

UNIVERSITÁ DEGLI STUDI DI SALERNO



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA INDUSTRIALE

*Corso di dottorato in Ingegneria Industriale
Curriculum in Ingegneria Chimica - XXXI Ciclo*

PRODUCTION OF PHARMACEUTICAL AND NUTRACEUTICAL FORMULATIONS FOR BIOAVAILABILITY IMPROVEMENT USING SUPERCRITICAL ASSISTED ATOMIZATION

Abstract

Relatore

Prof. Ernesto Reverchon

Dottoranda

Alessia Di Capua

Comitato scientifico

Ing. Renata Adami

Dr. Fausto Vellani

Coordinatore del corso di dottorato

Prof. Ernesto Reverchon

L'interesse industriale sta focalizzando l'attenzione sullo sviluppo e sulla produzione di nuove formulazioni farmaceutiche e nutraceutiche per il miglioramento della biodisponibilità di composti attivi poco solubili in acqua. Diversi fattori influenzano la biodisponibilità di un principio attivo in una formulazione solida, ad esempio la distribuzione granulometrica, lo stato solido e la morfologia delle particelle che la costituiscono. Al fine di migliorare la biodisponibilità, due diversi approcci sono stati investigati in questo lavoro di tesi: la micronizzazione/riduzione delle dimensioni dei composti puri e la produzione di formulazioni amorfe costituite dalla dispersione della molecola idrofoba all'interno di una matrice idrofila (*carrier*). Le tecniche basate sull'utilizzo di fluidi supercritici (FSC) rappresentano una valida alternativa alle tecniche convenzionali, grazie alle proprietà specifiche dei FSC, ovvero densità simili a quelle di un liquido, proprietà di trasporto molto veloci simili a quelle di un gas, tensioni superficiali prossime allo zero, rimozione completa di solventi. Tra le tecniche di micronizzazione assistite da fluidi supercritici, la precipitazione mediante processo SAA (*Supercritical Assisted Atomization*) è stata utilizzata finora con successo per produrre microparticelle e nanoparticelle di composti puri, come farmaci, polimeri, precursori di catalizzatori, e di sistemi compositi formati da due o più sostanze (*coprecipitati*). L'applicabilità del processo SAA nel miglioramento della biodisponibilità di principi attivi è stata finora poco studiata in letteratura. A tal fine in questo lavoro di tesi, l'abilità della tecnica SAA nel controllo del comportamento cristallino di diverse categorie di farmaci e nella riduzione delle loro dimensioni è stata ampiamente investigata, anche nel caso di composti attivi non trattabili mediante le tecniche tradizionali. Questa dissertazione rappresenta il più recente avanzamento nell'applicazione di questa tecnologia supercritica nella produzione di nuove formulazioni farmaceutiche e nutraceutiche stabili nel tempo.

Lo sviluppo e l'applicazione di queste nuove tecnologie per la produzione di formulazioni solide sta suscitando notevole interesse nel settore industriale. Questo lavoro di tesi di dottorato, infatti, è stato supportato e finanziato da Cerbios Pharma, un'azienda farmaceutica svizzera situata a Lugano, specializzata nello sviluppo e nella produzione di principi attivi chimici e biologici. Nell'ambito del progetto di ricerca svolto grazie alla collaborazione tra Cerbios Pharma e il Dipartimento di Ingegneria Industriale (DIIN) dell'Università degli Studi di Salerno, una parte di questa tesi ha riguardato lo sviluppo di formulazioni farmaceutiche basate su principi attivi proposti direttamente dall'azienda per i suoi partner mondiali, al fine di scalare questo processo per fini di industrializzazione. In questa parte della dissertazione, i principi attivi proposti sono stati presentati usando acronimi e non sono state riportate informazioni dettagliate, secondo gli accordi di riservatezza stipulati tra il DIIN e l'azienda. Diverse categorie di farmaci sono state trattate per conto di Cerbios Pharma: BRI (un farmaco agonista alfa adrenergico), FUL (un farmaco antiestrogeno), DAS (un farmaco antitumorale), NAP (un farmaco antinfiammatorio non-steroido) e GPB (un agente anticolinergico). Tutti questi farmaci sono stati precedentemente trattati con tecniche convenzionali senza successo. Per ciascun principio attivo, una serie di sperimentazioni SAA è stata eseguita su scala di laboratorio per individuare ed ottimizzare le condizioni del processo, al fine di raggiungere gli obiettivi richiesti dall'azienda. Nel dettaglio, BRI, FUL e NAP sono stati micronizzati da soli mediante tecnica SAA, mentre DAS e GPB sono stati coprecipitati con diverse matrici polimeriche, producendo delle dispersioni del farmaco all'interno del *carrier* scelto (Capitolo III). In particolare, lo studio eseguito sul prodotto NAP ha permesso di validare l'impianto industriale SAA acquistato da Cerbios Pharma e di ottenere la *SwissMedic authorization for Good Manufacturing Practice (GMP)* nel Gennaio 2017.

Per approfondire l'applicabilità del processo SAA nello sviluppo di nuove e stabili formulazioni farmaceutiche, la *curcumina*, la *luteolina*, la *palmitoiletanolamide* e la *nifedipina* sono state selezionate come principi attivi, per le loro proprietà terapeutiche e curative. Tutte queste sostanze presentano basse solubilità in acqua ed alte velocità di cristallizzazione che interferiscono con i processi di micronizzazione; per questo motivo, questi composti risultano difficili da gestire in una prospettiva industriale. Il *polivinilpirrolidone*, l'*idrossipropil-β-ciclodestrina* ed il *destrano* sono stati studiati come *carrier* poiché non sono tossici, sono idrosolubili, biodegradabili, biocompatibili, approvati dalla FDA (*Food & Drug Administration*) e sono noti inibitori della crescita cristallina di farmaci. Lo studio è stato focalizzato sul ruolo del *carrier* nell'influenzare le distribuzioni granulometriche, la morfologia e lo stato solido delle particelle ma, in particolar modo, nell'inibire la ricristallizzazione dei principi attivi testati e nell'aumentarne la biodisponibilità. In particolare, i *carrier* selezionati sono risultati molto efficaci nel controllare la tendenza di questi principi attivi a cristallizzare ed agglomerare, producendo particelle SAA stabili nel tempo. Sono state prodotte, infatti, microsfele ben separate ed amorfe mediante il processo SAA con diametri inferiori a 1.8 μm e con alte efficienze di caricamento del principio attivo, fino al 100% nella maggior parte degli esperimenti eseguiti. I test di dissoluzione hanno confermato il miglioramento della biodisponibilità fino a ben 12 volte, grazie alla coprecipitazione dei composti attivi con i *carrier* selezionati: le microsfele prodotte hanno mostrato, infatti, un significativo aumento della velocità di dissoluzione rispetto alla velocità di dissoluzione delle relative miscele fisiche. Il rapporto in massa principio attivo/*carrier* e le interazioni chimiche create nei coprecipitati si sono rivelati due parametri di controllo nei profili di rilascio dei farmaci (Capitolo IV).

Un'altra importante sfida affrontata in questa tesi di dottorato per la prima volta è stata la produzione di microsfele composite caricate con composti bioattivi. A tal proposito, sono stati scelti il *beta-carotene* e degli estratti ottenuti da *propoli* e *petali di zafferano* (normalmente considerati rifiuti industriali) per le loro proprietà nutraceutiche. L'esito principale di questa indagine è stato non solo il miglioramento della biodisponibilità di tali sostanze, ma anche la protezione dell'attività antiossidante che le contraddistingue. Sono state ottenute particelle definite e sferiche, usando il *polivinilpirrolidone* e l'*idrossipropil-β-ciclodestrina* come *carrier* nelle prove di coprecipitazione SAA eseguite. Le analisi spettrofotometriche hanno mostrato elevate efficienze di caricamento delle sostanze bioattive (fino al 94-100%) nei coprecipitati SAA prodotti; inoltre, il saggio DPPH sui campioni prodotti ha confermato la preservazione dell'attività antiossidante contro luce, calore ed ossigeno. In particolare, lo studio sugli estratti ottenuti dai petali di zafferano ha dimostrato che i coprecipitati SAA, prodotti usando il polivinilpirrolidone come *carrier*, hanno preservato il potere antiossidante nel tempo. Dopo tre mesi, i valori dell'attività antiossidante, infatti, sono praticamente confermati nel caso dei coprecipitati SAA mentre essi sono ridotti fino al 35% nel caso degli estratti non trattati ma conservati in ambiente buio ed asciutto. Ne consegue che le particelle SAA ricche di sostanze antiossidanti prodotte possono essere utilizzate come fonti naturali di antiossidanti e per integratori alimentari; questi risultati dimostrano che è possibile ampliare il campo di applicazione del processo SAA alla produzione di formulazioni nutraceutiche (Capitolo V e Capitolo VI).

In conclusione, la tecnica SAA è stata applicata con successo sia in campo farmaceutico che nutraceutico, dimostrando di essere un processo interessante e fruibile da un punto di vista industriale.