

# ABSTRACT

I sistemi a rilascio controllato di farmaci hanno ricevuto grande attenzione negli ultimi anni per la loro capacità di garantire una copertura farmacologica prolungata nel tempo. Le microsfere biodegradabili costituiscono le forme farmaceutiche a rilascio controllato più promettenti; esse sono in grado di proteggere i principi attivi dalla rapida degradazione e liberarli nell'organismo in quantità e velocità controllata. In particolare, le microsfere biopolimeriche sono molto usate come carrier di farmaci per le formulazioni a rilascio controllato iniettabili.

Tradizionalmente, la produzione di microsfere biopolimeriche per il rilascio controllato di principi attivi si può realizzare mediante la tecnica di evaporazione/estrazione del solvente dalle emulsioni (nota come "solvent evaporation/extraction", SE), ma tale tecnica presenta numerosi limiti (richiesta di temperature elevate, tempi di processo lunghi, distribuzioni granulometriche larghe, elevati livelli di residuo solvente, bassa efficienza di incapsulamento del farmaco). Allo scopo di superare i limiti del processo tradizionale, negli ultimi anni è stato proposto il processo di estrazione supercritica da emulsioni (noto come "Supercritical Emulsion Extraction", SEE) per la produzione di microsfere composite farmaco/polimero a granulometria controllata, a partire da emulsioni singole del tipo *olio-in-acqua (o-w)* oppure doppie del tipo *acqua-in-olio-in-acqua (w-o-w)*. Questo processo utilizza anidride carbonica in condizioni supercritiche (SC-CO<sub>2</sub>) per l'estrazione del solvente organico dalle emulsioni, conducendo alla produzione di microsfere contenenti il minimo residuo solvente. Il processo SEE porta ad un migliore controllo della granulometria delle particelle, una maggiore purezza del prodotto e tempi di processo più brevi; ma tale configurazione impiantistica è caratterizzata dalle limitazioni tipiche di un'operazione discontinua, quali basse rese di processo e problemi correlati alla riproducibilità dei prodotti.

In questo lavoro di tesi viene proposta una nuova configurazione impiantistica del processo SEE in modalità continua (*Continuous Supercritical Emulsion Extraction, SEE-C*), mediante un'estrazione liquido-fluido supercritico in una torre a riempimenti operante in controcorrente, per produrre microsfere di biopolimero a granulometria controllata in modo riproducibile. In particolare, scopo del presente lavoro di tesi è l'ottimizzazione e la caratterizzazione del processo SEE per investigare le sue capacità e prestazioni nella produzione di microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) (PLGA) aventi dimensione e distribuzione ingegnerizzate e caricate con diversi principi attivi (APs).

Prima di esaminare la possibilità di produrre microsfere farmaco/polimero, il processo è stato ottimizzato. Infatti, è stata studiata la termodinamica del sistema selezionato (etile acetato + CO<sub>2</sub>), unitamente all'analisi dei parametri operativi del processo. Inoltre, è stata effettuata una caratterizzazione fluidodinamica della torre impaccata, allo scopo di identificare la migliore condizione di funzionamento al di sotto del punto di allagamento.

In seguito, a partire da emulsioni singole e doppie, sono state prodotte con successo innanzitutto microparticelle di PLGA vuote (prive di farmaco). Poi, farmaci anti-infiammatori (Piroxicam e Diclofenac Sodium), corticosteroidi (Idrocortisone Acetato) e proteine (Insulina) sono stati scelti come composti modello da incapsulare nelle microsfere di PLGA.

Emulsioni stabili con gocce non-coalescenti sono state ottenute. Le corrispondenti microsfere presentavano una morfologia sferica e ben definita, con strette distribuzioni di dimensioni a causa del breve tempo di processo che impedisce fenomeni di aggregazione e coalescenza delle gocce, che tipicamente si verificano durante il processo convenzionale di evaporazione del solvente.

È stata studiata l'influenza di alcuni parametri di formulazione dell'emulsione (in particolare, la concentrazione di polimero e la velocità di agitazione dell'emulsione) sulla granulometria delle microparticelle prodotte, mostrando che la formazione delle goccioline determina la dimensione e la distribuzione granulometrica delle microsfere; in particolare, è stato osservato un significativo aumento delle dimensioni delle particelle all'aumentare della concentrazione di polimero o al diminuire della velocità di

agitazione dell'emulsione. Inoltre, è stato anche valutato l'effetto di tipo e formulazione dell'emulsione sulle caratteristiche delle microsfele, dimostrando che la scelta del metodo di incapsulamento e la composizione dell'emulsione hanno una notevole influenza sull'efficienza di incapsulamento del farmaco.

Le microsfele prodotte sono state caratterizzate mediante le tecniche analitiche XRD, DSC, HPLC e UV-vis. Le analisi al DSC e ai raggi X hanno confermato una dispersione allo stato molecolare del principio attivo nella struttura polimerica delle microsfele ed il suo incapsulamento in uno stato completamente amorfo. L'analisi all'HPLC ha confermato una buona efficienza di incapsulamento del principio attivo. Gli studi di rilascio del principio attivo inglobato nelle microsfele prodotte hanno dimostrato profili di concentrazione del farmaco omogenei, evidenziando ancora una volta l'efficace distribuzione del farmaco nella microstruttura. Le microsfele prodotte possono degradare e rilasciare lentamente il principio attivo incapsulato, con un profilo di rilascio specifico. È stato dimostrato che il rilascio del farmaco dipende dalla concentrazione di principio attivo, dalla granulometria delle microsfele prodotte e dal tipo di emulsione. Uno studio di degradazione delle microparticelle di PLGA è stato anche condotto, per controllare le differenze morfologiche nel tempo delle microsfele biodegradabili prodotte mediante SEE-C.

Inoltre, è stato effettuato un confronto tra le caratteristiche delle microsfele di PLGA ottenute mediante SEE-C e quelle prodotte mediante il corrispondente processo operante in modalità discontinua (SEE) e la tecnica convenzionale di "solvent evaporation". Dallo studio comparativo è stata osservata una distribuzione granulometrica delle microsfele prodotte mediante estrazione supercritica sempre inferiore a quella delle microsfele prodotte per SEE e solvent evaporation; le proprietà chimico-fisiche non hanno evidenziato differenze morfologiche e strutturali tra i processi. Rispetto alle tecnologie convenzionali per la preparazione di sistemi di rilascio dei farmaci, ad esempio le tecniche di evaporazione del solvente dalle emulsioni, il nuovo processo (SEE-C) è ecologicamente superiore e scalabile industrialmente. Inoltre, l'elevata riproducibilità rende la convalida del processo molto semplice.

Concludendo, il processo SEE-C può essere considerato una valida alternativa per incapsulare principi attivi nelle microsfele biodegradabili allo scopo di ottenere formulazioni a rilascio controllato. Maggiore uniformità del prodotto, più elevate produttività utilizzando più piccoli volumi e l'eliminazione dei problemi di riproducibilità sono significativi vantaggi osservati.