: (i) povara clinică și economică este ridicată și în creștere în absența unor intervenții eficiente; (ii) progresele în prevenție nu sunt suficiente fără alternative terapeutice mai bune, inclusiv strategii cu administrare locală care pot atinge concentrații

eficiente la locul infecției cu toxicitate sistemică minimă; (iii) alinierea la obiectivele și politicile globale, precum și la agenda One Health, asigură impactul și relevanța rezultatelor.

Sănătatea pielii depinde de integritatea și echilibrul microbiomului său. Dezechilibrele favorizează instalarea infecțiilor, întârzie vindecarea și cresc riscul de recurență. În același timp, creșterea alarmantă a rezistenței la antibiotice reduce eficiența terapiilor topice convenționale, iar utilizarea lor prelungită poate afecta flora comensală și integritatea barierei cutanate. În acest context, devine esențială identificarea unor alternative antimicrobiene eficiente, „prietenoase cu microbiomul" și bine tolerate local.

Extractele vegetale naturale reprezintă resurse valoroase de agenți antimicrobieni și antibiofilm, cu profiluri ridicate de biocompatibilitate și acceptabilitate. Totuși, numeroși compuși activi de origine vegetală, în special cei volatili, sunt limitați de volatilitate, instabilitate oxidativă, solubilitate redusă și potențial iritant, ceea ce conduce la eliberare rapidă („burst release"), expunere fluctuantă și eficacitate in vivo inconsistentă. Pentru depășirea acestor constrângeri este necesară integrarea lor în sisteme de livrare capabile să asigure protecție, solubilizare și eliberare controlată la nivel cutanat.

Polimerii matriceali topici, precum chitosanul, alginatul sau gelurile de acid poliacrilic/Carbopol, oferă o platformă versatilă pentru administrare topică: sunt biocompatibili, pot susține încărcarea unor amestecuri fitochimice complexe, prelungesc timpul de rezidență pe suprafața pielii și pot modula cinetica de eliberare. În plus, formarea de complecși de incluziune cu ciclodextrine pentru compușii volatili îmbunătățește solubilitatea și stabilitatea, reduce pierderile prin volatilizare și permite o eliberare graduală, prelungind efectul terapeutic și reducând potențial iritația locală.

Pornind de la datele preliminare promițătoare obținute prin screening antimicrobian în cadrul lucrărilor de licență și disertație asupra uleiului esențial de cuișoare și a complecșilor de incluziune cu β-ciclodextrină, precum și asupra extractelor de *Verbena officinalis* și *Aloysia triphylla*, și având în vedere necesitățile clinice și tehnologice prezentate anterior, tema lucrării s-a concentrat pe dezvoltarea unor sisteme polimerice antimicrobiene încărcate cu extracte vegetale pentru managementul infecțiilor cutanate, precum și pe încapsularea compușilor naturali volatili în sisteme capabile să asigure eliberare susținută, precum β-ciclodextrina.

Studiul de față își propune să combine eficacitatea antimicrobiană și antibiofilm cu un profil de siguranță compatibil cu pielea și cu respectarea ecologiei microbiene cutanate, oferind o alternativă relevantă într-un peisaj terapeutic marcat de rezistența la antibiotice și de limitările formelor convenționale.

În concordanță cu obiectivul general, au fost urmărite trei obiective specifice:

1. Obținerea complecșilor β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare, caracterizarea acestora și evaluarea proprietăților biologice.
2. Dezvoltarea, optimizarea și evaluarea activității biologice a unor noi formulări de gel antimicrobian pe bază de acid poliacrilic (polimer sintetic), complex β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare și uleiuri esențiale (arbore de ceai și rozmarin).
3. Dezvoltarea unor noi geluri antimicrobiene pe bază de polimeri naturali și sintetici (alginat de sodiu, chitosan și acid poliacrilic), utilizând complexul β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare și extracte vegetale (*Verbena officinalis* tinctură, *Aloysia triphylla* tinctură și ulei esențial de dafin).

Primul obiectiv a constat în obținerea și caracterizarea complecșilor de incluziune β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare. Uleiul esențial de cuișoare a fost extras din muguri prin distilare cu vapori de apă, iar profilul său chimic a fost analizat prin GC–MS. Complecșii de incluziune ai β-ciclodextrinei cu uleiul esențial extras, precum și cu doi dintre constituenții săi principali — eugenolul și acetatul de eugenil — au fost preparați prin patru metode de încapsulare: frământare (kneading), coprecipitare, liofilizare și coprecipitare–liofilizare. Ulterior, complecșii au fost caracterizați fizico-chimic și morfologic prin spectrofotometrie UV–Vis, analize cromatografice (GC–MS și HS–GC–MS), FTIR, DSC, metoda Job, Dynamic Light Scattering (DLS) și microscopie electronică de baleiaj (SEM). Activitatea antimicrobiană a fost evaluată prin teste calitative și cantitative, urmate de o evaluare semicantitativă a aderenței pe substrat inert și a efectelor complecșilor asupra capacității de aderență a tulpinilor microbiene patogene.

Al doilea obiectiv a vizat dezvoltarea unor noi formulări de gel conținând acid poliacrilic (Carbopol 940), un complex de incluziune β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare și uleiuri esențiale de rozmarin și arbore de ceai. Uleiurile esențiale de arbore de ceai și rozmarin au fost caracterizate prin GC–MS. Formulările de gel au fost obținute prin variarea concentrațiilor de Carbopol 940 și uleiuri esențiale pentru identificarea unei compoziții optime și stabile. Caracteristicile macroscopice și pH-ul au fost evaluate la momentul preparării și după 60 de zile de stocare la 2 °C și 40 °C. De asemenea, a fost determinată aria de întindere pentru evidențierea diferențelor de consistență. Comportamentul reologic a fost analizat utilizând modelele Bingham, Casson, Ostwald–de Waele și Herschel–Bulkley, iar microstructura a fost examinată prin SEM. Activitatea antimicrobiană a fost evaluată prin metode calitative și cantitative, urmate de analiza semicantitativă a aderenței pe substrat inert. În plus, citotoxicitatea a fost testată pe linia celulară de adenocarcinom colorectal uman HT-29 (ATCC HTB-38).

Al treilea obiectiv a urmărit dezvoltarea unor noi formulări de gel pe bază de polimeri naturali și sintetici, utilizând complexul β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare și extracte vegetale (Verbena officinalis tinctură, Aloysia triphylla tinctură și ulei esențial de dafin). Inițial, uleiul esențial de dafin a fost caracterizat prin GC–MS. Au fost preparate geluri pe bază de alginat de sodiu, chitosan cu masă moleculară medie și mare și acid poliacrilic. Caracteristicile macroscopice au fost evaluate imediat după preparare și după 90 de zile de păstrare la temperatura camerei și la 2–8 °C. Caracterizarea fizico-chimică a inclus analiza comportamentului reologic, urmată de analize termice (TG–DTA), SEM și FTIR. Activitatea antimicrobiană a fost determinată prin metode calitative și cantitative, precum și prin evaluarea semicantitativă a aderenței pe substrat inert. De asemenea, a fost evaluată citotoxicitatea pe celule umane de keratinocite HaCaT, prin test MTT, determinarea eliberării LDH și măsurarea producției de NO.

CAPITOLUL 5. Complecși De Incluziune Ai B-Ciclodextrinei Cu Activitate Antimicrobiană

Scopul acestui studiu a fost obținerea și caracterizarea complecșilor de incluziune ai β-ciclodextrinei cu ulei esențial de cuișoare (ECEO) și cu doi dintre constituenții săi principali, eugenolul și eucaliptolul. Uleiul esențial de cuișoare a fost extras din muguri prin distilare cu vapori de apă, iar profilul său chimic a fost analizat prin GC–MS. Complecșii de incluziune au fost preparați prin patru metode de încapsulare: frământare (kneading), coprecipitare, liofilizare și coprecipitare–liofilizare.

Caracterizarea fizico-chimică și morfologică a fost realizată prin spectrofotometrie UV–Vis, GC–MS, HS–GC–MS, FTIR, DSC, metoda Job, Dynamic Light Scattering (DLS) și microscopie electronică de baleiaj (SEM). Activitatea antimicrobiană a fost investigată prin teste calitative și cantitative, urmate de evaluări semicantitative ale aderenței pe substraturi inerte și ale efectelor complecșilor asupra capacității de aderență a tulpinilor patogene, inclusiv asupra formării biofilmului.

Materiale și Metode

Extracția uleiului esențial de Eugenia caryophyllata

Inflorescențele uscate de cuișoare au fost achiziționate de la Solaris Plant S.R.L. Extracția uleiului volatil a fost realizată prin distilare cu vapori de apă utilizând un aparat standard Neo-Clevenger [18].

Prepararea complecșilor de incluziune ai β-ciclodextrinei

Încapsularea uleiului esențial de Eugenia caryophyllata (eugenol și eucaliptol) în β-ciclodextrină a fost efectuată prin patru metode: frământare (kneading), coprecipitare, liofilizare și printr-o metodă combinată de coprecipitare urmată de liofilizare.

Rezultate și Discuții

Evaluarea caracterizării fizico-chimice a complecșilor de incluziune

Compoziția chimică a uleiului esențial de cuișoare (ECEO), precum și compușii identificați în ECEO încapsulat în β-ciclodextrină prin metodele GC–MS și HS–GC–MS sunt prezentați în Tabelul 1, respectiv Tabelul 2.

Tabel 1. Compoziția chimică a uleiului esențial de cuișoare (ECEO) și a complecșilor săi cu β-ciclodextrină, obținuți prin diferite metode, determinată prin analiza GC–MS.

Compounds	RT (min.) [1]	RI [2]	UV [3]	K [4]	L [5]	C-L [6]	C [7]
			Relative Area %				
Eugenol	12.84	1358	90.67 ± 1.15	94.71 ± 1.37	93.81 ± 1.33	96.30 ± 1.69	90.99 ± 1.49
Vanillin	13.29	1391	n.d.	0.20 ± 0.01	0.30 ± 0.02	0.26 ± 0.01	1.90 ± 0.04
(E)-*β*-Caryophyllene	13.63	1417	3.98 ± 0.09	0.33 ± 0.03	0.63 ± 0.03	0.50 ± 0.07	2.01 ± 0.04
Humulene	14.03	1449	0.41 ± 0.03	0.06 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.27 ± 0.01
Eugenyl acetate	14.84	1513	4.77 ± 0.15	4.66 ± 0.20	5.16 ± 0.13	2.81 ± 0.04	4.68 ± 0.05
Caryophyllene oxide	15.66	1582	0.17 ± 0.02	0.04 ± 0.00	n.d.	0.05 ± 0.00	0.14 ± 0.00
Identified compounds	-	-	100	100	100	100	100

1 timp de retenție; 2 indici Kovats; 3 ulei esențial de *Eugenia caryophyllata* (ECEO); 4 K: complecși obținuți prin frământare (kneading); 5 L: complecși obținuți prin liofilizare; 6 C–L: complecși obținuți prin coprecipitare urmată de liofilizare; 7 C: complecși obținuți prin coprecipitare; n.d. = nedetectat.

Tabel 2. Compoziția chimică a uleiului esențial de cuișoare (ECEO) și a complecșilor săi cu β-ciclodextrină, obținuți prin diferite metode, determinată prin analiza HS-GC–MS.

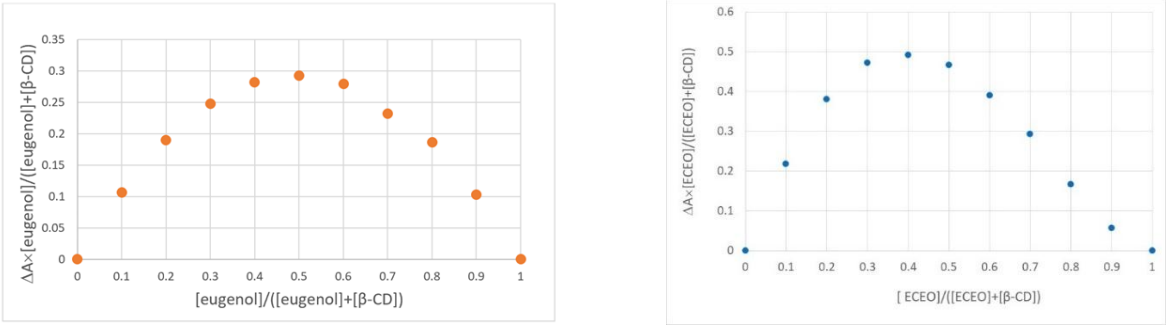
Compounds	RT (min.) [1]	RI [2]	Relative Area (%)				
			ECEO [3]	K [4]	L [5]	C-L [6]	C [7]
p-Cymene	7.49	1012	0.10 ± 0.00	0.70 ± 0.03	0.84 ± 0.04	1.57 ± 0.04	1.32 ± 0.07
Limonene	7.56	1016	0.30 ± 0.01	0.73 ± 0.03	0.75 ± 0.02	2.55 ± 0.12	1.29 ± 0.06
Eucalyptol	7.64	1020	0.36 ± 0.03	5.10 ± 0.17	2.45 ± 0.20	6.63 ± 0.20	4.00 ± 0.38
Eugenol	12.72	1349	86.46 ± 0.89	91.44 ± 1.91	92.63 ± 1.84	85.57 ± 1.40	88.75 ± 1.75
Vanillin	13.27	1390	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.32 ± 0.03
(E)-*β*-Caryophyllene	13.58	1415	10.96 ± 0.30	0.37 ± 0.02	0.26 ± 0.00	0.17 ± 0.00	0.30 ± 0.03
Humulene	14.01	1455	0.85 ± 0.03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Caryophyllene oxide±	14.79	1509	0.98 ± 0.04	1.67 ± 0.05	3.07 ± 0.20	3.52 ± 0.20	4.03 ± 0.29
Identified compounds	7.49	1012	0.10 ± 0.00	0.70 ± 0.03	0.84 ± 0.04	1.57 ± 0.04	1.32 ± 0.07

1 timp de retenție; 2 indici Kovats; 3 ulei esențial de *Eugenia caryophyllata* (ECEO); 4 K: complecși obținuți prin frământare (kneading); 5 L: complecși obținuți prin liofilizare; 6 C–L: complecși obținuți prin coprecipitare urmată de liofilizare; 7 C: complecși obținuți prin coprecipitare; n.d. = nedetectat.

Stoechiometria complecșilor de incluziune

Diagramele Job pentru sistemele eugenol–β-CD și ECEO–β-CD sunt prezentate în Figura 1a, respectiv Figura 1b. Forma curbei din Figura 1a indică o stoechiometrie 1:1 între molecula gazdă și cea oaspete, deoarece maximul graficului este situat la valoarea 0,5 pentru fracția molară de eugenol. În schimb, echilibrul dintre ECEO și β-CD

evidențiază o stoechiometrie 1:2, maximul diagramei Job fiind localizat la 0,33 pentru fracția molară a uleiului esențial.



(a) (b)

Figura 1. (a) Plotul Job pentru complexul eugenol–β-CD. (b) Plotul Job pentru complexul ECEO–β-CD

Eficiența la încapsulare

Rezultatele obținute în urma determinării eficienței la încapsulare sunt prezentate in Tabelul 3.

Tabel 3. Eficiența de încapsulare (EE) a eugenolului, eucaliptolului și a uleiului esențial de cuișoare (ECEO) în β-ciclodextrină prin diferite metode de preparare.

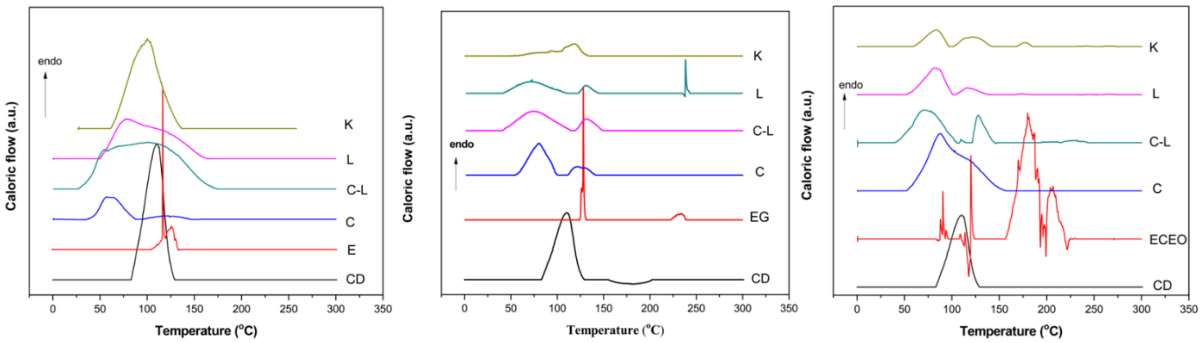
Complexation Method	EE (%)		
	Eucalyptol	Eugenol	ECEO
K	90.06 ± 3.3	99.38 ± 5.2	99.40 ± 1.9
C	48.68 ± 2.8	55.01 ± 4.7	69.26 ± 2.4
L	n.d.	77.66 ± 4.9	79.02 ± 2.0
C-L	95.62 ± 3.7	53.96 ± 4.4	60.48 ± 1.9

Pentru eucaliptol, cea mai mare eficiență de încapsulare a fost obținută prin metoda C–L (95,62 ± 3,7%), urmată îndeaproape de metoda frământării (kneading) (90,06 ± 3,3%). Metoda coprecipitării a condus la o eficiență semnificativ mai scăzută (48,68 ± 2,8%). În cazul eugenolului, metoda frământării a oferit cea mai bună eficiență de încapsulare, de 99,38 ± 5,2%, urmată de liofilizare (77,66 ± 4,9%). Metodele de coprecipitare și C–L au înregistrat eficiențe considerabil mai reduse, de 55,01 ± 4,7%, respectiv 53,96 ± 4,4%. Pentru ECEO, metoda frământării a atins din nou cea mai ridicată eficiență, de 99,40 ± 1,9%, în timp ce liofilizarea a înregistrat 79,02 ± 2,0%. Metodele de coprecipitare (69,26 ± 2,4%) și C–L (60,48 ± 1,9%) au condus la eficiențe de încapsulare mai scăzute.

.

Calorimetrie dinamică diferențială

The DSC curves obtained for the eucalyptol–*β*-cyclodextrin, eugenol–*β*-cyclodextrin, and ECEO–*β* cyclodextrin complexes are shown in Figure 2A–C.



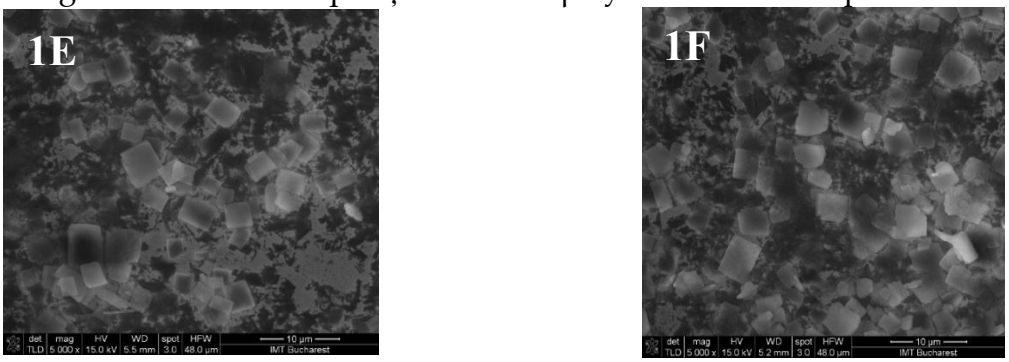
(A) (B) (C)

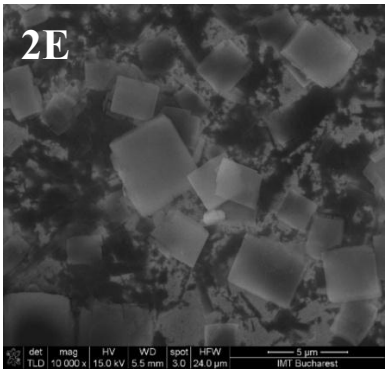
Figura 2. Curbe de Calorimetrie Diferențială cu Scanare (DSC) ale complecșilor eucaliptol–β-ciclodextrină (A), eugenol–β-ciclodextrină (B) și ECEO–β-ciclodextrină (C). CD: β-ciclodextrină; E: eucaliptol; EG: eugenol; K: încapsulare prin frământare; L: încapsulare prin liofilizare; C–L: încapsulare prin coprecipitare–liofilizare; C: încapsulare prin coprecipitare; ECEO: ulei esențial de *Eugenia caryophyllata*.

Analiza DSC a β-ciclodextrinei a evidențiat un vârf endoterm larg în intervalul de temperatură 75–125 °C, caracteristic pierderii apei de hidratare din molecula de ciclodextrină. Pentru eucaliptol, curba DSC a prezentat un vârf larg între 116 și 130 °C, cu două maxime la 116,72 °C și 125,27 °C, valori mai scăzute decât cele raportate în literatură (aproximativ 176 °C). Eugenolul a evidențiat două vârfuri endotermice distincte, unul la 127,7 °C și altul la 232,7 °C. Vârful de la 127,7 °C este în concordanță cu rezultatele unui studiu din 2022, indicând oxidarea termică a eugenolului, în timp ce vârful de la 232,7 °C corespunde punctului său de fierbere [78].

Analiza SEM

Imaginile SEM ale complecșilor ECEO–β-cyclodextrin sunt prezentate în Figura 3.





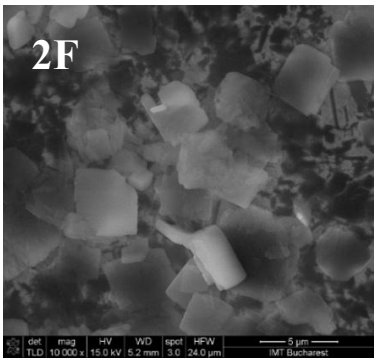
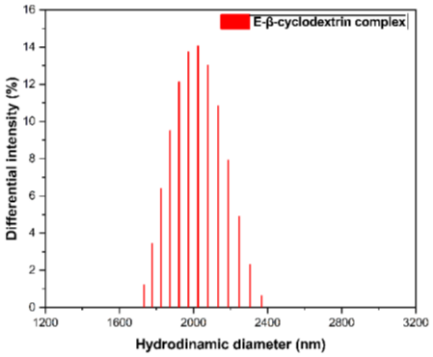


Figura 3. Imaginile SEM ale complec;ilor ECEO–β-cyclodextrin obținuți prin liofilizare (E) și mojarare (F) la magnificații de ×5000 (1) și ×10,000 (2).

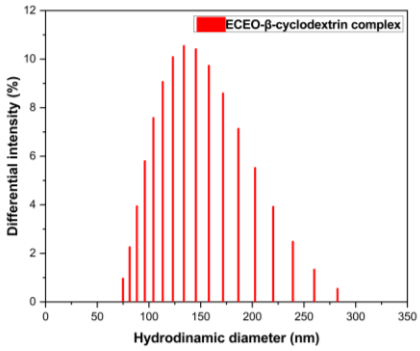
Complecșii de β-ciclodextrină cu eugenol prezintă o morfologie a particulelor de tip paralelipipedic, distinctă față de complecșii cu ECEO, în timp ce complecșii cu eucaliptol evidențiază formarea de conglomerate.

Distribuția dimensiunii particulelor

Distribuția dimensiunii particulelor pentru complecșii eugenol–β-ciclodextrină și ECEO–β-ciclodextrină, obținuți prin metoda frământării (kneading), este prezentată în Figura 4.



(A)



(B)

Figura 4. Particle size distribution of the eugenol–β-cyclodextrin and ECEO–β-cyclodextrin complexes

Analiza prin Dynamic Light Scattering (DLS) a complexului ECEO–β-ciclodextrină a evidențiat ansambluri nanostructurate cu un diametru hidrodinamic de 186,4 nm și un indice de polidispersitate (PI) de 0,298. Coeficientul de difuzie a fost înregistrat la 2,127 × 10^{-8} cm^2/s, iar masa moleculară estimată a fost de 2,209 × 10^9 g/mol. Pentru complexul β-ciclodextrină–eucaliptol, analiza DLS a indicat un diametru hidrodinamic semnificativ mai mare, de 2929,0 nm. Sistemul a prezentat o valoare a PI de –2,651, situată în afara

intervalului acceptat pentru interpretarea datelor DLS. Coeficientul de difuzie a fost considerabil mai scăzut, de 1,354 × 10^{-9} cm^2/s.

Analiza FTIR

Spectrele IR ale complexului ECEO- β-Cyclodextrin este prezentat în Figura 5.

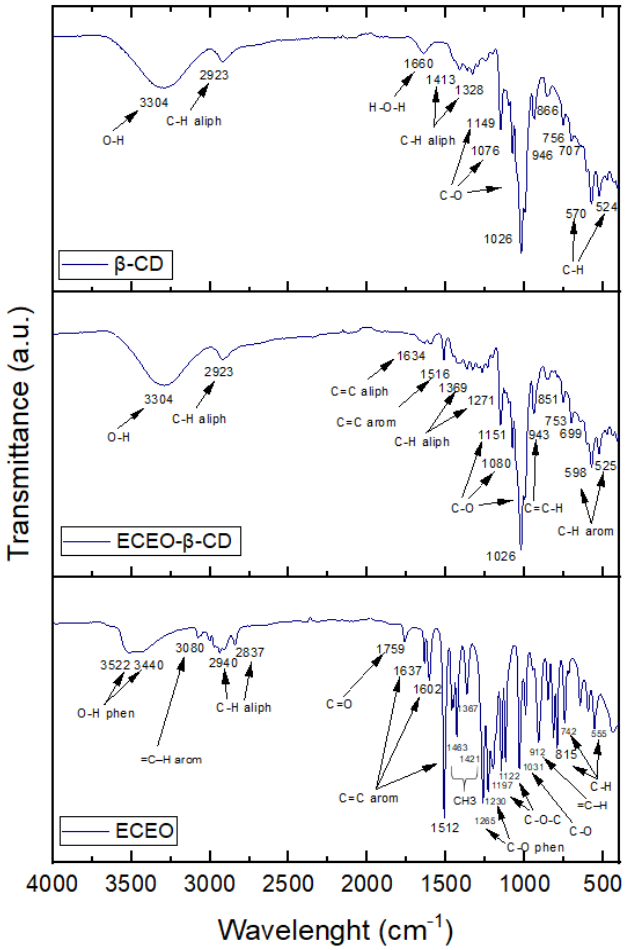


Figura 5. Spectrul FTIR al β-ciclodextrinei, al complexului ECEO–β-ciclodextrină și al ECEO. Legendă: ulei esențial de *Eugenia caryophyllata* = ECEO; β-ciclodextrină = β-CD; complex β-ciclodextrină cu ulei esențial de *Eugenia caryophyllata* = ECEO–β-CD;

Analiza FTIR confirmă includerea cu succes a ECEO, EG și E în cavitatea ciclodextrinei, proces stabilizat prin legături de hidrogen și interacțiuni hidrofobe. Modificările spectrale cumulative confirmă încapsularea constituenților ECEO, în special a eugenolului, în cavitatea hidrofobă a β-ciclodextrinei, contribuind la stabilizarea bioactivității componentelor volatile. [79,80].

Evaluarea cantitativă a activității antimicrobiene și evaluarea semicantitativă a aderenței microbiene pe substrat inert

Rezultatele MIC and MBEC sunt prezentate în Figura 6 (A) și (B).

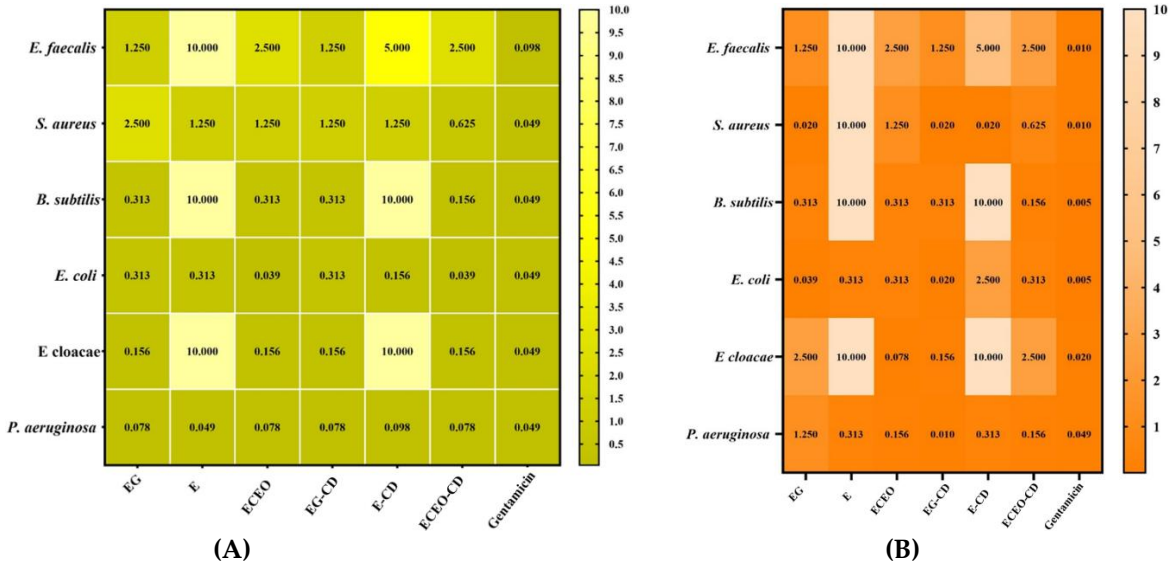


Figura 6. Heatmap al valorilor MIC (mg/mL) (A) și MBEC (mg/mL) ale componentelor bioactive și ale complecșilor.
Legendă: Eugenol – EG; Eucaliptol – E; ulei esențial de *Eugenia caryophyllata* – ECEO; complex β-ciclodextrină cu EG – EG-CD; complex β-ciclodextrină cu E – E-CD; complex β-ciclodextrină cu ECEO – ECEO-CD.

Valorile MIC au variat între 0,039 mg/mL și 10,000 mg/mL. Cele mai scăzute valori MIC, indicând cea mai ridicată eficiență antimicrobiană, au fost observate pentru ECEO și pentru complexul său de incluziune cu β-ciclodextrină, ambele prezentând o MIC de 0,039 mg/mL împotriva tulpinii *Escherichia coli*. Aceste rezultate sugerează o activitate antimicrobiană superioară comparativ cu gentamicina, pentru care a fost înregistrată o valoare MIC de 0,049 mg/mL. Dintre tulpinile bacteriene testate, *Pseudomonas aeruginosa* a prezentat cea mai mare sensibilitate la ECEO, eugenol și eucaliptol, precum și la complecșii lor de incluziune corespunzători.

Valorile MBEC au variat între 0,010 mg/mL și 10 mg/mL, cea mai mică concentrație fiind înregistrată pentru complexul eugenol–β-ciclodextrină împotriva tulpinii *Pseudomonas aeruginosa*, valoare mai redusă decât cea obținută pentru gentamicină. Per ansamblu, compușii încapsulați au demonstrat o eficiență superioară în eradicarea biofilmului comparativ cu formele lor libere. Așa cum era de așteptat, eucaliptolul și complexul său au fost cele mai puțin eficiente probe în eliminarea biofilmelor bacteriene, cu valori MBEC ce au atins până la 10 mg/mL.

Concluzii

Încapsularea uleiului esențial de cuișoare (ECEO) în complecși de incluziune cu β-ciclodextrină (β-CD) a demonstrat un potențial semnificativ pentru stabilizarea și controlul eliberării componentelor sale bioactive volatile, în principal eugenolul. Analizele GC–MS și HS–GC–MS au confirmat faptul că eugenolul reprezintă constituentul major al ECEO, iar încapsularea sa a fost realizată cel mai eficient prin metoda frământării (kneading). Alți compuși, precum acetatul de eugenil, eucaliptolul și p-cimenul, au fost de asemenea încapsulați, cel mai probabil datorită polarității favorabile și compatibilității dimensionale cu cavitatea β-ciclodextrinei.

Per ansamblu, studiul evidențiază potențialul complecșilor de incluziune cu β-CD ca strategie promițătoare pentru îmbunătățirea stabilității și a activității antimicrobiene a uleiurilor volatile, precum ECEO. Acești complecși au capacitatea de a modula eliberarea produselor naturale, contribuind la creșterea eficacității și stabilității acestora în aplicații farmaceutice, alimentare și cosmetice. Studii viitoare ar putea investiga în continuare proprietățile antimicrobiene ale acestor sisteme, în special capacitatea lor de a inhiba formarea biofilmelor produse de tulpini multirezistente.

CAPITOLUL 6. Noi Geluri Carbopol Cu Complex De Ciclodextrină Și Uleiuri Volatile

Acest studiu s-a concentrat pe dezvoltarea și evaluarea complexă a unor hidrogeluri formulate cu un complex de ciclodextrină ce conține ulei esențial de cuișoare (CO), precum și a unor hidrogeluri care încorporează uleiuri volatile libere, precum uleiul de arbore de ceai și uleiul de rozmarin, recunoscute pentru proprietățile lor antimicrobiene. Cercetarea a avut ca scop evaluarea proprietăților farmacotehnice ale acestor hidrogeluri, incluzând stabilitatea, textura, ușurința în aplicare și comportamentul reologic — aspect esențial pentru înțelegerea caracteristicilor de curgere și deformare ale gelurilor.

Prin combinarea acestor agenți antimicrobieni naturali cu ciclodextrina, studiul a urmărit creșterea stabilității și eficacității uleiurilor volatile, conducând la formulări topice inovatoare cu potențial terapeutic îmbunătățit. Compoziția uleiurilor esențiale de arbore de ceai și rozmarin a fost determinată prin GC–MS. Pentru gelurile obținute au fost evaluate comportamentul reologic, analiza morfologică prin SEM, activitatea antimicrobiană și citotoxicitatea.

Materiale și Metode

Pentru formularea gelurilor cu acțiune antimicrobiană au fost alese două niveluri de variație a compoziției: concentrația polimerului hidrofil (Carbopol 940, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germania) în baza de gel și concentrația uleiurilor volatile în formula finală (Tabelul 4).

Tabel 4. Compoziția gelurilor

Components	Formula A	Formula B	Formula C	Formula D	Formula E	Formula F
Carbopol 940	0.8 g	1 g	1.2 g	1 g	1 g	1 g
Glycerin	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g
Triethanolamine	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
Cyclodextrin complex with clove essential oil	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g
Usnic acid	0.5 g	0.5 g	0.5 g	0.5 g	0.5 g	0.5 g
Tea tree essential oil	1.5 g	1.5 g	1.5 g	1 g	2 g	2.5 g
Rosemary essential oil	1.5 g	1.5 g	1.5 g	1 g	2 g	2.5 g
Purified water	until 100g	until 100g	until 100g	until 100g	until 100g	until 100g

Rezultate și discuții – Analiza GC–MS

Analiza GC–MS a evidențiat faptul că principalul constituent al uleiului volatil de *Melaleuca alternifolia* este terpinen-4-olul (36,32%), urmat de γ-terpinen (18,85%) și α-terpinen (10,85%). Un studiu din 2019 [81] a confirmat că aceste trei componente reprezintă constituenții majori ai uleiului esențial de arbore de ceai (TTO), luând în considerare mici variații procentuale.

În cazul *Rosmarinus officinalis*, componentul majoritar al uleiului volatil este eucaliptolul (49,70%), urmat de camfor (14,12%), α-pinen (11,83%) și β-cariofilen (5,80%). Datele din literatură confirmă rezultatele obținute. Studiile [82,83] efectuate asupra uleiului volatil obținut prin hidrodistilare din diferite părți ale plantei *Rosmarinus officinalis* L. au arătat, de asemenea, că principalul component al uleiului este eucaliptolul, urmat de α-pinen și camfor. În plus, au fost identificate cantități semnificative de borneol, camfen și verbenonă.

Caracteristicile gelurilor

Caracteristicile gelurilor sunt prezentate în Tabelul 5.

Tabel 5. Compoziția gelurilor

Characteristic	Formula A	Formula B	Formula C	Formula D	Formula E	Formula F
Caracteristici macroscopice la momentul inițial	Aspect: omogen; culoare: galbenă miros: specific	Aspect: omogen; culoare: galbenă miros: specific	Aspect: omogen; culoare: galbenă miros: specific	Aspect: omogen; culoare: galbenă miros: specific	Aspect: omogen; culoare: galbenă miros: specific	Aspect: omogen; culoare: galbenă miros: specific
Caracteristici macroscopice dupa 60 zile	Aspect: omogen; culoare: galbenă miros:	Aspect: omogen; culoare: galbenă miros:	Aspect: omogen; culoare: galbenă miros:	Aspect: omogen; culoare: galbenă miros:	Aspect: omogen; culoare: galbenă miros:	Aspect: omogen; culoare: galbenă miros:

	specific	specific	specific	specific	specific	specific
pH inițial	6.50	6.00	6.70	6.70	6.60	6.40
pH dupa 60 zile	6.40	6.60	6.60	6.70	6.50	6.30

Date reologice

Pentru fiecare gel pe bază de Carbopol a fost obținută o reogramă ascendentă, prin reprezentarea grafică a tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare (Figura 7).

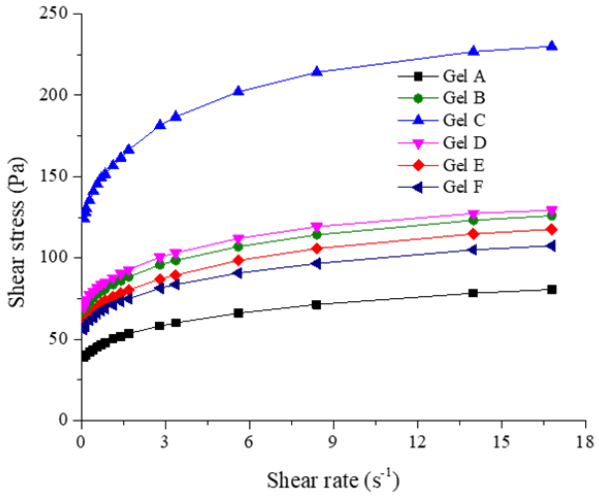


Figura 7. Reogramele ascendente pentru gelurile de Carbopol au fost analizate la 33 °C.

După cum se poate observa în Figura 2, toate formulările au prezentat forme similare ale profilelor de curgere, cu o creștere a tensiunii de forfecare odată cu creșterea vitezei de forfecare, indicând un comportament non-newtonian..

Microscopie electronică de baleiaj (SEM)

Imaginile SEM au detaliat microarhitectura acestor geluri, evidențiind uniformitatea și omogenitatea matricei gelificate. Această distribuție uniformă a compușilor încapsulați este esențială pentru menținerea stabilității ingredientelor active, prevenind eliberarea prematură și degradarea acestora.

În plus, rețeaua fină și interconectată observată în structura gelului contribuie la textura sa favorabilă, asigurând o aplicare netedă și uniformă pe piele. Această integritate structurală îmbunătățește, de asemenea, capacitatea gelului de a-și menține forma și de a rezista deformării sub acțiunea forțelor mecanice, aspect critic pentru păstrarea proprietăților reologice în timp.

Activitatea antimicrobiană

Datele obținute au demonstrat că ambele formulări de gel au prezentat activitate antimicrobiană împotriva bacteriilor Gram-pozitive, Gram-negative și a levurilor din genul *Candida*, cultivate din tulpini standardizate ATCC sau izolate din probe biologice (Tabelul 7). Deși activitatea antimicrobiană a celor două formulări (B și E) a fost, în general, comparabilă, au fost evidențiate diferențe specifice. Valorile MIC au variat între 31,250 și 125,000 mg/mL pentru tulpinile bacteriene și între 3,907 și 62,500 mg/mL pentru levuri.

Ambele formulări au arătat activitate similară, însă formularea E a prezentat o eficacitate superioară împotriva *Candida tropicalis* 5770, cu o MIC de doar 3,907 mg/mL, comparativ cu formularea B, care a înregistrat o MIC de 15,625 mg/mL. Această activitate crescută a formulării E este probabil datorată conținutului mai ridicat de ulei esențial de arbore de ceai (TTO) și ulei de rozmarin (RO), recunoscute pentru proprietățile lor antimicrobiene puternice (Figurile 5 și 6). În pofida acestor diferențe, activitatea antimicrobiană similară observată pentru celelalte tulpini microbiene poate fi atribuită concentrației identice de Carbopol 940 din ambele formulări, precum și includerii similare a complexului de ciclodextrină. Acești factori pot conduce la cinetici de eliberare comparabile ale compușilor bioactivi și, implicit, la niveluri apropiate de eficiență antimicrobiană [84]. Aceste rezultate au încurajat continuarea testărilor pe un număr mai mare de tulpini bacteriene izolate clinic.

Totuși, prin evaluarea aderenței microbiene pe substrat inert, niciuna dintre formulări nu a influențat semnificativ tulpina clinică *Staphylococcus aureus* 14. În plus, au fost necesare concentrații mai mari din ambele produse pentru inhibarea aderenței microbiene în cazul *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, indicând faptul că, deși gelurile sunt eficiente în inhibarea creșterii microbiene, impactul lor asupra aderenței microbiene poate fi limitat și dependent de tulpină.

Activitatea citotoxică

Impactul formulărilor farmaceutice B, E și al bazei de gel (GB) asupra viabilității și proliferării celulare a liniei de adenocarcinom colorectal uman (ATCC HTB-38) a fost evaluat prin testul MTT (Figura 8).

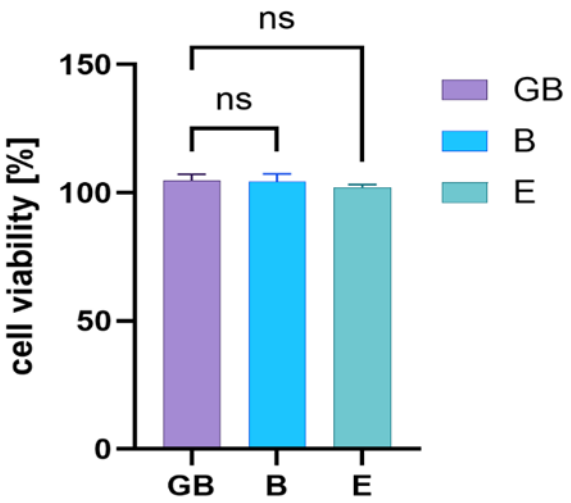


Figura 8. Efectul gelurilor asupra viabilității celulelor antitumorale. Legendă: GB = bază de gel; B = formula B; E = formula E. Influența gelurilor a fost analizată statistic prin ANOVA bidirecțională, urmată de testele de comparații multiple Dunnett, fără a evidenția corelații semnificative din punct de vedere statistic.

Componentele uleiurilor esențiale adăugate în GB nu au modificat proliferarea celulelor tumorale HTB-38 în cazul gelurilor testate la concentrația de 1%. Pe de altă parte, valorile apropiate de 100% indică faptul că majoritatea celulelor au supraviețuit tratamentului cu gelurile respective, iar citotoxicitatea este relativ scăzută la concentrația de 1%, nefiind observate modificări semnificative statistic.

Și alte tipuri de complecși pe bază de β-ciclodextrină au demonstrat, de asemenea, lipsă de toxicitate [85]. Studiile de toxicitate realizate asupra unui hidrogel încărcat cu curcumină, formulat pe bază de 2-hidroxipropil-β-ciclodextrină, alginat de sodiu și chitosan, destinat materialelor pentru pansamente cu activitate antimicrobiană, testat pe celule NCTC clone 929 și fibroblaste dermice umane normale, au demonstrat că hidrogelul este netoxic. De asemenea, un hidrogel încărcat cu doxorubicină, conținând β-ciclodextrină și agaroză, nu a prezentat toxicitate asupra celulelor HEK-293 (Human Embryonic Kidney) și HeLa [86].

În schimb, majoritatea complecșilor de incluziune ai LCEO (*Litsea cubeba* essential oil) în β-ciclodextrină (β-CD) au prezentat activitate antitumorală împotriva liniilor celulare tumorale (HT-29 și HeLa), precum și asupra liniei celulare netumorale (Vero), conform evaluărilor realizate prin testul MTT [87].

Concluzii

Compoziția gelurilor proiectate influențează parametrii de curgere, aspect mai evident în cazul variației concentrației de Carbopol. Toate hidrogelurile au prezentat comportament non-newtonian pseudoplastic cu prag de curgere. Evaluarea reologică este esențială pentru o analiză fizico-chimică complexă a formelor farmaceutice semisolide,

furnizând informații valoroase privind tehnologia de fabricație, controlul calității și stabilității în timpul păstrării, precum și activitatea terapeutică.

Studiul a dezvoltat și evaluat hidrogeluri conținând un complex de ciclodextrină cu ulei esențial de cuișoare (CO) alături de ulei esențial de arbore de ceai (TTO) și ulei esențial de rozmarin (RO), concentrându-se asupra proprietăților farmacotehnice și reologice. Rezultatele au demonstrat că concentrația de Carbopol 940 reprezintă principalul factor care influențează comportamentul reologic al gelurilor, o concentrație mai mare conducând la creșterea pragului de curgere, a indicelui de consistență și a vâscozității.

Formula B, conținând 1% Carbopol, 1,5% TTO și 1,5% RO, a prezentat stabilitate și proprietăți reologice optime, fiind adecvată pentru aplicații practice. În schimb, Formula E, cu aceeași concentrație de Carbopol, dar cu un conținut mai ridicat de TTO (2%) și RO (2%), a demonstrat eficacitate antimicrobiană superioară, în special împotriva *Candida tropicalis*. Această activitate crescută este atribuită nivelului mai mare de uleiuri volatile libere. Studiul subliniază importanța echilibrării concentrațiilor de polimer și uleiuri volatile pentru optimizarea proprietăților fizice și a eficienței antimicrobiene a hidrogelurilor, evidențiind potențialul acestora pentru aplicații medicale și cosmetice. Pe baza acestui studiu a fost stabilită dovada de concept, urmând a fi realizate cercetări suplimentare pentru o caracterizare completă în raport cu aplicațiile farmaceutice și terapeutice vizate.

Focalizarea actuală pe aplicații topice poate fi extinsă către alte arii terapeutice, precum administrarea mucozală, formulările oftalmice sau administrarea vaginală/rectală. Hidrogelurile reprezintă candidați ideali pentru aceste utilizări datorită capacității lor de a adera la suprafețele mucoase și de a asigura livrare localizată a medicamentului cu absorbție sistemică minimă. De asemenea, cercetările asupra hidrogelurilor biodegradabile pentru inginerie tisulară sau medicină regenerativă pot constitui o direcție importantă de dezvoltare, explorând modul în care aceste formulări pot funcționa ca scaffold-uri pentru creșterea celulară sau ca vehicule de eliberare pentru factori de creștere și celule stem în procesele de reparare tisulară.

.

CAPITOLUL 7. Formulări de gel cu complex de ciclodextrină și uleiuri volatile

---

Acest studiu a avut ca scop dezvoltarea și caracterizarea unor hidrogeluri inovatoare pe bază de compuși bioactivi naturali pentru aplicații antimicrobiene topice. Au fost formulate patru sisteme de gel utilizând polimeri diferiți, respectiv acid poliacrilic (Carbopol 940, CBP-G), chitosan cu masă moleculară mare și medie (CTH-G și CTM-G) și

alginat de sodiu (ALG-G), încorporând tincturi de Verbena officinalis și Aloysia triphylla, ulei esențial de Laurus nobilis și un complex β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare.

Materiale și metode

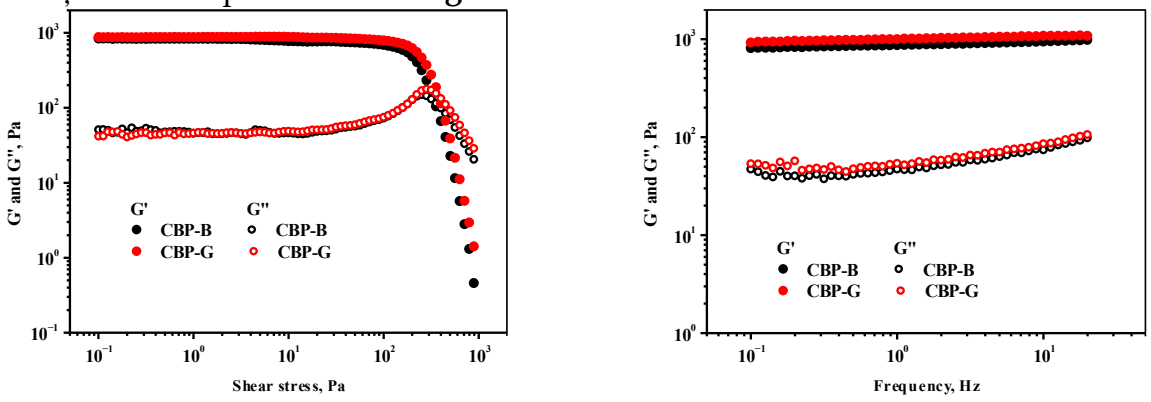
Obiectivul acestui studiu a fost dezvoltarea și caracterizarea farmacotehnică, în special din punct de vedere reologic, a unor hidrogeluri pe bază de uleiuri volatile. Pentru formularea gelurilor cu acțiune antimicrobiană s-a avut în vedere variația polimerului, în scopul selectării formulării optime pentru utilizare topică. Compozițiile gelurilor sunt prezentate în Tabelul 6. Bazele de gel sunt considerate formulările fără compuși bioactivi (VAT, ATT, ulei esențial de *Laurus nobilis* și complex β-CD–ECEO).

Tabl 6. Compoziția gelurilor

Formulare	Polimer	Ingrediente active			Plasticizant	Agenți de gelifiere	Solvent
		Tincturi	Uleiuri esențiale	Altele			
	2%	**2%**	**1%**	**0.50 %**	**5%**	**1%**	**Până la 100%**
CBP-G	Carbopol 940	*Verbena officinalis* (VAT) *Aloysia triphylla* (ATT)	*Laurus nobilis*	*β*-CD-ECEO complex	Glycerin	NA	Apă purificată
CTH-G	Chitosan HMW						
CTM-G	Chitosan MMW						
ALG-G	Sodium alginate					$CaCl_2$	

Date reologice

Comportamentul **reologic** al noilor geluri și al bazelor acestora a fost analizat, iar datele obținute sunt prezentate în **Figura 9.**



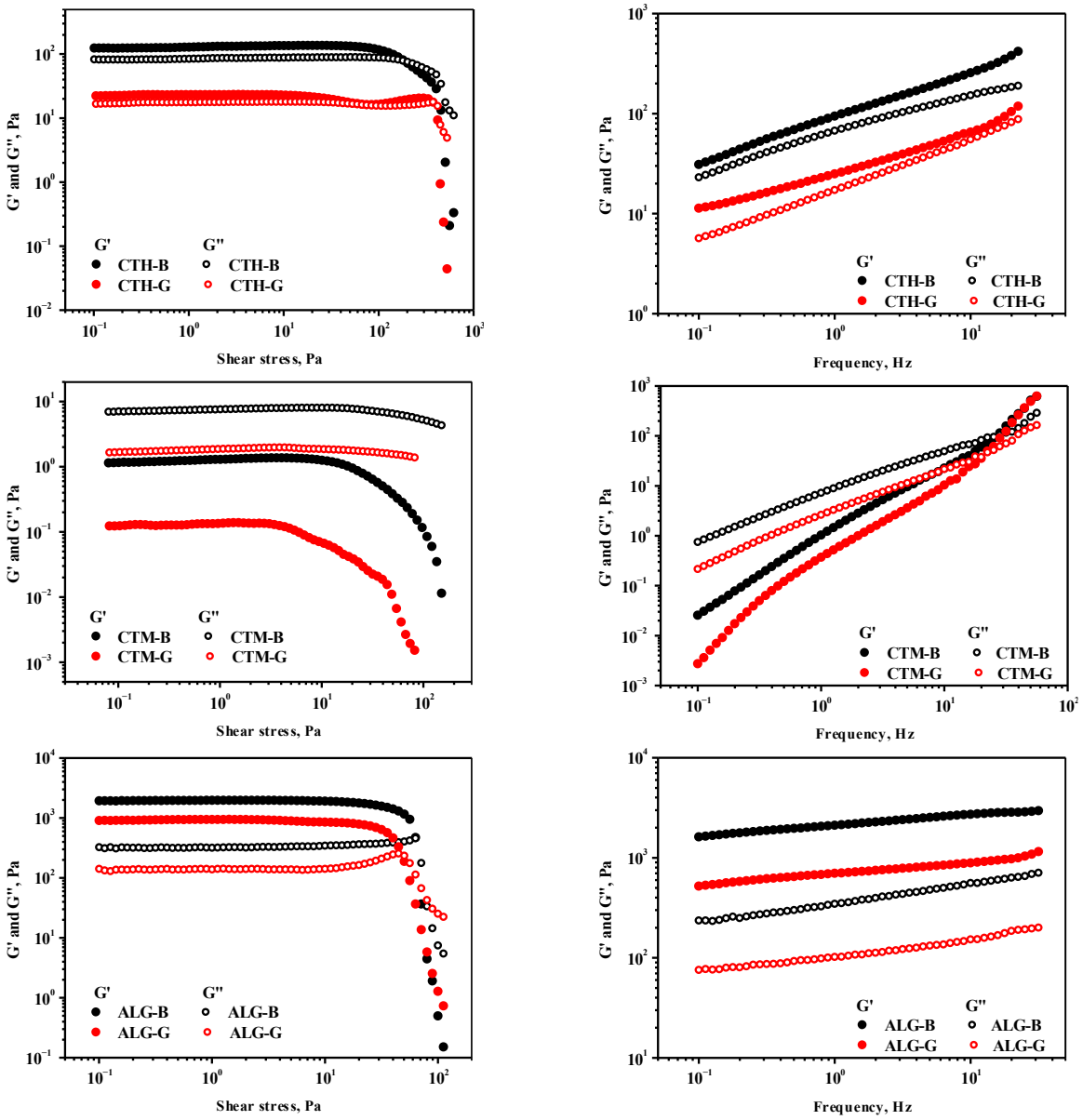


Figura 9. Variația modulelor reologice în funcție de tensiunea de forfecare ((A) CBP; (C) CTH; (E) CTM; (G) ALG) și de frecvență ((B) CBP; (D) CTH; (F) CTM; (H) ALG). Legendă: CTH-G — gel de chitosan cu masă moleculară mare; CTM-G — gel de chitosan cu masă moleculară medie; ALG-G — gel de alginat de sodiu; CBP-G — gel Carbopol 940; CTH-B — bază de gel chitosan cu masă moleculară mare; CTM-B — bază de gel chitosan cu masă moleculară medie; ALG-B — bază de gel alginat de sodiu; CBP-B — bază de gel Carbopol 940.

Probele CBP-B și CBP-G prezintă un comportament similar, în care modulul elastic (G′) și modulul vâscos (G″) evidențiază o regiune viscoelastică bine definită, după care se observă o scădere a modulelor. Această diminuare reprezintă deformarea ireversibilă a structurilor CBP-B și CBP-G și apariția punctului de curgere (yield stress). Valorile

îmbunătățite ale modulelor și punctul critic în varianta CBP-G sunt în concordanță cu observațiile raportate pentru sistemele compozite Carbopol–polimer, unde aditivi precum glicerina și acidul hialuronic contribuie la creșterea integrității structurale [88,89]. Analiza reologică a sistemelor CTH-B și CTH-G a arătat că, deși G′ este ușor mai mare decât G″, valorile celor două module sunt foarte apropiate, indicând faptul că ambele materiale se află aproape de o tranziție între comportamentul solid și cel lichid. Tendința observată poate fi atribuită interacțiunilor slabe din rețea și rearanjărilor structurale care reduc diferența dintre module. În plus, proba CTH-B prezintă în mod constant valori mai mari ale G′ și G″ decât CTH-G pe întreg intervalul tensiunilor de forfecare și frecvențelor studiate, sugerând o rețea structurală mai puternică. Pentru sistemele CTM-B și CTM-G, în testele de amplitudine (Figura 1E) s-a observat un caracter predominant fluid, cu existența unui LVER detectabil, dar fără punct de curgere. De asemenea, ambele probe pe bază de CTM au evidențiat un comportament predominant vâscos (G″ > G′) la frecvențe joase și un comportament mai elastic (G′ > G″) la frecvențe înalte. Acest fenomen sugerează că CTM-B și CTM-G curg asemenea unor lichide viscoelastice, însă la frecvențe mari se comportă similar unor solide viscoelastice. Probele ALG-B și ALG-G prezintă un LVER scurt, în care G′ este mai mare decât G″, indicând un comportament de tip solid. Odată cu creșterea tensiunii de forfecare, cele două module reologice tind să scadă, marcând punctul de curgere. Valorile punctelor de curgere identificate au fost de aproximativ 65 Pa pentru ALG-B și 45 Pa pentru ALG-G.

Analiză Termogravimetrică Diferențială (TG-DTA)

Curbele TG–DTA obținute pentru formulările de hidrogel, precum și pentru bazele corespunzătoare (Figura 10), au evidențiat un model consistent de degradare termică în două etape, caracteristic sistemelor de hidrogel multicomponente. În toate cazurile, evenimentele exoterme observate în profilele DTA au corespuns etapelor de pierdere de masă indicate de datele TG.

Prima etapă de degradare, situată aproximativ între 100 și 250 °C, este atribuită în principal evaporării apei libere și legate, precum și evaporării componentelor cu masă moleculară mică, cum ar fi glicerina, reziduurile de etanol provenite din tincturi și constituenții uleiurilor esențiale.

A doua etapă de degradare, extinsă între aproximativ 230 °C și 500 °C, corespunde descompunerii termice a matricei polimerice principale (Carbopol, chitosan sau alginat), precum și degradării complecșilor de β-ciclodextrină și a compușilor organici termolabili.

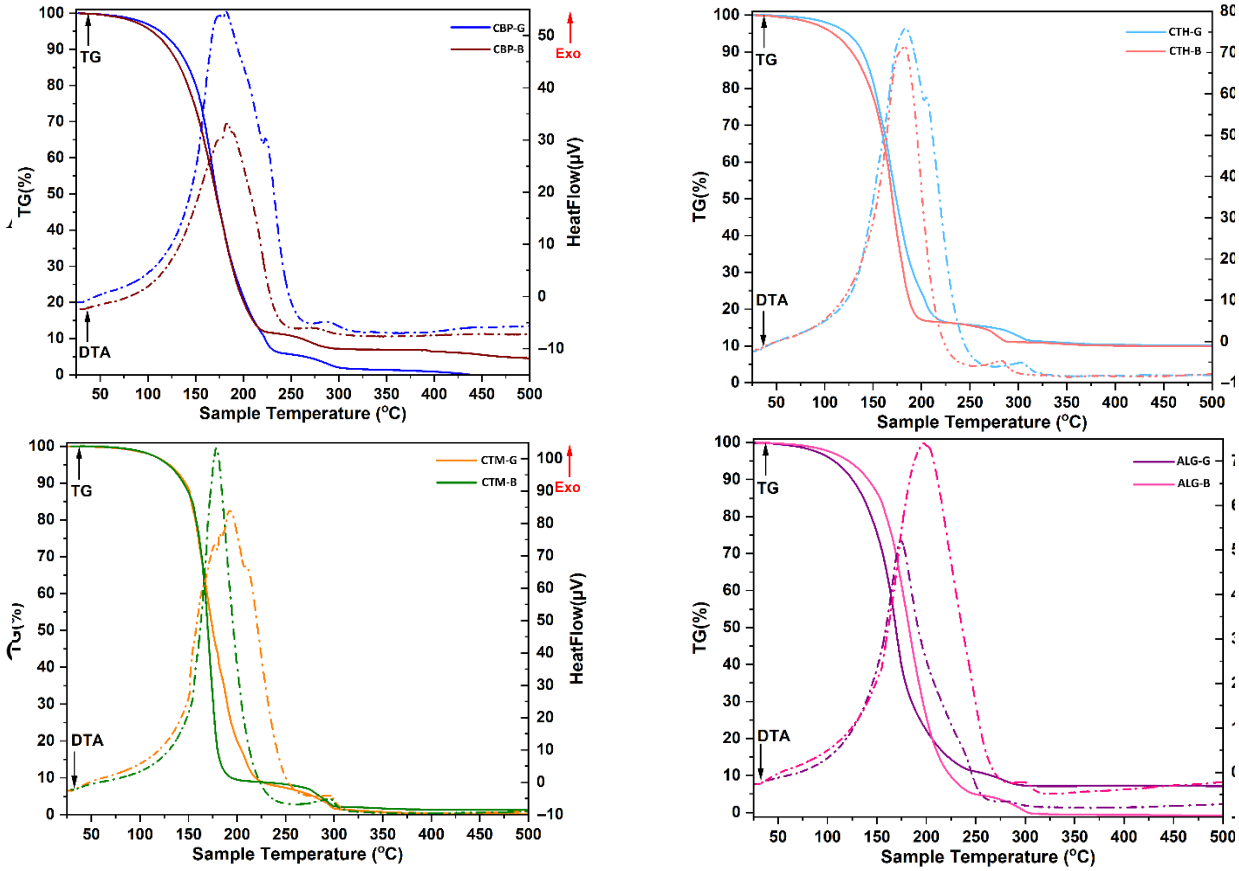


Figura 10. Curbele TG–DTA ale gelurilor: (A) **CBP-G** — gel Carbopol 940 și **CBP-B** — bază de gel Carbopol 940; (B) **CTH-G** — gel de chitosan cu masă moleculară mare și **CTH-B** — bază de gel de chitosan cu masă moleculară mare; (C) **CTM-G** — gel de chitosan cu masă moleculară medie și **CTM-B** — bază de gel de chitosan cu masă moleculară medie; (D) **ALG-G** — gel de alginat de sodiu și **ALG-B** — bază de gel de alginat de sodiu.

Microscopie electronica de baleiaj (SEM)

Imaginile SEM evidențiază microarhitectura gelurilor, subliniind uniformitatea și omogenitatea matricei gelificate. Distribuția uniformă a compușilor activi este esențială pentru menținerea stabilității ingredientelor active, prevenind eliberarea prematură și degradarea acestora, în timp ce rețeaua de hidrogel contribuie la obținerea unei texturi adecvate, care permite o aplicare ușoară și uniformă pe piele.

În plus, gelul trebuie să își mențină atât forma, cât și rezistența la deformare, aspecte cheie pentru păstrarea proprietăților reologice în timp și pentru livrarea eficientă a substanțelor active, în timp ce textura corespunzătoare favorizează ușurința aplicării.

Analiză FTIR

Analiza FTIR indică încorporarea cu succes a compușilor bioactivi de origine vegetală, a uleiurilor esențiale și a complexului de incluziune în matricile gelificate. De asemenea, analiza FTIR demonstrează că interacțiunile dintre polimer și compușii bioactivi depind de natura matricei polimerice utilizate.

Matricele pe bază de Carbopol și chitosan cu masă moleculară mare (HMW) au evidențiat interacțiuni fizice mai pronunțate cu compușii încorporați, în timp ce matricile de chitosan cu masă moleculară medie (MMW) și alginat au demonstrat un potențial limitat de interacțiune. Per ansamblu, în majoritatea formulărilor de gel s-a observat încapsularea preponderent fizică a compușilor activi.

.

Activitatea Antimicrobiană

Concentrațiile minime inhibitorii (MIC) determinate prin testare cantitativă au variat între 0,58 și 75 mg/mL. Conform rezultatelor screeningului calitativ, gelul pe bază de chitosan a prezentat cea mai puternică activitate antimicrobiană împotriva tuturor tulpinilor testate, în special împotriva *S. aureus* și *E. coli* (MIC = 2,34 mg/mL).

În cazul gelului cu Carbopol, cea mai eficientă inhibiție a fost observată împotriva *S. epidermidis* (2,73 mg/mL), similar cu gelul de alginat, însă la o concentrație mai mare (9,38 mg/mL). Uleiul esențial de *Laurus nobilis* a demonstrat o activitate antimicrobiană notabilă asupra *C. albicans* (1,25 mg/mL), cu efecte ușor mai reduse asupra celorlalte tulpini (2,50 mg/mL). Nu a fost înregistrată activitate antimicrobiană pentru bazele de Carbopol și alginat. În urma evaluării aderenței microbiene pe substrat inert, valorile MBEC au variat între 0,58 și 75,0 mg/mL. Așa cum era de așteptat, cele mai bune rezultate au fost obținute pentru gelul pe bază de chitosan, cu cele mai mici valori MBEC înregistrate pentru tulpinile *S. aureus* și *E. coli*, în concordanță cu datele MIC anterioare. Gelul de alginat a prezentat cea mai scăzută eficiență antibiofilm, cu valori MBEC cuprinse între 37,5 și 75,0 mg/mL. Activitatea antimicrobiană demonstrată de gelul pe bază de chitosan se datorează nu doar componentelor active din compoziție, ci și prezenței chitosanului în sine. Chitosanul conferă gelului o activitate antimicrobiană intrinsecă semnificativă datorită proprietăților sale cationice. Protonarea grupărilor aminice într-un mediu acid îi conferă un caracter policationic, facilitând interacțiunea electrostatică cu peretele celular microbian, ceea ce conduce la perturbarea integrității membranare și, în final, la liza bacteriană.

Testarea Viabilității Celulare

Testul MTT a evidențiat efecte diferențiate ale formulărilor farmaceutice asupra viabilității celulelor HaCaT după 24 de ore de tratament. Formulările pe bază de chitosan cu masă moleculară mare (CTH-G și CTH-B) și gelurile cu chitosan cu masă moleculară medie (CTM-G și CTM-B) au indus o creștere semnificativă a viabilității celulare comparativ cu martorul, sugerând un posibil efect proliferativ, atribuibil prezenței chitosanului. În schimb, formulările care conțin alginat au prezentat o reducere dependentă de doză a viabilității, cu o scădere statistic semnificativă (aproximativ 30% față de celulele netratate) observată la concentrațiile de 5 mg/mL și 10 mg/mL. Aceste rezultate indică faptul că, la concentrații mai mari, gelurile pe bază de alginat pot exercita efecte citotoxice asupra keratinocitelor.

Producția de NO (oxid nitric), utilizată ca indicator al răspunsului inflamator, a rămas neschimbată pentru majoritatea formulărilor și concentrațiilor testate. Totuși, o creștere semnificativă a nivelului de oxid nitric a fost detectată doar la cea mai mare concentrație (10 mg/mL) a formulării CG, ceea ce poate sugera un efect proinflamator ușor asociat acestei condiții specifice.

Concluzii

Studiul prezintă o evaluare comparativă a gelurilor antimicrobiene topice ce încorporează produse bioactive de origine vegetală — ulei esențial de *Laurus nobilis*, tincturi de *Verbena officinalis* și *Aloysia triphylla*, precum și un complex de incluziune β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare — formulate în patru matrici polimerice distincte: Carbopol 940, alginat de sodiu și chitosan cu masă moleculară mare și medie.

Această abordare comparativă a permis o înțelegere sistematică a modului în care arhitectura polimerică influențează comportamentul reologic, eficacitatea antimicrobiană și citocompatibilitatea. Dintre acestea, gelurile pe bază de chitosan cu masă moleculară mare au prezentat cel mai promițător profil, combinând activitate antimicrobiană puternică (valori MIC și MBEC scăzute împotriva *S. aureus* și *E. coli*) cu viabilitate celulară HaCaT crescută și proprietăți viscoelastice adecvate aplicării topice.

Gelurile pe bază de Carbopol au demonstrat o integritate structurală excelentă, cu puncte de curgere ridicate (~400 Pa), stabilitate termică și citotoxicitate minimă, fiind potrivite ca purtători pentru compuși bioactivi sensibili atunci când se dorește o interacțiune celulară redusă. În contrast, gelurile pe bază de alginat au prezentat stabilitate mecanică moderată și citotoxicitate dependentă de doză la concentrații ridicate, sugerând anumite limitări pentru contactul cutanat direct în forme nediluate.

Încorporarea extractelor vegetale, a uleiurilor esențiale și a complecșilor β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare în bazele de gel a fost realizată cu succes, fapt confirmat prin analize FTIR și SEM. Analiza structurală a susținut potențialul de eliberare susținută și distribuția uniformă a compușilor în matricile gelificate, iar evaluarea termogravimetrică a confirmat robustețea termică a tuturor sistemelor.

Per ansamblu, rezultatele susțin adecvarea gelurilor pe bază de chitosan și Carbopol pentru formularea unor sisteme topice stabile, biocompatibile și eficiente de livrare a antimicrobienelor naturale. Aceste sisteme oferă o bază promițătoare pentru dezvoltarea ulterioară a formulărilor dermatologice destinate gestionării infecțiilor cutanate și promovării proceselor de vindecare a rănilor.

CAPITOLUL 8. Concluzii generale și Originalitate

Concluzii generale

Teza a abordat o problemă clinică și tehnologică actuală: necesitatea unor alternative topice „prietenoase cu microbiomul" pentru controlul și tratamentul infecțiilor cutanate, în contextul creșterii rezistenței la antibiotice și al limitărilor formelor convenționale. Strategia propusă — integrarea compușilor naturali (în special uleiuri esențiale și tincturi vegetale) în sisteme polimerice de livrare și/sau în complecși de incluziune cu β-ciclodextrină — s-a dovedit a fi fezabilă, reproductibilă și compatibilă cu cerințele aplicării cutanate.

Obiectivele tezei au fost structurate astfel încât să răspundă limitărilor identificate în studiile anterioare și, în același timp, să introducă elemente originale neabordate anterior în literatura de specialitate.

Teza de doctorat este organizată în secțiuni majore, împărțite în capitole. Prima secțiune reprezintă o analiză a literaturii științifice recente, care prezintă tema principală: importanța microbiotei locale în sănătatea pielii. De asemenea, sunt revizuite principalele abordări terapeutice ale infecțiilor cutanate și avantajele încorporării compușilor antimicrobieni de origine vegetală în sisteme polimerice de livrare. A doua parte prezintă contribuția experimentală originală, enunță obiectivele și demonstrează îndeplinirea acestora prin rezultate publicate în articole științifice. O a treia secțiune este dedicată Concluziilor generale, iar a patra cuprinde Referințele bibliografice.

Capitolul 1 stabilește importanța sănătății pielii prin detalierea structurii și funcțiilor acesteia, a interacțiunilor gazdă–microb și explică rolul microbiotei în echilibrul imun local, prezentând totodată tipurile de infecții cutanate și complicațiile acestora. În plus, capitolul trece în revistă medicamentele topice, antibioticele, antifungicele, terapiile emergente și evidențiază provocările tratamentului, inclusiv patogenii nosocomiali.

Capitolul 2 sintetizează informațiile referitoare la compușii naturali și extractele vegetale cu activitate antimicrobiană: descrie mecanismele de acțiune, analizează capacitatea acestora de a potența antibioticele împotriva tulpinilor rezistente și revizuiește formele farmaceutice/suplimentele existente și prezența lor pe piața globală.

Capitolul 3 evidențiază sistemele utilizate în formulările farmaceutice pentru distribuția substanțelor active: prezintă rolul ciclodextrinelor în formarea complecșilor de incluziune pentru creșterea solubilității, stabilității și controlul eliberării compușilor (inclusiv a celor volatili). De asemenea, capitolul detaliază matricile gelificate pe bază de polimeri — alginat de sodiu, chitosan și acid poliacrilic (Carbopol) — ca sisteme de încărcare și eliberare controlată, precum și abordările de caracterizare a gelurilor.

Partea a doua prezintă obiectivul principal al tezei, împărțit în patru direcții (Capitolele 4–7):
(i) descrierea obiectivelor generale și specifice ale cercetării;
(ii) obținerea complecșilor β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare, caracterizarea și evaluarea proprietăților biologice;
(iii) dezvoltarea, optimizarea și evaluarea activității biologice a unor noi formulări de gel pe bază de acid poliacrilic (polimer sintetic), complex β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare și uleiuri esențiale cu proprietăți antimicrobiene (arbore de ceai și rozmarin);
(iv) dezvoltarea unor noi geluri antimicrobiene pe bază de polimeri naturali și sintetici (alginat de sodiu, chitosan și acid poliacrilic), utilizând complexul β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare și extracte vegetale (*Verbena officinalis* tinctură, *Aloysia triphylla* tinctură și ulei esențial de dafin).

Capitolul 4 sintetizează principalele obiective ale tezei, oferind o descriere succintă a direcțiilor majore de cercetare abordate.

Capitolul 5 prezintă evaluarea comparativă a complecșilor de β-ciclodextrină cu eugenol, eucaliptol și ulei esențial de cuișoare, preparați prin patru metode: coprecipitare, frământare (kneading), liofilizare și o metodă combinată de coprecipitare–liofilizare. Toți complecșii au fost caracterizați fizico-chimic și morfologic. Încapsularea compușilor bioactivi în cavitatea ciclodextrinei a condus la îmbunătățirea activității antimicrobiene asupra mai multor tulpini microbiene, demonstrând potențialul acestora pentru utilizare în formulări farmaceutice.

Capitolul 6 raportează optimizarea gelurilor pe bază de acid poliacrilic (Carbopol 940) ce încorporează un complex de incluziune β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare și ulei esențial de arbore de ceai, prin variarea concentrațiilor de Carbopol și a componentelor bioactive. Gelurile au fost caracterizate fizico-chimic și morfologic, iar activitatea antimicrobiană și citotoxicitatea formulării optimizate au fost evaluate. Rezultatele obținute susțin utilizarea acesteia ca alternativă topică pentru tratamentul diverselor infecții.

Capitolul 7 descrie proiectarea și dezvoltarea unor noi formulări de gel utilizând atât polimeri naturali, cât și sintetici, în care au fost încorporate complexul β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare și extracte vegetale (tinctură de *Verbena officinalis*, tinctură de *Aloysia triphylla* și ulei esențial de dafin). Gelurile au fost caracterizate fizico-chimic și morfologic, iar activitatea biologică (antimicrobiană și citotoxică) a demonstrat potențialul acestora ca formulări candidate pentru tratamentul topic al infecțiilor cutanate.

Contribuții originale și perspective

Noutatea primului studiu a constat în evaluarea unei metode combinate de încapsulare a eugenolului, eucaliptolului și uleiului esențial de cuișoare în β-ciclodextrină — coprecipitare–liofilizare. De asemenea, au fost raportate în premieră efectele de

inhibare a creșterii asupra tulpinilor *Enterobacter cloacae* și *Pseudomonas aeruginosa*, precum și capacitatea complecșilor de a adera pe substrat inert.
Perspective: investigarea suplimentară a proprietăților antimicrobiene ale complecșilor, cu accent pe inhibarea formării biofilmului la tulpini multirezistente, precum și studii de eliberare și stabilitate pentru aplicații farmaceutice, alimentare și cosmetice.

Noutatea celui de-al doilea studiu a fost dezvoltarea și optimizarea unor hidrogeluri noi pe bază de acid poliacrilic ce conțin un complex β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare și alte uleiuri volatile libere cu proprietăți antimicrobiene (arbore de ceai și rozmarin). Activitatea antimicrobiană a fost evaluată pe tulpini bacteriene și levuri izolate din probe biologice, atât din perspectiva inhibării creșterii, cât și a inhibării formării biofilmului. Remarcabil, gelurile au demonstrat inhibiție de creștere împotriva *Escherichia coli* ESBL (β-lactamază cu spectru extins), tulpină capabilă să inactiveze antibiotice uzuale precum cefalosporinele și penicilinele. De asemenea, complexul β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare testat individual a prezentat activitate antibacteriană asupra tuturor tulpinilor analizate.
Perspective: realizarea de studii de eliberare și stabilitate, precum și investigații in vivo asupra proprietăților antimicrobiene ale formulărilor optime.

Noutatea celui de-al treilea studiu a constat în dezvoltarea și analiza comparativă a gelurilor ce conțin produse bioactive de origine vegetală (ulei esențial de dafin, tincturi de *Verbena officinalis* și *Aloysia triphylla*) și un complex β-ciclodextrină – ulei esențial de cuișoare, formulate în patru matrici polimerice: Carbopol 940, chitosan cu masă moleculară mare, chitosan cu masă moleculară medie și alginat de sodiu. Activitatea antimicrobiană demonstrată asupra mai multor tulpini bacteriene (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 și *Candida albicans* ATCC 10231), alături de citotoxicitatea redusă pe keratinocite umane HaCaT, a evidențiat potențialul acestor sisteme în tratamentul infecțiilor cutanate.
Perspective: orientarea studiilor viitoare către strategii antimicrobiene avansate și inovatoare, capabile să abordeze problemele de stabilitate și să extindă aplicabilitatea formelor farmaceutice fără conservanți într-o gamă largă de produse.

Lista de publicații

- **Stancu, A.I.**; Mititelu, M.; Ficai, A.; Ditu, L.-M.; Buleandră, M.; Badea, I.A.; Pincu, E.; Stoian, M.C.; Brîncoveanu, O.; Boldeiu, A.; et al. Comparative Evaluation of *β*-Cyclodextrin Inclusion Complexes with Eugenol, Eucalyptol, and Clove Essential Oil: Characterisation and Antimicrobial Activity Assessment for Pharmaceutical Applications. *Pharmaceutics* 2025, *17*. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17070852 (Q1, IF=5.5).
- **Stancu, A.I.**; Oprea, E.; Ditu, L.M.; Ficai, A.; Ilie, C.-I.; Badea, I.A.; Buleandra, M.; Brîncoveanu, O.; Ghica, M.V.; Avram, I.; et al. Development, Optimization, and Evaluation of New Gel Formulations with Cyclodextrin Complexes and Volatile Oils with Antimicrobial Activity. *Gels* **2024**, *10*, 645. https://doi.org/10.3390/gels10100645 (Q1, IF=5.3).
- **Stancu, A.I.**; Ditu, L.M.; Oprea, E.; Ficai, A.; Badea, I.A.; Buleandră, M.; Brîncoveanu, O.; Mirea, A.G.; Voicu, S.N.; Musuc, A.M.; et al. New Antimicrobial Gels Based on Clove Essential Oil–Cyclodextrin Complex and Plant Extracts for Topical Use. *Gels* **2025**, *11*, 653. https://doi.org/10.3390/gels11080653 (Q1, IF=5.3).
- **Stancu, A.-I**.; Geană, E.I.; Ditu, L.-M.; Ficai, A.; Nagoda, E.; Oprea, E. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Verbena officinalis* and *Aloysia citrodora* Extracts Obtained by Traditional and Laboratory Methods. *U.P.B. Sci. Bull. Ser. B* **2024**, *86*, 111–122.ISSN 1454 – 2331.

Conferințe

- **Stancu Alina Ionela**, Ficai Anton, Dițu Lia-Mara, Mititelu Magdalena, Oprea Eliza, APPLICATIONS OF CHEMISTRY IN NANOSCIENCES AND BIONANOMATERIALS ENGINEERING, July 16-17, 2020, Bucharest – oral presentation

Aplicații de brevete

I. Application title: Vaginal suppositories with a β-cyclodextrin inclusion complex of clove essential oil

Application number: RO137321-A0

Filing date: 25.10.2022

Publication date: 30.03.2023 CC BY 4.0 license

Applicant: "CAROL DAVILA" UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY, BUCHAREST
Inventors: MITITELU MAGDALENA, **STANCU ALINA IONELA**, OPREA ELIZA, DIŢU LIA-MARA, BULEANDRĂ MIHAELA, BADEA IRINEL ADRIANA, DINU-PÎRVU CRISTINA ELENA, DRĂGĂNESCU DOINA, JINGA VIOREL, NEACŞU SORINEL MARIUS, FICAI ANTON

https://0510qpd9a-y-https-www-webofscience-com.z.e-nformation.ro/wos/diidw/full-record/DIIDW:2023383570

II. Application title: Mouthwash containing a β-cyclodextrin inclusion complex with clove essential oil
Application number: RO137277-A0
Filing date: 25.10.2022
Publication date: 28.02.2023
Applicant: "CAROL DAVILA" UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY, BUCHAREST
Inventors: MITITELU MAGDALENA, **STANCU ALINA IONELA**, OPREA ELIZA, DIŢU LIA-MARA, BULEANDRĂ MIHAELA, BADEA IRINEL ADRIANA, DINU-PÎRVU CRISTINA ELENA, DRĂGĂNESCU DOINA, NEACŞU SORINEL MARIUS, JINGA VIOREL, FICAI ANTON

https://0510qpd9a-y-https-www-webofscience-com.z.e-nformation.ro/wos/diidw/full-record/DIIDW:202330614E

III. Application title: Composition for a multivalent toothpaste containing a β-cyclodextrin inclusion complex with clove essential oil
Application number: RO137276-A0
Filing date: 25.10.2022
Publication date: 28.02.2023
Applicant: "CAROL DAVILA" UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY, BUCHAREST
Inventors: MITITELU MAGDALENA, **STANCU ALINA IONELA**, OPREA ELIZA, DIŢU LIA-MARA, BULEANDRĂ MIHAELA, BADEA IRINEL ADRIANA, DINU-

https://0510qpd9a-y-https-www-webofscience-com.z.e-nformation.ro/wos/diidw/full-record/DIIDW:202330612X

BIBLIOGRAFIE

1. Yousef, H.; Alhajj, M.; Sharma, S. Anatomy, Skin (Integument), Epidermis. *StatPearls Publishing* **2020**.
2. Karim, N.; Phinney, B.S.; Salemi, M.; Wu, P.W.; Naeem, M.; Rice, R.H. Human Stratum Corneum Proteomics Reveals Cross-Linking of a Broad Spectrum of Proteins in Cornified Envelopes. *Exp. Dermatol.* **2019**, *28*, doi:10.1111/exd.13925.
3. Montagna W.; Parakkal P F. *The Structure and Function of Skin*; Third Edition.; ACADEMIC PRESS, New York and London, 1974, A Subsidiary of Harcourt Brace Jovanovich, Publishers, 2012;
4. Yu, Y.; Dunaway, S.; Champer, J.; Kim, J.; Alikhan, A. Changing Our Microbiome: Probiotics in Dermatology. *British Journal of Dermatology* 2020, *182*.
5. Prescott, S.L.; Larcombe, D.L.; Logan, A.C.; West, C.; Burks, W.; Caraballo, L.; Levin, M.; Etten, E. Van; Horwitz, P.; Kozyrskyj, A.; et al. The Skin Microbiome: Impact of Modern Environments on Skin Ecology, Barrier Integrity, and Systemic Immune Programming. *World Allergy Organization Journal* 2017, *10*.
6. Tushar Madaan; Kyla Doan; Alexandra Hartman; Dominick Gherardini; Alec Ventrola; Yuhang Zhang; Nalinikanth Kotagiri Advances in Microbiome-Based Therapeutics for Dermatological Disorders: Current Insights and Future Directions. *Exp. Dermatol.* **2024**, *33*, 1–15.
7. Stulberg, D.L.; Penrod, M.A.; Blatny, R.A. Common Bacterial Skin Infections. *Am. Fam. Physician* **2002**, *66*, doi:10.1080/00325481.1993.11701692.
8. Russo, A.; Concia, E.; Cristini, F.; De Rosa, F.G.; Esposito, S.; Menichetti, F.; Petrosillo, N.; Tumbarello, M.; Venditti, M.; Viale, P.; et al. Current and Future Trends in Antibiotic Therapy of Acute Bacterial Skin and Skin-Structure Infections. *Clinical Microbiology and Infection* 2016, *22*.
9. Golan, Y. Current Treatment Options for Acute Skin and Skin-Structure Infections. *Clinical Infectious Diseases* **2019**, *68*, doi:10.1093/cid/ciz004.
10. Roy, S.; Mukherjee, P.; Kundu, S.; Majumder, D.; Raychaudhuri, V.; Choudhury, L. Microbial Infections in Burn Patients. *Acute and Critical Care* 2024, *39*, 214–225.
11. Sukumaran, V.; Senanayake, S. Bacterial Skin and Soft Tissue Infections. *Aust. Prescr.* **2016**, *39*, doi:10.18773/austprescr.2016.058.

12. Stevens, D.L.; Bisno, A.L.; Chambers, H.F.; Dellinger, E.P.; Goldstein, E.J.C.; Gorbach, S.L.; Hirschmann, J. V.; Kaplan, S.L.; Montoya, J.G.; Wade, J.C. Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Skin and Soft Tissue Infections: 2014 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases* 2014, *59*.
13. Amiri, F.; Safiri, S.; Aletaha, R.; Mousavi, S.E.; Sullman, M.J.M.; Houshyar, Y.; Kolahi, A.-A.; Arshi, S. The Burden of Viral Skin Diseases in the Middle East and North Africa Region, 1990–2021. *J. Infect. Public Health* **2025**, *18*, 102784, doi:10.1016/j.jiph.2025.102784.
14. Thandi, C.S.; Whittam, L. Diagnosis and Management of Common Viral Skin Infections. *Prescriber* **2021**, *32*, doi:10.1002/psb.1907.
15. Gupta, A.K.; Cooper, E.A. Update in Antifungal Therapy of Dermatophytosis. *Mycopathologia* 2008, *166*.
16. Robert, M.E.M.; Kalia, Y.N. New Developments in Topical Antifungal Therapy. *American Journal of Drug Delivery* 2006, *4*.
17. Feldmeier, H.; Heukelbach, J. Epidermal Parasitic Skin Diseases: A Neglected Category of Poverty-Associated Plagues. *Bull. World Health Organ.* 2009, *87*.
18. Koning, S.; Verhagen, A.P.; van Suijlekom-Smit, L.W.; Larcombe, J.H. Review: Topical Mupirocin or Fusidic Acid May Be More Effective than Oral Antibiotics for Limited Non-Bullous Impetigo. *Evid. Based. Med.* 2004, *9*.
19. Houšť, J.; Spížek, J.; Havlíček, V. Antifungal Drugs. *Metabolites* 2020, *10*.
20. Crowley, P.D.; Gallagher, H.C. Clotrimazole as a Pharmaceutical: Past, Present and Future. *J. Appl. Microbiol.* 2014, *117*.
21. Bolla, P.K.; Meraz, C.A.; Rodriguez, V.A.; Deaguero, I.; Singh, M.; Yellepeddi, V.K.; Renukuntla, J. Clotrimazole Loaded Ufosomes for Topical Delivery: Formulation Development and in-Vitro Studies. *Molecules* **2019**, *24*, doi:10.3390/molecules24173139.
22. Brindle, R.; Williams, O.M.; Barton, E.; Featherstone, P. Assessment of Antibiotic Treatment of Cellulitis and Erysipelas. *JAMA Dermatol.* **2019**, *155*, doi:10.1001/jamadermatol.2019.0884.
23. Klotz, C.; Courjon, J.; Michelangeli, C.; Demonchy, E.; Ruimy, R.; Roger, P.M. Adherence to Antibiotic Guidelines for Erysipelas or Cellulitis Is Associated with a Favorable Outcome. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **2019**, *38*, doi:10.1007/s10096-019-03490-6.
24. Stevens, D.L.; Bisno, A.L.; Chambers, H.F.; Dellinger, E.P.; Goldstein, E.J.C.; Gorbach, S.L.; Hirschmann, J. V.; Kaplan, S.L.; Montoya, J.G.; Wade, J.C. Executive Summary: Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Skin and Soft Tissue Infections: 2014 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases* **2014**, *59*, doi:10.1093/cid/ciu444.

25. De Almeida, C.V.; Antiga, E.; Lulli, M. Oral and Topical Probiotics and Postbiotics in Skincare and Dermatological Therapy: A Concise Review. *Microorganisms* 2023, *11*.
26. Bahar, A.A.; Ren, D. Antimicrobial Peptides. *Pharmaceuticals* 2013, *6*.
27. Metsemakers, W.J.; Onsea, J.; Moriarty, T.F.; Pruidze, N.; Nadareishvili, L.; Dadiani, M.; Kutateladze, M. Bacteriophage Therapy for Human Musculoskeletal and Skin/Soft Tissue Infections. *Clinical Microbiology and Infection* 2023, *29*.
28. Tomar, Y.; Pandit, N.; Priya, S.; Singhvi, G. Evolving Trends in Nanofibers for Topical Delivery of Therapeutics in Skin Disorders. *ACS Omega* 2023, *8*.
29. Madawi, E.A.; Al Jayoush, A.R.; Rawas-Qalaji, M.; Thu, H.E.; Khan, S.; Sohail, M.; Mahmood, A.; Hussain, Z. Polymeric Nanoparticles as Tunable Nanocarriers for Targeted Delivery of Drugs to Skin Tissues for Treatment of Topical Skin Diseases. *Pharmaceutics* 2023, *15*.
30. Bandyopadhyay, D. Topical Antibacterials in Dermatology. *Indian J. Dermatol.* 2021, *66*.
31. Jo, J.H.; Harkins, C.P.; Schwardt, N.H.; Portillo, J.A.; Zimmerman, M.D.; Carter, C.L.; Hossen, M.A.; Peer, C.J.; Polley, E.C.; Dartois, V.; et al. Alterations of Human Skin Microbiome and Expansion of Antimicrobial Resistance after Systemic Antibiotics. *Sci. Transl. Med.* **2021**, *13*, doi:10.1126/scitranslmed.abd8077.
32. Bessa, G.R.; Machado, D.C.; Weber, M.B.; D'Azevedo, P.A.; Quinto, V.P.; Lipnharski, C.; Bonamigo, R.R. Staphylococcus Aureus Resistance to Topical Antimicrobials in Atopic Dermatitis. *An. Bras. Dermatol.* **2016**, *91*, doi:10.1590/abd1806-4841.20164860.
33. Mohsen, S.; Dickinson, J.A.; Somayaji, R. Update on the Adverse Effects of Antimicrobial Therapies in Community Practice. *Canadian Family Physician* 2020, *66*.
34. Dallo, M.; Patel, K.; Hebert, A.A. Topical Antibiotic Treatment in Dermatology. *Antibiotics* 2023, *12*.
35. Lee, H.G.; Jang, J.; Choi, J.E.; Chung, D.C.; Han, J.W.; Woo, H.; Jeon, W.; Chun, B.C. Blood Stream Infections in Patients in the Burn Intensive Care Unit. *Infect. Chemother.* **2013**, *45*, doi:10.3947/ic.2013.45.2.194.
36. Chen, Y.Y.; Wu, P.F.; Chen, C.S.; Chen, I.H.; Huang, W.T.; Wang, F. Der Trends in Microbial Profile of Burn Patients Following an Event of Dust Explosion at a Tertiary Medical Center. *BMC Infect. Dis.* **2020**, *20*, doi:10.1186/s12879-020-4920-4.
37. Piazzesi, A.; Scanu, M.; Ciprandi, G.; Putignani, L. Modulations of the Skin Microbiome in Skin Disorders: A Narrative Review from a Wound Care Perspective. *Int. Wound J.* 2024, *21*.
38. de Oliveira, I.; Santos-Buelga, C.; Aquino, Y.; Barros, L.; Heleno, S.A. New Frontiers in the Exploration of Phenolic Compounds and Other Bioactives as Natural Preservatives. *Food Biosci.* 2025, *68*.

39. Grigore-Gurgu, L.; Dumitrașcu, L.; Aprodu, I. Aromatic Herbs as a Source of Bioactive Compounds: An Overview of Their Antioxidant Capacity, Antimicrobial Activity, and Major Applications. *Molecules* 2025, *30*.
40. Othman, L.; Sleiman, A.; Abdel-Massih, R.M. Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants. *Front. Microbiol.* 2019, *10*.
41. Nguyen, T.L.; Ora, A.; Häkkinen, S.T.; Ritala, A.; Räisänen, R.; Kallioinen-Mänttäri, M.; Melin, K. Innovative Extraction Technologies of Bioactive Compounds from Plant By-Products for Textile Colorants and Antimicrobial Agents. *Biomass Convers. Biorefin.* 2024, *14*.
42. Sun, W.; Shahrajabian, M.H. Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants—Natural Health Products for Human Health. *Molecules* 2023, *28*.
43. Zhang, Y.; Cai, P.; Cheng, G.; Zhang, Y. A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. *Nat. Prod. Commun.* 2022, *17*.
44. Álvarez-Martínez, F.J.; Barrajón-Catalán, E.; Herranz-López, M.; Micol, V. Antibacterial Plant Compounds, Extracts and Essential Oils: An Updated Review on Their Effects and Putative Mechanisms of Action. *Phytomedicine* 2021, *90*.
45. Khare, T.; Anand, U.; Dey, A.; Assaraf, Y.G.; Chen, Z.S.; Liu, Z.; Kumar, V. Exploring Phytochemicals for Combating Antibiotic Resistance in Microbial Pathogens. *Front. Pharmacol.* 2021, *12*.
46. Fakhimi, A.; Iranshahi, M.; Emami, S.A.; Amin-Ar-Ramimeh, E.; Zarrini, G.; Shahverdi, A.R. Sophoraflavanone G from Sophora Pachycarpa Enhanced the Antibacterial Activity of Gentamycin against Staphylococcus Aureus. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences* **2006**, *61*, doi:10.1515/znc-2006-9-1026.
47. Oyedemi, B.O.; Kotsia, E.M.; Stapleton, P.D.; Gibbons, S. Capsaicin and Gingerol Analogues Inhibit the Growth of Efflux-Multidrug Resistant Bacteria and R-Plasmids Conjugal Transfer. *J. Ethnopharmacol.* **2019**, *245*, doi:10.1016/j.jep.2019.111871.
48. U.S. Food and Drug Administration Available online: https://www.hfpappexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=FoodSubstances&id=THYMOL&sort=Sortterm_ID&order=ASC&startrow=1&type=basic&search=thymol (accessed on 9 August 2025).
49. European Medicines Agency, C. on H.M.P. (HMPC) Assessment Report on Thymus Vulgaris L., Vulgaris Zygis L., Herba Available online: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-thymus-vulgaris-l-vulgaris-zygis-l-herba_en.pdf (accessed on 9 August 2025).
50. U.S. Food and Drug Administration Available online: https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf14/K143155.pdf (accessed on 9 August 2025).

51. Ezike, T.C.; Okpala, U.S.; Onoja, U.L.; Nwike, C.P.; Ezeako, E.C.; Okpara, O.J.; Okoroafor, C.C.; Eze, S.C.; Kalu, O.L.; Odoh, E.C.; et al. Advances in Drug Delivery Systems, Challenges and Future Directions. *Heliyon* 2023, *9*.
52. Adepu, S.; Ramakrishna, S. Controlled Drug Delivery Systems: Current Status and Future Directions. *Molecules* 2021, *26*.
53. Christaki, S.; Spanidi, E.; Panagiotidou, E.; Athanasopoulou, S.; Kyriakoudi, A.; Mourtzinos, I.; Gardikis, K. Cyclodextrins for the Delivery of Bioactive Compounds from Natural Sources: Medicinal, Food and Cosmetics Applications. *Pharmaceuticals* 2023, *16*.
54. Estrada Cano, C.; Anaya Castro, M.A.; Castellanos, L.M.; Antonio Garcia Triana, N.A.O.; Ochoa, L.H. Antifungal Activity of Microcapsulated Clove (Eugenia Caryophyllata) and Mexican Oregano (Lippia Berlandieri) Essential Oils against Fusarium Oxysporum. *J. Microb. Biochem. Technol.* **2017**, *09*, doi:10.4172/1948-5948.1000342.
55. Delogu, G.; Juliano, C.C.A.; Usai, M. Thymus Catharinae Camarda Essential Oil: β-Cyclodextrin Inclusion Complexes, Evaluation of Antimicrobial Activity. *Nat. Prod. Res.* **2016**, *30*, doi:10.1080/14786419.2015.1107558.
56. Hill, L.E.; Gomes, C.; Taylor, T.M. Characterization of Beta-Cyclodextrin Inclusion Complexes Containing Essential Oils (Trans-Cinnamaldehyde, Eugenol, Cinnamon Bark, and Clove Bud Extracts) for Antimicrobial Delivery Applications. *LWT* **2013**, *51*, doi:10.1016/j.lwt.2012.11.011.
57. Haloci, E.; Toska, V.; Shkreli, R.; Goci, E.; Vertuani, S.; Manfredini, S. Encapsulation of Satureja Montana Essential Oil in β-Cyclodextrin. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2015**, *80*, doi:10.1007/s10847-014-0437-z.
58. Miyoshi, J.H.; da Silva Crozatti, T.T.; de Brito, J.R.; Santos, H. dos; Castro, J.C.; Sato, F.; da Silva, L.H.; Mulati, A.C.N.; Costa, G.F. de M.; Matioli, e. G. Complexation of Essential Oils with Beta-Cyclodextrin: Characterization of Complexes, Determination of Antimicrobial, Antioxidant Activities and Application. *LWT* **2024**, *214*, doi:10.1016/j.lwt.2024.117143.
59. Marreto, R.N.; Almeida, E.E.C.V.; Alves, P.B.; Niculau, E.S.; Nunes, R.S.; Matos, C.R.S.; Araújo, A.A.S. Thermal Analysis and Gas Chromatography Coupled Mass Spectrometry Analyses of Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin Inclusion Complex Containing Lippia Gracilis Essential Oil. *Thermochim. Acta* **2008**, *475*, doi:10.1016/j.tca.2008.06.015.
60. Martins, A.D.P.; Craveiro, A.A.; MacHado, M.I.L.; Raffin, F.N.; Moura, T.F.; Novák, C.; Éhen, Z. Preparation and Characterization of Mentha x Villosa Hudson Oil-β-Cyclodextrin Complex. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2007**, *88*, doi:10.1007/s10973-005-7407-z.
61. Recio-Cázares, S.L.; Comett-Figueroa, P.I.; Navarro-Amador, R.; López-Malo, A.; Palou, E. β-Cyclodextrin Inclusion Complex with Essential Oil from Lippia (Aloysia

Citriodora): Preparation, Physicochemical Characterization, and Its Application on Beef. *ACS Food Science and Technology* **2024**, *4*, 3076–3087, doi:10.1021/acsfoodscitech.4c00654.
62. Thang, N.H.; Chien, T.B.; Cuong, D.X. Polymer-Based Hydrogels Applied in Drug Delivery: An Overview. *Gels* 2023, *9*.
63. Li, J.; Yu, F.; Chen, Y.; Oupický, D. Polymeric Drugs: Advances in the Development of Pharmacologically Active Polymers. *Journal of Controlled Release* **2015**, *219*, doi:10.1016/j.jconrel.2015.09.043.
64. Ye, S.; Xie, C.; Agar, O.T.; Barrow, C.J.; Dunshea, F.R.; Suleria, H.A.R. Alginates from Brown Seaweeds as a Promising Natural Source: A Review of Its Properties and Health Benefits. *Food Reviews International* 2024, *40*.
65. Guo, X.; Wang, Y.; Qin, Y.; Shen, P.; Peng, Q. Structures, Properties and Application of Alginic Acid: A Review. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020, *162*.
66. Grant, G.T.; Morris, E.R.; Rees, D.A.; Smith, P.J.C.; Thom, D. Biological Interactions between Polysaccharides and Divalent Cations: The Egg-Box Model. *FEBS Lett.* **1973**, *32*, doi:10.1016/0014-5793(73)80770-7.
67. Lou, J.; Xiang, Z.; Zhu, X.; Song, J.; Huang, N.; Li, J.; Jin, G.; Cui, S.; Xu, P.; Le, X.; et al. Evaluating the Therapeutic Efficacy and Safety of Alginate-Based Dressings in Burn Wound and Donor Site Wound Management Associated with Burn Surgery: A Systematic Review and Meta-Analysis of Contemporary Randomized Controlled Trials. *BMC Surg.* 2025, *25*.
68. Varaprasad, K.; Jayaramudu, T.; Kanikireddy, V.; Toro, C.; Sadiku, E.R. Alginate-Based Composite Materials for Wound Dressing Application:A Mini Review. *Carbohydr. Polym.* 2020, *236*.
69. Aranaz, I.; Alcántara, A.R.; Civera, M.C.; Arias, C.; Elorza, B.; Caballero, A.H.; Acosta, N. Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications. *Polymers (Basel).* 2021, *13*.
70. Wang, W.; Meng, Q.; Li, Q.; Liu, J.; Zhou, M.; Jin, Z.; Zhao, K. Chitosan Derivatives and Their Application in Biomedicine. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, *21*.
71. Pellis, A.; Guebitz, G.M.; Nyanhongo, G.S. Chitosan: Sources, Processing and Modification Techniques. *Gels* 2022, *8*.
72. Nilsen-Nygaard, J.; Strand, S.P.; Vårum, K.M.; Draget, K.I.; Nordgård, C.T. Chitosan: Gels and Interfacial Properties. *Polymers (Basel).* 2015, *7*.
73. Mohammad Hamdi, N.A.; Azmi, N.A.; Mohd Sabari, N.H.; Harun, A.F.; Haris, M.S. An Insight into the Use and Advantages of Carbopol in Topical Mucoadhesive Drug Delivery System: A Systematic Review. *Journal of Pharmacy* **2023**, *3*, doi:10.31436/jop.v3i1.156.
74. Ergashev S Important Properties of Carbomer. *International Journal on Human Computing Studies* **2021**, *3*.

75. Maus, A. Characterization and Analysis of Polymers. *Macromol. Chem. Phys.* **2008**, *209*, doi:10.1002/macp.200800286.
76. Murray, C.J.; Ikuta, K.S.; Sharara, F.; Swetschinski, L.; Robles Aguilar, G.; Gray, A.; Han, C.; Bisignano, C.; Rao, P.; Wool, E.; et al. Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: A Systematic Analysis. *The Lancet* **2022**, *399*, doi:10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
77. Mestrovic, T.; Robles Aguilar, G.; Swetschinski, L.R.; Ikuta, K.S.; Gray, A.P.; Davis Weaver, N.; Han, C.; Wool, E.E.; Gershberg Hayoon, A.; Hay, S.I.; et al. The Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in the WHO European Region in 2019: A Cross-Country Systematic Analysis. *Lancet Public Health* **2022**, *7*, doi:10.1016/S2468-2667(22)00225-0.
78. Gatiatulin, A.K.; Grishin, I.A.; Buzyurov, A. V.; Mukhametzyanov, T.A.; Ziganshin, M.A.; Gorbatchuk, V. V. Determination of Melting Parameters of Cyclodextrins Using Fast Scanning Calorimetry. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, doi:10.3390/ijms232113120.
79. Long, D.A. Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies. Tables and Charts George Socrates John Wiley and Sons, Ltd, Chichester, Third Edition, 2001. Price £135 . *Journal of Raman Spectroscopy* **2004**, *35*, doi:10.1002/jrs.1238.
80. Parthipan, P.; AlSalhi, M.S.; Devanesan, S.; Rajasekar, A. Evaluation of Syzygium Aromaticum Aqueous Extract as an Eco-Friendly Inhibitor for Microbiologically Influenced Corrosion of Carbon Steel in Oil Reservoir Environment. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **2021**, *44*, doi:10.1007/s00449-021-02524-8.
81. Wilson, C.; Lukowicz, R.; Merchant, S.; Valquier-Flynn, H.; Caballero, J.; Sandoval, J.; Okuom, M.; Huber, C.; Brooks, T.D.; Wilson, E.; et al. Quantitative and Qualitative Assessment Methods for Biofilm Growth: A Mini-Review. *Res. Rev. J. Eng. Technol.* **2017**, *6*.
82. López, P.; Sánchez, C.; Batlle, R.; Nerín, C. Solid- and Vapor-Phase Antimicrobial Activities of Six Essential Oils: Susceptibility of Selected Foodborne Bacterial and Fungal Strains. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, doi:10.1021/jf050709v.
83. Abers, M.; Schroeder, S.; Goelz, L.; Sulser, A.; St. Rose, T.; Puchalski, K.; Langland, J. Antimicrobial Activity of the Volatile Substances from Essential Oils. *BMC Complement. Med. Ther.* **2021**, *21*, doi:10.1186/s12906-021-03285-3.
84. Boczar, D.; Michalska, K. Cyclodextrin Inclusion Complexes with Antibiotics and Antibacterial Agents as Drug-Delivery Systems—A Pharmaceutical Perspective. *Pharmaceutics* 2022, *14*.
85. Kiti, K.; Suwantong, O. Bilayer Wound Dressing Based on Sodium Alginate Incorporated with Curcumin-β-Cyclodextrin Inclusion Complex/Chitosan Hydrogel. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *164*, doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.09.013.

86. Kim, C.; Jeong, D.; Kim, S.; Kim, Y.; Jung, S. Cyclodextrin Functionalized Agarose Gel with Low Gelling Temperature for Controlled Drug Delivery Systems. *Carbohydr. Polym.* **2019**, *222*, doi:10.1016/j.carbpol.2019.115011.
87. Pante, G.C.; Castro, J.C.; Lini, R.S.; Romoli, J.C.Z.; Pires, T.Y.; Garcia, F.P.; Nakamura, C.V.; Mulati, A.C.N.; Matioli, G.; Machinski Junior, M. Inclusion Complexes of Litsea Cubeba (Lour.) Pers Essential Oil into β-Cyclodextrin: Preparation, Physicochemical Characterization, Cytotoxicity and Antifungal Activity. *Molecules* **2024**, *29*, doi:10.3390/molecules29071626.
88. Jiménez, M.M.; Fresno, M.J.; Ramírez, A. Rheological Study of Binary Gels with Carbopol® Ultrez™ 10 and Hyaluronic Acid. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo).* **2007**, *55*, doi:10.1248/cpb.55.1157.
89. Varges, P.R.; Costa, C.M.; Fonseca, B.S.; Naccache, M.F.; De Souza Mendes, P.R. Rheological Characterization of Carbopol ® Dispersions in Water and in Water/Glycerol Solutions. *Fluids* **2019**, *4*, doi:10.3390/fluids4010003.