
Alma Mater Studiorum – Università degli Studi di Bologna

SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA
CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA
CAMPUS DI CESENA

MICRO E NANO SISTEMI PER IL RILASCIO CONTROLLATO DI FARMACI

Elaborato in
Fondamenti di Chimica

Relatore

Prof.ssa Nadia Lotti

Correlatore

Ing. Giulia Guidotti

Candidato

Maria Chiara Paese

Anno Accademico 2020/2021

INDICE

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUZIONE AI SISTEMI A RILASCIO CONTROLLATO | 4 |
| 1.1 Breve storia dei sistemi a rilascio controllato | 4 |
| 1.2 Il rilascio controllato come alternativa ai sistemi tradizionali | 6 |
| 1.3 Meccanismi di rilascio controllato | 9 |
| 1.4 Meccanismi di rilascio di farmaci | 10 |
| | |
| 2 MATERIALI POLIMERICI UTILIZZATI PER LA REALIZZAZIONE DEI DISPOSITIVI A RILASCIO CONTROLLATO | 13 |
| 2.1 Polimeri | 13 |
| 2.2 Acido poliglicolico (PGA)..... | 16 |
| 2.3 Acido polilattico (PLA)..... | 16 |
| 2.4 Acido Polilattico-co-glicolico (PLGA)..... | 17 |
| 2.5 Poli (ϵ -caprolattone) (PCL)..... | 17 |
| 2.6 Poli(butilene succinato) (PBS)..... | 18 |
| | |
| 3 PRINCIPALI TIPOLOGIE DI DISPOSITIVI PER IL RILASCIO CONTROLLATO | 19 |
| 3.1 Micro e nanoparticelle | 20 |
| 3.2 <i>Microneedles</i> polimerici | 23 |
| 3.3 <i>Nanocarrier</i> polimerici sensibili agli stimoli | 25 |
| 3.4 Idrogel | 29 |
| 3.5 <i>Patch</i> transdermiche | 31 |
| 3.6 Scaffold | 33 |
| 3.7 Scaffold iniettabili | 34 |

4 PRINCIPALI TIPOLOGIE DI SOMMINISTRAZIONI A RILASCIO

| | |
|--|----|
| CONTROLLATO | 39 |
| 4.1 Trattamento per via oculare | 40 |
| 4.2 Trattamento per via orale | 41 |
| 4.3 Rilascio transdermico | 43 |
| 4.4 Terapia genica | 44 |
| 4.5 Nanovaccinologia | 45 |

5 PRINCIPALI MALATTIE TRATTATE MEDIANTE DISPOSITIVI A RILASCIO

| | |
|--|----|
| CONTROLLATO | 46 |
| 5.1 Malattie metaboliche: Obesità | 46 |
| 5.2 Soppressione dell'appetito: Polimeri coniugati | 47 |
| 5.3 Diminuzione dell'assorbimento dei grassi: Idrogel | 48 |
| 5.4 Conversione grasso bianco in grasso bruno: Cerotti con <i>microneedle</i> | 48 |
| 5.5 Aumento del dispendio energetico: Micro- e nanoparticelle | 49 |
| 5.6 Diabete | 50 |
| 5.7 Malattie vaginali | 51 |
| 5.8 Tubercolosi | 51 |
| 5.9 Cancro | 52 |
| 5.10 Tumore del colon | 54 |
| 5.12 Artrite reumatoide | 55 |

6 CASI DI STUDIO.....

| | |
|--|----|
| 6.1 Poli(butilene/trietilene succinato) | 56 |
| 6.2 Copolimeri triblocco a base di PLLA e poli(butilene/trietilene succinato) | 59 |
| 6.3 Materiale ibrido a base di PBS e cheratina | 62 |

| | |
|----------------------------|-----------|
| 7 CONCLUSIONI | 66 |
| BIBLIOGRAFIA | 67 |

1 INTRODUZIONE AI SISTEMI A RILASCIO CONTROLLATO

1.1 Breve storia dei sistemi a rilascio controllato

Il termine nanoscienza, ovvero lo studio dei fenomeni e delle tecniche di manipolazione di particelle su scala atomica e molecolare, rappresenta un concetto relativamente nuovo nell'ambito della biomedicina. Esso, infatti, venne introdotto per la prima volta nel 1990 dopo l'invenzione di strumenti ad alta tecnologia.

Già a partire dal 1900, scienziati come Albert Einstein e Max Planck, in seguito a calcoli teorici, si resero conto della possibile esistenza di particelle molto piccole che obbedivano a proprie leggi fisiche. Iniziarono, quindi, ad incoraggiare altri scienziati a sviluppare strumenti che avrebbero potuto aiutarli a lavorare con particelle di dimensione nanometrica.

Poco dopo, nel 1902, il chimico Henry Siedentopf e il fisico Richard Zsigmondy inventarono l'ultramicroscopio: entrambi erano strettamente interessati alla teoria della chimica dei colloidi e al dibattito sull'esistenza di atomi e molecole.

Più tardi, nell'anno 1931, il fisico Ernst Ruska e l'elettrotecnico Max Knoll inventarono il microscopio elettronico a trasmissione (TEM), strumento fondamentale per lo studio dei materiali, in quanto consente un'analisi microstrutturale ad altissima risoluzione spaziale.

Da questo momento in poi tanti altri strumenti come, per esempio, il microscopio ad effetto tunnel (STM) o il microscopio a forza atomica (AFM), aiutarono gli scienziati ad applicare le loro conoscenze in ambito scientifico e tecnologico alla materia su scala nanometrica tanto che, nel 1974, lo scienziato giapponese Norio Taniguchi coniò il termine "nanotecnologia".

Per quanto riguarda i sistemi di somministrazione di farmaci bisogna fare un passo indietro e tornare nel 1960, quando fu scoperto il "liposoma", ovvero il primo sistema nanometrico, basato su lipidi, potenzialmente impiegabile per il rilascio controllato di farmaci.

Una breve storia dei nano-medicinali è mostrata in Fig.1: l'emergere di questo nuovo concetto spostò l'attenzione di tutti i ricercatori verso lo studio di materiali idonei alla preparazione di nanoparticelle, da utilizzare in ambito medico-sanitario.

La progettazione e lo sviluppo di sistemi di somministrazione di farmaci richiedono conoscenze in diversi ambiti. Risulta perciò chiaro come i risultati più significativi in materia siano stati ottenuti da team-multidisciplinari in grado di sfruttare e valorizzare al meglio gli ultimi progressi in materia di scienze biologiche, chimiche, fisiche e ingegneristiche.

La ricerca interessata al design e studio di sistemi per il rilascio controllato di farmaci si prefigge il raggiungimento di tre obiettivi fondamentali:

- 1) Raggiungere una maggiore comprensione del destino biologico e del targeting di farmaci, macromolecole e sistemi di rilascio macromolecolari, a livello molecolare, di membrana e cellulare.
- 2) Acquisire una maggiore conoscenza delle proprietà fisico-chimiche di prodotti biofarmaceutici, macromolecole e sistemi di rilascio macromolecolari, e comprendere come queste vengano modificate all'interno di un ambiente biologico che influisce sulle loro attività.
- 3) Promuovere lo sviluppo di nuovi e migliorativi materiali e sistemi di rilascio che possano superare le barriere biologiche.

Ad oggi, la somministrazione mirata di un farmaco si riferisce ad una terapia basata su dispositivi nanometrici per il rilascio selettivo di piccole molecole di principio attivo alle specifiche cellule che necessitano del trattamento.

Il concetto di nano-terapia si basa sulla combinazione di tre elementi: il legame cellulare specifico, l'assorbimento intracellulare dei nanomateriali che trasportano i farmaci ed il rilascio controllato di molecole attive. La progettazione di un sistema a rilascio controllato richiede inoltre la considerazione simultanea di diversi fattori, quali le proprietà chimico-fisiche del farmaco, la via più adatta di somministrazione, la natura del veicolo di consegna, il meccanismo di rilascio del farmaco, il potenziale di targeting e soprattutto la biocompatibilità.

Negli ultimi decenni sono state sviluppate diverse tecnologie di rilascio controllato dei farmaci, come ad esempio i sistemi basati su matrice, in cui il farmaco si diffonde attraverso una rete di pori interconnessi, o a *reservoir*, nei quali il principio attivo passa attraverso una membrana semipermeabile; in altri casi, invece, il rilascio di farmaco può essere attivato da stimoli esterni quali temperatura, pH, la presenza di solventi, la pressione osmotica, oppure una combinazione di due o più di questi fattori.



FIGURA 1 - BREVE STORIA DELLA NANO-MEDICINA

1.2 Il rilascio controllato come alternativa ai sistemi tradizionali

La medicina classica si basa sull'uso di agenti chimici e/o biochimici farmacologicamente attivi, i farmaci, per gestire e curare diversi tipi di malattie. Tuttavia, i farmaci non sono intrinsecamente efficaci: la loro azione, infatti, è direttamente correlata al modo in cui essi vengono somministrati e rilasciati. Altri fattori che possono influire sono la farmacocinetica, la capacità di assorbimento, la distribuzione all'interno dell'organismo, il metabolismo, la durata dell'effetto terapeutico e l'eventuale tossicità.

Le forme di dosaggio convenzionali, prevalentemente per via orale o tramite iniezione, presentano molti difetti, in primo luogo la somministrazione ripetuta del farmaco, una ridotta *compliance* del paziente, una scarsa specificità di targeting, ed un andamento temporale della

concentrazione plasmatica di tipo picco-valle, che comporta un'alta concentrazione iniziale di farmaco, a volte anche oltre la soglia di tossicità, che scende nel tempo al di sotto del livello efficace. A causa di tutti questi limiti, è sorta l'esigenza di disporre di trattamenti mirati che utilizzino la giusta forma di dosaggio e di somministrazione, in modo da programmare i tempi ed il sito di rilascio, al fine di ottimizzare la terapia e aumentare il più possibile la *compliance* del paziente.

Si definiscono *Drug Delivery Systems* (DDS) o Sistemi a Rilascio Controllato (o *Controlled Release Systems*, CRS) le tecnologie progettate per migliorare la specificità delle terapie, controllandone il rilascio e localizzandone l'effetto.

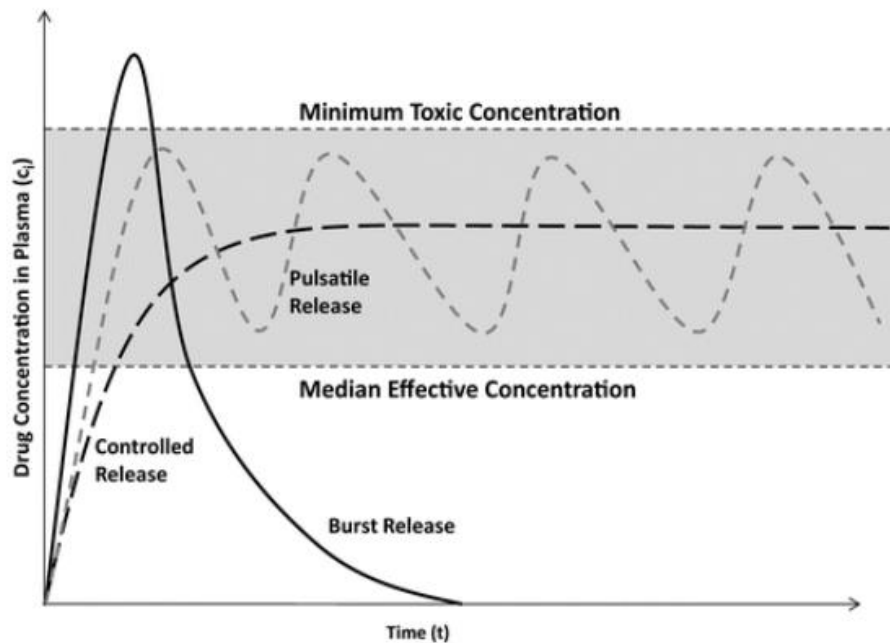
I sistemi a rilascio controllato vengono progettati per somministrare farmaci per tempi compatibili con quelli della terapia, anche nell'arco di giorni o anni, con un profilo predeterminato, mantenendone la concentrazione entro la finestra terapeutica, per evitare i "picchi-valli" tipici della somministrazione standard (il confronto è mostrato in Fig.2). Inoltre, un CRS è in grado di localizzare il principio attivo al sito di azione desiderato, al fine di limitare gli effetti collaterali *off-target* e aumentare l'efficacia, diminuendo così il numero di dosi richieste e la quantità totale di farmaco necessaria.

Tali sistemi vengono progettati utilizzando un'ampia gamma di materiali e strategie poiché, a seconda del tipo di terapia, devono contenere al loro interno una sufficiente quantità di farmaco e proteggere quest'ultimo dall'attacco dell'ambiente esterno fino al momento del rilascio nel sito target.

Riassumendo, un sistema di somministrazione di farmaci a rilascio controllato deve essere in grado di soddisfare i seguenti requisiti: mantenere la concentrazione terapeutica del composto nel sangue con la minima fluttuazione, garantire profili di rilascio prevedibili e riproducibili per tutta la durata del trattamento, aumentare la durata dell'attività di farmaci a breve emivita, eliminare gli effetti collaterali, diminuire i dosaggi frequenti e gli sprechi di farmaco attraverso un rilascio sito-specifico.

Come verrà trattato più nel dettaglio in seguito, a causa dell'immensa versatilità e della sicurezza, in termini di biocompatibilità, che caratterizza alcuni polimeri biodegradabili, le nanoparticelle polimeriche biodegradabili sono diventate la classe di maggior interesse tra quelle studiate. Esse infatti sono immunogeniche, non allergeniche, atossiche e non necessitano, al termine del loro impiego, di interventi di rimozione, in quanto sono in grado di degradarsi all'interno del corpo. Le nanoparticelle, inoltre, sono facilmente indirizzabili alle cellule grazie

alle loro dimensioni ridotte, che permettono loro di passare anche attraverso i capillari più piccoli, e sono ideali per somministrazioni per via orale, intraoculare, nasale, parenterale. In aggiunta, queste nanoparticelle possono trasportare un'ampia gamma di farmaci, proteine e materiale genetico (DNA o RNA), consentendo il trattamento di numerose patologie, anche gravi, come il cancro, disturbi cardiovascolari e malattie neurodegenerative.



**FIGURA 2 - CONFRONTO DELLA CONCENTRAZIONE DI FARMACO NEL SANGUE
TRA UN METODO DI SOMMINISTRAZIONE TRADIZIONALE ED UNO A RILASCIO
CONTROLLATO**

1.3 Meccanismi di rilascio controllato

Come già detto, i sistemi a rilascio controllato sono tecnologie progettate per migliorare la specificità delle terapie, modificabili *ad hoc* in base al tipo di malattia e di trattamento richiesto. Altre variabili da tenere in considerazione quando vengono progettati tali sistemi sono, ad esempio, il sito d'azione, la durata della terapia, la dose da somministrare e la tipologia di farmaco. In base a tutti questi parametri si avranno dunque diverse cinetiche di rilascio, come mostrato in Fig.3:

- Profilo I) Il primo profilo o “rilascio convenzionale” è caratterizzato da una curva a decadimento esponenziale con ritardo iniziale e rilascio di farmaco non costante nel tempo.
- Profilo II) Il secondo profilo o “rilascio di ordine zero” è descritto da un gradino con una rapida salita diagonale iniziale ed il successivo mantenimento di una concentrazione costante nel tempo.
- Profilo III) Il terzo profilo è prevalentemente usato per il rilascio di farmaci durante la notte, e presenta anch'esso un gradino, con salita verticale, ed il successivo mantenimento di una concentrazione costante nel tempo.
- Profilo IV) Il quarto profilo, come il terzo, è tipico delle somministrazioni notturne, ma a differenza del precedente ha un andamento a picchi consecutivi che si esauriscono velocemente nel tempo.
- Profilo V) Il quinto profilo è descritto da somministrazioni ripetute ad impulsi, periodiche nel tempo e di intensità modulabile.

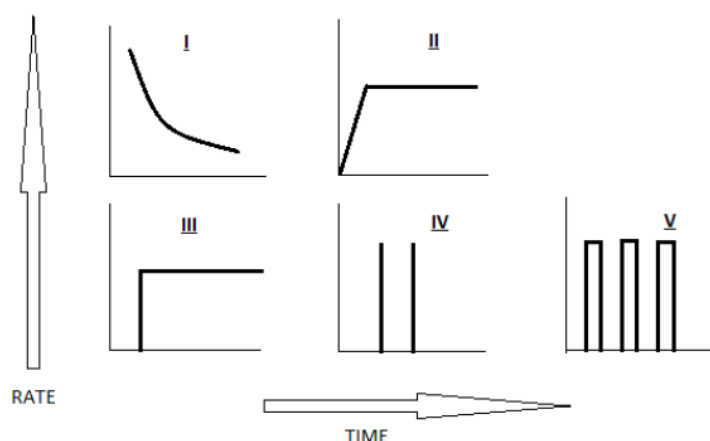


FIGURA 3 - ESEMPI DI ALCUNE CINETICHE DI RILASCIO

1.4 Meccanismi di rilascio di farmaci

Oltre alle varie cinetiche, si possono distinguere anche diversi meccanismi di controllo che innescano il rilascio del farmaco. I più comuni sono (Fig. 4):

- Sistemi a diffusione controllata

Secondo questo meccanismo, il farmaco diffonde attraverso il polimero, che viene processato in forma di matrice oppure di serbatoio. Nel primo caso il farmaco viene disciolto uniformemente nella matrice polimerica, ed il rilascio segue una cinetica del primo ordine, con una velocità iniziale elevata, che diminuisce nel tempo in maniera proporzionale alla diminuzione dell'area della matrice. Nel secondo caso, invece, il principio attivo viene racchiuso all'interno della membrana polimerica, e la sua diffusione avviene secondo una cinetica di ordine zero, con velocità di rilascio costante nel tempo.

- Sistemi controllati chimicamente

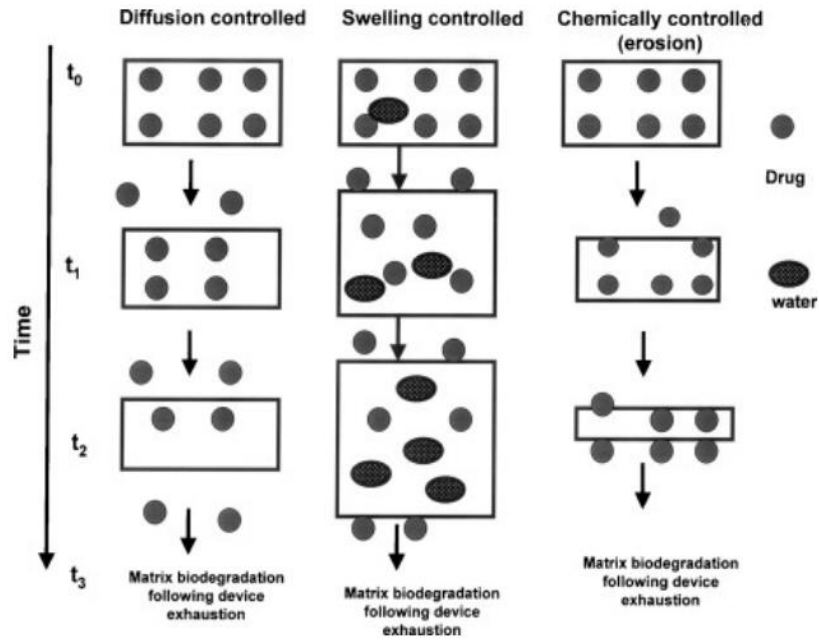
In tali sistemi il polimero va incontro a degradazione secondo un processo idrolitico o enzimatico. Il farmaco, perciò, viene rilasciato nell'ambiente fisiologico con velocità proporzionale a quella con cui i legami del polimero vengono rotti dall'azione dell'acqua o degli enzimi presenti nell'organismo.

- Sistemi attivati dal solvente

Questo meccanismo è prevalentemente utilizzato nel caso degli idrogel, in quanto, quando tali macromolecole entrano in contatto con un solvente compatibile termodinamicamente, le loro catene polimeriche si rilassano consentendo il flusso di acqua verso l'interno e la conseguente diffusione del farmaco verso l'esterno. Il tutto è possibile quando la temperatura di transizione vetrosa del polimero risulta inferiore alla temperatura dell'ambiente circostante.

- Sistemi a rilascio modulato

In questo caso la diffusione del farmaco viene innescata e controllata da stimoli esterni, quali ad esempio la temperatura, il pH, campi elettrici o magnetici, radiazioni elettromagnetiche o raggi UV.



| | | | |
|----------------------------|-------------------|------------------------|--------------------|
| Drug diameter < mesh size | | | |
| Drug diameter > mesh size | | | |
| Drug diameter >> mesh size | | | |
| | Initial condition | Intermediate condition | Matrix degradation |

FIGURA 4 - SCHEMA DEI PRINCIPALI MECCANISMI DI RILASCIO (IN ALTO) E MECCANISMI DI RILASCIO BASATI SULLE DIMENSIONI FARMACO-MATRICE (IN BASSO)

È comunque opportuno sottolineare che la cinetica di rilascio del farmaco contenuto in un particolare carrier è un meccanismo complesso che dipende da numerosi fattori, legati sia alla natura del farmaco e del polimero, dal tipo di carrier e dalla tecnologia utilizzata per prepararlo, ed infine dalle eventuali interazioni tra farmaco e polimero, oltre che da fenomeni di desorbimento, dissoluzione e diffusione dei farmaci causati dall'erosione, rigonfiamento o degradazione della matrice polimerica. In particolare, per quanto riguarda la morfologia del carrier, il volume libero e le porosità rendono la struttura polimerica permeabile alle molecole di acqua o ai fluidi corporei, consentendo il desorbimento e la diffusione del farmaco. Quando il volume libero diminuisce, infatti, il farmaco deve percorrere un percorso più tortuoso prima di venire rilasciato, con conseguente rallentamento della cinetica di rilascio. Pertanto, i farmaci di dimensioni più elevate tendono a venire rilasciati più lentamente e con un ritmo più uniforme rispetto ai farmaci dalle dimensioni minori, che viceversa vengono rilasciati più velocemente e ad un ritmo più pulsatile. In questi casi, inoltre, se il diametro del farmaco è simile alla dimensione della porosità della matrice, eventuali processi di rilassamento e degradazione delle catene polimeriche possono modificare la velocità di rilascio (Fig. 4). Occorre poi tenere presente che le molecole di polimero e di farmaco possono interagire tra loro a livello sia fisico che chimico, tramite forze di Van der Waals, legami a idrogeno, legami covalenti o interazioni elettrostatiche. Le fasi cristalline sviluppate dal polimero, inoltre, possono contribuire a rallentare la velocità di rilascio di farmaco, in quanto costituiscono zone altamente impaccate che limitano la libertà di movimento del principio attivo all'interno della matrice. Infine, mediante l'inserimento in catena di opportuni gruppi funzionali biodegradabili, ai quali viene direttamente legato il farmaco, è possibile controllare e modulare la cinetica di rilascio.

2. MATERIALI POLIMERICI UTILIZZATI PER LA REALIZZAZIONE DEI DISPOSITIVI A RILASCIO CONTROLLATO

2.1 Polimeri

Ad oggi, i polimeri costituiscono la classe di biomateriali principalmente utilizzata per realizzare dispositivi a rilascio controllato.

Il termine polimero deriva dalle parole greche, “Poli” - “Molti” e “Mers” - “Parti o unità”. I polimeri sono macromolecole ad elevato peso molecolare costituite dalla successione di unità strutturali a basso peso, dette monomeri. In base al numero di unità monomeriche che costituiscono la catena si parlerà di oligomeri, o polimeri ad alto peso. Il grado di polimerizzazione (DP) è un numero che esprime quanti monomeri sono stati inseriti all'interno della catena polimerica. Più il DP è grande, più le catene saranno lunghe e migliori saranno le proprietà finali del polimero. In generale, dal momento che il polimero è costituito da catene di diversa lunghezza e che durante il processo di sintesi il numero di catene caratterizzate dallo stesso peso molecolare varia continuamente, per definire in modo ottimale il “peso” di un polimero si ricorre alle definizioni di peso molecolare medio numerale o medio ponderale. Il primo esprime il rapporto tra il numero di moli di una certa sostanza e il numero totale di moli presenti nel campione, mentre il secondo è dato dalla sommatoria di tutte le frazioni in peso delle catene polimeriche, moltiplicate ciascuna per il loro relativo peso. Il rapporto tra queste due grandezze prende il nome di indice di polidispersità (D), e fornisce un'indicazione di quanto risulta ampia la distribuzione dei pesi molecolari. Se tale indice è pari a uno significa che le molecole hanno tutte la stessa lunghezza.

I polimeri possono essere sia naturali che sintetici (Fig.5). I polimeri naturali si trovano in abbondanza in natura, sono ottenuti da animali, piante e microbi. Tra i principali, figurano le proteine (albumina, gelatina, collagene) e i polisaccaridi (cellulosa, chitosano, acido ialuronico). Essi presentano caratteristiche più simili a quelle dei tessuti biologici rispetto ai polimeri sintetici, e risultano particolarmente biocompatibili. Di contro, hanno proprietà meccaniche spesso scarse e disomogenee, dipendenti dall'origine del polimero stesso, e, nel caso di polimeri da fonte animale, è necessario procedere con la decellularizzazione del materiale prima dell'impianto, per non incorrere in reazioni immunitarie nell'organismo ospite. Viceversa, i polimeri sintetici vengono preparati in laboratorio tramite l'unione di uno o più tipi di monomero, mediante opportuni processi di sintesi. In base al tipo e alla quantità di monomeri

e all'architettura molecolare è possibile ottenere un'ampia gamma di materiali dalle proprietà modulabili in funzione della specifica applicazione, caratteristica chiave in ambito biomedicale. I polimeri sintetici sono inoltre caratterizzati da facile processabilità e lavorabilità anche in forme e strutture complesse, e sulla loro superficie si possono apportare modifiche di natura chimico-fisica, al fine di aumentare la biocompatibilità e favorire l'adesione ed il riconoscimento cellulare. Tra i principali polimeri sintetici figurano l'acido polilattico, l'acido poliglicolico, l'acido polilattico-co-glicolico ed il poli(ϵ -caprolattone), che verranno di seguito descritti in dettaglio.

Inoltre, i polimeri possono essere classificati in base alla loro struttura:

- **Struttura lineare:** i polimeri con struttura lineare sono costituiti da un groviglio di lunghe macromolecole filiformi, la cui linearità è imputabile alla successione di unità strutturali prive di ramificazioni. Sono caratterizzati da comportamento viscoelastico.
- **Struttura ramificata:** in questi polimeri, dalla catena lineare si sviluppano delle ramificazioni, le quali però non sono unite tra loro. La presenza di ramificazioni crea degli impedimenti allo scorrimento viscoso tra le catene.
- **Struttura reticolata:** a differenza della struttura ramificata, nella struttura network le ramificazioni sono legate tra di loro tramite legami covalenti, a formare una sorta di un'unica grande macromolecola. Questi polimeri non presentano un comportamento viscoelastico a causa dell'impossibilità dello scorrimento delle catene tra loro.

I polimeri possono essere ulteriormente classificati in amorfi o semicristallini. Quando le catene macromolecolari sono in grado di riarrangiarsi in strutture con un certo livello di ordine e ripetibilità a livello tridimensionale, i polimeri vengono detti semicristallini. Viceversa, risulteranno completamente amorfi. Si definisce grado di cristallinità il rapporto tra la frazione relativa alla sola porzione cristallina sul totale del polimero analizzato.

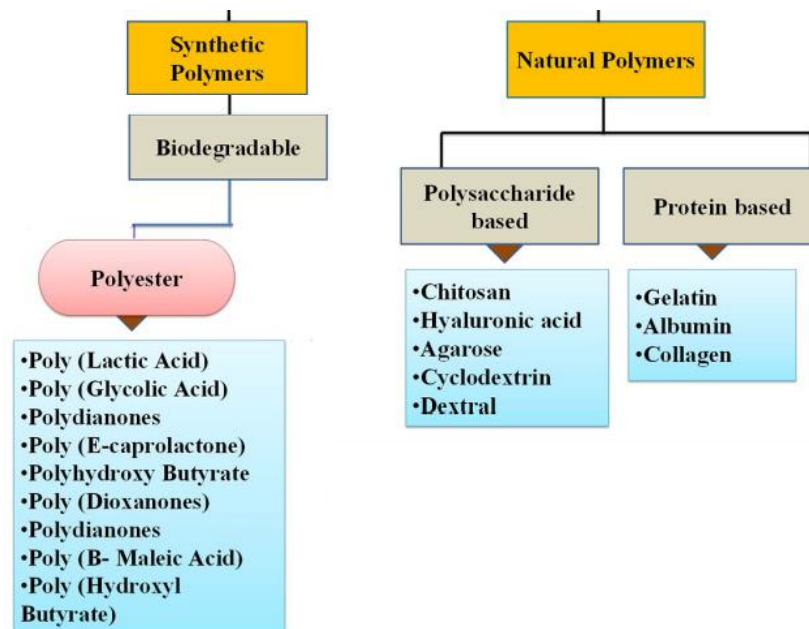


FIGURA 5 – SCHEMATIZZAZIONE DEI POLIMERI UTILIZZATI IN AMBITO BIOMEDICO

All'interno dell'ampia famiglia dei polimeri, i poliesteri alifatici rappresentano la classe di maggior successo e diffusione in ambito biomedico. Essi sono caratterizzati dalla presenza di legami esterei all'interno della catena macromolecolare, e si dividono in aromatici e alifatici in base alla presenza o meno di anelli aromatici in catena. Vengono ottenuti principalmente mediante policondensazione di uno o più acidi carbossilici polifunzionali con uno o più alcoli polifunzionali. Il legame estereo risulta altamente idrolizzabile, e per questo motivo tale classe è la più intensamente studiata in termini di meccanismi di degradazione e relazioni struttura-proprietà; questo aspetto risulta particolarmente importante in ambito biomedico, dove i materiali impiegati devono essere biocompatibili ma molto spesso anche biodegradabili. Si pensi ad esempio, alle matrici polimeriche per il rilascio prolungato e controllato: i poliesteri fungono da veicoli per il trasporto al sito desiderato senza danneggiare il corpo umano, mantenendo la bioattività del principio attivo (peptidi, proteine, vaccini e macromolecole), e degradandosi con una cinetica appropriata in base al tipo di rilascio desiderato.

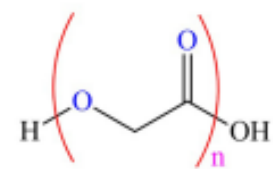
Di seguito, alcuni tra i principali poliesteri alifatici utilizzati in ambito biomedicale.

2.2 Acido Poliglicolico (PGA)

L'acido poliglicolico o poliglicolide (PGA) è un poliesteri alifatico biodegradabile, ed è il più semplice membro della famiglia dei poliesteri alifatici lineari (Fig. 6). Il PGA viene ampiamente utilizzato per scopi biomedicali per la sua biodegradabilità, che in ambiente fisiologico avviene tramite la rottura del legame estereo. I prodotti di degradazione vengono poi espulsi tramite l'urina o trasformati in acqua e anidride carbonica. Molto comuni sono le suture realizzate in PGA, ma questo poliesteri trova anche applicazione come materiale di riempimento o per la fabbricazione di *scaffold* destinati alla rigenerazione di tessuti ossei, intestinali, linfatici, spinali, oltre a cartilagini, tendini e denti

Altre caratteristiche del PGA sono:

- Elevato grado di cristallinità;
- Temperatura di transizione vetrosa nell'intervallo 35-40 °C;
- Temperatura di fusione nell'intervallo 225-230 °C;
- Elevato modulo elastico (E) pari a circa 12 GPa;
- Bassa solubilità nella maggior parte dei solventi organici;
- Facile lavorabilità, anche tramite stampa 3D.

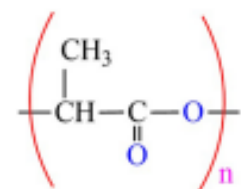


Poly (glycolic acid)

FIGURA 6 – STRUTTURA CHIMICA DEL PGA

2.3 Acido Polilattico (PLA)

L'acido polilattico (Fig. 7) è un polimero ottenibile mediante policondensazione dell'acido lattico oppure mediante polimerizzazione per apertura dell'anello del monomero ciclico lattide. È presente in due forme enantiomeriche (L-D), caratterizzate da proprietà fisiche molto diverse, prima fra tutti la cristallinità (polimeri ricchi di L-isomero risultano altamente cristallini, mentre risultano amorfi quelli contenenti più del 15% di D-isomero). Inoltre, è caratterizzato dalla presenza di un gruppo metile in catena, che lo rende più idrofobico rispetto al PGA. Il PLA venne studiato per la prima volta come possibile materiale per il rilascio controllato di farmaci, grazie alle sue eccellenti proprietà di biodegradabilità e biocompatibilità, e ad oggi viene ampiamente utilizzato anche in ingegneria tissutale e come materiale per suture e fissaggi ortopedici.



Poly (lactic acid)

FIGURA 7 – STRUTTURA CHIMICA DEL PLA

Altre caratteristiche del PLA sono:

- Alto modulo elastico (E = 2,7 GPa);

- Migliore solubilità, rispetto al PGA, nella maggior parte dei solventi organici;
- Tempi di biodegradazione di circa 12-18 settimane;
- Ridotta stabilità termica.

2.4 Acido Polilattico-co-glicolico (PLGA)

L'acido polilattico-co-glicolico, o PLGA (Fig. 8), è un copolimero del PLA e del PGA, anch'esso ampiamente utilizzato in ambito biomedicale grazie alla sua biocompatibilità e biodegradabilità (proporzionale alla quantità di acido glicolico presente). Grazie alle sue proprietà, modulabili in funzione della composizione, trova applicazione come materiale per suture, per la realizzazione di dispositivi a rilascio controllato di farmaci, anche antitumorali, e nel campo dell'imaging e dell'ingegneria tissutale.

Altre caratteristiche del PLGA sono:

- Temperatura di transizione vetrosa nell'intervallo 45-55 °C;
- Modulo elastico (E) elevato pari a circa 2 GPa;
- Facile lavorabilità, anche tramite stampa 3D;
- Elevata velocità di biodegradazione (4-5 settimane).

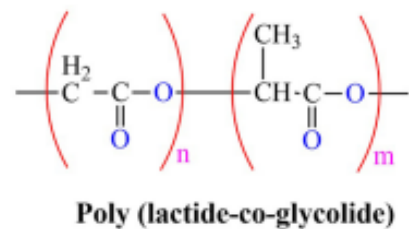


FIGURA 8 – STRUTTURA CHIMICA DEL PLGA

2.5 Poli(ε-caprolattone) (PCL)

Il poli(ε-caprolattone), o PCL, è un poliesteri alifatico ottenuto mediante polimerizzazione del monomero ciclico ε-caprolattone (Fig. 9). A causa della sua lenta velocità di biodegradazione, il PCL è stato oggetto di studio per lo sviluppo di sistemi a rilascio controllato impiantabili e a lungo termine. Inoltre, per aumentarne la degradabilità, sono stati studiati diversi copolimeri e miscele con altri polimeri biodegradabili. Altre applicazioni del PCL sono legate alla realizzazione di *scaffold* per l'ingegneria tissutale impiegati per la rigenerazione di ossa, legamenti, cartilagini, pelle, tessuto vascolare e nervoso.

Tra le principali caratteristiche del PCL figurano:

- Temperatura di transizione vetrosa -60 °C;
- Temperatura di fusione nell'intervallo 55-60 °C;
- Elevata solubilità nei più comuni solventi organici;
- Elevato allungamento a rottura (>700%);

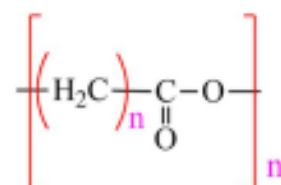


FIGURA 9 – STRUTTURA CHIMICA DEL PCL

2.6 Poli(butilene succinato) (PBS)

Il poli(butilene succinato) (PBS) è un poliestere alifatico ottenuto a partire da acido succinico (SA), oppure dal suo estere dimetilico, il dimetilsuccinato (DMS) e da 1,4-butandiolo (BD), mediante policondensazione in massa a due stadi (Fig. 10)

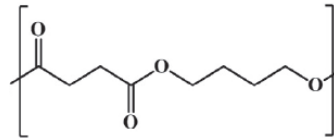


FIGURA 10. STRUTTURA CHIMICA DEL PBS

Il PBS è caratterizzato da comprovate biodegradabilità e biocompatibilità, proprietà di fondamentale importanza per applicazioni in ambito biomedicale: in questo senso, l'applicazione biomedica più studiata del PBS e dei suoi copolimeri e blend è l'ingegneria tessutale, sia sotto forma di film sia come *scaffold*, ottenuti mediante elettrofilatura o estrusione. Un'altra applicazione è nell'ambito del rilascio controllato di farmaci, come materiali per la realizzazione di micro e nanosfere.

Altre caratteristiche del PBS sono:

- grado di cristallinità intorno al 35-45%;
- temperatura di transizione vetrosa ben al di sotto della temperatura ambiente ($T_g = -34\text{ °C}$) e temperatura di fusione ($T_m = 115\text{ °C}$) fra le più alte tra i poliesteri alifatici, caratteristiche che ne permettono una ampia lavorabilità;
- elevata rigidità (modulo elastico intorno ai 300-500 MPa) e fragilità (allungamenti a rottura inferiori al 5%);

3 PRINCIPALI TIPOLOGIE DI DISPOSITIVI PER IL RILASCIO CONTROLLATO

Tutti i dispositivi utilizzati in campo biomedicale, indipendentemente dalla loro natura e finalità devono soddisfare un requisito fondamentale, ovvero quello della biocompatibilità. Si definisce biocompatibile un materiale naturale o sintetico, designato per l'uso prolungato in ambiente biologico, che non procura reazioni avverse all'organismo. Più in dettaglio, si definiscono:

- Compatibilità morfologica: il materiale deve avere forma, interfaccia e dimensioni simili a quelle dei tessuti vicini al sito di impianto.
- Compatibilità funzionale: il materiale deve avere funzioni simili ai tessuti o agli organi da curare e/o sostituire.
- Compatibilità biologica: il materiale deve avere proprietà chimiche e biologiche simili all'ambiente in cui viene introdotto per evitare risposte infiammatorie e/o fenomeni di rigetto.

Inoltre, per quanto riguarda applicazioni temporanee per cui non è prevista una rimozione del dispositivo al termine della terapia, è necessario che il materiale utilizzato sia anche biodegradabile. Con biodegradabilità si intende l'insieme delle reazioni che vanno ad alterare a livello chimico e fisico il materiale innestato, impiantato o iniettato. Queste reazioni, dovute per esempio ad un cambiamento di pH o di temperatura, o all'azione dell'acqua o degli enzimi presenti all'interno del corpo, causano la rottura delle catene che costituiscono il materiale polimerico sino a generare molecole di piccole dimensioni in grado di entrare nel processo metabolico delle cellule con conseguente completo smaltimento del polimero di partenza. La biodegradabilità può essere un vantaggio se permette di evitare ulteriori interventi sul paziente per la rimozione del dispositivo, ma allo stesso tempo occorre tenere presente che i sottoprodotti della degradazione non devono innescare reazioni immunitarie o interagire negativamente con i tessuti, alterandone la funzionalità.

Di seguito verranno elencate e descritte le principali tipologie di dispositivi per il rilascio controllato di farmaci.

3.1 Micro- e nanoparticelle

Tra i dispositivi a rilascio controllato maggiormente impiegati, figurano le micro- e le nanoparticelle polimeriche, caratterizzate da una dimensione massima rispettivamente di 250 μm e di 1-100 nm. Ad oggi vengono utilizzate numerose tecniche di realizzazione, in base alla natura e al peso molecolare del polimero, alla natura e alla solubilità del farmaco da intrappolare, alla destinazione d'uso e alla durata della terapia (Fig. 11).

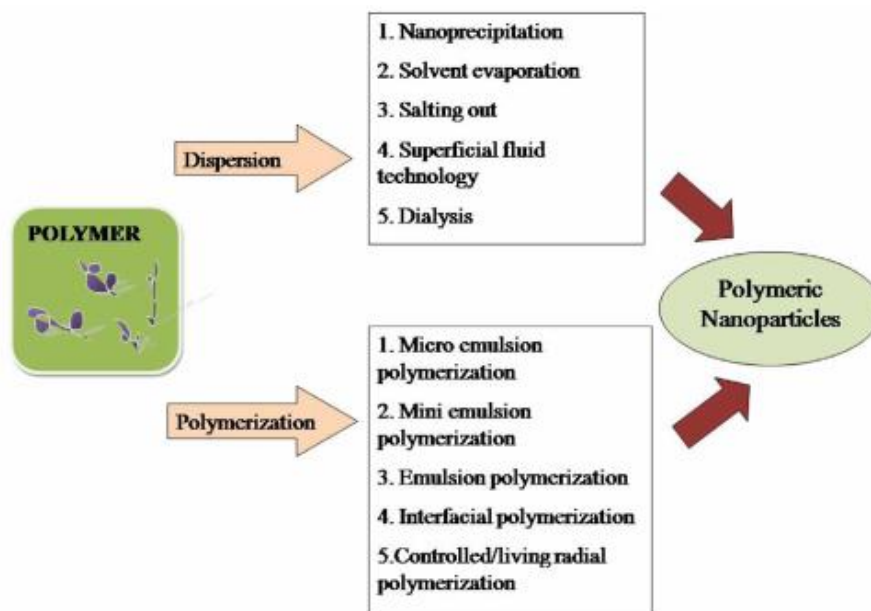


FIGURA 11 – METODI CONVENZIONALI UTILIZZATI PER LA PREPARAZIONE DI PARTICELLE POLIMERICHE.

Tra le più comuni figurano:

- Emulsione: si tratta essenzialmente di un processo O/W (*oil-in-water*) in cui il polimero viene prima disciolto in solvente organico volatile, solitamente diclorometano (DCM), ed in un secondo momento viene aggiunto il farmaco in modo da creare un'emulsione; quest'ultima deve essere poi rimossa o tramite estrazione o con semplice evaporazione, al fine di ottenere delle goccioline solide che andranno lavate, raccolte e asciugate, giungendo così al prodotto finito (Fig. 12). Occorre tenere presente, al fine di ottenere le dimensioni desiderate, che il diametro di tali particelle cresce all'aumentare della concentrazione del polimero e in situazioni termiche estreme (sia bassa che alta T). Questa tecnica però risulta particolarmente idonea per incapsulare sostanze liposolubili

come per esempio gli steroidi, mentre per sostanze idrosolubili come peptidi, proteine e vaccini, si preferisce una tecnica W/O (*water-in-oil*).

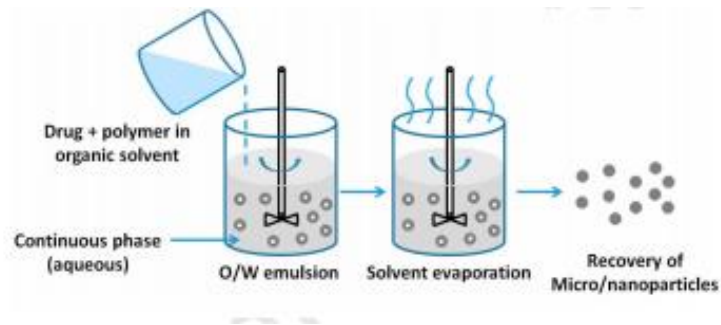


FIGURA 12 – SCHEMATIZZAZIONE TECNICA PER EVAPORAZIONE DEL SOLVENTE

- Separazione di fase: consiste nel diminuire la solubilità del polimero mediante l'aggiunta di un terzo componente alla soluzione organica; ad un certo punto del processo si possono distinguere due fasi separate, una più densa composta dal polimero e l'altra più liquida, in sospensione, povera di materiale polimerico. Il farmaco che era disperso o dissolto nella soluzione polimerica risulta così rivestito dal polimero. Il vantaggio della presente tecnica rispetto alla precedente è quello di permettere di incapsulare farmaci sia liposolubili che idrosolubili, mentre lo svantaggio è legato alla necessità di grandi quantitativi di solvente organico (che risulta difficile da separare dalle microparticelle ottenute).
- Spray a secco: a differenza delle precedenti, tale tecnica risulta molto rapida, conveniente e facile, in quanto dipendente in minore misura dalla solubilità sia del polimero che del farmaco. La tecnica consiste nella sospensione o dissoluzione in solvente dei farmaci che si desiderano incapsulare, a seconda che siano idrosolubili o meno, e nella loro successiva nebulizzazione sotto forma di spray a secco, con lo scopo di ottenere particelle di dimensioni minori di 5 μm .
- Tecnologia dei fluidi supercritici: tale tecnica, che evita l'uso di solventi organici per la preparazione di nanoparticelle polimeriche, prevede che il farmaco e il polimero vengano disciolti insieme in un unico solvente e convertiti in soluzione con il fluido supercritico, ovvero un fluido le cui proprietà sono in parte analoghe a quelle del fluido allo stato liquido e in parte simili a quelle del fluido allo stato gassoso. Un alto grado di sovrasaturazione, accompagnato dalla rapida espansione della soluzione, porta alla nucleazione omogenea e alla conseguente dispersione di nanoparticelle.

- Dialisi: in questo caso la soluzione di acqua, farmaco e polimero viene posta all'interno di una membrana di dialisi. La fase organica si mescola alla fase acquosa, per diffusione, attraverso il tubo di dialisi, portando ad una riduzione della tensione interfacciale tra le due fasi. Successivamente, all'interno della membrana, avviene lo spostamento di solvente che provoca una diminuzione di solubilità del polimero, che porta a sua volta alla progressiva aggregazione delle nanoparticelle.

Per quanto concerne le applicazioni, le microparticelle vengono utilizzate con successo per somministrazioni a bassa frequenza e di piccole quantità di farmaci, sia quelli nocivi se assunti in dosi troppo elevate, sia quelli insolubili che, dato il loro scarso assorbimento, richiederebbero dosi molto massicce per poter essere efficaci. La possibilità di adesione, da parte delle microsfele, ai tessuti interessati, permette inoltre una somministrazione continua e regolare nel tempo anche con dosi moderate. Nonostante i numerosi vantaggi, come la facilità di somministrazione (che avviene tramite assunzione orale o iniezione), l'elevato rapporto superficie/volume e la possibilità di modulare la cinetica di rilascio, il loro principale svantaggio risiede nelle loro dimensioni piuttosto grandi, che impediscono il passaggio attraverso i capillari più sottili e le membrane cellulari, caratteristica che potrebbe ridurre la selettività del sito di rilascio e dunque l'efficacia della terapia.

Il progresso delle nanotecnologie, però, ha reso possibile ovviare ai problemi caratteristici delle microparticelle tramite lo sviluppo di particelle nanometriche, dai diametri nell'ordine di 1-100 nm, le quali possono potenzialmente raggiungere qualsiasi sito corporeo, migliorando così la localizzazione spaziale della terapia. Le prime nanoparticelle ad essere impiegate come carrier di farmaci e proteine furono i liposomi, che furono usati per la prima volta negli anni '60. Da quel momento, la realizzazione di dispositivi nanometrici ha subito una notevole impennata (Fig. 13), tanto che ad oggi sono stati approvati dalla *Food and Drug Administration* (FDA) oltre 50 tipi di nanoparticelle a base di materiali polimerici e di liposomi.

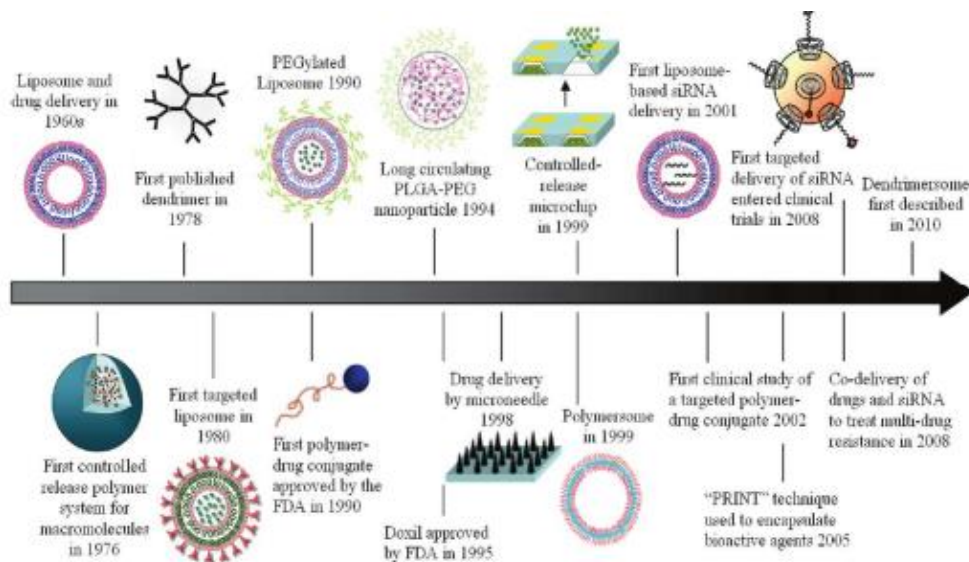


FIGURA 13 - LINEA DEL TEMPO DELL'EVOLUZIONE DELLE NANOPARTICELLE

Recentemente, un numero sempre più elevato di studi si sta concentrando sulla modifica superficiale delle nanoparticelle e sulla loro funzionalizzazione, al fine di aumentare sia il tempo di ritenzione del farmaco sia la durata del rilascio a valle dell'iniezione intravascolare. Inoltre, le nanoparticelle polimeriche possono assumere la struttura di nanocapsule quando è necessario disporre di una capsula polimerica all'interno della quale inserire il farmaco, oppure di nanosfere, quando il principio attivo viene invece incorporato nella matrice polimerica.

3.2 Microneedles polimerici

I sistemi polimerici a microaghi o *microneedle* (MN) sono sistemi di somministrazione transdermica dei farmaci che possono facilmente penetrare, senza dolore, nello strato corneo. Si tratta di aghi dalle dimensioni di circa un micron, atti a trasportare il loro contenuto nel derma, e dunque nella circolazione sistemica. I MN possono facilitare il dosaggio terapeutico controllandone la cinetica di rilascio in risposta a cambiamenti fisiologici di specifici tessuti. Ciò è possibile andando a modificare il rigonfiamento del polimero e i profili di diffusione dei farmaci incapsulati. La somministrazione transdermica ha il vantaggio di evitare la degradazione gastrointestinale di alcuni farmaci rimanendo allo stesso tempo meno dolorosa rispetto all'iniezione intramuscolare ed endovenosa.

I *Microneedles* si sono rivelati particolarmente promettenti per il trattamento di tumori superficiali e malattie della pelle e per la consegna di ormoni contraccettivi nonché per il rilascio di proteine, peptidi, anticorpi, vaccini, RNA e DNA, in modo controllato. Essi vengono inoltre utilizzati sui bambini e gli anziani che hanno difficoltà nel deglutire o che soffrono di vomito e nausea.

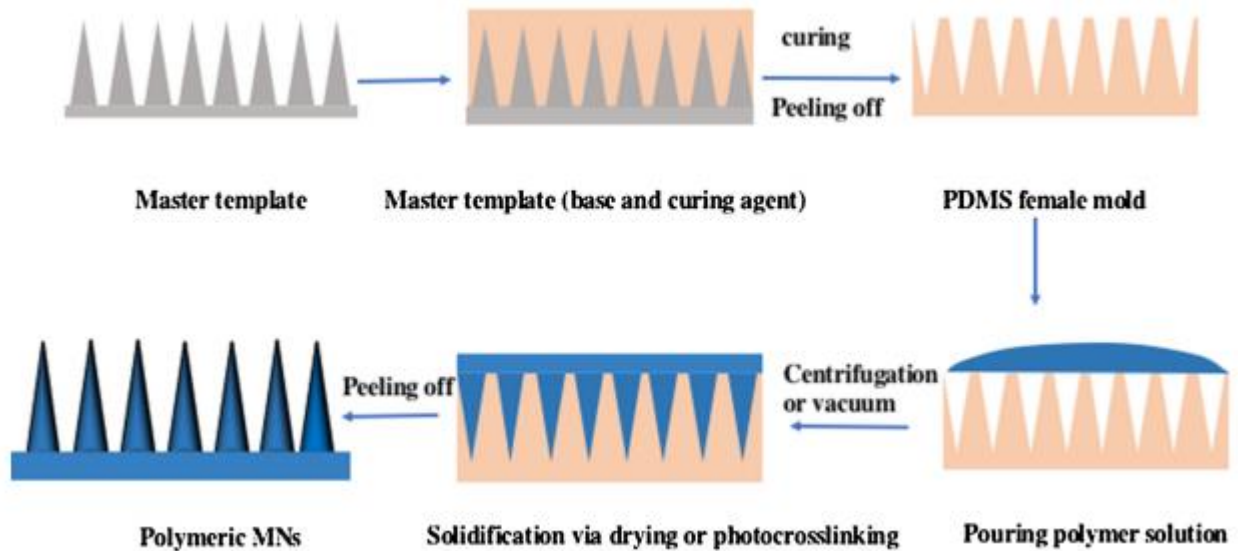


FIGURA 14 – METODO DI FABBRICAZIONE DEI MICROAGHI

Esistono varie tecniche per la produzione di *microneedles*; la più semplice e più facilmente replicabile è sicuramente il *micromolding* (Fig. 14). Si tratta di una tecnica che prevede la replica di una struttura principale utilizzando opportuni stampi, realizzati solitamente in polidimetilsilossano, per via della sua flessibilità e stabilità termica. La fabbricazione avviene in sei fasi distinte:

- Fabbricazione del modello master
- Colata di polimeri su stampi femmina
- Rimozione delle bolle
- Solidificazione mediante essiccazione
- Rimozione dei microaghi dagli stampi femmina

I *microneedles* così ottenuti possono infine essere utilizzati per la creazione di cerotti, i quali una volta posizionati sulla cute rilasciano le dosi di farmaco ad un tempo prestabilito (Fig. 15).

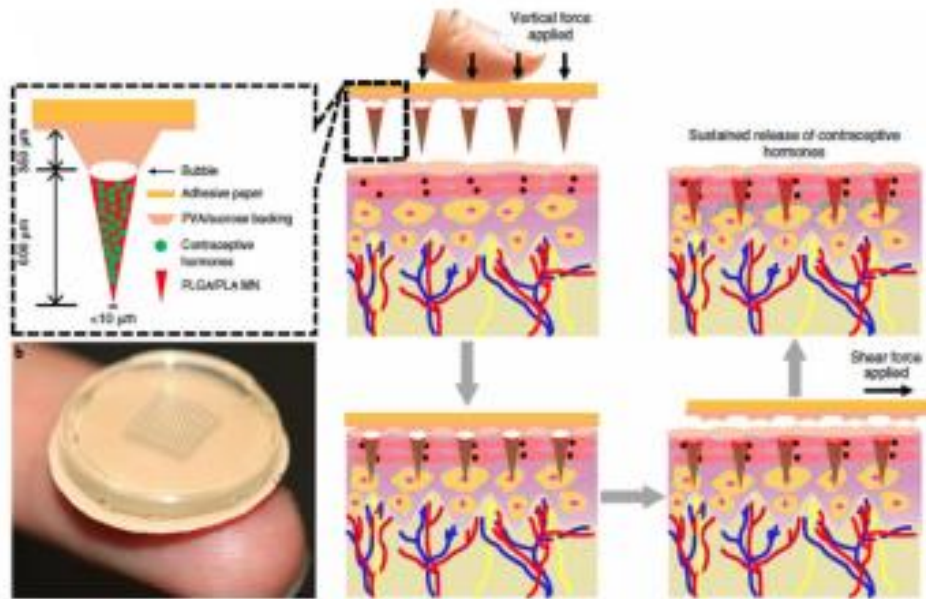


FIGURA 15 - CEROTTI COSTITUITI DA MICRONEEDLES

3.3 Nanocarrier polimerici sensibili agli stimoli

I *nanocarrier* polimerici reattivi agli stimoli corporei hanno riscosso notevole interesse e mostrato enormi vantaggi in ambito di somministrazione di farmaci, grazie alla loro capacità di rendere disponibile il principio attivo proprio nel sito della malattia. In tali sistemi, il rilascio del farmaco è controllato in risposta a stimoli specifici, sia esogeni che endogeni. I *nanocarrier* vengono utilizzati prevalentemente nella cura del cancro: esistono infatti farmaci chemioterapici molto efficaci come la doxorubicina o il paclitaxel, che riescono a distruggere rapidamente le cellule tumorali danneggiando il loro RNA o DNA, il cui potenziale terapeutico è però limitato dalla loro tossicità nei confronti delle cellule sane. Di conseguenza, la nanotecnologia rappresenta una soluzione preziosa per ridurre gli effetti collaterali dei farmaci chemioterapici indirizzandoli esclusivamente nel sito target, aumentandone allo stesso tempo la loro efficacia terapeutica. I *nanocarrier*, inoltre, aumentano il limite di solubilità dei farmaci, ne migliorano la farmacocinetica e facilitano il loro accumulo in prossimità del tumore attraverso il potenziamento dell'effetto di permeabilità e ritenzione.

In aggiunta, attraverso opportune modifiche superficiali, come ad esempio il rivestimento con un polimero idrofilo, è possibile prolungare il tempo di circolazione dei *nanocarrier* nel flusso sanguigno e di ridurre al minimo l'interazione con i fluidi biologici presenti nel sangue, evitando quindi che il sistema fagocitico li elimini attraverso i reni prima che essi possano raggiungere il sito target.

Possiamo suddividere i *nanocarrier* in diverse classi: micelle polimeriche, liposomi, nanotubi di carbonio e dendrimeri (Fig. 16).

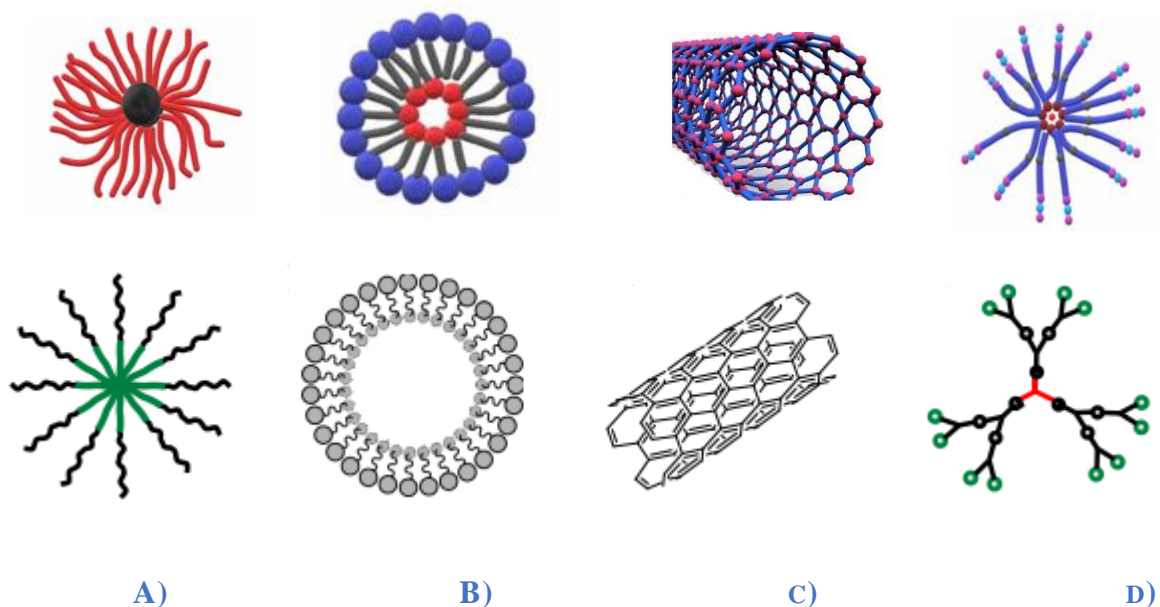


FIGURA 16 - TIPOLOGIE DI NANOCARRIERS: A) MICELLE POLIMERICHE B) LIPOSOMI C) NANOTUBI DI CARBONIO D) DENDRIMERI

- Micelle polimeriche: studiate per la prima volta dal chimico tedesco Helmut Ringsdorf nel 1984, esse si ottengono dall'autoaggregazione in mezzo acquoso di polimeri anfifilici, contenenti cioè sia porzioni idrofile che idrofobe con opposta affinità nei confronti del solvente. In genere sono strutture sferiche formate da copolimeri a blocchi asimmetrici in cui la porzione più grande è quella idrofila.
- Liposomi: si tratta di vescicole a forma sferica dalle dimensioni variabili tra i 25 nm e 1 μm di diametro, composte da uno o più doppi strati di fosfolipidici. Lo strato esterno è costituito da molecole fosfolipidiche affiancate tra loro: esse espongono la propria testa polare (idrofilica) verso l'ambiente acquoso che le circonda, mentre la coda apolare

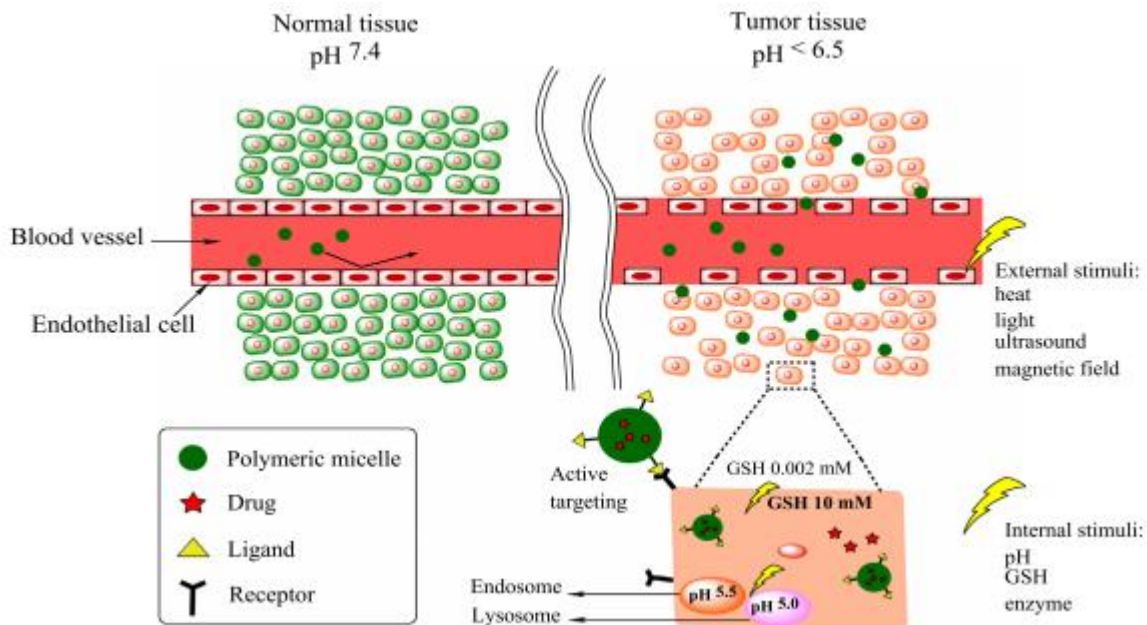
(idrofobica) è invece rivolta verso l'interno, dove si intreccia con quella del secondo strato lipidico, che ha un'organizzazione speculare alla precedente. I liposomi contengono al loro interno un mezzo acquoso nel quale possono essere dispersi vari principi attivi.

- Nanotubi di carbonio: sono cilindri ottenuti dal grafene, materiale bidimensionale composto da un foglio di carbonio dello spessore di un solo atomo che, una volta arrotolato, forma tubi con raggio di pochi nanometri e lunghi quanto il diametro di un capello.
- Dendrimeri: sono macromolecole polimeriche monodisperse e altamente ramificate. Nella struttura di un dendrimero si definiscono tre regioni, la parte centrale detta *core*, da cui si diramano i dendroni, che sono costituiti dalla ripetizione di unità monomeriche nelle tre direzioni spaziali, e la superficie esterna, costituita dai gruppi terminali dei dendroni.

Per quanto riguarda invece gli stimoli che innescano il rilascio del farmaco, essi si suddividono in interni ed esterni. Tra i fattori interni, ovvero i cambiamenti fisiologici, figurano: variazione di pH (Fig. 17), gradiente redox e concentrazione di enzimi, mentre tra i fattori esterni figurano invece calore, luce, sonicazione, campo magnetico o elettrico.

È noto che il valore del pH di aree malate come i tessuti tumorali e infiammati è intrinsecamente acido ($\text{pH} < 6,5$), e quasi un'unità di pH inferiore al normale ($\text{pH} = 7,4$). Tale gradiente viene quindi utilizzato per la progettazione di sistemi di somministrazione a rilascio controllato, poiché, a pH fisiologici stabili i farmaci rimangono intrappolati all'interno del nucleo idrofobo durante tutta la circolazione sanguigna, viceversa, quando attraversano tessuti a basso pH, vengono rilasciati; in questo modo si ottiene una attività antitumorale particolarmente mirata.

Così come il pH, anche la temperatura agisce come stimolo, che questa volta può essere sia di natura esterna che interna: quest'ultima si verifica, quando l'aumento della temperatura locale è causato dalla condizione patologica (infatti, i tessuti tumorali sono leggermente ipertermici cioè 1-3 °C più caldi del tessuto normale). I polimeri sensibili alla temperatura mostrano una transizione di fase, in corrispondenza della quale possono rigonfiare e innescare, di conseguenza, il rilascio del farmaco incapsulato.



**FIGURA 17 - TRASPORTO DI NANOCARRIER CHE RISPONDONO AL PH
TESSUTO SANO A SINISTRA - TESSUTO TUMORALE A DESTRA**

Se lo stimolo esterno è la luce, gli agenti incapsulati vengono erogati solo quando i polimeri vengono sottoposti ad un'elevata irradiazione UV o infrarosso fornite da una fonte proveniente dall'esterno del corpo. Il vantaggio di questa tipologia di rilascio risiede nella possibilità di modulare l'intensità e la lunghezza d'onda della radiazione incidente in modo da ottenere un maggiore o minore rilascio di principio attivo.

Infine, anche gli enzimi possono essere impiegati come stimoli biologici naturali per innescare il rilascio: essi agiscono rompendo alcuni legami polimerici specifici, causando la rottura del supporto polimerico che a tal scopo viene realizzato inserendo opportuni gruppi funzionali sia nella catena principale sia nelle eventuali catene laterali.

3.4 Idrogel

Gli idrogel sono particolari macromolecole a struttura reticolata create in modo da formare una maglia aggrovigliata che funge da matrice per l'intrappolamento di farmaci. Quando tali molecole vengono a contatto con un solvente compatibile termodinamicamente, le catene polimeriche si rilassano (in particolar modo quando la temperatura di transizione vetrosa è inferiore a quella dell'ambiente circostante), permettendo un flusso di acqua verso l'interno e la diffusione del farmaco verso l'esterno. Gli idrogel rappresentano quindi una piattaforma versatile per la somministrazione di farmaci grazie alla loro capacità di incapsularli e proteggerne la loro bioattività. Gli idrogel vengono definiti "intelligenti" poiché possono rispondere a svariati stimoli come la temperatura, la luce, i campi magnetici e gli ultrasuoni. Inoltre, essendo composti principalmente di acqua, offrono un ambiente simile ai tessuti corporei. A seconda della loro architettura e del materiale costituente, gli idrogel, possono assumere strutture macroscopiche o nanoscopiche, e presentare diverse proprietà fisiche e funzionali.

In base alle loro dimensioni, gli idrogel, si suddividono in:

- gel, adatti per essere iniettati nel corpo o assunti per via transepiteliale;
- microgel, dalle dimensioni micrometriche che permettono il passaggio nelle vie polmonari ed il rilascio intraosseo;
- nanogel, misurano circa 100 nm e sono utilizzati nella somministrazione sistemica e per il rilascio intracellulare.

È possibile un'ulteriore suddivisione, in base alla sensibilità agli stimoli, in:

- termogel: dopo l'iniezione nel corpo, il termogel è azionato dalla differenza di temperatura tra composto iniettato e temperatura corporea, che induce la gelificazione del materiale in sito;
- gel magnetici: in questi idrogel, durante la preparazione viene incorporato un composto chimico chiamato Nonilfenolo, che ha caratteristiche superparamagnetiche. In seguito, tramite l'utilizzo di campi magnetici statici o alternati, è possibile deformare il gel magnetico a distanza al fine di rilasciare il principio attivo;

- gel foto controllati: in questi dispositivi, la luce è in grado di isomerizzare i legami foto-attivi, inducendo la rottura del gel e quindi il rilascio del farmaco. La luce offre molti vantaggi, come un basso costo e la facilità di sintonizzazione allo stesso tempo sia della lunghezza d'onda che dell'intensità. Di contro, presenta un basso potere di penetrazione, che limita l'utilizzo di tali idrogel ai tessuti in prossimità della superficie oppure al rilascio transdermico;
- gel sensibili alle deformazioni: gli idrogel in questione rispondono a forze meccaniche come la compressione o la tensione di taglio, che possono essere di natura fisiologica o applicate esternamente;
- gel biosensibili: questi idrogel sono attivati da segnali biologici o patologici come enzimi o biomolecole quali il glucosio, o l'ATP (Fig. 18).

Le ultime tecnologie in campo biomedico propongono infine idrogel sensibili a più di uno stimolo; in tal modo è possibile controllare vari profili cinetici di rilascio abilitando più file di consegna di diversi carichi utili. Sebbene molti di questi gel abbiano mostrato successo in modelli animali sono ancora poche le sperimentazioni in campo clinico.

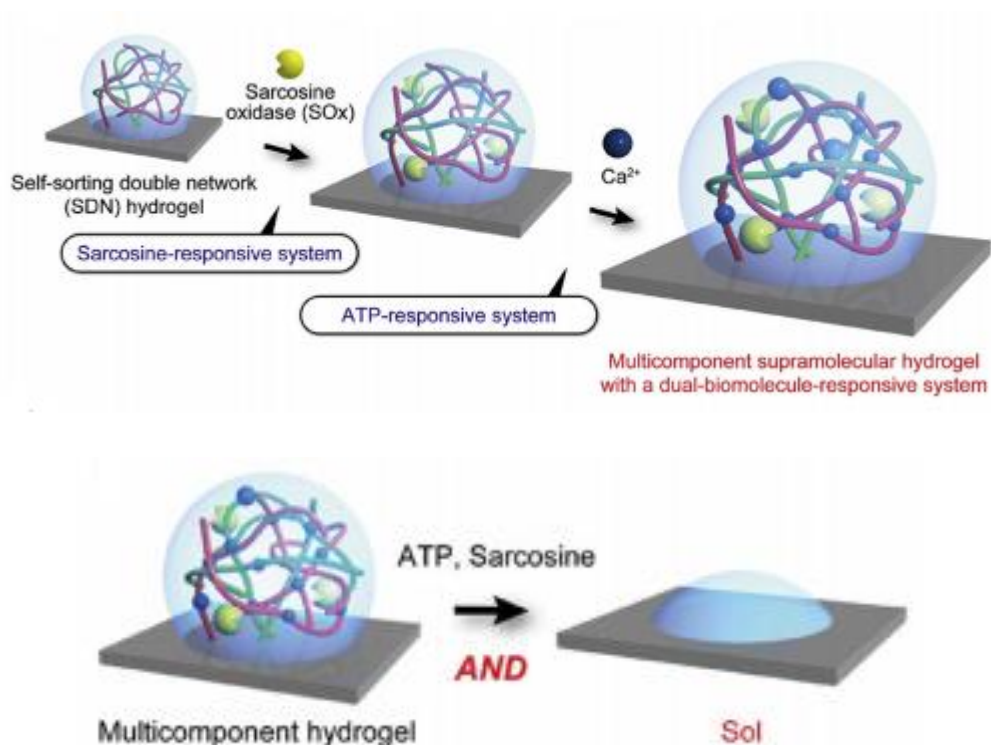


FIGURA 18 - IDROGEL SENSIBILI A DUE DIVERSE BIOMOLECOLE

3.5 Patch transdermiche

Il termine *patch* transdermica (o *patch* dermica), indica una membrana adesiva medicata che viene posizionata sulla pelle per rilasciare una specifica dose di farmaco attraverso la pelle stessa. Esse possono essere suddivise in quattro generazioni, che hanno permesso lo sviluppo di sistemi di rilascio sempre più intelligenti e mirati (Fig. 19).

La prima generazione di *patch* transdermiche ha avuto come obiettivo il perfezionamento della formulazione del farmaco per massimizzare la sua diffusione attraverso la pelle, in termini di proprietà fisicochimiche del farmaco stesso, quali un elevato coefficiente di partizione, ed un basso peso molecolare. La seconda generazione ha riguardato invece la ricerca di agenti esterni, come il calore o l'elettricità, che fossero in grado di fornire energia al farmaco affinché quest'ultimo potesse attraversare più facilmente gli strati epidermici e raggiungere il circolo vascolare; in questo caso, quindi, l'attenzione fu posta sul miglioramento della permeabilità del farmaco usando attivatori chimici e stimolazioni esterne. La terza generazione ha previsto l'utilizzo di metodi che causano la distruzione microscopica dell'epidermide per facilitare il rilascio del farmaco; gli approcci principali riguardano l'utilizzo di ablazione a radiofrequenza, ultrasuoni e laser, che distruggono temporaneamente lo strato corneo e permettono la penetrazione del farmaco attraverso la barriera danneggiata, oppure di microaghi, i quali perforano lo strato più esterno della pelle, preservando il derma, per offrire un percorso ridotto e facilitato al farmaco. La quarta generazione, infine, riguarda dispositivi indossabili, sensori e attuatori, in grado di monitorare in modo preciso gli indicatori chiave del trattamento della malattia ed i potenziali effetti collaterali del rilascio del farmaco; in questo modo è possibile decidere in tempo reale la quantità appropriata di principio attivo da rilasciare.

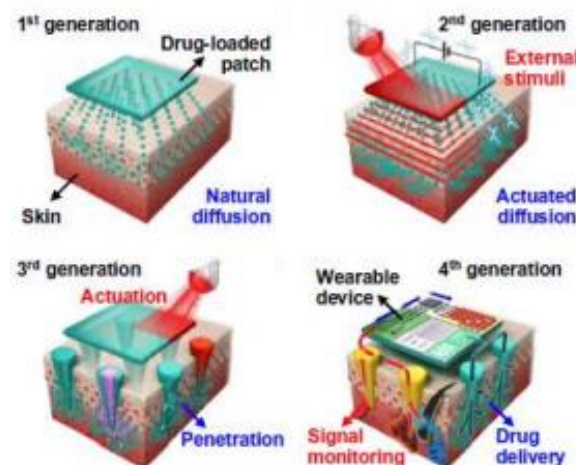


FIGURA 19 – GENERAZIONI DI PATCH TRANSDERMICHE

In base al loro design, le *patch* transdermiche possono essere suddivise in tre categorie principali (Fig. 20):

- Reservoir patch: questo tipo di sistema presenta un serbatoio (*reservoir*), fra lo strato più esterno e la membrana permeabile. All'interno è presente il farmaco, sotto forma di liquido, che viene rilasciato da una membrana. Questo tipo di *patch* presenta vantaggi in termini di flessibilità e di un buon controllo della velocità di rilascio; tuttavia, l'intero design è piuttosto complicato da realizzare;
- Matrix patch: questo tipo di *patch* è composto da una matrice semi solida, sulla quale viene caricato il farmaco, uno strato adesivo esterno ed una membrana attraverso la quale diffonde il farmaco. Comprende l'assemblaggio di due parti, la matrice contenente il farmaco e lo strato adesivo;
- Drug-in-adhesive patch: sono composte da una matrice adesiva contenente il farmaco, una membrana esterna impermeabile e una membrana interna attraverso la quale viene rilasciato il farmaco. In questo caso, il materiale utilizzato nella realizzazione della matrice viene sciolto in soluzione, alla quale viene aggiunto in un secondo momento il principio attivo da rilasciare.

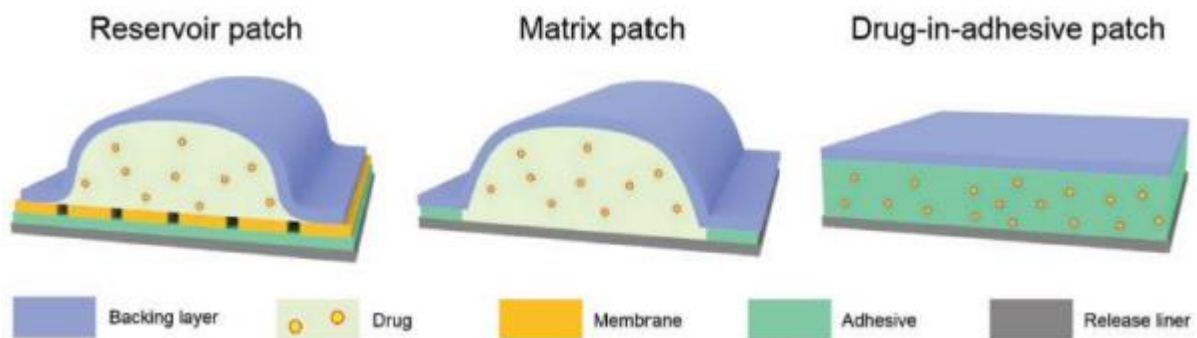


FIGURA 20 – DIVERSI DESIGN DI *PATCH* TRANSDERMICHE

3.6 Scaffold

Gli *scaffold* sono matrici, solitamente polimeriche, bi- o tridimensionali costituite solitamente da omopolimeri, copolimeri o miscele di essi, e che vengono impiantati con lo scopo di riparare e rigenerare i tessuti. Essi vengono utilizzati anche per la somministrazione di farmaci, come alternative intelligenti alle formulazioni convenzionali, in quanto consentono il rilascio spazio-temporale controllato di svariati principi attivi. Essi possono inoltre assumere forme molto diverse, tra cui, membrane, film sottili e dispositivi 3D (Fig. 21).

Sono strumenti chiave soprattutto nel campo della medicina rigenerativa e nell'ingegneria dei tessuti, per la loro biocompatibilità, per le somiglianze meccanico-strutturali con il tessuto ospite, l'elevata porosità interconnessa, che permette la proliferazione e la migrazione cellulare, e la loro biodegradabilità in tempi modulabili a seconda della velocità di rigenerazione del tessuto trattato. Inoltre, se quest'ultimo necessita di un trattamento farmacologico, all'interno dello *scaffold* può essere direttamente inserito il farmaco, che verrà rilasciato con una cinetica modulabile proprio nel sito bersaglio.

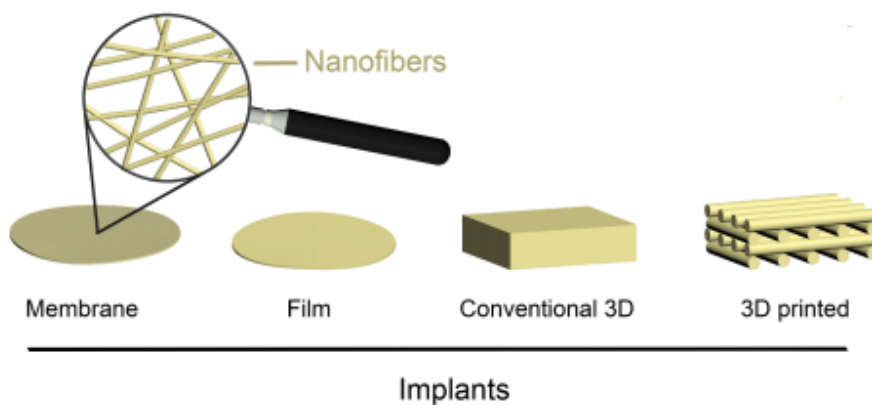


FIGURA 21 – DIVERSI DESIGN DI SCAFFOLD IMPIANTABILI

3.7 Scaffold iniettabili

Gli *scaffold* iniettabili sono una particolare classe di *scaffold* ampiamente utilizzati per il loro basso costo, la facilità di preparazione e la capacità di assumere forme e geometrie complesse, modulabili a seconda del difetto tissutale da trattare. Inoltre, poiché vengono impiantati senza il bisogno di un intervento chirurgico anche il disagio provato dal paziente è minimo. Solitamente, gli scaffold iniettabili sono realizzati con idrogel polimerici (Fig. 22), la cui struttura permette loro di rigonfiare in contatto con i fluidi biologici e in corrispondenza del sito di impianto. Di contro, questi dispositivi presentano una bassa capacità di incapsulamento del farmaco ed un limitato controllo sulla cinetica di rilascio.

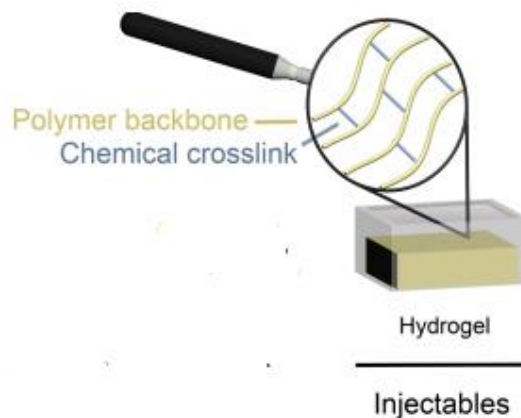


FIGURA 22 – SCAFFOLD INIETTABILE A BASE DI IDROGEL POLIMERICO

Le differenze morfologiche tra i vari *scaffold* derivano principalmente dalle caratteristiche uniche di ogni metodo di preparazione. Quindi, una profonda conoscenza di ogni metodo è necessaria sia per ottenere un trattamento farmacologico ideale in relazione alla peculiare storia clinica del paziente, sia per ottimizzare la cinetica di rilascio del farmaco.

1) Elettrofilatura

L'elettrofilatura è la tecnica più utilizzata per fabbricare *scaffold* a base di fibre sottili e interconnesse. Il diametro di ogni fibra può variare da alcuni micron a pochi nanometri a seconda della specificità del polimero e ai parametri di processo. La tecnica può essere effettuata in due modalità differenti: elettrofilatura in soluzione ed elettrofilatura allo stato fuso (Fig. 23). Più in dettaglio, le fibre ultrafini vengono realizzate facendo passare il polimero fuso o la soluzione polimerica attraverso l'ago di una siringa, in presenza di un forte campo elettrico.

La fibra viene così depositata su un collettore, ovvero piano rettangolare o cilindrico ad una distanza ottimale dall'ago. A seconda che il collettore sia fisso o mobile, è possibile ottenere matrici elettrofilate con orientamento delle fibre casuale oppure allineato. Tramite questa tecnica è possibile produrre *scaffold* multistrato al cui interno possono essere caricati i farmaci (ciò è utile soprattutto nel caso in cui la terapia sia costituita da farmaci incompatibili tra loro che devono essere rilasciati con velocità diverse). Inoltre, a seconda del tipo di farmaco e della velocità di rilascio prevista è anche possibile modulare la dimensione dei pori, sempre agendo sui parametri della soluzione che di processo.

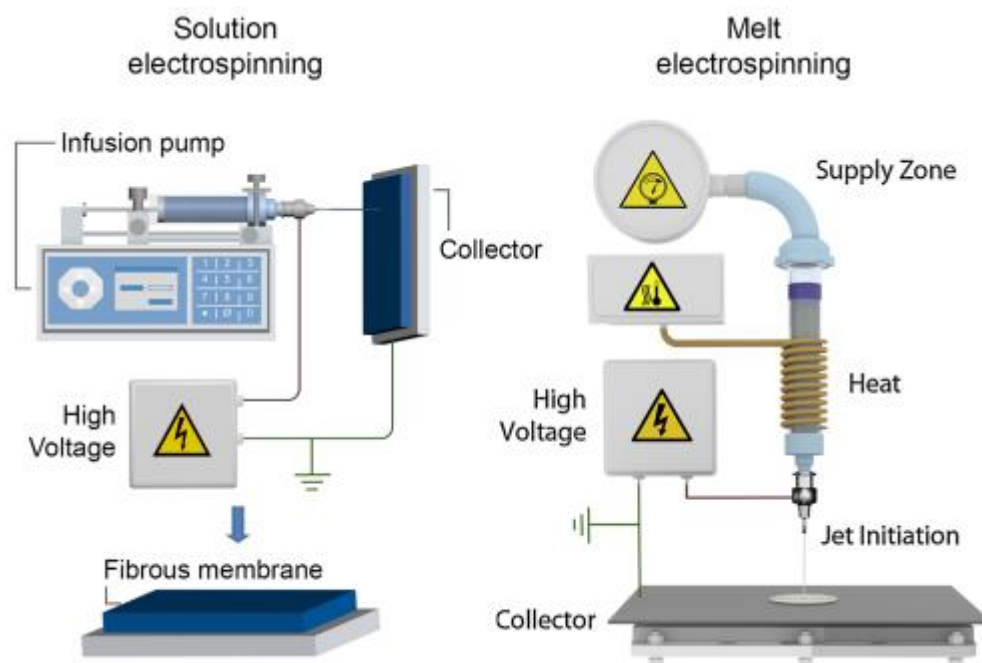


FIGURA 23 – ELETTROFILATURA IN SOLUZIONE (A SINISTRA) E DAL FUSO (A DESTRA)

Mentre l'elettrofilatura a soluzione utilizza appunto un solvente per solubilizzare il polimero, l'elettrofilatura a fusione impiega il calore per fornire al sistema il polimero in forma liquida. Attualmente, l'elettrofilatura a soluzione è la tecnica impiegata per realizzare circa il 90% degli *scaffold*, tuttavia, l'elettrofilatura a fusione è una valida alternativa quando non esiste un solvente appropriato per sciogliere il polimero o quando bisognerebbe utilizzare un solvente tossico.

In particolare, nell'elettrofilatura in soluzione, quando viene applicata una differenza di potenziale tra l'ago e il collettore, le cariche tendono ad accumularsi sulla gocciolina liquida sulla punta dell'ago. Ad una tensione sufficientemente alta, la repulsione coulombiana vince la

tensione superficiale del polimero in soluzione e un getto caricato elettricamente viene espulso dall'ago sul collettore. Prima di raggiungere la superficie del collettore, il solvente evapora in un tempo che è funzione della sua volatilità. Infine, le fibre polimeriche solide si depositano sul collettore. Viceversa, nell'elettrofilatura a fusione, il polimero viene estruso e, solidificando, forma le fibre.

2) *Solvent casting*

Quella del *solvent casting* è una delle tecniche più semplici utilizzate per produrre *scaffold* sottoforma di film sottili mediante rimozione del solvente da una soluzione polimerica confinata in uno stampo. (Fig. 24 A) La metodologia consiste nel solubilizzare il polimero in un unico solvente (o miscela di solventi), trasferire la soluzione in uno stampo adatto e incubarla a temperatura fissa fino a raggiungere una completa evaporazione dei solventi. Le caratteristiche dello *scaffold* dipendono perciò dalla scelta del solvente, del polimero e della temperatura, che determina la velocità di evaporazione dei solventi. Il vantaggio della tecnica *solvent casting* rispetto, ad esempio, all'elettrofilatura risiede nella possibilità ottenere *scaffold* con una distribuzione più uniforme di farmaco e privi di solventi residui.

3) *Salt leaching*

La tecnica denominata *salt leaching* utilizza gli stessi passaggi già visti nel caso del *solvent casting*, introducendo però una soluzione colloidale polimerica di particelle di sale, la quale agisce come agente porogeno durante la formazione dello *scaffold*. (Fig. 24 B) In seguito all'evaporazione del solvente, le particelle di sale si distribuiscono in tutto lo *scaffold* creando, in seguito al contatto con l'acqua e alla loro solubilizzazione, pori dalle dimensioni controllate. Come porogeni possono essere utilizzati anche glucosio e liquidi ionici. La presenza di pori risulta particolarmente importante in quanto favorisce la migrazione cellulare ed aumenta l'efficacia di incapsulamento dei farmaci.

4) Freeze drying

Il *freeze drying* è un metodo di produzione di dispositivi 3D mediante rimozione del solvente per sublimazione (Fig. 24 C). In questa tecnica, la soluzione polimerica viene colata su uno stampo di forma e dimensione desiderate, e mantenuta per un periodo di tempo sufficiente ad una temperatura abbastanza bassa da permettere il congelamento della soluzione stessa. Successivamente, il solvente viene sublimato così da ottenere scaffold 3D porosi. In questo caso però, il controllo sulla dimensione dei pori risulta piuttosto difficoltoso.

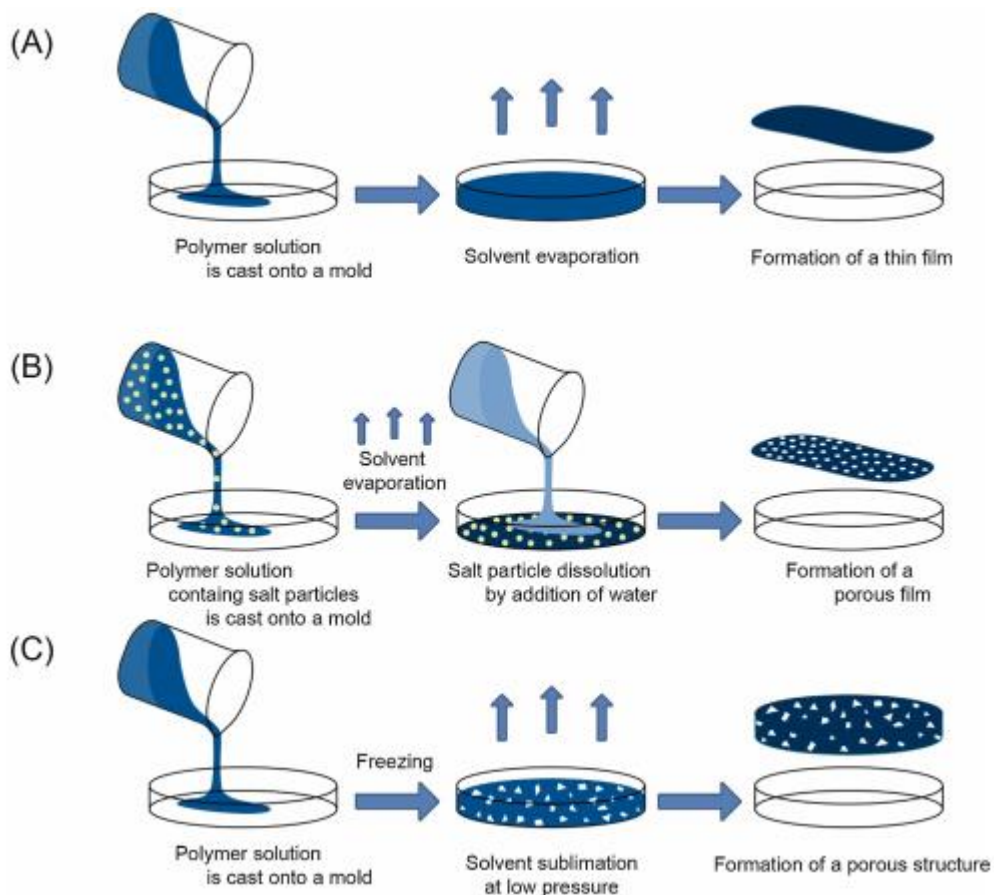


FIGURA 24 – PROCEDURE DI REALIZZAZIONE DI SCAFFOLD MEDIANTE:

A) SOLVENT CASTING B) SALT LEACHING C) FREEZE DRYING

5) Stampa 3D

La stampa 3D di *scaffold* è sicuramente la tecnica più innovativa tra quelle descritte. In base alle esigenze applicative, è possibile modulare il procedimento di stampa mediante l'utilizzo di una delle seguenti modellazioni:

- **Tecnica a deposizione di inchiostro:** il primo passaggio consiste nel disegnare il modello CAD in formato 1:1 e trasferirlo in un file STL a strati, alti in base alla risoluzione della macchina o alla dimensione dei pori desiderata. Il macchinario utilizzato è costituito da due contenitori: uno riempito del polimero in polvere e l'altro contenente il piano d'appoggio su cui viene stampato lo *scaffold*. Attraverso una testina il polimero in polvere viene spostato nel secondo serbatoio, in esso l'inchiostro viene spruzzato sul polimero solo nei punti in cui deve essere solidificato; successivamente, viene rimossa la polvere in eccesso.

- **Tecnica a deposizione dal fuso:** in questa tecnica, il polimero termoplastico viene fuso sotto forma di filamento ed estruso tramite una testina su un piano di stampa nelle tre direzioni dello spazio, per poi essere risolidificato.

- **Selective laser sintering:** questa tecnica ripercorre i passaggi della tecnica a deposizione d'inchiostro, utilizzando però un laser che colpisce una serie di lenti, le quali consentono di orientare il laser stesso sulle parti del polimero da solidificare.

- **Stereolitografia:** il macchinario che si occupa della stereolitografia è formato da un singolo contenitore, al cui interno è posto il polimero liquido. Il polimero in questione è un fotopolimero, che viene solidificato mediante l'utilizzo di una luce laser.

- **3D Bioprinting:** quest'ultima tecnica ripercorre i passaggi della tecnica a deposizione dal fuso, con la differenza che non è previsto un elemento riscaldante: il polimero utilizzato, infatti, è di origine naturale (collagene, alginato...), già in forma di gel. L'estrusione del polimero avviene per mezzo di un elemento che genera pressione sulla siringa contenente il gel. Tramite questa tecnica è possibile non solo stampare lo scaffold ma inserire, per mezzo di una seconda siringa, il farmaco desiderato direttamente in fase di produzione del vettore.

4 PRINCIPALI TIPOLOGIE DI SOMMINISTRAZIONI A RILASCIO CONTROLLATO

Poiché, come già detto, i polimeri biodegradabili si degradano all'interno del corpo, vengono assorbiti o escreti, e non richiedono alcuna procedura chirurgica, hanno attratto particolare attenzione in ambito biomedico, specialmente nel campo del rilascio di farmaci. I polimeri biodegradabili, infatti, trovano impiego non solo in medicina rigenerativa, ma anche nella cura di svariate malattie e nella somministrazione di vaccini (Fig. 25): tramite le diverse forme che essi possono assumere come, per esempio, microparticelle, nanoparticelle, gel, micelle, idrogel, è possibile effettuare diversi tipi di somministrazione, attraverso la pelle, per via oculare, per via orale, tutte adattabili *ad hoc* per ogni esigenza.

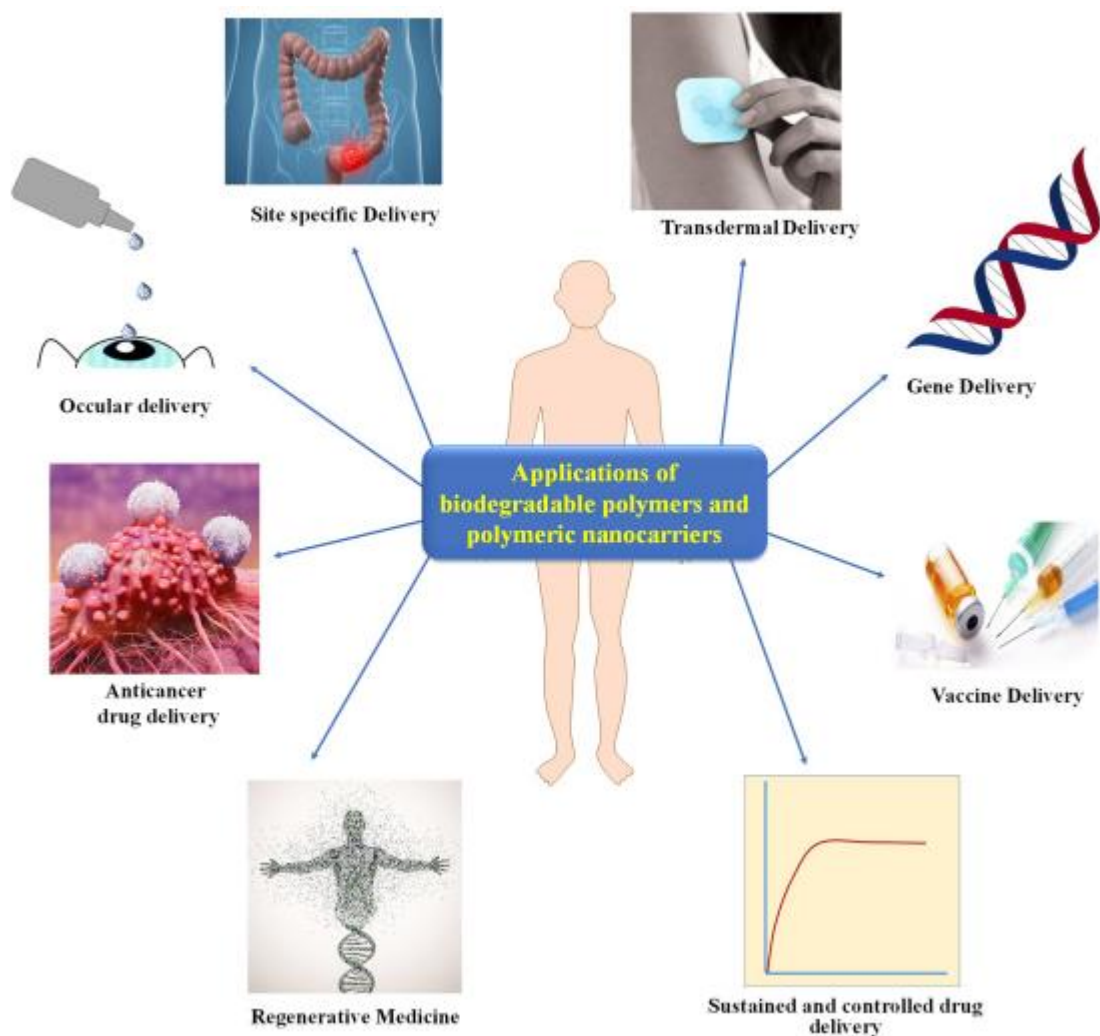


FIGURA 25 – DIVERSE APPLICAZIONI DEI POLIMERI BIODEGRADABILI

4.1 Trattamento per via oculare

Nel caso di trattamenti per via oculare, per fornire la giusta dose di farmaco tramite instillazione di gocce negli occhi sono richieste, nei sistemi farmacologici tradizionali, più somministrazioni ripetute. Le instillazioni ripetute, però, possono portare a un deterioramento dei tessuti dell'occhio (Fig. 26), a causa degli effetti collaterali potenzialmente irritanti e tossici. Per ovviare al problema, possono essere utilizzate nanoparticelle composte da vari polimeri come il chitosano, PLA, PLGA o acido ialuronico (HA). Tali nanoparticelle rimangono impigliate nello strato oculare e interagiscono molto bene con i tessuti sia extraoculari che intraoculari, minimizzando il rischio di reazioni avverse.

Varie proprietà del vettore come la carica superficiale, la dimensione, la lipofilia e l'idrofilia influenzano la penetrazione nel tessuto oculare; per questo motivo, sono stati formulati anche gel di nanoparticelle di chitosano caricati con dorzolamide, capaci di permeazione transcorneale, per il trattamento del glaucoma: in tal modo il rilascio del farmaco è più lento e prolungato, ed il vettore non irrita il tessuto, in quanto il polimero è di natura mucoadesiva. Tale formulazione, poi, non richiede dosaggi frequenti, con miglior compliance del paziente.

Lo sviluppo delle nanotecnologie ha permesso inoltre di rivestire la superficie delle nanoparticelle con acido ialuronico: questa strategia permette un miglioramento dell'endocitosi e ad una più veloce proliferazione delle cellule epiteliali, fondamentale per la guarigione delle ferite corneali.

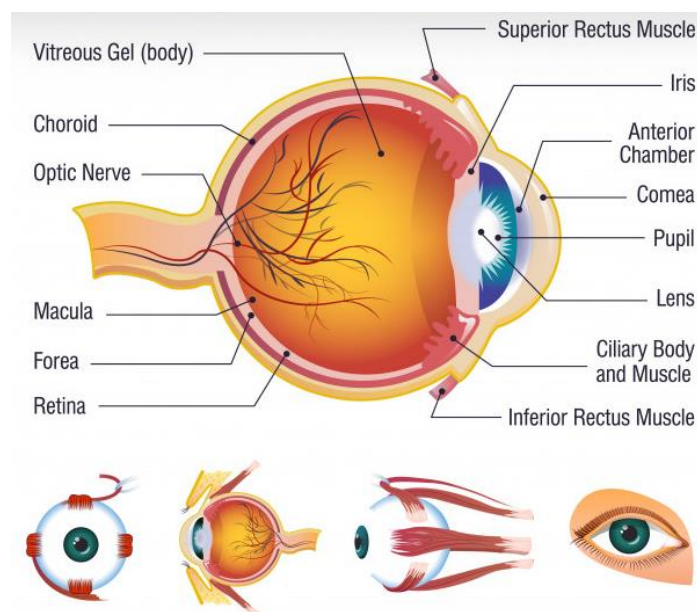


FIGURA 26 – ANATOMIA DELL'OCCHIO UMANO

4.2 Trattamento per via orale

La via orale è considerata una delle meno invasive e di maggiore compliance per il paziente, per la sua natura non invasiva e per la facilità di somministrazione. Tuttavia, la concentrazione di farmaco assorbita nella mucosa buccale è spesso bassa per ottenere un effetto terapeutico accettabile, principalmente dovuto ai movimenti della lingua e masticatori, alla degradazione enzimatica e alla mancanza di permeazione nell'epitelio. Pertanto, l'incapsulamento dei farmaci in nanoparticelle è un'importante strategia per ovviare a tali problemi e assicurare un effetto terapeutico efficace.

La mucosa orale è formata da due strati, la lamina più profonda e l'epitelio squamoso stratificato superficiale (Fig. 27). La mucosa è, inoltre, protetta da un epitelio cheratinizzato con diversi livelli di maturazione cellulare, a seconda della regione del cavo orale. L'epitelio orale è formato da uno strato di 40-50 cellule e il suo spessore è variabile dai 500-600 μm per il rivestimento della bocca fino ad arrivare ai 100-200 μm per il pavimento della mucosa. Le cellule epiteliali superficiali hanno vescicole intracellulari che producono diversi tipi di lipidi (polari o apolari), che svolgono un ruolo chiave nel passaggio delle sostanze. Un altro aspetto fondamentale da tenere in considerazione quando si vuole progettare un dispositivo per via orale efficace è la saliva. La saliva è un fluido biologico presente nel cavo orale prodotto dalle ghiandole sottomandibolari, parotidiche e sublinguali. Essa presenta al suo interno molecole organiche ed elettroliti, che mantengono il pH locale nel range 6 - 7,5, e proteine con diverse proprietà antibatteriche, le quali diminuiscono drasticamente il tempo di emivita del farmaco.

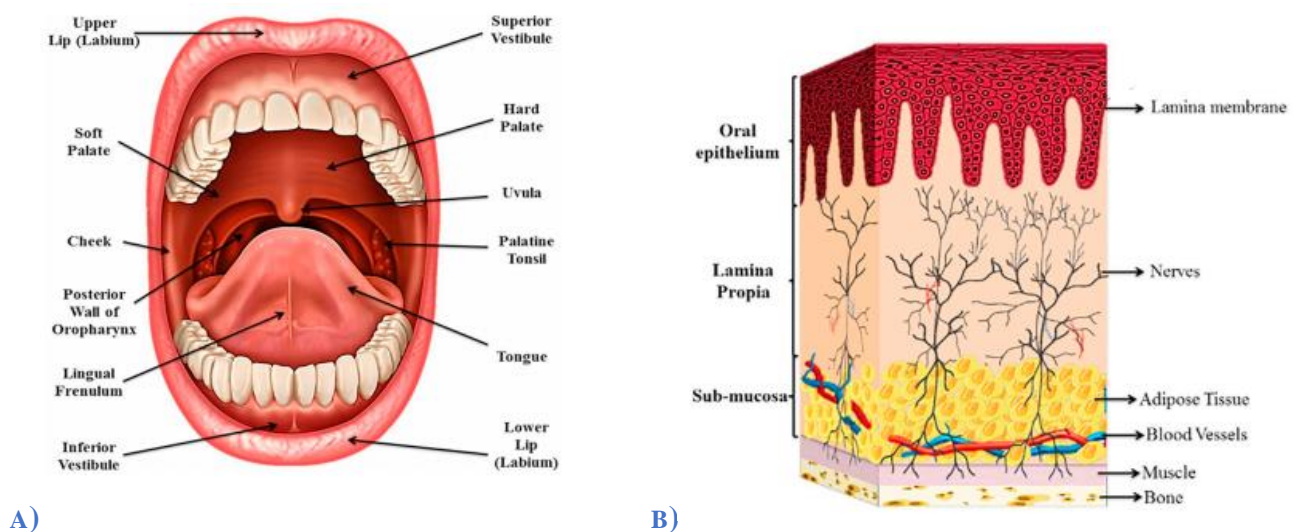


FIGURA 27 – A) ANATOMIA DELLA BOCCA UMANA
B) SCHEMATIZZAZIONE DEGLI STRATI DELLA MUCOSA ORALE

Per aggirare gli svantaggi legati alla somministrazione per via orale, la formulazione del vettore deve essere adeguata a proteggere il farmaco dal pH orale e dalla degradazione enzimatica. A tal fine sono stati studiati idrogel, film e nanoparticelle di polimeri anionici o cationici con buone caratteristiche di mucoadesività e resistenza meccanica. I polimeri anionici, come l'alginato e la carbossimetilcellulosa, si legano alle proteine della mucosa mediante legami a idrogeno. Per i polimeri cationici, come ad esempio il chitosano, invece, la mucoadesività aumenta grazie all'interazione con le porzioni caricate negativamente del muco.

Come già accennato, l'effetto terapeutico si ottiene quando i farmaci permeano le membrane e raggiungono il sito target in una concentrazione sufficiente a provocare un effetto farmacodinamico. Nel caso di somministrazione orale, i farmaci devono diffondere attraverso lo strato di muco e raggiungere l'epitelio buccale per essere assorbiti. Ciò è generalmente semplice per i farmaci piccoli e lipofili che permeano la mucosa orale attraverso la via transcellulare. Le grandi molecole idrofile, invece, vengono veicolate con meno successo per via orale, quindi la loro via di permeazione preferita è la via paracellulare a causa della natura anfifilica dei lipidi intercellulari (Fig. 28).

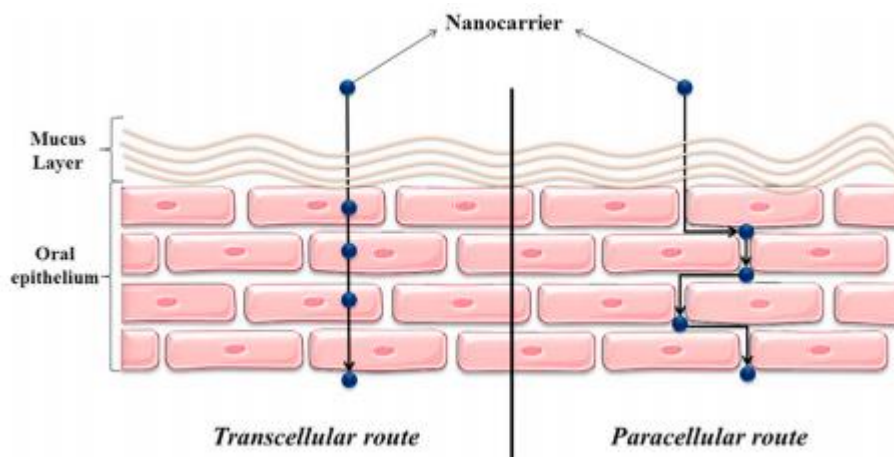


FIGURA 28 – PERMEAZIONE DEI NANOCARRIER ATTRAVERSO LA MUCOSA ORALE

4.3 Rilascio transdermico

Fornire farmaci attraverso la pelle risulta una strada particolarmente attraente, grazie ai suoi numerosi vantaggi: facilità di accesso, di applicazione, di rimozione e di interruzione della terapia, ridotti effetti collaterali sistemici e assenza di dolore. Tuttavia, la pelle funziona come una barriera naturale alle sostanze estranee, impedendo quindi l'ingresso della maggior parte dei farmaci. Altri parametri da tenere in considerazione quando si vuole realizzare un dispositivo per il rilascio transdermico sono l'elasticità della pelle, lo spessore variabile in funzione delle diverse parti del corpo, dell'età, del sesso e dell'indice di massa corporea. Pertanto, numerosi studi sono in atto per sviluppare vari metodi per migliorare la permeabilità del farmaco attraverso la pelle: le principali tecnologie adottate per raggiungere questo obiettivo includono l'elettroporazione, la ionoforesi, l'iniezione a getto, i *microneedles* e l'irradiazione laser.

I principali polimeri che si sono rivelati dei buoni candidati per la somministrazione transdermica di farmaci sono:

- Polimeri biodegradabili che degradano lentamente all'interno della cute, come PLGA, PLA, chitosano, chitina e le loro combinazioni. Per esempio, i cerotti composti di PLGA rilasciano i farmaci lentamente per diversi giorni o mesi attraverso la degradazione del polimero; i microaghi di chitosano, invece, sono in grado di perforare localmente l'epidermide (ovvero lo strato più superficiale della pelle) e forniscono anch'essi un rilascio prolungato nel tempo.

- Polimeri rigonfiabili che non degradano ma assorbono grandi quantità di acqua rimanendo insolubili a causa della forte reticolazione tra le catene: tra essi figurano il polivinil alcol (PVA) e l'acido ialuronico associato ad un gel acrilico. In questo caso il meccanismo di rilascio è la diffusione controllata dalla struttura reticolata del polimero.

I dispositivi transdermici si sono rivelati metodi promettenti per il trattamento di tumori superficiali, per le malattie della pelle e per il rilascio di ormoni contraccettivi. L'applicazione più innovativa, invece, è sicuramente il rilascio fototermico, ampiamente studiato per il trattamento del cancro: quando esposta alla luce infrarossa, una matrice di microaghi riscalda uniformemente il tessuto bersaglio, inducendo un'area di ablazione prima di rilasciare il farmaco nell'area da trattare. Questa terapia si è dimostrata efficace nell'eliminare completamente i tumori dai topi entro una settimana dopo una singola applicazione. Il

riscaldamento è controllato con precisione mediante un meccanismo di accensione e spegnimento di un laser. Il riscaldamento fototermico può essere trasferito direttamente nel sito del tumore ad una temperatura che arriva a toccare i 60 °C entro 5 minuti, minimizzando la dispersione fuori sito e con una buona selettività e riproducibilità.

4.4 Terapia genica

La terapia genica è il processo di introduzione di materiale genetico estraneo, come DNA o RNA, nelle cellule ospiti. Tali molecole possono manipolare l'espressione genica attraverso diversi meccanismi biologici: ad esempio, siRNA e mRNA possono inibire la produzione di proteine, gli RNA lunghi non codificati possono influenzare la segnalazione epigenetica, mRNA può produrre proteine funzionali e indurre cambiamenti permanenti al DNA genomico. Il materiale genetico deve raggiungere il genoma della cellula ospite per indurre l'espressione genica, e per far sì che ciò avvenga, possono essere utilizzate nanoparticelle polimeriche. Esse spesso assumono un ruolo multifunzionale, in quanto vengono utilizzate anche per la diagnosi e la nanoteragnostica, ovvero l'unione di diagnosi, che viene controllata tramite un agente di imaging trasportato dai vettori, e la terapia stessa costituita dal farmaco. Più in dettaglio, per la terapia genica possono essere utilizzate nanoparticelle biodegradabili polimeriche a base di acido ialuronico e lipidi caricate con plasmidi (piccoli filamenti circolari di DNA superavvolto a doppia elica) che vengono rilasciati dalla nanoparticella una volta che essa ha superato la membrana cellulare (Fig. 29).

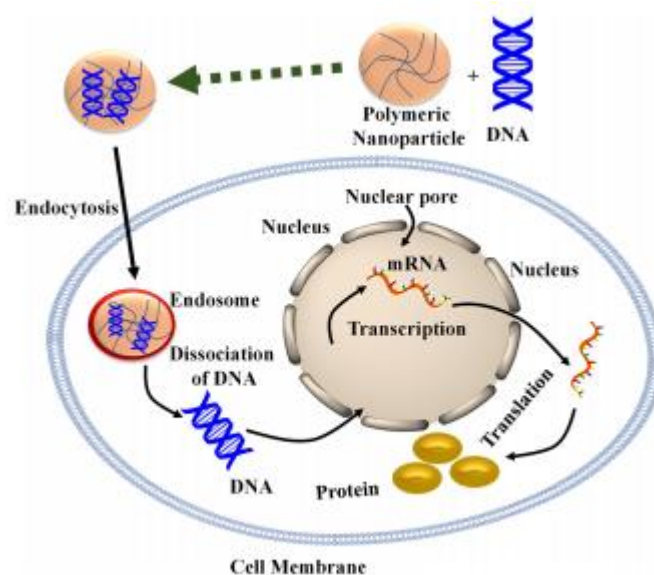
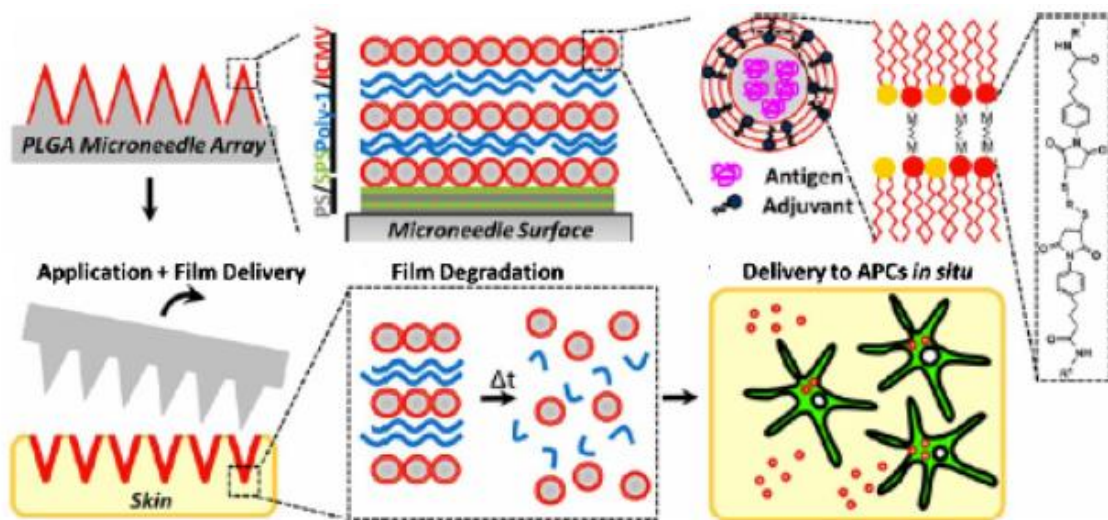


FIGURA 29 – CONSEGNA GENICA DI DNA TRAMITE NANOPARTICELLE

4.5 Nanovaccinologia

La somministrazione di vaccini utilizzando le nanoparticelle è una procedura nota come “nanovaccinologia”. Un vaccino è un composto costituito da agenti patogeni opportunamente trattati, che vengono somministrati a soggetti sani con lo scopo di fornire un’immunità acquisita. Il principio dell’azione della vaccinazione risiede nei meccanismi fisiologici che sfruttano il concetto di memoria immunologica. Si distinguono perciò vaccinazioni preventive o profilattiche, volte a prevenire le malattie infettive e parassitarie, vaccinazioni terapeutiche o curative, impiegate in talune patologie allo scopo di attivare la risposta anticorpale, vaccinazioni desensibilizzanti, impiegate per controllare patologie dovute a fenomeni di ipersensibilità.

Le nanoparticelle rappresentano un ottimo carrier in questo senso: esistono infatti varie formulazioni di nanoparticelle che forniscono una risposta immunitaria efficiente grazie al rilascio prolungato di antigeni. Inoltre, sono state sviluppate nanoparticelle di PLGA che incapsulano in maniera efficiente l’antigene influenzale (AIV) per la somministrazione mucosale del vaccino. Un altro metodo innovativo prevede l’utilizzo di microaghi (Fig. 30): la somministrazione dei vaccini tramite *microneedles* testata sui topi ha generato una buona risposta cellulare; successivamente alle sperimentazioni sui topi sono stati dunque studiati vaccini a microaghi contro la rosolia, il morbillo e l’influenza.



**FIGURA 30 – MICROAGHI CONTENENTI L’ANTIGENE
PER LA SOMMINISTRAZIONE DI VACCINI**

5 PRINCIPALI MALATTIE TRATTATE MEDIANTE DISPOSITIVI A RILASCIO CONTROLLATO

5.1 Malattie metaboliche: Obesità

Le malattie metaboliche, chiamate anche errori congeniti del metabolismo, costituiscono una categoria di malattie genetiche causate dall'alterato funzionamento di una specifica via metabolica. Una via metabolica è l'insieme di tutte le trasformazioni biochimiche che avvengono nel corpo sui prodotti di derivazione alimentare o su composti già presenti, e che li rendono utilizzabili, impedendone l'accumulo.

Tra le principali condizioni di rischio che predispongono allo sviluppo della sindrome metabolica possiamo citare:

- Quantità eccessiva di grasso corporeo con variazione del rapporto peso-altezza (il cosiddetto *Body Mass Index* o BMI);
- Elevati valori di colesterolo e trigliceridi nel sangue;
- Ipertensione arteriosa;
- Resistenza all'insulina, ormone che regola la quantità di zucchero nell'organismo.

L'obesità, la più diffusa tra le malattie metaboliche, è caratterizzata da un accumulo ectopico ed eccessivo di tessuto adiposo che aumenta notevolmente il peso corporeo e compromette la normale funzione fisiologica del corpo. Lo stile di vita è ciò che influisce maggiormente sulla gestione del peso, ma un'attività fisica regolare e una dieta varia ed equilibrata in alcuni casi possono essere difficili da effettuare e da mantenere, e spesso non sono sufficienti. Di conseguenza, la farmacoterapia è generalmente considerata un'opzione di trattamento aggiuntivo che agisce attraverso le vie del sistema nervoso centrale per ridurre l'appetito, aumentare il senso di sazietà o diminuire l'assorbimento dei grassi.

Diversi vettori sono perciò stati progettati per la somministrazione di farmaci antiobesità e ridurre gli effetti collaterali che la farmacoterapia convenzionale comporta. Tra i principali veicoli polimerici figurano gli idrogel, i microaghi, micro- e nanoparticelle e i liposomi.

5.2 Soppressione dell'appetito: Polimeri coniugati

La prima strategia che viene messa in atto contro l'obesità è la soppressione dell'appetito tramite coniugati polimerici. La proteina regolatrice dell'appetito è la leptina, che viene secreta dagli adipociti e agisce direttamente sul cervello umano per inibire i recettori dei neuroni dopaminergici (Fig. 31). Spesso, nei casi di obesità, la leptina mostra resistenza nella barriera emato-encefalica a causa di un malfunzionamento dei recettori ipotalamici. Per superare tale barriera, la leptina è stata coniugata con dei copolimeri triblocco anfifilici, come quelli pluronici (costituiti da blocchi polietilenoossido e polipropilenoossido). La leptina pluronica ha mostrato una migliore biodisponibilità periferica e un maggior accumulo cerebrale, fattori che consentono una riduzione del senso di appetito, e dunque dell'assunzione di cibo nel caso di obesità indotta da una dieta ricca di grassi. Questo risultato ha dimostrato che gli analoghi della leptina possono, attraverso una opportuna modifica chimica, superare più facilmente la barriera emato-encefalica.

Esistono anche idrogel a base di metilcellulosa, contenenti anche nanoparticelle d'oro, caricate di leptina. La leptina, in questo caso, quando viene rilasciata dagli idrogel inibisce direttamente l'accumulo di grasso negli adipociti.

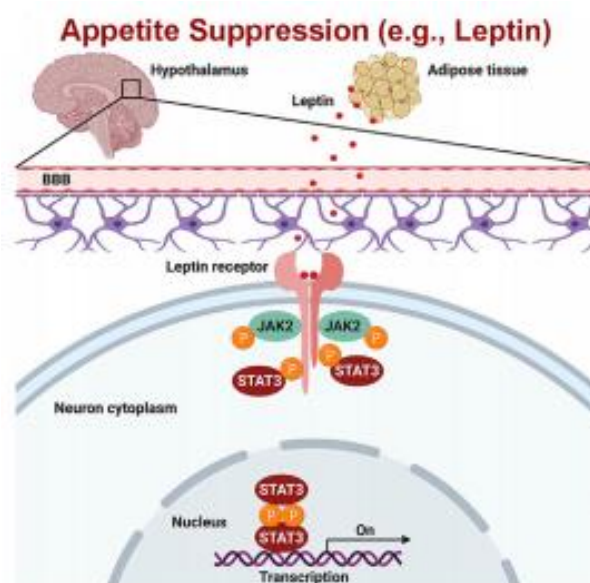


FIGURA 31 - PENETRAZIONE DELLA LEPTINA ATTRAVERSO LA BARRIERA EMATO-ENCEFALICA O BLOOD-BRAIN BARRIER (BBB)

5.3 Diminuzione dell'assorbimento dei grassi: Idrogel

La seconda strategia adottata nella cura dell'obesità prevede la diminuzione dell'assorbimento dei grassi attraverso l'impiego di idrogel polimerici. Sono stati sviluppati idrogel di PLGA, carichi con epigallocatechina gallato (EGCG) (Fig. 32), la più abbondante catechina presente in natura con alto potere antiossidante, e sono stati somministrati a pazienti obesi. In un periodo di 30 giorni, l'impianto di idrogel-EGCG ha mostrato una riduzione del 35,6% dell'aumento di peso corporeo rispetto al periodo precedente la somministrazione. Inoltre, sono stati rilevati livelli più bassi di colesterolo "cattivo" LDL (lipoproteine a bassa densità) e trigliceridi e livelli più alti di colesterolo "buono" HDL (lipoproteine ad alta densità). Questi risultati suggeriscono una promettente opportunità per la somministrazione di farmaci antiobesità a rilascio prolungato.

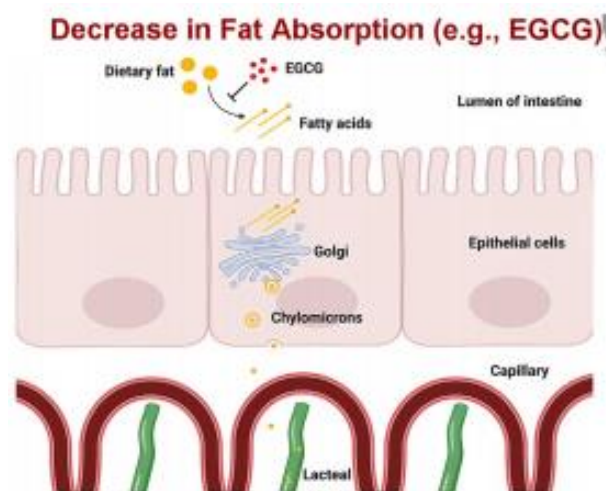


FIGURA 32 - DIMINUZIONE ASSORBIMENTO DEI GRASSI EGCG

5.4 Conversione di grasso bianco in grasso bruno: Cerotti con *microneedle*

La terza strategia per il trattamento dell'obesità prevede la conversione di grasso bianco in grasso bruno (Fig. 33): il tessuto adiposo bruno, a differenza di quello bianco, non contiene un'unica grossa massa di trigliceridi ma tante piccole gocce. Esistono perciò cerotti con *microneedle* costituiti di PLGA e acido ialuronico che forniscono farmaci antiobesità (farmaci b3-adrenergici, che innescano l'imbrunimento del grasso bianco) direttamente al tessuto adiposo bianco sottocutaneo. Grazie a questa tecnica è stato possibile diminuire il dosaggio efficace riducendo al minimo i potenziali effetti avversi di iperattivazione dei recettori b3 tipici della somministrazione sistemica classica. I microaghi a base di acido ialuronico possono anche

essere utilizzati per fornire caffeina, un comune alcaloide naturale in grado di ridurre il peso corporeo attraverso la stimolazione della lipolisi.

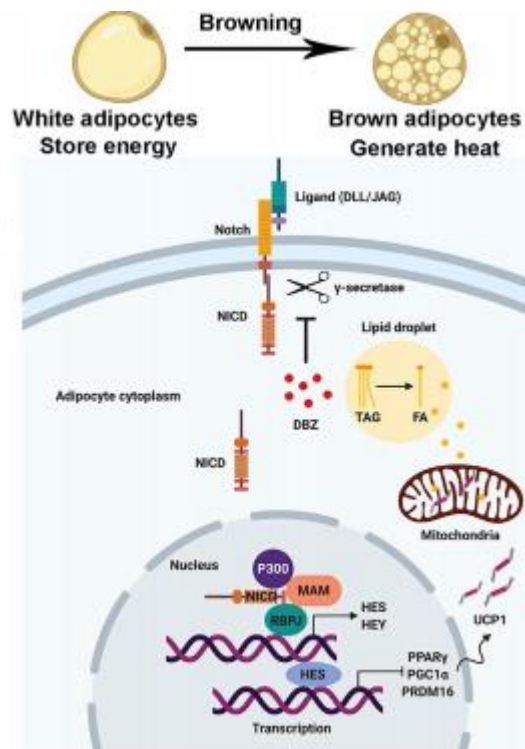


FIGURA 33 – CONVERSIONE GRASSO BIANCO IN GRASSO BRUNO

5.5 Aumento del dispendio energetico: Micro- e nanoparticelle

Le particelle condividono vantaggi simili ai dispositivi a base di idrogel e microaghi in termini di rilascio diretto nel sito terapeutico, un'elevata concentrazione locale di farmaco e riduzione al minimo della tossicità e degli effetti collaterali sistemici. Le micro- e nanoparticelle possono essere utilizzate come serbatoi per contenere metaboliti di origine vegetale come i capsaicinoidi, che aumentano il dispendio energetico di 50 kcal/giorno, inducendo una perdita di peso clinicamente significativa entro 1-2 anni. La formulazione particellare ottimizzata è in grado di migliorare la tollerabilità gastrica della capsaicina, prevenendo l'infiammazione nello strato sottomucoso dello stomaco, e di diminuire i depositi di grasso mesenterico e retroperitoneale.

5.6 Diabete

Il meccanismo fisiopatologico alla base della stretta relazione fra eccesso di peso e alterazioni del metabolismo del glucosio è quello dell'insulino-resistenza. Si parla di insulino-resistenza quando le cellule dell'organismo diminuiscono la propria sensibilità all'azione dell'insulina; ne consegue che il rilascio dell'ormone, in dosi note, produce un effetto biologico inferiore rispetto a quello previsto, portando l'organismo in una condizione di iperglicemia. Dato che l'insulina è un ormone essenziale per consentire il passaggio del glucosio dal sangue alle cellule (Fig. 34), impedendo che la sua concentrazione ematica (glicemia) si alzi troppo, è opportuno intervenire dall'esterno in modo tale da prevenire il diabete o correggere quest'ultimo nel caso fosse già presente.

Per quanto riguarda i sistemi di rilascio controllato di farmaci, i *microneedle* si sono rivelati interessanti carrier transdermici di insulina, che costituisce un trattamento salvavita per i diabetici di tipo 1. Tali microaghi possono fornire insulina in modo indolore con una minima invasività, evitando lo scarso assorbimento dell'insulina nel tratto gastrointestinale tipico della somministrazione per via orale. Questi dispositivi contengono vescicole glucosio-reattive (GRV) caricate con insulina e con l'enzima glucosio ossidasi, e rilasciano insulina in condizioni iperglicemiche attivando la dissociazione della vescicola stessa.

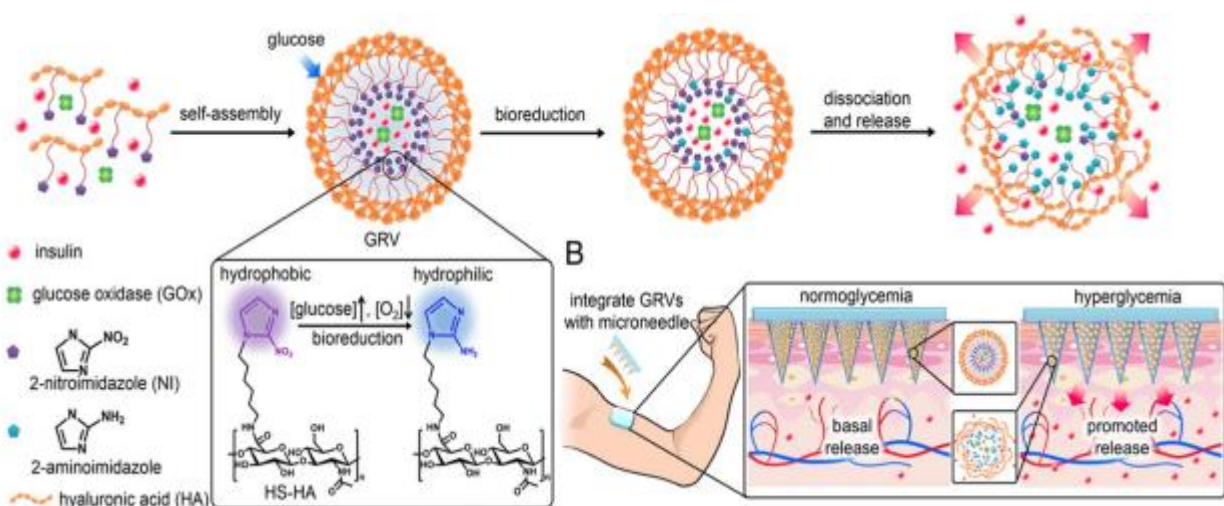


FIGURA 34 - SCHEMATIZZAZIONE DEL RILASCIO DI INSULINA

5.7 Malattie vaginali

Le malattie vaginali possono essere dovute a batteri, funghi, parassiti e virus, che provocano infezione e infiammazioni, o da agenti causali come le malattie sessualmente trasmissibili quali la clamidia, la gonorrea, la tricomoniasi, l'herpes genitale o, nei casi peggiori, l'epatite B o C e HIV-Aids. Ovviamente in questi casi la vagina è la principale via di somministrazione locale di farmaci per bypassare il metabolismo del fegato al quale sono sottoposti i farmaci per via orale. A differenza della via orale, però, la via vaginale presenta alcuni inconvenienti come, per esempio, l'abbondante muco prodotto dalla vagina stessa, che diventa una barriera per le forme di dosaggio convenzionali. Perciò, è necessario disporre di una forma di dosaggio che oltre a superare la barriera fisiologica presenti anche altri vantaggi come la muco-adesività, la facile penetrazione della mucosa ed un rilascio mirato e controllato. A tal fine possono essere utilizzate nanoparticelle polimeriche sia naturali che sintetiche: tra i polimeri naturali possiamo citare il chitosano, che agisce da muco-adesivo e aumenta il tempo di ritenzione, migliorando l'attività del farmaco, mentre tra i polimeri sintetici figurano principalmente il PLGA e il PCL.

5.8 Tubercolosi

La tubercolosi, nota anche con la sigla TBC, è una malattia infettiva provocata da un microbatterio, il *Mycobacterium tuberculosis* (o bacillo di Koch). Nella maggior parte dei casi, la tubercolosi attacca solitamente i polmoni, distruggendo progressivamente gli alveoli, cioè le piccole "sacche" situate al termine dei bronchioli, nelle quali avvengono gli scambi tra ossigeno e anidride carbonica.

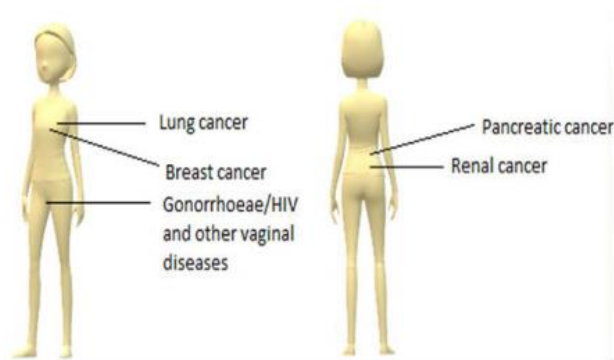
Per curare la tubercolosi tramite dispositivi a rilascio controllato è stato studiato il modello "zebrafish" che prende il nome dal pesce su cui è stato testato. Nel modello vengono utilizzate delle nanoparticelle di PLGA incapsulate con tioridazina. La tioridazina è molto tossica sia per gli embrioni che per le cellule di zebrafish, mentre nessuna tossicità è stata osservata dopo l'incapsulamento del farmaco nelle nanoparticelle. La combinazione tra polimero e farmaco ha portato ad un miglioramento dell'efficacia di incapsulamento, con conseguente aumento dei tassi di inibizione e apoptosi nelle cellule polmonari malate del pesce. Per quanto riguarda le applicazioni sull'uomo vi sono studi relativi all'utilizzo di film sottili di PCL.

5.9 Cancro

Il cancro è una delle malattie più gravi e mortali a livello mondiale. Con il termine cancro si fa riferimento ad una condizione patologica dovuta alla mutazione del DNA all'interno delle cellule. Il DNA delle cellule contiene informazioni su come esse debbano crescere e moltiplicarsi ed una sua modificazione comporta una non controllata proliferazione di cellule malate che hanno la capacità di infiltrarsi negli organi e tessuti sani alterandone la struttura e il funzionamento. È possibile classificare i tumori in vari modi, a seconda dell'organo nel quale si sviluppano, del tipo di cellule che si vengono a formare, dello stadio al quale si trova la malattia e della diagnosi (Fig. 35).

Ogni tumore richiede un approccio diverso e spesso anche tempi di cura diversi. In generale, più una diagnosi è precoce più la cura può essere tempestiva ed efficace. Si considera generalmente guarita una persona che non manifesti più segni o sintomi di malattia dopo 5 anni dal termine delle cure. In alcuni casi, come alcune forme di tumore polmonare o della prostata, si preferisce aspettare 10 anni prima di sciogliere la prognosi. Questo non significa che la persona sia sottoposta continuamente a cure, anzi: spesso queste si concentrano nei primi mesi dopo la diagnosi e, in seguito, si procede solo con controlli periodici per verificare l'eventuale presenza di cellule tumorali residue o la ripresa di malattia.

Fino a pochi anni fa la chemioterapia e le tecniche chirurgiche erano gli unici metodi di trattamento del cancro. Queste cure, sebbene salvavita, non sono in grado di distinguere le cellule tumorali da quelle sane, e ciò provoca una quantità enorme ed estesa di effetti collaterali sistemici, che causano seri danni alle cellule sane. Grazie alla ricerca, però, è stato possibile realizzare dispositivi a rilascio controllato e mirato anche per il trattamento delle cellule tumorali, al fine di ridurre al minimo tutti questi effetti collaterali.



**FIGURA 35 – DIFFERENTI TIPOLOGIE DI CANCRO CURATI CON DISPOSITIVI
A RILASCIO CONTROLLATO**

L'importanza di tale approccio si basa sul fatto che molti tumori solidi vascolarizzati come anche i noduli tumorali metastatici mostrano una maggiore permeabilità e un maggiore effetto di ritenzione che può essere sfruttato per il targeting passivo di agenti antitumorali. I tessuti tumorali, infatti, tendono ad accumulare molecole ad alto peso molecolare come i polimeri e piccole particelle di diametro compreso tra i 20-550 nm: esse, infatti, devono essere abbastanza piccole da passare negli spazi tra le cellule endoteliali del sistema vascolare tumorale, ma allo stesso tempo sufficientemente grandi da evitare la fuga dal tessuto stesso.

I dispositivi a rilascio controllato che combinano i farmaci chemioterapici con i trasportatori polimerici idrosolubili sono molto promettenti e offrono terapie contro il cancro più sicure e complianti per il paziente rispetto alle opzioni attuali (Fig. 36). La versatilità della struttura del polimero consente di regolare le proprietà del coniugato polimero-farmaco in base alle esigenze dei trattamenti specifici. Salvo rare eccezioni, i coniugati polimero-farmaco sono costituiti da uno scheletro polimerico idrosolubile di architettura variabile che conferisce biocompatibilità, buona solubilità e assicura una facile circolazione all'interno del corpo; tra il polimero e il farmaco viene introdotto un distanziatore biodegradabile che è progettato per facilitare il controllo del rilascio. A volte è presente anche un quarto componente, che assicura la consegna del coniugato al suo target specifico.

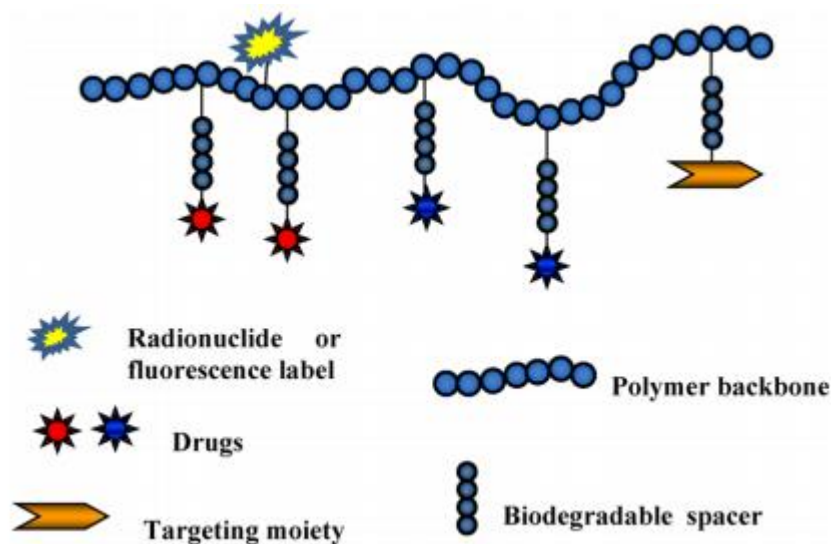


FIGURA 36 – SCHEMA DEL CONIUGATO POLIMERO-FARMACO

Un'altra peculiarità dei tessuti tumorali è la cosiddetta apoptosi difettosa, che rappresenta una delle principali cause di sviluppo e progressione del cancro. La capacità delle cellule tumorali

di sfuggire alla morte cellulare programmata ha lasciato perplessi gli scienziati per decenni e ha ostacolato l'efficienza di molti regimi terapeutici. Gli sforzi della ricerca si sono concentrati sulla comprensione dei meccanismi di apoptosi e sullo sviluppo di strategie per indurre selettivamente l'apoptosi nelle cellule tumorali; tra i metodi più innovativi in questo senso troviamo le micelle polimeriche. Esse, infatti, possono essere utilizzate come veicolo per il controllo e la somministrazione mirata di farmaci chemioterapici grazie alla loro biodegradabilità, al tempo di circolazione prolungato e all'elevata capacità di incapsulamento di farmaco (Fig. 37). Inoltre, l'endocitosi mediata dai recettori e dal pH ha un grande effetto sull'assorbimento delle micelle all'interno delle cellule tumorali. Esse, inoltre, possono essere rivestite di acido ialuronico, che costituisce un perfetto ligando per colpire i recettori CD44 presenti all'interno delle cellule tumorali.

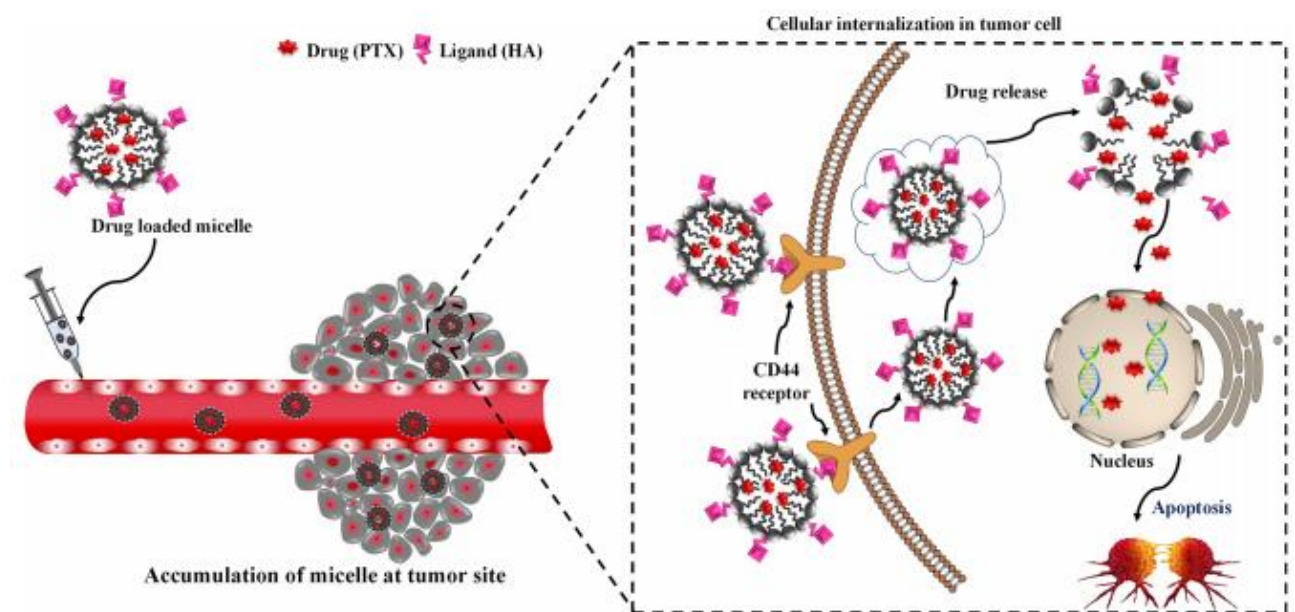


FIGURA 37 – CONSEGNA INTRACELLULARE TRAMITE MICELLE POLIMERICHE

5.10 Tumore del colon

Il tumore al colon, o cancro al colon, è la neoplasia maligna dell'intestino crasso, dovuta alla proliferazione incontrollata di cellule costituenti il tratto colon-retto. Anche in questo caso, al fine di limitare gli effetti collaterali sistemici legati al trattamento chemioterapico, sono stati sviluppati dispositivi per il trattamento localizzato della malattia. Un esempio esplicativo è dato dallo studio di nanoparticelle di chitosano accoppiato con acido ialuronico tramite gelificazione

ionotropica. All'interno delle nanoparticelle viene inserito il farmaco 5-fluorouracile (5FU) che viene poi rilasciato quando la nanoparticella colpisce i recettori dell'acido ialuronico che solitamente sono presenti in grande quantità nei tessuti tumorali. Pertanto, le nanoparticelle possono colpire i tumori del colon sia tramite il legame tra acido ialuronico e i suoi recettori, sia tramite effetto EPR (maggiore permeabilità e ritenzione), ovvero viene sfruttata la capacità intrinseca del tumore di trattenere facilmente alcune molecole come lipidi e nanoparticelle.

5.11 Artrite reumatoide

L'artrite reumatoide è una malattia infiammatoria cronica autoimmune che colpisce in maniera selettiva le articolazioni. Tra le malattie osteoarticolari essa rappresenta la malattia più severa in termini di danno strutturale delle articolazioni, di complicanze extra-articolari e di danno osseo secondario. Come accade anche per altre malattie autoimmuni, è lo stesso sistema immunitario ad attaccare i tessuti sani non riconoscendoli come tali. Il "bersaglio" privilegiato degli anticorpi in questo caso è la membrana sinoviale che riveste l'interno della capsula articolare. Tale membrana reagisce all'infiammazione aumentando di volume e dando origine al panno sinoviale. Questo si espande fino a provocare la graduale distruzione della cartilagine, ma può arrivare nei casi più gravi a toccare le ossa e gli altri tessuti circostanti.

Un approccio affidabile per mirare direttamente il sito d'infiammazione prevede l'uso di nanoparticelle: dal momento che le cellule delle articolazioni infiammate sovraesprimono il recettore CD44, le nanoparticelle vengono rivestite di acido ialuronico che si lega specialmente a questo recettore per la consegna di farmaco sito-specifica. I vettori, costituiti da albumina e rivestiti di acido ialuronico, contengono al loro interno etoricoxib, un farmaco antinfiammatorio, che inibisce la COX-II (cicloossigenasi). Dopo l'iniezione, è stata riscontrata una significativa diminuzione dell'entità dell'edema nell'arco di 24 ore, ed una riduzione delle citochine associate al fattore di crescita endoteliale vascolare.

Uno studio condotto sui topi ha invece utilizzato il farmaco tacrolimus, un immunosoppressore con proprietà antiartriche, che agisce sopprimendo l'infiammazione e prevenendo danni alle ossa e alle cartilagini. Le nanoparticelle di albumina caricate con tacrolimus, sui topi, dopo 25 giorni hanno risolto ogni segno dell'artrite, riducendo drasticamente l'eritema e il gonfiore.

6. CASI DI STUDIO

In questo paragrafo della presente Tesi, ci si è focalizzati sui sistemi copolimerici e materiali ibridi progettati e realizzati dal gruppo di ricerca della Prof. Lotti, relatrice del presente elaborato. I due sistemi copolimerici, che verranno ampiamente presi in esame di seguito, sono caratterizzati da una diversa architettura macromolecolare, e contengono una co-unità in cui è presente un eteroatomo, nello specifico l'ossigeno, mentre il materiale ibrido è stato ottenuto miscelando PBS e cheratina. Le ricerche hanno avuto lo scopo di correlare le proprietà finali dei materiali alla modifica introdotta. Sono stati svolti anche approfondimenti relativi al loro impiego nel campo del rilascio controllato di farmaco.

6.1 Poli(butilene/trietilene succinato)

I materiali oggetto del presente lavoro di ricerca sono copolimeri statistici a base PBS (poli(butilene/trietilene succinato) P(BSmTESn)) contenenti diverse quantità di sequenze PEG-like, sintetizzati mediante policondensazione in massa. I monomeri utilizzati sono dimetil succinato, l'estere dimetilico dell'acido succinico, e miscele di 1,4 butandiolo e trietilenglicole, in diversi rapporti molari (m e n) (Fig. 38).

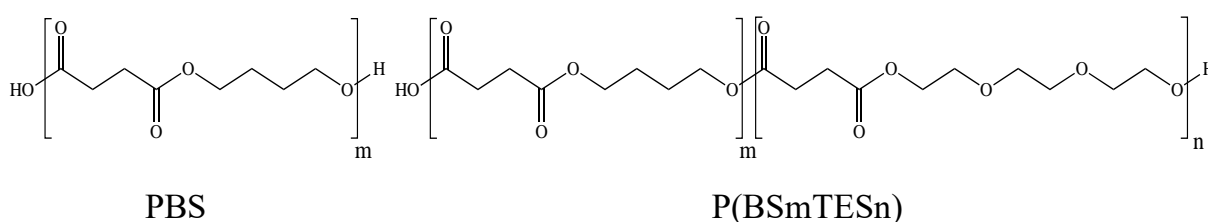
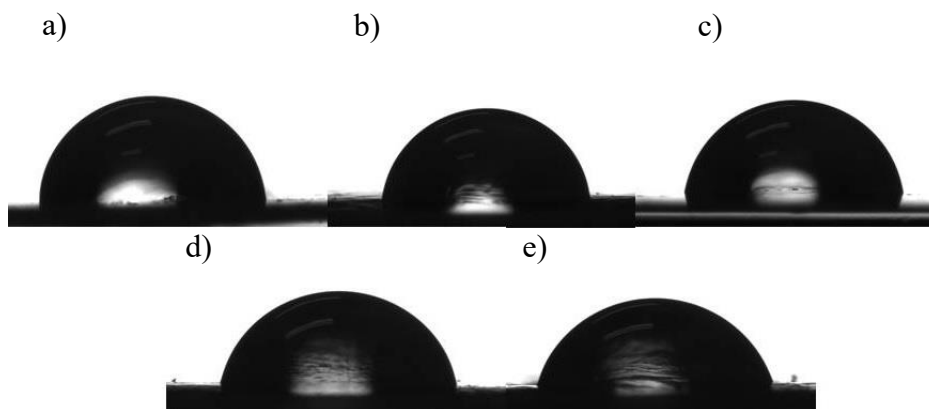


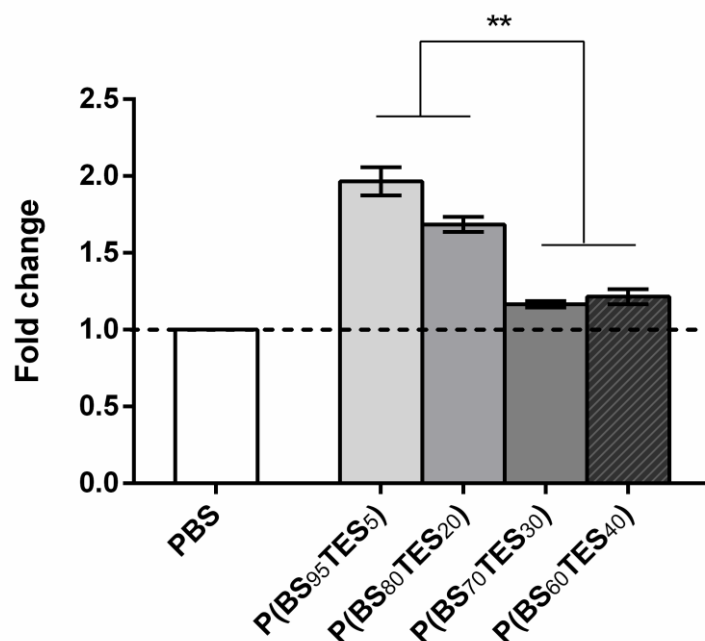
FIGURA 38 – STRUTTURA CHIMICA DEL PBS E DEL SUO COPOLIMERO

I materiali ottenuti sono stati prima caratterizzati dal punto di vista molecolare, termico e strutturale; successive caratterizzazioni (test meccanici, di biodegradabilità idrolitica, test di vitalità cellulare e di rilascio di farmaco da particelle) hanno avuto lo scopo di valutare le loro potenzialità in due ambiti biomedici, in particolare quello dell'ingegneria tissutale e quello del rilascio controllato di farmaco. L'introduzione nella catena del PBS di segmenti PEG-like è responsabile di un aumento dell'idrofilicità superficiale (Fig. 39), misurata su film ottenuti per pressofusione e confermata dalla diminuzione del valore del WCA; tale decremento è risultato direttamente proporzionale alla quantità di unità TES presenti in catena.



**FIGURA 39 - IMMAGINI DI PROVE DI ANGOLO DI CONTATTO SU FILM DI:
A) PBS, B) P(BS95TES5), C) P(BS80TES20), D) P(BS70TES30); E) P(BS60TES40).**

L'aumento di tali unità porta anche ad una diminuzione della temperatura di fusione e del grado di cristallinità, e, di conseguenza, un aumento della velocità di degradazione idrolitica. In aggiunta, i copolimeri sono caratterizzati da valori di modulo elastico più bassi e allungamenti a rottura più alti rispetto all'omopolimero di riferimento, e dipendenti dal contenuto di co-unità PTES. I test di biocompatibilità sono stati condotti su cellule cardiache embrionali di ratto H9c2: test di citotossicità indiretta hanno mostrato che dopo 72 ore di incubazione, nel terreno di coltura non sono presenti residui tossici, mentre da test di vitalità e proliferazione cellulare è emerso che i campioni P(BS95TES5) e P(BS80TES20) risultano quelli maggiormente biocompatibili (Fig. 40).



**FIGURA 40 - DATI DI BIOCOMPATIBILITÀ DATI DA PROVE REAL TIME PCR
RELATIVE ALL'ESPRESSIONE DEL GENE *MYOSIN HEAVY CHAIN*.**

Infine, per valutare le potenzialità di questi materiali anche nell'ambito del rilascio controllato di farmaci, a partire dal PBS e dal copolimero P(BS60TES40) sono state realizzate nanoparticelle mediante la tecnica della miniemulsione; queste ultime sono state caricate con desametasone, un farmaco corticosteroido utilizzato come molecola modello. Dai risultati ottenuti è evidente come il copolimero risulti migliorativo sia in termini di efficienza di incapsulamento del farmaco (69% contro il 7% del PBS), a causa della sua minore cristallinità (il farmaco occupa infatti preferenzialmente le regioni amorfe della particella rispetto a quelle cristalline), sia in termini di rilascio cumulativo nel tempo: infatti, le particelle copolimeriche rilasciano più velocemente il farmaco; la ragione di tale comportamento è da ricercare ancora una volta nella loro minore cristallinità, nella loro temperatura di fusione, vicina a quella fisiologica (la temperatura alla quale è stato condotto l'esperimento), e nella loro maggiore idrofilicità, che favorisce l'ingresso dell'acqua all'interno della matrice polimerica (Fig. 41).

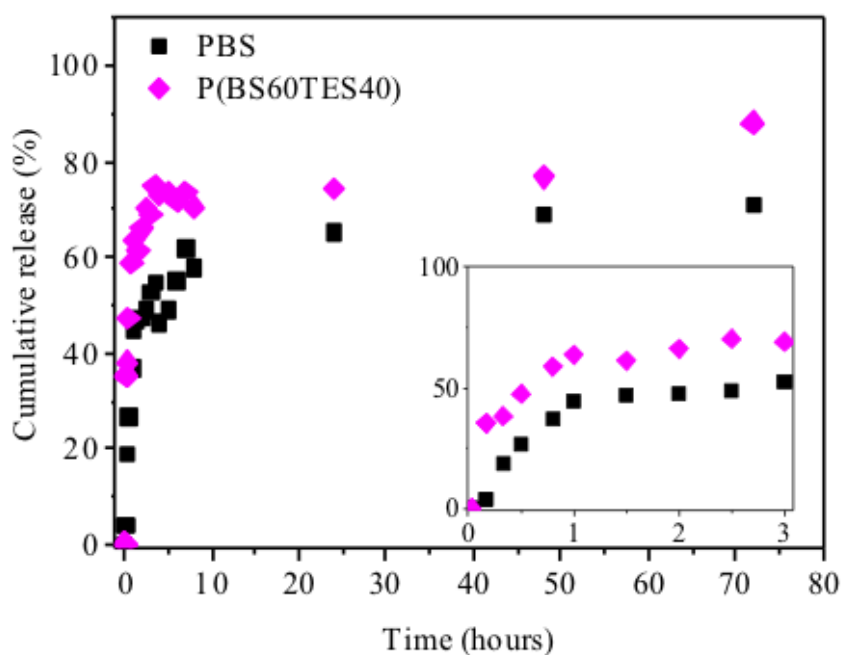


FIGURA 41 - PROFILO DI RILASCIO DI DESAMETASONE (DXM) DA PARTICELLE DI PBS E DI COPOLIMERO P(BS60TES40).

6.2 Copolimeri triblocco a base di PLLA e poli(butilene/trietilene succinato)

Il presente lavoro ha avuto come scopo la sintesi e la caratterizzazione di nuovi copolimeri ad architettura triblocco (A-B-A) ottenuti a partire da acido polilattico (blocco A) e da un copolimero a base di PBS, il poli(butilene/trietilene succinato) P(BSTES), quest'ultimo caratterizzato da due diverse lunghezze dei blocchi BS e TES, ovvero da una diversa architettura molecolare. La struttura chimica è stata pensata appositamente per la preparazione di micro- e nanoparticelle per il rilascio controllato di farmaci. La diversa architettura molecolare del blocco centrale B (a blocchi oppure random) è stata ottenuta miscelando in fuso gli omopolimeri PBS e poli(trietilene succinato) PTES in uguale rapporto molare per tempi diversi (Fig. 42).

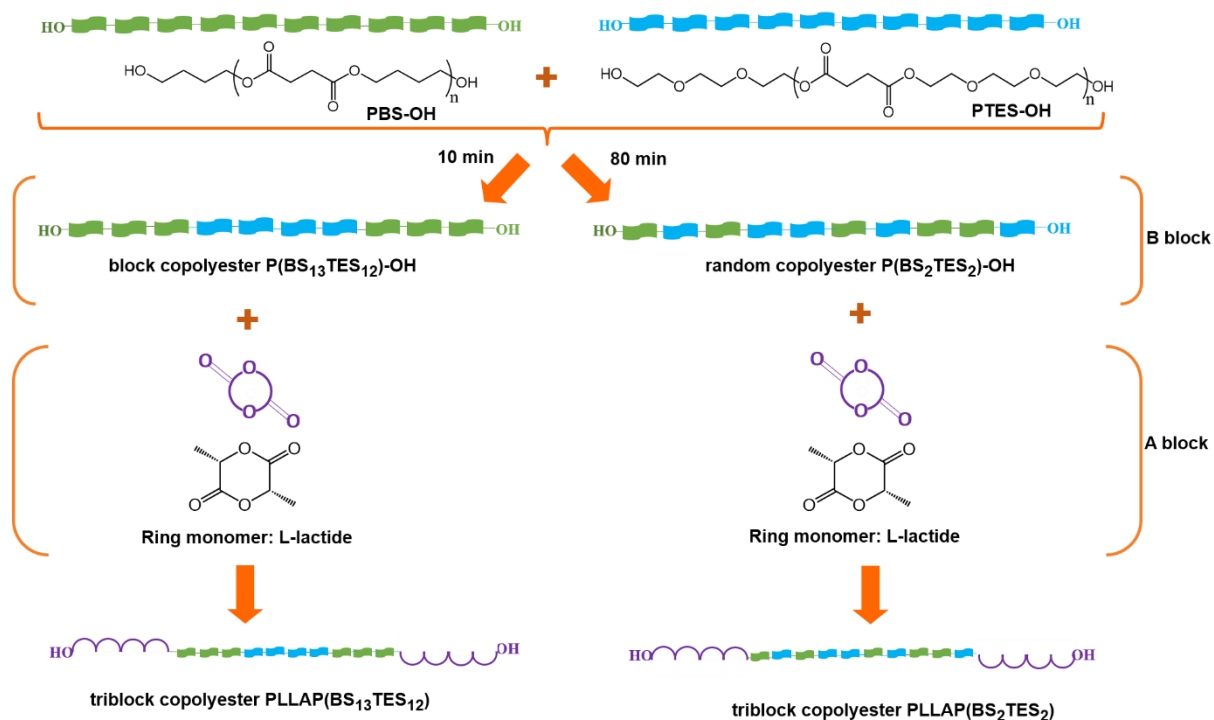


FIGURA 42 - SCHEMA DI SINTESI DEI COPOLIMERI TRIBLOCCO A BASE DI PLLA E P(BSTES).

La modulazione di tale parametro si è rivelata particolarmente efficace per controllare l'idrofilicità, il grado di cristallinità ed il tipo di fase cristallina sviluppata, e la biodegradabilità. Da questi, poi, sono state ottenute mediante la tecnica della miniemulsione particelle micro- e nanometriche al cui interno è stato incapsulato desametasone (Fig. 43).

Sono state quindi condotte prove di rilascio del farmaco in condizioni fisiologiche, che hanno mostrato come sia stato possibile modulare la cinetica ed il meccanismo di rilascio agendo sia sull'architettura molecolare del blocco B sia sulla dimensione delle particelle, a conferma della versatilità di tale sistema per applicazioni nell'ambito del rilascio controllato di farmaco (Fig. 44).

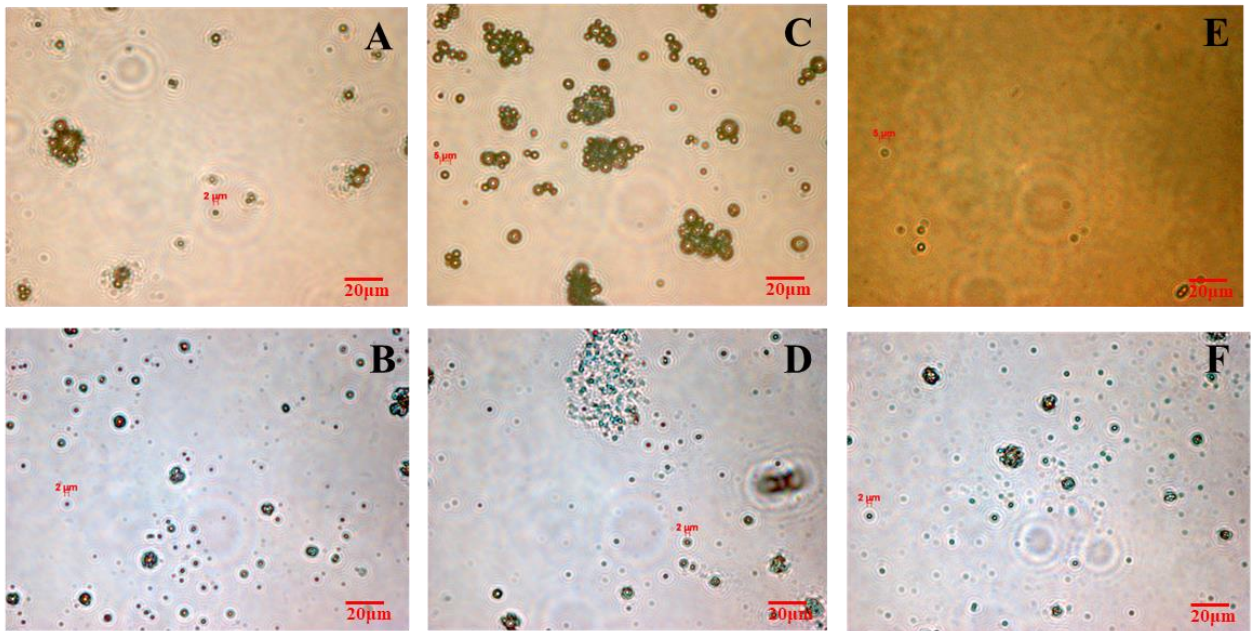


FIGURA 43 - IMMAGINI AL MICROSCOPIO OTTICO DI MICROPARTICELLE VUOTE E CARICATE CON DESAMETASONE (-D) A BASE DI A) PLLA; B): PLLA-D; C): PLLAP(BS13TES12); D): PLLAP(BS13TES12)-D; E): PLLAP(BS2TES2); F): PLLAP(BS2TES2)-D.

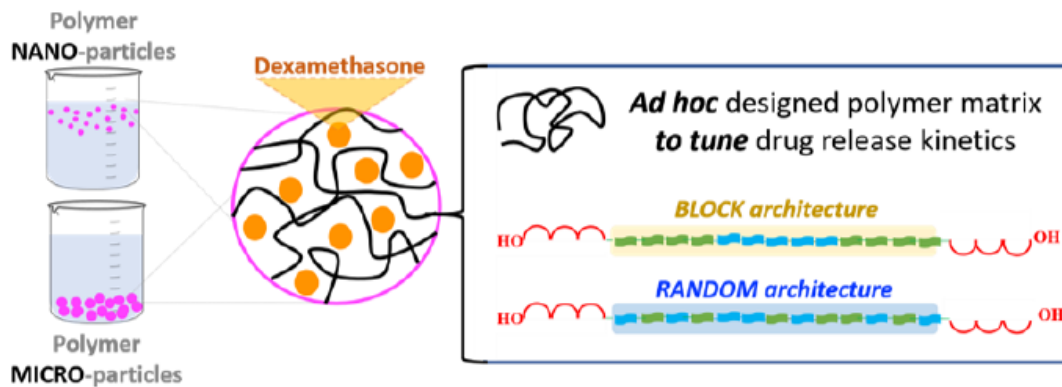
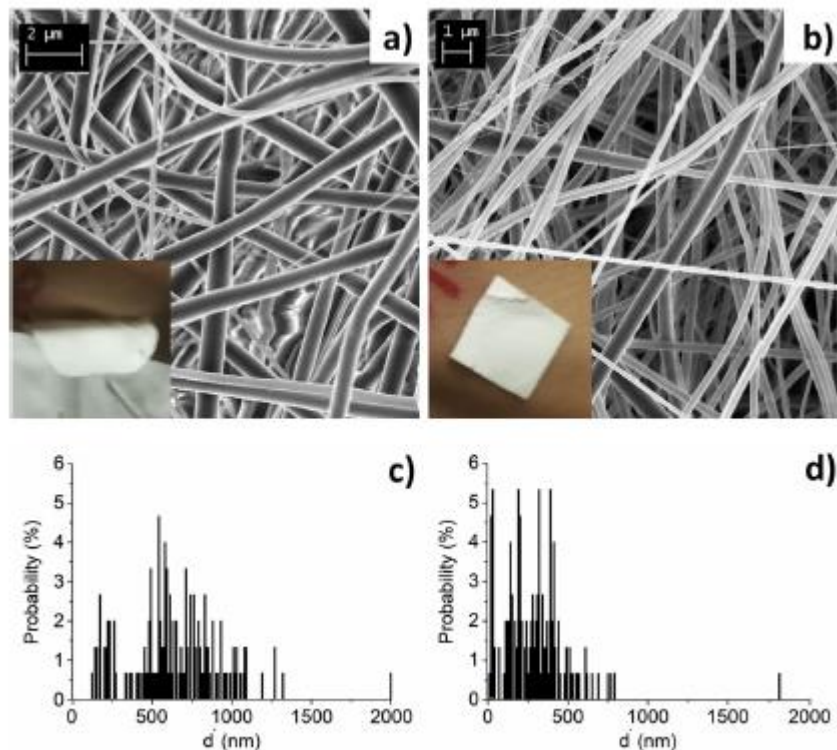


FIGURA 44 - SCHEMA RIASSUNTIVO CHE INDICA COME L'ARCHITETTURA MOLECOLARE E LE DIMENSIONI DELLE PARTICELLE RAPPRESENTINO UN PARAMETRO CHIAVE PER MODULARE IL RILASCIO DI FARMACO.

6.3 Materiale ibrido a base di PBS e cheratina

Nel presente lavoro, è stato realizzato un materiale ibrido a base di un polimero di origine sintetica, il PBS, ed uno di origine naturale, presente in diversi tessuti umani quali unghie e capelli, ovvero la cheratina. Anche in questo caso, tra i possibili ambiti di applicazione di questo sistema polimerico figura il rilascio controllato di farmaci. Più in dettaglio, lo scopo del lavoro è stato quello di ottenere un materiale dalla migliorata biodegradabilità e biocompatibilità, caratteristiche proprie della cheratina, mantenendo inalterate le buone proprietà meccaniche del PBS. Cheratina e PBS sono state miscelate in soluzione, nelle stesse percentuali in peso, usando esafluoro-isopropanolo come solvente. Alle miscele pure di PBS e di PBS e cheratina (Ker-PBS 50-50), è stato poi aggiunto l'antinfiammatorio Diclofenac, utilizzato come farmaco modello, e le soluzioni così ottenute sono state elettrofilate. Come riportato dalle immagini SEM in Fig. 45, il tappetino ibrido risulta omogeneo (fibre lisce, assenza di difetti o agglomerati), facilmente maneggiabile, e con ottime proprietà di adesione alla pelle leggermente bagnata (Fig. 46).



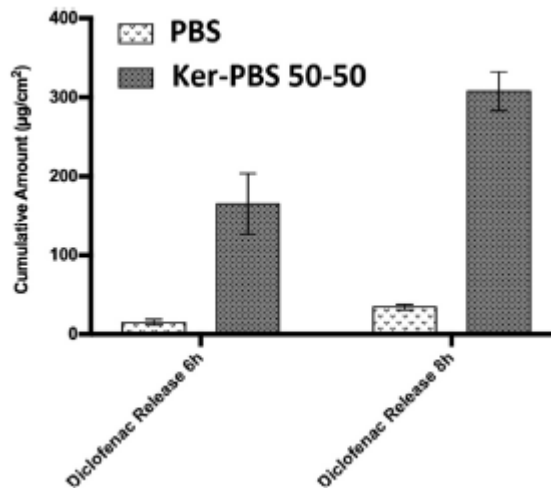
**FIGURA 45 - IMMAGINI SEM DEI TAPPETINI ELETTROFILATI
E DISTRIBUZIONE DEI DIAMETRI DELLE FIBRE.**

Per quanto riguarda la caratterizzazione meccanica, l'introduzione di PBS ha reso possibile ottenere tappetini con proprietà migliorate rispetto a quelle della sola cheratina, che risulta troppo rigida e fragile per essere lavorata in dispositivi in grado di auto-sostenersi. Anche gli studi di degradazione enzimatica hanno mostrato come il sistema ibrido permetta di ottenere un profilo di degradazione modulabile e intermedio rispetto a quello dei due omopolimeri di riferimento.



FIGURA 46 - IMMAGINI RELATIVE ALL'ADESIONE DEI TAPPETINI ALLA PELLE A DIVERSI TEMPI DALL'APPLICAZIONE.

Il sistema è stato ulteriormente caratterizzato analizzando il rilascio cumulativo di Diclofenac in funzione del tempo (Fig. 47): la blend contenente cheratina, rispetto al tappetino di solo PBS, rilascia una quantità di principio attivo dieci volte maggiore già dopo le prime 6 ore, così come anche dopo 8 ore. Questo risultato può essere spiegato sulla base dell'effetto contemporaneo dei fenomeni repulsivi tra farmaco e cheratina, entrambi carichi negativamente a pH fisiologico, e della maggiore superficie specifica dei tappetini composti dalla blend, dovuta alla minore dimensione delle fibre, entrambi fattori che favoriscono il rilascio.



**FIGURA 47 - RILASCIO CUMULATIVO DI DICLOFENAC DOPO 6 E 8 ORE
DAI TAPPETINI DI PBS E DI PBS E CHERATINA.**

Infine, i tappetini sono stati sottoposti ad esperimenti di vitalità cellulare (utilizzando fibroblasti NIH-3T3 come cellule modello), per verificare se la biocompatibilità della cheratina viene mantenuta anche in seguito all'introduzione di PBS. Più in dettaglio (Fig. 48), l'adesione cellulare è risultata buona in entrambi i casi, in quanto le cellule aderiscono e proliferano già dopo le prime 24 ore dalla semina, anche se sul materiale ibrido questi parametri risultano notevolmente migliori, ad ulteriore conferma di come la blend presenti proprietà migliorative rispetto a quelle degli omopolimeri di partenza.

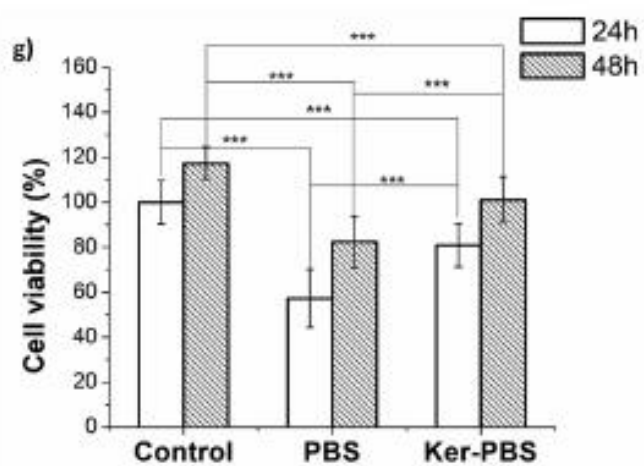
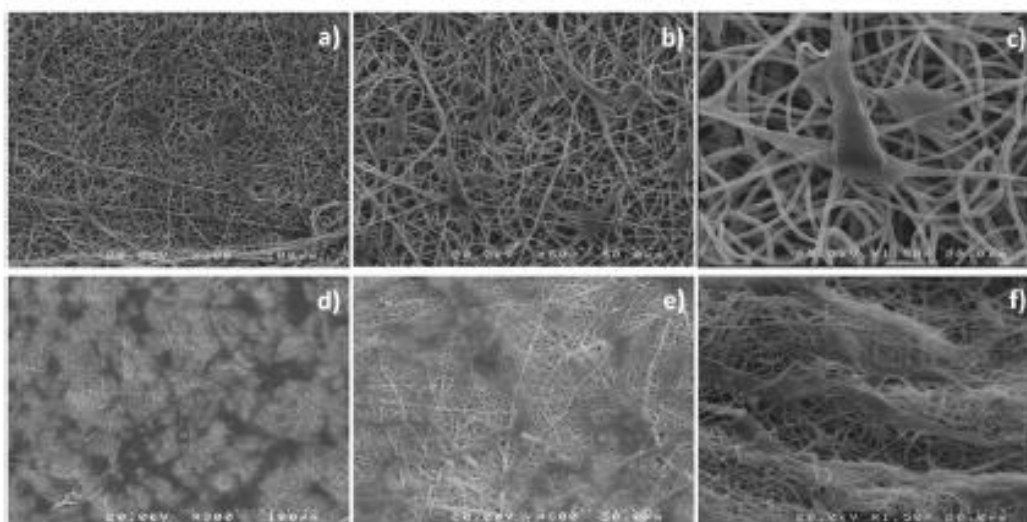


FIGURA 48 - IMMAGINI SEM DELLE CELLULE NIH-3T3 SUI TAPPETINI DI PBS (A-C) E DI KER-PBS 50-50 (D-F). (G) VITALITÀ CELLULARE DELLE CELLULE NIH-3T3 SUI TAPPETINI DI PBS E KER-PBS 50-50.

7. CONCLUSIONI

Il continuo e crescente sviluppo tecnologico nel campo dei dispositivi per il rilascio controllato di farmaci, ha avuto luogo parallelamente alla ricerca di opportuni biomateriali con i quali fosse possibile realizzare diversi tipi di dispositivi, per effettuare un rilascio di principio attivo in maniera mirata, controllata, e ottimizzata in relazione alla specifica terapia, al fine di migliorare quanto più possibile la compliance del paziente. Questi biomateriali, dunque, oltre a soddisfare necessari requisiti di biocompatibilità e, ove richiesto, biodegradabilità, devono anche essere caratterizzati da proprietà modulabili in funzione delle diverse applicazioni e delle diverse patologie da trattare. In questo senso i polimeri, ed in particolare i poliesteri alifatici come PLA, PGA, PLGA, PCL e PBS, oltre ai loro copolimeri e blend, sono i biomateriali più utilizzati grazie alla loro versatilità, lavorabilità, biodegradabilità e biocompatibilità.

Parallelamente, anche il design del dispositivo rappresenta un parametro chiave per modulare la cinetica di rilascio: negli ultimi decenni, l'ascesa della moderna tecnologia farmaceutica e la sorprendente crescita dell'industria biotecnologica hanno rivoluzionato l'approccio ai sistemi di somministrazione di farmaci, grazie alle competenze combinate in ambito di chimica, scienza dei materiali, medicina e ingegneria. Tali ricerche stanno portando risultati molto soddisfacenti, grazie anche alla scoperta di nuove molecole bioattive e terapie geniche, che permettono di sfruttare in modo ancora migliore i vantaggi legati a dispositivi di trasporto e rilascio di farmaci su scala micro- e nanometrica per il trattamento mirato delle malattie.

In questo contesto, si è inserito il presente lavoro di Tesi che ha voluto fornire una panoramica sui dispositivi a rilascio controllato presenti nella letteratura scientifica, e dei materiali, in particolare poliesteri alifatici, principalmente impiegati a tale scopo. Particolare attenzione è stata dedicata anche alle tipologie di somministrazione e alle patologie che attualmente possono essere curate con tali dispositivi. Infine, sono stati riportati alcuni casi studio, relativi a sistemi copolimerici e materiali ibridi realizzati dal gruppo di ricerca della Prof.ssa Lotti, relatrice del presente elaborato, che da anni studia e realizza materiali polimerici innovativi per applicazioni biomedicali, quali ingegneria tissutale e rilascio controllato di farmaci.

In conclusione, sebbene la strada della ricerca sia ancora lunga e complessa, il lavoro effettuato finora ed i risultati ottenuti nell'arco degli ultimi anni sono oltremodo incoraggianti, e confermano le enormi potenzialità dei materiali polimerici e dei dispositivi per il rilascio controllato per il trattamento sempre più efficace di una moltitudine di patologie, rappresentando un concreto e solido punto di partenza per le ricerche future.

BIBLIOGRAFIA

1. “Recent developments in functionalized polymer nanoparticles for efficient drug delivery system”
Srija Sur, Aishwarya Rathore, Vivek Dave, Kakarla Raghava Reddy, Raghuraj, Singh Chouhan, Veera Sadhu, Nano-structures and Nano-objects, volume 20, 2019
2. “Biodegradable polymers and constructs: A novel approach in drug delivery”
Shiv Kumar Prajapatia, Ankit Jainb, Aakanchha Jaina, Sourabh Jain, Journal of Environmental Management, 112, 2012, 87-95
3. “Polymeric nanocarriers as stimuli-responsive systems for targeted tumor (cancer) therapy: Recent advances in drug delivery”
Mosa Alsehli, Department of Chemistry, Taibah University, Madina, Saudi Pharmaceutica Journal 2020, 283:255-265
4. “Recent progress in drug delivery”
Chong Lia, Jiancheng Wangb, Yiguang Wangb, Huile Gaoc, Gang Weid, Yongzhuo Huange, Haijun Yue, Yong Gane, Yongjun Wangf, Lin Meig, Huabing Chenh, Haiyan Hui, Zhiping Zhangj, Yiguang Jink, Acta Pharmaceutica Sinica B, volume 9, 2019
5. “Polymeric microneedles for controlled transdermal drug delivery”
Parbeen Singha, Andrew Carrierc, Yongli Chena,b, Sujing Linb, Jinlin Wangb, Shufen Cuib, Xu Zhangc, Journal Controlled Release 2019, 315:97-113
6. “Hydrogel design strategies for drug delivery”
Cécile A. Dreiss, Current Opinion in Colloid e Interface Science, volume 48, 2020
7. “Polymeric Carriers for Controlled Drug Delivery in Obesity Treatment”
Di Huang, Meng Deng, Shihuan Kuang, Trends Endocrinol Metab 2019, 3012:974-989

8. “Novel and revisited approaches in nanoparticle systems for buccal drug delivery”
Ana S. Macedoa, Pedro M. Castroc, Luís Roqueb, Natália G. Thoméd, Catarina P. Reif, Manuela E. Pintadoc, Pedro Fonted, *Journal of controlled release* 2020, 10, 320:125,141
9. “Polymer scaffolds as drug delivery systems”
Italo Rodrigo Caloria, Gustavo Bragaa, Priscila da Costa Carvalho de Jesusb, Hong Bic, Antonio Claudio Tedesco, *European Polymer Journal*, Volume 129, 2020
10. “Advances in drug delivery systems based on synthetic poly(hydroxybutyrate) (co)polymers”
Ghislaine Barouti, Cédric G. Jaffredo, Sophie M. Guillaume, *Progress in Polymer Science* 2017
11. “Nanoparticle-based Drug Delivery Systems for Cancer Therapy”
Yu Dang, Jianjun Guan, *Smart Materiales in Medicine* 2020
12. “Degradable Controlled-Release Polymers and Polymeric Nanoparticles: Mechanisms of Controlling
of Controlling
Drug Release” Nazila Kamaly, Basit Yameen, Jun Wu and Omid C. Farokhzad, *Chemical Reviews*, 2016, 116, 2602-6
13. “Emerging Frontiers in Drug Delivery”
Mark W. Tibbitt, James E. Dahlman and Robert Langer, *Journal of the American Chemical Society* 2016, 138, 704-17
14. “Stimulus-Responsive Degradable Polylactide-Based Block Copolymer
Nanoassemblies for Controlled/Enhanced Drug Delivery”
Kamaljeet K. Bawa and Jung Kwon Oh, *Molecular Pharmaceutics* 2017, 14, 8 ,
2460-2474
15. “Targeted Drug Delivery with Polymers and Magnetic Nanoparticles: Covalent and
Noncovalent Approaches, Release Control, and Clinical studies”
Karel Ulbrich, Katerina Hola, Vladimír Šubr, Aristides Bakandritsos, Jirí Tucek and Radek Zboril, *Chemical Reviews* 2016, 116, 9, 5338-5431

16. “Novel biocompatible PBS-based random copolymers containing PEG-like sequences for biomedical applications: From drug delivery to tissue engineering”,
Martina Fabbri, Giulia Guidotti, Michelina Soccio, Nadia Lotti, Marco Govoni,
Emanuele Giordano, Massimo Gazzano, Rita Gamberini, Bianca Rimini, Andrea
Munari, *Polymer Degradation and Stability*, 2018, 153, 53-62.

17. “Micro/nanoparticles fabricated with triblock PLLA-based copolymers containing
PEG-like subunit for controlled drug release: Effect of chemical structure and
molecular architecture on drug release profile”
Giulia Guidotti, Michelina Soccio, Massimo Gazzano, Elisabetta Salatelli, Nadia
Lotti, Andrea Munari, *Polymer Degradation and Stability*, 2020, 180, 109306.

18. “Regenerated wool keratin-polybutylene succinate nanofibrous mats for drug delivery
and cells culture”
G. Guidotti, M. Soccio, T. Posati, G. Sotgiu, M. Tiboni, M. Barbalinardo, F. Valle, L.
Casettari, R. Zamboni, N. Lotti, A. Aluigi, *Polymer Degradation and Stability*, 2020,
179, 109272.