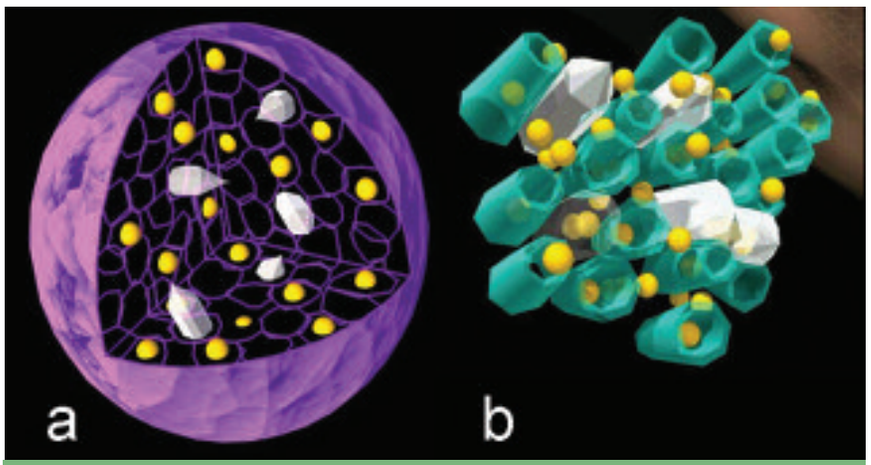


Immagine schematica dei nanocompositi Biorise. In giallo sono rappresentate le molecole di farmaco e in bianco i nanocristalli; le matrici sono il crospovidone (a) e la β-ciclodestrina (b)

Italo Colombo
Eurand SpA
Laboratorio di fisica farmaceutica
Pessano con Bornago (MI)
Paolo Bergese
INSTM, Laboratorio di Chimica per le Tecnologie
Università di Brescia
Italo.Colombo@eurand.com

NANOMATERIALI E NANOMEDICINA: SVILUPPO DI FARMACI NANOSTRUTTURATI

I farmaci nanostrutturati permettono di migliorare il comportamento farmacocinetico di una classe rilevante di molecole, farmacologicamente attive ma difficilmente assorbibili a causa della loro scarsa capacità di solubilizzarsi nei liquidi del tratto gastro-intestinale, con indubbi effetti legati sia alla riduzione della dose efficace sia alla riduzione dei tempi di comparsa dell'attività farmacologia.

L'applicazione delle nanotecnologie alla medicina ha fatto emergere un nuovo settore applicativo che ha preso il nome di "nanomedicina". Nell'am,bito delle attività di ricerca previste dal VII Programma Quadro della Comunità Europea [1], la Fondazione Europea per la Scienza (ESF) ha emanato una serie di osservazioni e raccomandazioni per lo sviluppo della nanomedicina in Europa con l'auspicio di un rapido raggiungimento di benefici per la salute dei cittadini. In tale documento, la nanomedicina viene definita come l'applicazione della scienza e della tecnologia per la diagnostica, il trattamento e la prevenzione delle malattie, utilizzando strumenti e conoscenze a scala nanometrica. La nanomedicina abbraccia le seguenti cinque sotto-discipline che, in molte situazioni, si sovrappongono ed utilizzano tecniche di indagine comuni:

1) Strumenti per applicazioni analitiche
2) Acquisizione ed elaborazione di immagini per la diagnostica
3) Nanomateriali e nanosistemi
4) Nuovi sistemi di trasporto dei farmaci
5) Aspetti clinici, regolatori e tossicologici.

Ciò che contraddistingue tutti questi settori è la ricerca di base nell'area della scienza dei materiali e l'impiego di

dispositivi legati alla sicurezza, nel pieno rispetto dell'impatto ambientale e delle procedure di fabbricazione. Le istituzioni, pubbliche e private, europee sono attive già da tempo nell'ingegnerizzazione e nello sviluppo della prima generazione di sistemi farmaceutici nanostrutturati, quali i liposomi, le nanoparticelle, gli anticorpi monoclonali, e i coniugati farmaco-polimero. Alcuni di questi sistemi a scala nanometrica, sfruttando l'enorme incremento del rapporto superficie-volume rispetto alla scala tradizionale, evidenziano una particolare attività termodinamica. Questa peculiarità può essere sfruttata per aumentare l'efficienza terapeutica di farmaci per uso orale scarsamente solubili migliorandone la biodisponibilità.

Scenario di ricerca

L'area di ricerca legata all'incremento della biodisponibilità di farmaci scarsamente idrosolubili riveste un particolare interesse per le società farmaceutiche, quali l'Eurand. Le strategie utilizzate per lo studio e lo sviluppo di sistemi farmaceutici capaci di migliorare i profili farmacocinetici di questa classe di principi attivi devono essere inquadrate in un paradigma generale che può essere enunciato semplicemente come: rendere solubili farmaci insolubili.

Il miglior modo per somministrare un farmaco è in forma orale solida. Infatti, il metodo è non-invasivo, semplice, conveniente, e, in larga misura, rappresenta la soluzione che i pazienti preferiscono [2, 3]. Affinché un farmaco sia reso biodisponibile deve essere assorbito dall'organismo del paziente. Nel caso di somministrazione orale l'assorbimento avviene, principalmente, per diffusione passiva delle molecole di farmaco attraverso le membrane cellulari del tratto gastrointestinale (permeazione), che le consegnano al sistema sanguigno che infine si occupa di veicolarle ai recettori specifici. Il processo di permeazione è quindi subordinato alla presenza di molecole in soluzione, ovvero alla dissoluzione dei cristalli di farmaco presenti nella formulazione farmaco-eccipienti (Fig. 1). Perciò la solubilità, o più in generale l'attività chimica, e la biodisponibiltà di un farmaco sono tra loro collegate. Ora, poiché il tratto gastrointestinale è un ambiente acquoso e dato che più di un terzo dei farmaci di nuova sintesi è insolubile o scarsamente solubile in acqua [4, 5]*, diventa evidente il ruolo di primo piano ricoperto dalla ricerca legata alla comprensione ed al controllo della solubilità.

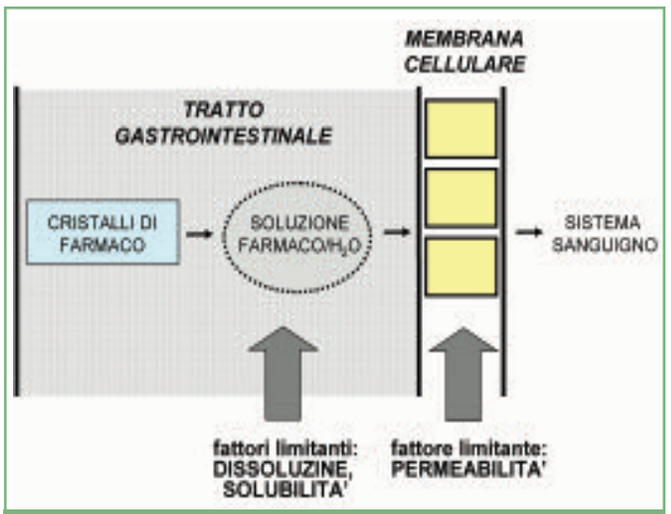


Fig. 1 - Schema degli stadi che determinano l'assorbimento di un farmaco somministrato per via orale e dei relativi fattori limitanti (adattato da [2])

Per le industrie farmaceutiche queste problematiche rappresentano una sfida attuale ed aperta. Infatti, oltre all'aspetto scientifico di base, va sottolineato che le problematiche farmacocinetiche correlate alla scarsa solubilità possono posporre o bloccare definitivamente lo sviluppo e la commercializzazione di nuovi farmaci, nonostante questi presentino eccellenti caratteristiche di affinità e selettività [3, 6, 7]. Nonostante l'alto rischio, il giro d'affari di farmaci scarsamente solubili o insolubili ha toccato, nel 1999, i 40 miliardi di dollari statunitensi [5].

I nanocompositi presentati in questo lavoro (tecnologia Biorise®) nascono come risposta alla scarsa biodisponibilità di farmaci insolubili. In particolare questi sistemi sono stati sviluppati per l'attivazione (o incremento della biodisponibilità), la veicolazione ed il rilascio controllato di farmaci che appartengono alla Classe II del sistema di classificazione biofarmaceutico (BCS) [8]. I farmaci di Classe II sono insolubili, ma altamente permeabili rispetto alle membrane cellulari. Quindi il loro assorbimento attraverso il tratto gastrointestinale è direttamente determinato dalla solubilità e dalla cinetica di dissoluzione.

Prima di proseguire serve un'ulteriore precisazione sulla classe a cui appartengono i nanosistemi sopra citati. I

** Con scarsamente solubile si intende un solido che ha una solubilità (se il solvente è acqua) inferiore a 100 μg/cm³; con insolubile un solido con solubilità inferire a 10 μg/cm³.*

materiali nanostrutturati si possono suddividere, sebbene un po' grossolanamente, in tre classi [9]. La prima contempla i materiali con dimensionalità nanometrica nella forma (ad esempio nanoparticelle, nanotubi e film sottili). La seconda i materiali con microstrutture nanometriche confinate in uno strato nanometrico (ad esempio film sottili, lisci o nanostrutturati). La terza è formata dai materiali nanostrutturati in fase massiva (BNM, Bulk Nanostructured Materials), ovvero da solidi macroscopici in cui la composizione chimica e/o l'arrangiamento atomico e/o il volume dei blocchi costitutivi (quali cristalliti, aggruppamenti atomici o molecolari...) hanno dimensionalità nanometrica che si ripete regolarmente in tutto il solido (ad esempio vetri e polimeri nanostrutturati). I nanocompositi farmaceutici oggetto di questo articolo appartengono ai BNM (vedi illustrazione di apertura).

Date le loro peculiarità strutturali, i BNM richiedono un approccio descrittivo e di caratterizzazione mirato e per molti aspetti diverso da quello impiegato per i nanomateriali appartenenti alle altre classi. Questo aspetto verrà trattato facendo cenno al pacchetto di strumenti teorici e sperimentali sviluppati *ad hoc* per l'analisi microstrutturale dei nanocompositi qui presentati e discussi.

Dissoluzione, solubilità e (nano)struttura

La dissoluzione di un solido si può considerare come un processo sequenziale determinato da un preciso bilancio energetico [10] (Fig. 2). Il primo stadio consiste nella creazione di un'interfaccia solido-liquido partendo dalle due superfici solida e liquida separate (bagnabilità). La rottura dei legami intermolecolari nel reticolo cristallino (fusione) e il passaggio delle molecole all'interfaccia solido-liquido (solvatazione) costituiscono il secondo ed il terzo stadio del processo, che si conclude col trasferimento delle molecole dalla regione interfacciale all'interno del solvente (diffusione). Per poter avvenire, ogni passaggio necessita di una certa quantità di energia; l'obbiettivo del processo di attivazione di un farmaco solido è di minimizzare l'energia totale del processo. La solvatazione e la diffusione dipendono dalla natura chimica del solvente e del soluto, nonché dalle condizioni del sistema quali la temperatura e l'idrodinamica, mentre la bagnabilità e la fusione dipendono imprescindibilmente anche dalla microstruttura del solido. Nel caso di un determinato farmaco non è possibile modificare né la struttura chimica delle molecole né l'ambiente di dissoluzione (solvente e condizioni del sistema). Quindi gli sforzi per aumentarne la solubilità vengono canalizzati nel (tentativo di) modificare la microstruttura della sua fase solida [11].

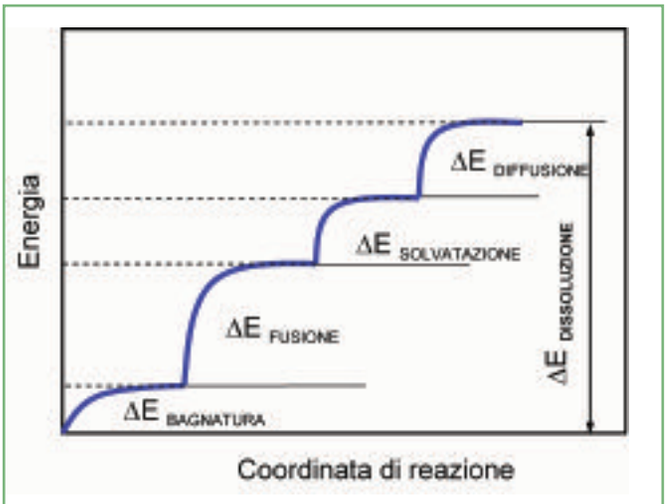


Fig. 2 - Diagramma energetico del processo di dissoluzione di un solido (adattato da [10]). Per un solido cristallino, l'energia di fusione rappresenta circa un terzo dell'energia complessiva del processo

Vediamo ora con maggiore dettaglio come il concetto chiave della modificazione della solubilizzazione di un farmaco risieda nel "forzarlo" ad assumere una struttura (metastabile o termodinamicamente attivata) caratterizzata da una coerenza a corto raggio, avvero, in termini più moderni, il solido deve essere nanostrutturato e/o destrutturato. In base alla nostra esperienza, l'approccio termodinamico mediato dalla chimica fisica dei colloidi e delle interfacce, sebbene si avvalga di alcune forti approssimazioni, si può applicare proficuamente, anche sotto il profilo quantitativo, all'ingegnerizzazione dei nanosistemi per uso farmaceutico [12]. Per un solido che si discioglie in un solvente di volume infinito, formando una soluzione non elettrolitica, si può dimostrare che la velocità di dissoluzione d*m*/d*t*, dove *m* è la massa di solido che si è disciolta nel tempo *t*, è governata dall'equazione [13]

$$\frac{dm}{dt} = \frac{D}{h\gamma_s} A \exp\left[-\frac{\Delta H_f}{R}\left(\frac{1}{T}-\frac{1}{T_m}\right)\right]$$

in cui *D* è il coefficiente di diffusione delle molecole del soluto nel solvente, *h* è un parametro geometrico (strato stagnante all'interfaccia soluto-liquido) definito dall'idrodinamica del sistema,

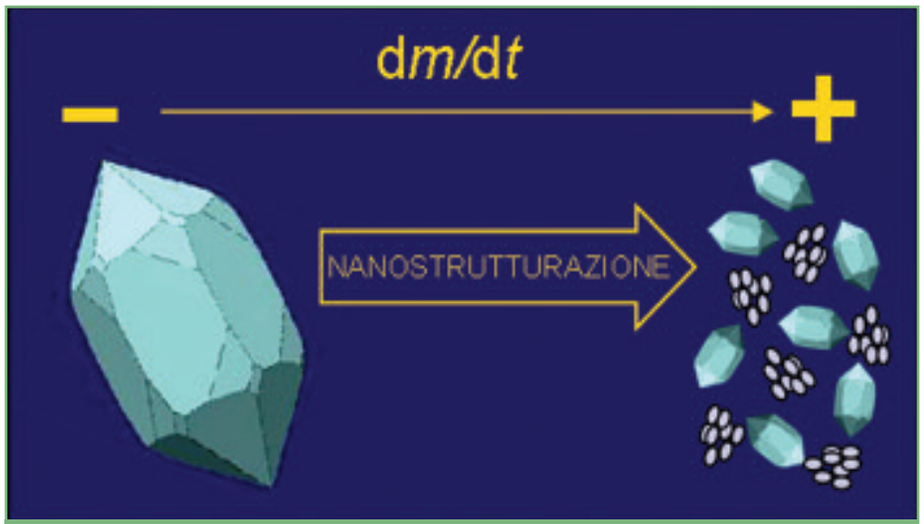


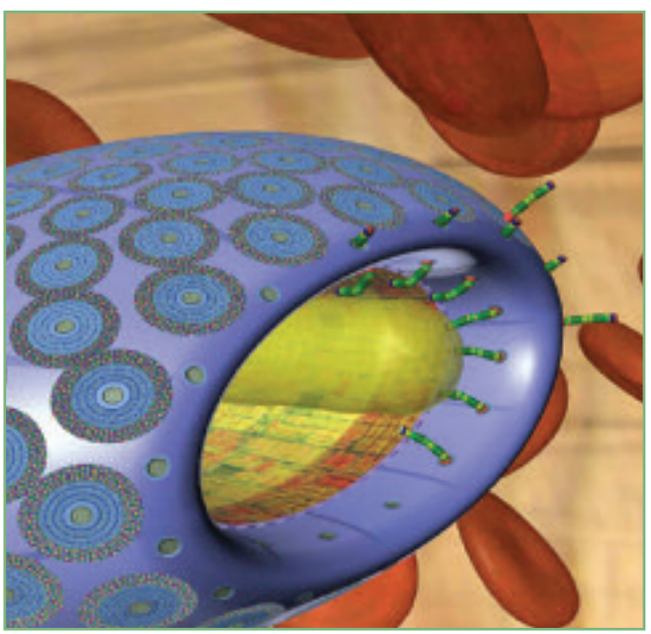
Fig. 3

γ_s il coefficiente di attività del soluto, A l'area superficiale del solido, ΔH_f l'entalpia di fusione del solido, R la costante dei gas ideali, e T e T_m rispettivamente la temperature a cui avviene il processo di dissoluzione e la temperatura di fusione del solido. I fattori $D/h\gamma_s$ e T non sono fra loro indipendenti e sono determinati unicamente dalla natura chimica del sistema e dalle condizioni idrodinamiche del processo. Se la dissoluzione in esame è quella di un farmaco solido nel tratto gastrointestinale, $D/h\gamma_S$ e T sono costanti del processo. Ora, in base all'equazione (1), consegue che la velocità di dissoluzione può essere incrementata: (i) aumentando l'area superficiale specifica del solido, (ii) riducendo l'entalpia di fusione e (iii) abbassando la temperatura di fusione. Questi tre aspetti sono fra loro interconnessi e propri del passaggio dei domini di coerenza del solido dalla micro- alla nanoscala, o comunque ad un incremento del disordine nell'impacchettamento delle unità costitutive del solido (Fig. 3). Quanto affermato al punto (i) risulta intuitivo: frazionando un solido macroscopico in parti nanometriche si può aumentare l'area superficiale specifica di diversi ordini di grandezza. Per quanto riguarda gli altri due punti, è stato dimostrato teoricamente e verificato sperimentalmente che la temperatura e l'entalpia di fusione diminuiscono col raggio di curvatura medio dei domini di coerenza del solido, ovvero con le sue dimensioni. Questi effetti diventano evidenti su scala nanometrica. Per una trattazione dettagliata di questi aspetti, che esula da questo contesto, si rimanda il lettore ai riferimenti bibliografici [12-14].

Nanocompositi

Le nanotecnologie utilizzate nei processi di ingegnerizzazione farmaceutica possono essere suddivise in due categorie principali: (i) tecnologie "bottom-up" e (ii) tecnologie "top-down". Le tecnologie bottom-up partono da sistemi molecolari disciolti in solventi e successivamente le nanostrutture solide vengono generate per precipitazione controllata mediante antisolvente, reazioni chimiche o metodi di evaporazione. Le tecnologie top-down sono essenzialmente metodi di disintegrazione in cui le nanostrutture vengono ottenute con processi di macinazione in sospensione o di co-macinazione in presenza di materiali con effetto matrice. Alcuni esempi di tecnologie di precipitazione sono: tecniche hydrosol [15], reazione di precipitazione in campo gravitazionale [16] e la produzione di nanocompositi polimerici [17]. Nel caso dei processi di disintegrazione, le tecnologie utilizzate possono essere suddivise nei seguenti gruppi principali: macinazione in sospensione [18], omogeneizzazione ad alta pressione [19], attivazione meccanica ad alta energia [20] e diffusione indotta da micro-onde [21].

Abbiamo argomentato nel paragrafo



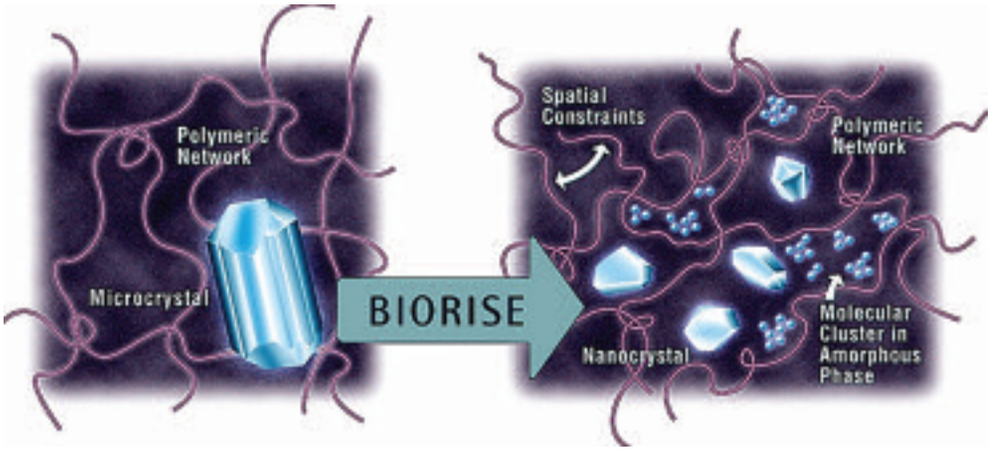


Fig. 4 - Rappresentazione schematica dell'approccio Biorise per l'attivazione di farmaci scarsamente biodisponibili. In figura la matrice è costituita da una polimero reticolato. Nel caso del crospovidone gli interstizi della reticolatura hanno un diametro medio di 50 nm

precedente come destrutturando i farmaci dalla fase macro-cristallina (in cui vengono in genere sintetizzati) in nanocristalli o aggregati molecolari, si induce un aumento della loro solubilità. Tuttavia questo procedimento sovente non è sufficiente per garantire l'efficacia di una formulazione. Infatti, l'altra faccia della medaglia consiste nell'instabilità intrinseca delle fasi nanocristalline e degli aggregati molecolari e quindi nella loro tendenza, spontanea, a coalescere e/o crescere e/o ricristallizare.

Queste fasi termodinamicamente attive devono quindi essere in qualche modo stabilizzate. Anche sotto il profilo economico la stabilità chimico-fisica delle formulazioni, così come la presentazione di una strategia convincente per la loro caratterizzazione (vedi paragrafo successivo), sono aspetti fondamentali per l'approvazione da parte della FDA di una nuova entità farmaceutica [22].

Sulla base di queste linee guida, non declinate rispetto alle nanoscienze in quanto il fortunato suffisso "nano" è di conio più recente, negli ultimi trent'anni sono stati sviluppati diversi approcci di solubilizzazione [11]. Fra i tanti proposti, la dipersione e la complessazione del farmaco a scala molecolare e/o nanometrica in opportune matrici tridimensionali che ne assicurino la stabilità chimico-fisica, ovvero la generazione di nanocompositi, si sono rivelate essere quelli migliori.

La nostra ricerca si innesta sullo studio e l'implementazione di questi approcci in termini di efficacia, semplicità ed eco-compatibilità. Le nanotecnologie che ne sono derivate sono state battezzate Biorise (Fig. 4).

A questo punto è doveroso introdurre i materiali utilizzati come matrici comuni a tutte le diverse tecnologie: il poli-vinil-pirrolidone reticolato e la β-ciclodestrina. Il poli-vinil-pirrolidone reticolato ($[C_6H_9NO]_n$), noto anche come crospovidone, è un polimero insolubile, anfifilico e rigonfiabile che si trova in commercio sotto forma di polveri.

Gli spazi interni al reticolo polimerico hanno un diametro medio di 50 nm e costituiscono il vincolo fisico che limita e stabilizza la nanostrutturazione del farmaco (Fig. 4 e immagine di apertura (a)). In seguito ci riferiremo a questa matrice con l'acronimo PVPCLM.

I nanocompositi farmaco/PVPCLM, una volta raggiunto l'ambiente acquoso del tratto gastrointestinale, si rigonfiano sotto l'effetto dell'assorbimento di H_2O, che conseguentemente "estrae" il farmaco dalla matrice polimerica e lo veicola in soluzione [23] (Fig. 5). La β-ciclodestrina (di qui in seguito β-CD) è una molecola toroidale idrosolubile costituita da 7 unità glucosidiche consistenti in residui α-D-

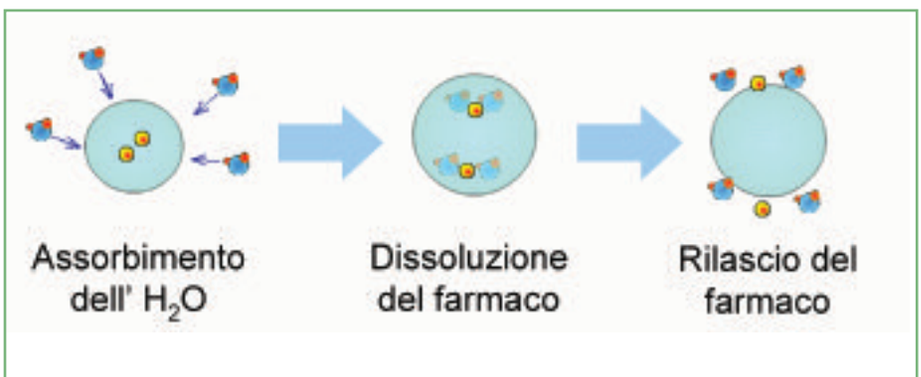


Fig. 5 - Schema del processo di rilascio del farmaco da un nanocomposito Biorise

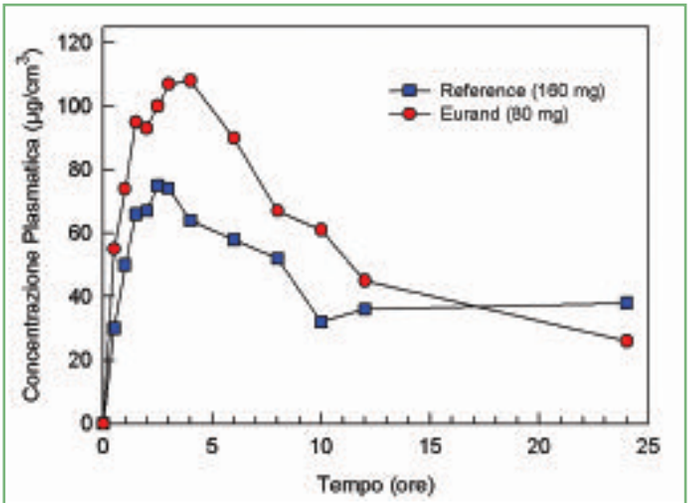


Fig. 6 - Livelli plasmatici di megestrolo acetato dopo somministrazione orale a volontari sani di un sistema nanostrutturato (80 mg) e commerciale (160 mg). I valori rappresentano la media di dodici soggetti

glucopiranosili. La β-CD si presenta in forma cristallina dodecaidrata e può formare complessi con piccole molecole mediante interazioni deboli con i suoi gruppi idrossilici (immagine di apertura (b)). Nel tratto gastrointestinale i nanocompositi farmaco/β-CD si disciolgono liberando direttamente in soluzione le molecole di farmaco. Ulteriori informazioni su PVPCLM e β-CD sono reperibili nei riferimenti bibliografici [17, 24-27].

Un esempio dell'efficacia dell'approccio Biorise è riportato in Fig. 6 dove è rappresentato il confronto tra i livelli plasmatici ottenuti utilizzando un sistema nanostrutturato farmaco-polimero, in cui il farmaco è contenuto in fase nanocristallina, e una forma farmaceutica tradizionale. Come si può osservare, l'utilizzo di una dose dimezzata di principio attivo (80 mg contro 160 mg) permette comunque di ottenere una biodisponibilità (area sottesa alla curva plasmatica) maggiore rispetto ad una formulazione tradizionale. Il miglioramento ottenuto va oltre l'aspetto economico legato ad una riduzione del contenuto di farmaco a parità di efficacia terapeutica; infatti, utilizzando una minor quantità della sostanza attiva si riducono anche eventuali effetti collaterali presenti soprattutto nei trattamenti farmacologici prolungati.

Strategie di analisi microstrutturale

I nano-compositi generati con Biorise hanno una struttura complessa. Sono formati da micro-particelle in cui sono confinati sia aggregati molecolari che nano-cristalli di farmaco e in cui è assorbita una quantità di acqua non trascurabile. In base ai materiali e alle condizioni di processo, la superficie delle particelle può essere coronata da micro-cristalli di farmaco, la distribuzione dimensionale delle nano-particelle di farmaco disperso può essere stretta o allargata e la matrice può stabilizzare diversi polimorfi del farmaco. A titolo esemplificativo, in Fig. 7 viene riportata una fotografia, ottenuta con un microscopio elettronico a scansione (SEM), in cui si possono osservare le morfologie sia del materiale polimerico sia del farmaco presenti sulla superficie e all'interno delle particelle di un nanocomposito. Un quadro dettagliato è stato ottenuto investigando i campioni con la diffrattometria a raggi X (XRD), la calorimetria differenziale a scansione (DSC), la microscopia elettronica a scansione, accoppiata alla microanalisi (EDS), e la microscopia ad effetto

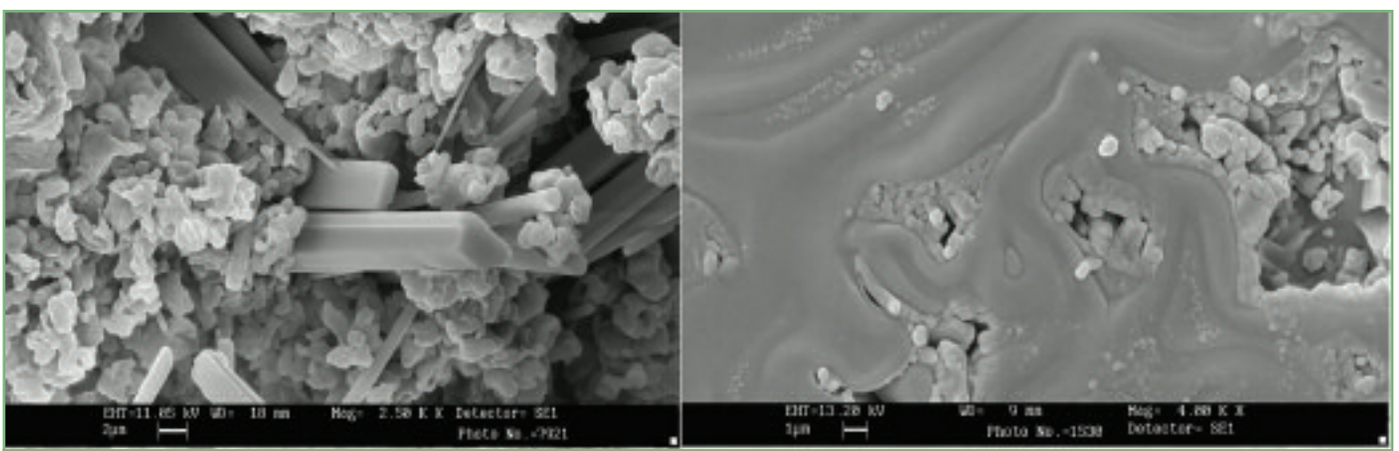


Fig. 7 - Fotografia al microscopio elettronico della superficie (sinistra) e della sezione (destra) di una particella di nanocomposito nimesulide-crospovodone

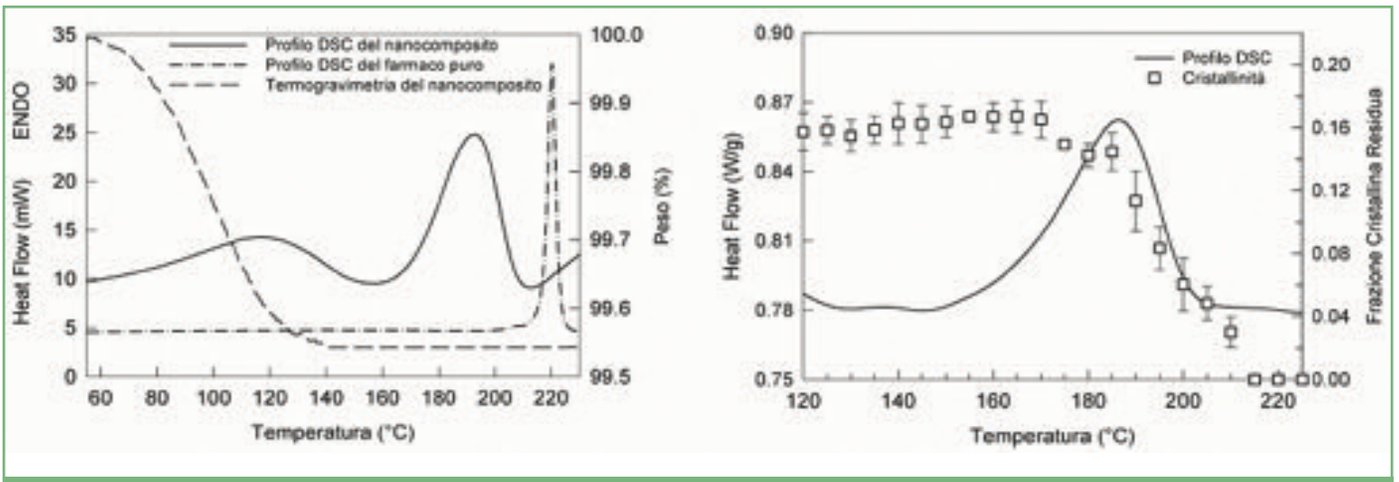


Fig. 8 - A sin.: profili DSC della griseofulvina cristallina pura (linea puntata e tratteggiata) e del nanocomposito griseofulvina-crospovidone (linea continua) e termogravimetria dello stesso nanocomposito (linea tratteggiata). A dx: profilo DSC del nanocomposito griseofulvina-crospovidone (linea continua) e frazione ponderale della fase cristallina di griseofulvina (simboli quadrati) nello stesso materiale nanocomposito

Raman (μ-Raman) [13, 14, 28, 29].
Il parametro impiegato per descrivere l'efficacia di destrutturazione è la quantità di farmaco microcristallino che resiste ai processi di dispersione (cristallinità residua, RC). In generale, la determinazione di RC è un problema fra i più articolati e complessi rispetto a quelli legati all'analisi microstrutturale dei sistemi farmaceutici. La misura dell'RC viene in genere eseguita con la diffrattometria a raggi X (XRD) e la calorimetria differenziale a scansione (DSC). Recentemente, con fortune alterne, sono state impiegate le spettroscopie vibrazionali (Raman e infrarossa) e la risonanza magnetica nucleare (NMR) [13, 30]. La DSC non si può applicare quando un materiale evidenzia una transizione solido-liquido (fusione) accompagnata da decomposizione e/o se durante il riscaldamento avvengono interazioni fra le fasi. Inoltre, in alcuni casi, l'analisi dei profili DSC può risultare ambigua per fenomeni convolutivi tra differenti transizioni di fase (parziale cristallizzazione, polimorfismo, sublimazione, ecc.). D'altro canto l'analisi XRD dei compositi farmaceutici può essere limitata dalla presenza di fasi amorfe e/o acqua adsorbita, quando il profilo di diffrazione presenta importanti sovrapposizioni di picchi e nel caso in cui il campione di polveri sia affetto da orientamento preferenziale. In questi ultimi casi si potrebbe applicare un approccio basato sulla deconvoluzione completa del profilo di diffrazione (WPPD), ma dovrebbero essere note le caratteristiche cristallografiche delle fasi. Questo livello di conoscenza sovente manca per i materiali farmaceutici, ad esempio a causa del polimorfismo o della velocità con cui si sintetizzano nuovi principi attivi.
Abbiamo quindi lavorato all'implementazione di una strategia per la misurazione della RC, basata sull'integrazione di XRD e DSC [13, 31, 32], adatta ai nanocompositi Biorise. Questo ha permesso di studiare quantitativamente le fasi residue micro- e nanocristalline di farmaco nei nanocompositi [32] e di validare i modelli termodinamici sviluppati per descriverne le transizioni di fase (vedi Fig. 8) [12, 14].

Conclusioni e prospettive

L'applicazione delle nanotecnologie ai sistemi farmaceutici permette di ottenere farmaci nanostrutturati capaci di

Nanomaterials and Nanomedicine. Development of Nanostructured Drugs ABSTRACT

In order for a drug to be bioavailable the human body must absorb it. In oral dosage forms absorption takes place after drug dissolution by passive diffusion of the molecules through the gastrointestinal membranes. As the gastrointestinal tract is an aqueous environment and 40% of the drugs are insoluble in water, solubilization is an issue. The key-concept of solubilization is to "freeze" the insoluble drug into a metastable nanostructure. Starting from this paradigm, we developed several methods for generating activated drug/3D-matrix nano-composites.

aumentare le loro caratteristiche farmacocinetiche. La comprensione dei meccanismi di base che governano la solubilizzazione delle fasi solide e l'implementazione di approcci chimico-fisici per la loro caratterizzazione microstrutturale sono attività fondamentali per il controllo e l'ottimizzazione di tali tecnologie. L'aumento della biodisponibilità e, quindi, l'incremento dell'efficienza farmacocinetica raggiunta con l'utilizzo di nanocompositi farmaco-matrice ci ha permesso sia di recuperare principi attivi abbandonati nella fase di sviluppo perché scarsamente solubili in ambiente acquoso, sia di ottimizzare l'uso di quei farmaci che abbisognano di dosi elevate per raggiungere l'efficacia farmacologia voluta. Dopo questa prima fase di fattibilità concettuale, il passo successivo è rappresentato dall'indagine, allargata a livello clinico, dell'efficacia di questo approccio nel perseguire i miglioramenti della biodisponibilità su principi attivi appartenenti a diverse classi terapeutiche ma accomunati dalla scarsa solubilità in solventi acquosi. Solo dopo questa ulteriore verifica sarà possibile sviluppare, da un punto di vista ingegneristico, le nanotecnologie impiegate per la prototipazione di nanocompositi e trasformare questi sistemi nanostrutturati in nanomedicine commercializzabili.

Ringraziamenti

Paolo Bergese desidera ringraziare Eurand SpA per aver sostanzialmente contribuito alla sua attività di ricerca in questo campo attraverso il finanziamento del dottorato di ricerca "Nanocompositi farmaceutici generati per diffusione indotta da microonde (MIND)" e dell'assegno di ricerca "Termodinamica e ottimizzazione di processi di diffusione indotti da microonde (MIND) per l'attivazione di farmaci scarsamente biodisponibili".

Bibliografia e note

[1] European Technology Platform on Nanomedicine. Nanotechnology for Health. Vision paper: *http://cordis.europa.eu/nanotechnology/nanomedicine.htm*.

[2] J. Devane, *Pharm. techn.*, 1998, November, 68.

[3] Oral drug absorption. Prediction and Assessment, J.B. Dressman, H. Lennernas (Eds.), Marcel Dekker, New york, 2000.

[4] R.A. Lipper, *Mod. Drug Disc.*, 1999, (Jan./Feb.), 55.

[5] S.N. Pace *et al., Pharm. Tech.*, 1999, (March), 116.

[6] R.A. Prentis *et al., Brit. J. Clin. Pharmacol.*, 1988, **25,** 387.

[7] S. Yamashita, T. Furubayashi, *B. T. Gattefosse*, 1998, **91,** 25.

[8] G.L. Amidon *et al., Pharm. Res*., 1995, **12,** 413.

[9] H. Gleiter, *Acta mater.*, 2000, **48,** 1.

[10] D.C. Hsia *et al., J. Pharm. Sci.*, 1977, **66**, 961.

[11] Water-insoluble Drug Formulation, R. Liu (Ed.), Interpharm Press, Denver, 2000.

[12] P. Bergese *et al., J. Phys. Chem. B*, 2004, **108,** 15488.

[13] P. Bergese, Pharmaceutical Nanocomposites Generated by Microwave Induced Diffusion, Tesi di dottorato, Università di Brescia, 2003.

[14] M. Grassi *et al.,* Understanding Drug Release and Absorption Mechanisms: a Physical and Mathematical Approach, CRC Press, Boca Raton (USA), 2006, 333.

[15] P. Gassmann *et al., J. Pharm. Sci.*, 1994, **40,** 64.

[16] J.F. Chen *et al., Ind. Eng. Chem. Res.*, 2000, **39,** 948.

[17] F. Carli *et al., Int. J. Pharm.,* 1986, **33,** 115.

[18] K.C. Liversidge *et al., US Pat.* 5,145,684, 1991.

[19] R. H. Müller *et al., US Pat.* 5,858,410, 1998.

[20] M. Lovrecich, *US Pat.* 5,354,560, 1991.

[21] I. Colombo, D. Gervasoni, *PCT WO* 2004/056340 A2, 2004.

[22] S. Byrn *et al., Pharm. Res.*, 1995, **12,** 945.

[23] M. Grassi *et al., J. Controlled Release*, 2000, **68,** 97.

[24] National Formulary XV, US Pharmacopoeia.

[25] The Merck Index. An Encyclopaedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, 11th Ed., Merck & CO, Rahway, (N.J., USA), 1989.

[26] J. Szeitly Cyclodextrins and their Inclusion Complexes, Akademiai Kiadò, Budapest, 1982.

[27] W.Q. Tong (Tony), Applications of Complexation in the Formulation of Insoluble Compounds, in Water-insoluble Drug Formation, R. Liu (Ed.), Interpharm Press, Denver, 2000.

[28] P. Bergese *et al., Comp. Sci. Tech.*, 2003, **63,** 1197.

[29] P. Bergese *et al., Comp. A: Applied Science and Manufacturing*, 2005, **36,** 443.

[30]G.A. Stephenson *et al., Adv. Drug Delivery Rev*., 2001, **48,** 67.

[31] P. Bergese *et al., J. Appl. Cryst.*, 2001, **34,** 663.

[32] P. Bergese *et al., J. Appl. Cryst.*, 2003, **36,** 74.