

Nanoparticelle e fluidi supercritici

di Ernesto Reverchon e Iolanda De Marco

La produzione di micro e nanoparticelle di composti organici è estremamente difficile da ottenere utilizzando tecniche classiche di micronizzazione. Per conseguire questi risultati sono state proposte varie tecniche basate sull'utilizzo dei fluidi supercritici. In questo lavoro vengono criticamente analizzati i principali risultati ottenuti con speciale enfasi a quelli in campo farmaceutico.



Un settore di grande interesse industriale è quello della generazione di particelle microniche e nanometriche di dimensioni controllate, prodotte con lo scopo di incrementare il rapporto tra l'area superficiale e il volume delle stesse, modificando così le proprietà dei materiali trattati. Però, utilizzando i processi tradizionali è quasi impossibile ottenere e controllare la granulometria di particelle di dimensioni inferiori ai 5 μm , soprattutto nel caso di composti termolabili. Quindi le tecniche in uso possono risultare utili nella produzione di un limitato numero di sostanze termoresistenti; infatti, le temperature di produzione arrivano fino ai 1.500-1.600 °C. Questo significa che tali processi non hanno applicabilità in vasti settori, come prodotti farmaceutici, pigmenti organici ecc. Per esempio, nel caso dei prodotti farmaceutici, la produzione di nanoparticelle di principi attivi per la preparazione di sospensioni iniettabili richiede l'uso di particelle con distribuzioni granulometriche molto strette e con un limite massimo di dimensioni delle polveri inferiore a 500 nm per evitare inconvenienti legati all'occlusione dei vasi capillari. Inoltre, varie categorie di

composti farmaceutici, come gli antinfiammatori, gli antistaminici e gli antineoplastici, potrebbero essere somministrate con diminuzione del dosaggio terapeutico oppure utilizzando una diversa via di somministrazione.

Nell'ultimo decennio molti autori hanno suggerito l'impiego di fluidi supercritici, per il controllo della granulometria delle polveri e per la riduzione o eliminazione dell'uso dei solventi organici [1, 2]. I fluidi supercritici (SCF) sono sostanze che operano a valori di temperatura e pressione superiori al loro punto critico. Hanno proprietà simili ai gas per l'elevata diffusività e la bassa viscosità e ai liquidi per il potere solvente. Per effetto dell'elevata diffusività del fluido supercritico (fino a due ordini di grandezza maggiore di quella di un liquido) la formazione di una soluzione supercritica è molto veloce. È quindi possibile un miglior controllo della distribuzione granulometrica delle particelle (PSD).

Il fluido supercritico comunemente impiegato è l'anidride carbonica che ha valori critici tecnologicamente facili da raggiungere ($T_c=31,1$ °C, $p_c=73,8$ bar), è economica, non è tossica, non crea problemi ambientali perché non viene prodotta durante il processo e non è infiammabile. Inoltre, la temperatura critica è vicina alla temperatura ambiente, per cui è possibile condurre il processo a bassa tempera-

tura, senza sottoporre i composti a stress termici.

Lo scopo di questa rassegna è quello di illustrare le più promettenti tecniche basate sull'utilizzo dei fluidi supercritici e analizzare i principali risultati ottenuti, anche alla luce del più che decennale lavoro svolto in questo settore dal nostro gruppo di ricerca.

Espansione rapida da una soluzione supercritica

Secondo questa tecnica (Rapid Expansion of Supercritical Solutions, RESS), il fluido supercritico viene utilizzato come solvente per il composto da processare. Viene saturata una corrente di CO_2 con un substrato solido e la soluzione formata viene depressurizzata, facendola passare attraverso un atomizzatore. La conseguente variazione di pressione porta praticamente a zero il potere solvente del SCF, causando la rapida nucleazione del soluto con conseguente formazione di nanoparticelle. Il limite di questa tecnica è legato al fatto che i materiali da trattare devono essere solubili

Articolo presentato all'incontro "Le micro/nanotecnologie nei settori biomedicale, farmaceutico, biotecnologico: la rivoluzione industriale appena iniziata?" (Federchimica - Cnr), Milano, maggio 2001.

E. Reverchon, I. De Marco, Dipartimento di Ingegneria chimica e alimentare - Università di Salerno - Via Ponte Don Melillo - 84084 Fisciano (SA). reverch@dica.unisa.it

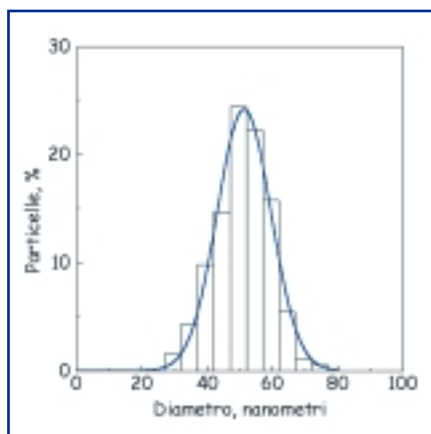


Figura 1 - Distribuzione granulometrica di particelle di acetato di zinco processato con NMP. Condizioni operative: 150 bar, 40 °C, 1 mg/ml NMP (adattato da Reverchon et al., Powder Technology, '99)

nel fluido supercritico. Purtroppo, molti dei composti di interesse sono dotati di vari gruppi polari e sono di alto peso molecolare, quindi risultati non solubili o poco solubili nella CO₂ supercritica, che si comporta sostanzialmente come un solvente lipofilo.

Pertanto questa tecnica può essere applicata con successo ad un numero molto limitato di composti [2].

Generazione di particelle da liquidi saturati con fluidi supercritici

La Particle Generation from Supercritical Solutions (PGSS) e altre tecniche di atomizzazione in ambiente supercritico sfruttano l'alta solubilità dei gas compressi nei liquidi e nei polimeri. In questi processi l'anidride carbonica supercritica viene solubilizzata in polimeri fusi o sospensioni liquide; la soluzione contenente CO₂ viene poi fatta espandere attraverso un iniettore con conseguente formazione di particelle di solido. I limiti di questo processo sono legati alla stabilità termica del soluto fino alle condizioni di liquefazione e alla difficoltà di ottenere particelle di dimensioni inferiori dell'ordine dei micron [2].

Precipitazione con anti-solvente supercritico

La precipitazione di un solido da una soluzione liquida, indotta da un antisolvente supercritico (Supercritical AntiSolvent, SAS) è il processo più promettente tra quelli basati sull'uso dei fluidi supercritici. I primi tentativi di applicazione di tale processo risalgono al 1989 e sono relati-

vi alla formazione di microparticelle di esplosivi [3]. Poi la tecnica SAS è stata applicata alla precipitazione di precursori di superconduttori [4-6], polimeri [7], proteine, biopolimeri [8] e di alcuni prodotti farmaceutici [1]. Il processo è stato provato sia in forma batch sia semi-continua e sono state ottenute particelle con dimensioni medie che vanno da qualche decina di nanometri a centinaia di micron e con risultati molto promettenti dal punto di vista industriale. L'operazione semi-continua nella quale la soluzione liquida e l'antisolvente supercritico vengono iniettati con continuità nella camera di precipitazione consente di operare in condizioni stazionarie ed è pertanto la più utilizzata. Al momento il numero di prodotti testati è ancora limitato se confrontato con il numero delle potenziali applicazioni. Condizioni fondamentali per l'applicazione di tale tecnica sono che il soluto da micronizzare sia solubile nel solvente organico ma insolubile nell'anidride carbonica supercritica e che il solvente organico e l'anidride carbonica supercritica siano completamente miscibili. Quest'ultima condizione si ottiene facilmente, ad esempio, operando a pressioni superiori a 100 bar e alla temperatura di 40 °C per la maggior parte dei solventi liquidi. In letteratura sono disponibili le curve di equilibrio di numerose coppie solvente-SCF [1, 9].

Risultati sperimentali SAS

Come detto, con la tecnica SAS sono state ottenute particelle di dimensioni comprese tra pochi nanometri e qualche centinaio di micron; inoltre, sono state osservate anche differenti morfologie dei precipitati.

Per avere un'idea delle potenzialità della SAS nel produrre nanoparticelle, in Figura 1, è riportata la distribuzione delle dimensioni di particelle di acetato di zinco precipitato da una soluzione con *N*-metilpirrolidone (NMP). Questo esperimento è stato condotto ad una pressione di 150 bar e a una temperatura di 40 °C; la concentrazione della soluzione liquida iniziale è di 1 mg/ml [10]. Dalla figura si può osservare che la dimensione media delle particelle è di circa 50 nm. Le particelle più grandi raggiungono gli 80 nm, quindi anche la distribuzione granulometrica è molto stretta.

Sono stati processati con successo svariati antibiotici [11]. Tra questi, sono state prodotte particelle sferiche coalescenti di tetraciclina unite in piccoli gruppi con dimensioni medie poco maggiori di 100

nm, come è possibile osservare dalla distribuzione granulometrica in Figura 2.

Sono state ottenute anche nanoparticelle di svariati polimeri e biopolimeri. In Figura 3 è riportata un'immagine al microscopio elettronico di destrano precipitato da di-metil-solfossido (DMSO) a 150 bar, 40 °C ad una concentrazione di 15 mg/ml DMSO.

Tra i principi farmaceutici trattati con successo vanno ancora citati salbutamolo, amoxicillina, ampicillina, griseofulvina e rifampicina; tra i biopolimeri l'acido poli-lattico (PLLA), l'acido poli-ialuronico (HYAFF) e l'inulina [1].

Uno dei maggiori problemi nello sviluppo di nuove tecniche è lo scale-up delle apparecchiature verso le dimensioni industriali. L'amoxicillina era stata processata in precedenza su scala da laboratorio (precipitatore con un volume interno pari a 500 cm³) [12]. Recentemente abbiamo sviluppato nei nostri laboratori un impianto pilota SAS (precipitatore con un volume interno pari a 5 litri) proprio per affrontare questo problema. I primi risultati sono stati molto positivi e ci hanno consentito di micronizzare con successo l'amoxicillina [13]. Utilizzando le informazioni disponibili, questo antibiotico è stato precipitato da NMP a 150 bar, 40 °C. Non sono state osservate variazioni di rilievo nella morfologia e nelle dimensioni medie delle polveri precipitate rispetto ai dati precedenti [13].

L'aspetto più significativo è legato ai sistemi di iniezione utilizzati. Infatti, nell'impianto da laboratorio è stato usato un iniettore puntiforme con un foro delle dimensioni di 60 µm; mentre nell'impianto pilota è montato un iniettore ibrido (coassiale più iniettore) e il foro di ingresso del-

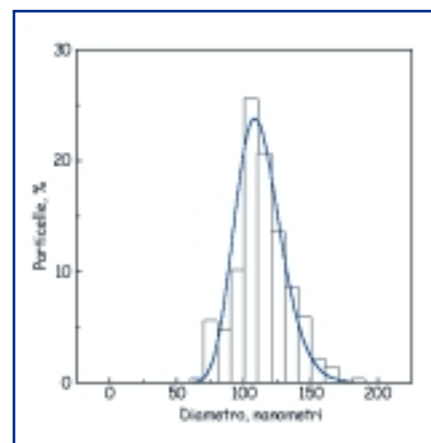


Figura 2 - Distribuzione granulometrica di particelle di tetraciclina processata con NMP. Condizioni operative: 180 bar, 40 °C, 20 mg/ml NMP

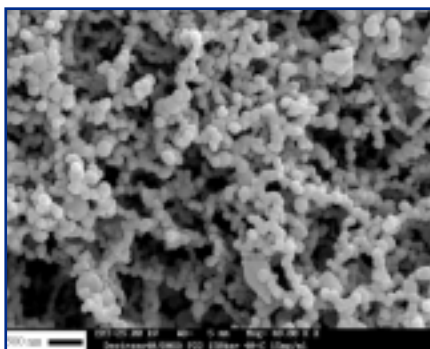


Figura 3 - Immagine SEM di particelle di destrano precipitato da DMSO a 150 bar, 40 °C e 15 mg/ml DMSO

la soluzione liquida ha un diametro di 500 μm . Quindi, anche se nel passaggio di scala il diametro e la geometria dell'iniettore sono completamente diversi, queste differenze non hanno significativamente influito su morfologia e granulometria del prodotto.

Come è evidente dall'immagine al microscopio elettronico (Figura 4), le particelle di amoxicillina ottenute hanno dimensioni nanometriche. In particolare, la dimensione media è inferiore a 0,4 μm .

Abbiamo osservato per vari composti che ad un aumento della concentrazione di soluto nella soluzione liquida iniziale corrisponde un aumento della dimensione media delle particelle precipitate. Applicando questo concetto alla micronizzazione dell'amoxicillina è evidente che anche per questo composto è possibile ottenere particelle ancora più piccole, operando a minori concentrazioni della soluzione iniziale. Infatti, nel caso in Figura 4, l'amoxicillina è stata iniettata nella camera di precipitazione ad una concentrazione pari a 40 mg/ml mentre concentrazioni di 5-10 mg/ml possono produrre particelle più piccole.

La verifica sperimentale ha confermato queste ipotesi [13].

L'impianto pilota ha consentito di produrre grammi o decine di grammi di nanoparticelle per ogni esperimento. La Figura 5 è riferita al materiale precipitato nell'impianto pilota in uno degli esperimenti condotti con amoxicillina. Il disco di acciaio sinterizzato che compare nell'immagine è il filtro situato sul fondo del precipitatore; ha un diametro di 8 centimetri e fornisce un buon riferimento rispetto alla quantità di materiale precipitato.

Discussione dei risultati SAS

Dall'insieme dei risultati sperimentali [1, 2] si evince che il successo della SAS è condizionato dal controllo degli aspetti

fluidodinamici, termodinamici e cinetici del processo. Per quanto riguarda l'aspetto fluidodinamico, la scelta dell'iniettore è importante per produrre la rottura del getto di liquido (jet break-up) con conseguente formazione di goccioline microniche (spray) che espongono nel precipitatore. Però, una volta ottenuta l'atomizzazione della soluzione, il processo dipende in larga parte dalla cinetica e dalla termodinamica delle miscele sotto pressione. Dal punto di vista cinetico, i flussi di materia riguardano la diffusione della CO_2 nelle goccioline, la controdiffusione del solvente liquido dalle goccioline al "bulk" e i moti convettivi all'interno della goccia durante la precipitazione del solido. La controdiffusione assume un effetto secondario a causa dell'elevata diffusività della CO_2 rispetto a quella del liquido; pertanto il processo può essere descritto in termini di sola diffusione e moto convettivo.

Un possibile modello del processo di precipitazione è che, in condizioni di perfetta miscibilità tra solvente e antisolvente, il soluto cominci a precipitare sulla superficie delle goccioline, come conseguenza del fatto che la concentrazione del solido è massima proprio sulla superficie delle gocce. La diffusione della CO_2 comporta il rigonfiamento e l'esplosione finale delle gocce, per cui la distruzione dello strato di soluto formatosi sulla superficie, libera il solido sotto forma di particelle molto piccole, secondo uno schema di formazione "single droplet-multiple particles" [5].

A questo punto va considerato l'aspetto termodinamico del processo: nel corretto funzionamento della SAS, il solvente liquido e l'antisolvente supercritico devono mantenere il comportamento da sistema binario anche in presenza del soluto. Invece, possono formarsi equilibri liquido/fluido/solido anche molto complessi con la possibile formazione di più fasi liquide e gassose. Come risultato, può accadere che un materiale venga completamente o parzialmente solubilizzato nella fase fluida grazie alla presenza del solvente liquido. A questo proposito, è interessante notare che un soluto può avere interazioni con alcuni solventi e non averne con altri e quindi può essere completamente estratto se processato con un solvente e perfettamente micronizzato se processato, nelle stesse condizioni operative, con un altro solvente. L'aspetto termodinamico è quindi fondamentale, vista la correlazione tra interazione nel sistema ternario e risultati del processo.

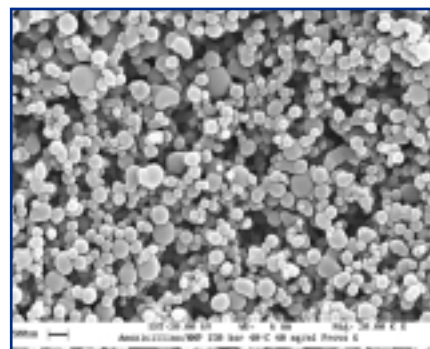


Figura 4 - Immagine SEM di particelle di amoxicillina precipitata da NMP su impianto pilota a 150 bar, 40 °C e 40 mg/ml NMP

Per chiarire gli aspetti termodinamici abbiamo eseguito esperimenti utilizzando una camera di precipitazione dotata di due finestre in quarzo, che permettono di seguire l'evoluzione del processo e di visualizzare la formazione delle fasi e la precipitazione del soluto [14].

Per quanto riguarda la precipitazione del soluto, come osservato in precedenza, ad un aumento della concentrazione della fase liquida corrisponde un aumento delle dimensioni delle particelle e un allargamento della PSD. Una spiegazione può essere data in termini di "nucleazione" e di "accrescimento". Nel caso di soluzioni diluite, la saturazione e, di conseguenza, la precipitazione si ottengono tardi durante il processo di espansione delle goccioline. In queste condizioni, la nucleazione è il meccanismo predominante, per cui si ha la formazione di particelle più piccole. Utilizzando soluzioni più concentrate, la precipitazione del soluto si ottiene prima durante il processo di espansione ed il meccanismo di crescita delle particelle si sovrappone a quello di nucleazione, con la conseguente produzione di particelle più grandi. La distribuzione granulometrica, in questo



Figura 5 - Amoxicillina precipitata nell'impianto pilota. Condizioni operative: 150 bar, 40 °C, 100 mg/ml NMP

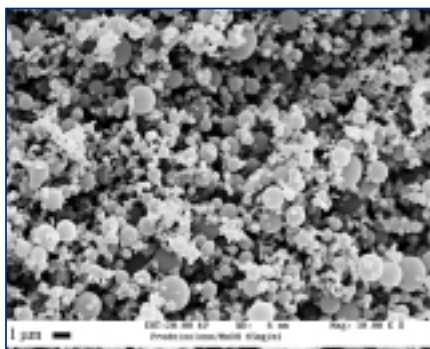


Figura 6 - Immagine SEM di particelle di prednisolone precipitato a 45 mg/ml metanolo

caso, risulta anche più ampia poiché sono presenti sia i nuclei che le particelle più grandi.

Atomizzazione assistita da fluidi supercritici

La Supercritical Assisted Atomization (SAA) è la più recente tecnica proposta per la produzione di microparticelle con fluidi supercritici [15, 16]. Nella versione sviluppata nei nostri laboratori, in un saturatore sotto pressione, ad una soluzione liquida contenente il soluto da micronizzare viene aggiunta anidride carbonica supercritica fino a raggiungere le condizioni di equilibrio. La soluzione ternaria (liquido+soluto+fluido supercritico) viene inviata in modo continuo ad un iniettore collegato ad una camera di precipitazione a bassa pressione. Si ottiene così uno spray molto efficiente con formazione di goccioline submicroniche che evaporano e liberano il soluto. Questa tecnica può lavorare con tutti i solventi liquidi inclusa l'acqua. Una possibile spiegazione dell'estrema efficacia di questo processo nel produrre particelle microniche e submicroniche può essere data da un doppio meccanismo di atomizzazione. L'iniettore produce goccioline (atomizzazione primaria) che vengono a loro volta suddivise in gocce più piccole dalla fuoriuscita del fluido supercritico (atomizzazione secondaria). Questa nuova tecnica è stata da noi brevettata [16].

Abbiamo ottenuto particelle submicroniche di vari antibiotici, corticosteroidi, antinfiammatori non steroidei, anticonvulsivanti ecc. Un esempio di particelle ottenute con questa tecnica è riportato in Figura 6. Anche in questo caso il controllo delle dimensioni e delle distribuzioni delle dimensioni è risultato molto efficace. Inoltre, sono stati trattati anche composti termolabili.

Conclusioni

Tra le tecniche di micronizzazione assistita da SCF, la precipitazione SAS ha dato risultati positivi in vari campi di applicazione industriale, per cui è opportuno continuare gli studi in questa direzione, aggiungendo informazioni sperimentali alle categorie di composti trattati (variando condizioni operative mantenute finora costanti, come la pressione e il rapporto tra le portate), e intraprendendo lo studio su categorie di composti non ancora esaminati (come gli antineoplastici). Comunque, il settore è in continua evoluzione e sono possibili anche ulteriori processi come quello da noi proposto nella parte finale di questa rassegna.

Bibliografia

- [1] E. Reverchon, *J. Supercrit. Fluids*, 1999, **15**(1), 1.
- [2] J. Jung, M. Perrut, *J. Supercrit. Fluids*, 2001, **20**, 179.
- [3] P.M. Gallagher *et al.*, *Supercrit. Fluids Sci. and Technol.*, ACS Symp. Series **406**, 1989, 334.
- [4] E. Reverchon *et al.*, *J. Material Res.*, 1998, **13**(2), 284.
- [5] E. Reverchon *et al.*, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 1998, **37**, 952.
- [6] E. Reverchon *et al.*, *J. Supercrit. Fluids*, in press.
- [7] S.-D. Yeo *et al.*, *Macromolecules*, 1993, **26**, 6207.
- [8] T.W. Randolph *et al.*, *Biotech. Progress*, 1993, **9**, 429.
- [9] A. Kordikowski *et al.*, *J. Supercrit. Fluids*, 1995, **8**, 205.
- [10] E. Reverchon *et al.*, *Powder Technol.*, 1999, **102**(2), 129.
- [11] E. Reverchon, G. Della Porta, *Powder Technol.*, 1999, **106**(1-2), 23.
- [12] E. Reverchon *et al.*, *J. Supercrit. Fluids*, 2000, **17**, 239.
- [13] E. Reverchon *et al.*, Supercritical Antisolvent Micronization on the Pilot Scale: the Case of Amoxicillin, Proceedings of the 6th Conference on Supercritical Fluids and Their Applications, Maiori (I), E. Reverchon (Ed.), 2001, 301.
- [14] E. Reverchon *et al.*, Phase Equilibria in Ternary Systems of Interest for Supercritical Antisolvent Micronization and their Influence on the Process Feasibility, Proceedings of the 6th Conference on Supercritical Fluids and Their Applications, Maiori (I), E. Reverchon (Ed.), 2001, 469.
- [15] R.E. Sievers *et al.*, *Aerosol Sci. and Technol.*, 1999, **30**, 3.
- [16] E. Reverchon, *Swiss Patent* 1209/01, 2001.