



UNIVERSITÀ
DI PAVIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Direttore Chiar.ma Prof.ssa Simona Collina

**LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO IN
CHIMICA E TECNOLOGIA FARMACEUTICHE**

**CARATTERIZZAZIONE CHIMICO-FISICA DI DISPERSIONI SOLIDE
DI PREDNISOLONE 21-TRIMETILACETATO E PVA PER LO
SVILUPPO DI UN NUOVO SISTEMA DI SOMMINISTRAZIONE DEL
PRINCIPIO ATTIVO**

Relatore:

Prof.ssa Chiara Milanese

Tesi di Laurea Magistrale a Ciclo Unico di

Matteo Brocanello

Anno Accademico 2025/2026

Abstract

Il prednisolone 21-trimetilacetato è un estere steroideo marcatamente lipofilo e scarsamente solubile in acqua. Il presente lavoro ne descrive la caratterizzazione chimico-fisica allo stato solido mediante DSC, TGA, XRPD, FT-IR, microscopia con tavolino riscaldante e microscopia elettronica a scansione, e lo sviluppo di sistemi multicomponente volti a migliorarne le proprietà biofarmaceutiche.

Il farmaco di partenza è risultato altamente cristallino, con fusione a 234,6 °C preceduta dall'inizio della degradazione (massima velocità di perdita di massa a 197 °C); in raffreddamento il fuso vetrifica anziché ricristallizzare, con transizione vetrosa intorno ai 103 °C, indizio — da confermare, perché il fuso è in parte degradato — della capacità della molecola di formare una fase amorfa. Nei sistemi con acido palmitico, ottenuti per cristallizzazione da soluzione e per trattamento in slurry, il principio attivo conserva la propria fase cristallina, ma la diffrattometria individua nei pattern dei prodotti picchi riproducibili non attribuibili ai materiali di partenza, riconducibili a una terza fase cristallina. Il passaggio al co-formatore in forma ionica ha prodotto il risultato più netto: nei sistemi con palmitato di sodio DSC, XRPD e FT-IR concordano nel descrivere un sale privo di ordine cristallino, mentre il farmaco resta cristallino, con un punto di fusione più basso di circa 11 °C e una temperatura di degradazione più alta di circa quaranta gradi. Nel sistema a dispersione solida PVA/farmaco, con un carico teorico dell'1,96 % p/p, la diffrattometria rileva il principio attivo, presente come cristalli macroscopici originati dalla precipitazione al momento della miscelazione delle due soluzioni.

Nessuna delle strategie esplorate ha condotto a una dispersione molecolare. Il lavoro identifica tuttavia i due punti su cui intervenire: l'impiego di co-formatori ionici, unico caso in cui si è osservata una reale interazione, e le condizioni di miscelazione del sistema polimerico.

INDICE

Abstract.....	3
1 INTRODUZIONE	1
1.1 I Glucocorticoidi: Meccanismo d'Azione e Rilevanza Terapeutica.....	2
1.2 Il Prednisolone 21-Trimetilacetato: Proprietà Chimico-Fisiche e Razionale della Modificazione Esterea	4
1.3 La Termodinamica dello Stato Solido: Polimorfismo e Fenomeni di Degradazione Termica	5
1.4 Dispersioni Solide e Matrici Idrofile di Polivinil Alcol (PVA)	6
1.5 Sistemi Binari con Eccipienti Lipidici: Acido Palmitico e Palmitato di Sodio	8
2 MATERIALI E TECNICHE DI CARATTERIZZAZIONE.....	10
2.1 Materiali	10
2.2 Tecniche di indagine	11
2.2.1 Calorimetria Differenziale a Scansione (DSC)	11
2.2.2 Termogravimetria (TGA).....	12
2.2.3 Diffrazione a Raggi X su Polvere (XRPD)	14
2.2.4 FT-IR.....	16
2.2.5 Piastra riscaldante	17
2.2.6 Muffola	18
2.2.7 Stufa ventilata	19
2.2.8 Hot Stage Microscopy (HSM).....	20
2.2.9 Microscopio Elettronico a Scansione (SEM)	21
2.2.10 Bagno a Ultrasuoni	22
3 METODOLOGIE SPERIMENTALI	24
3.1 Caratterizzazione chimico-fisica delle materie prime	24
3.1.1 Caratterizzazione del prednisolone 21-trimetilacetato puro	24
3.1.2 Caratterizzazione dell'acido palmitico puro	25
3.1.3 Caratterizzazione del palmitato di sodio puro	26
3.2 Preparazione dei sistemi di co-cristallizzazione	28
3.2.1 Prove preliminari di solubilizzazione del prednisolone 21-trimetilacetato con acidi grassi	29
3.2.2 Co-cristallizzazione da soluzione con acido palmitico.....	31
3.2.3 Co-cristallizzazione da slurry	36
3.2.4 Co-cristallizzazione con palmitato di sodio.....	40

3.2.5 Preparazione del palmitato di sodio	40
3.2.6 Co-cristallizzazione da soluzione con palmitato di sodio	42
3.2.7 Macinazione del prodotto di co-cristallizzazione con palmitato di sodio	43
3.3 Preparazione dei film compositi PVA/prednisolone 21-trimetilacetato	45
3.4 Analisi microscopiche: Termomicroscopia (HSM) e Microscopia Elettronica a Scansione (SEM)	49
3.4.1 Termomicroscopia (HSM).....	49
3.4.2 Microscopio Elettronico a Scansione (SEM).	50
4 RISULTATI E DISCUSSIONE	51
4.1 Caratterizzazione chimico-fisica delle materie prime	51
4.1.1 Caratterizzazione chimico-fisica del prednisolone 21-trimetilacetato puro ..	51
4.1.2 Caratterizzazione dell'acido palmitico puro	53
4.1.3 Caratterizzazione del palmitato di sodio puro	54
4.2 Co-cristallizzazione da soluzione con acido palmitico	57
4.3 Co-cristallizzazione da slurry	61
4.4 Co-cristallizzazione con palmitato di sodio.....	65
4.4.1 Co-cristallizzazione con palmitato di sodio da soluzione	65
4.4.2 Co-cristallizzazione con palmitato di sodio per macinazione	67
4.5 Hot Stage Microscopy (HSM).....	70
4.6 Microscopio Elettronico a Scansione (SEM)	71
4.7 Film PVA-farmaco.....	78
4.7.1 Sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato (muffola) (punto di prelievo 1).....	79
4.7.2 Sistema PVA + prednisolone 21 trimetilacetato (muffola +stufa) (punto di prelievo 1).....	84
4.7.3 Sovrapposizione FT-IR: campione muffola vs. campione muffola + stufa (punto 1)	86
4.7.4 Sistema PVA + prednisolone 21 trimetilacetato (muffola) (punto di prelievo 2).....	87
4.7.5 Sistema PVA + prednisolone 21 trimetilacetato (muffola + stufa) (punto di prelievo 2).....	88
4.7.6 Sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato (muffola) — sovrapposizione FT-IR punti di prelievo 1 e 2	89
4.8 Discussione integrata multitecnica	90
5 CONCLUSIONI	93

5.1 Caratterizzazione delle materie prime	93
5.2 Sistemi con acido palmitico.....	94
5.3 Sistemi con palmitato di sodio	94
5.4 Sistema a dispersione solida PVA/prednisolone 21-trimetilacetato	95
5.5 Considerazioni conclusive.....	95
6 PROSPETTIVE FUTURE	96
RINGRAZIAMENTI	105

Elenco delle figure

Figura 1 Asse ipotalamo-ipofisi-surrene e meccanismi di retrocontrollo negativo dei glucocorticoidi sui geni CRH e POMC. Riprodotta da Timmermans, S., Souffriau, J. & Libert, C., A General Introduction to Glucocorticoid Biology, Front. Immunol. 10, 1545 (2019).....	3
Figura 2 Struttura chimica del prednisolone 21-trimetilacetato. Immagine tratta da PubChem, National Library of Medicine, CID 10095005	4
Figura 3 Diagrammi energia/temperatura di un sistema dimorfo monotropico (a) ed enantiotropico (b). Tp: temperatura di transizione; Tf: temperatura di fusione. Riprodotta da Lee, E.H., Asian J. Pharm. Sci. 9, 163–175 (2014).....	6
Figura 4 Via di sintesi e struttura chimica del polivinil alcol. L'idrolisi parziale porta alla formazione di copolimeri con unità di vinil acetato residue, la cui presenza riduce la tendenza alla cristallinità del polimero ($x + y = n$). ¹⁶	8
Figura 5: DSC Q2000	12
Figura 6: TGA	13
Figura 7: Diffrazione dei raggi X e geometria della legge di Bragg.....	14
Figura 8: XRPD	15
Figura 9: FT-IR.....	17
Figura 10: piastra riscaldante	18
Figura 11: Muffola	19
Figura 12: Stufa ventilata	20
Figura 13: Hot Stage Microscopy (HSM)	21
Figura 14 SEM.....	22
Figura 15 bagno ad ultrasuoni.....	23
Figura 16 co-cristallizzazione da soluzione con acido palmitico	34
Figura 17 Acido Palmitico	40
Figura 18 Palmitato di sodio	40
Figura 19 Solubilizzazione del principio attivo e del palmitato di sodio.....	43
Figura 20 termogramma DSC del prednisolone 21-trimetilacetato puro.....	52
Figura 21 termogramma TGA del prednisolone 21-trimetilacetato puro.....	52
Figura 22 diffrattogramma del prednisolone 21-trimetilacetato	53
Figura 23 diffrattogramma dell'acido palmitico puro	54
Figura 24 profilo calorimetrico del palmitato di sodio puro.....	55

Figura 25	Diffrattogramma XRPD del palmitato di sodio puro.....	55
Figura 26	effetto della geometria del coltello sul pattern XRPD	56
Figura 27	spettro IR del palmitato di sodio puro.....	57
Figura 28	profilo calorimetrico DSC co-cristallizzazione con acido palmitico.....	58
Figura 29	termogramma TGA co-cristallizzazione con acido palmitico	59
Figura 30	diffrattogramma XRPD co-cristallizzazione con acido palmitico	60
Figura 31	spettro IR co-cristallizzazione con acido palmitico.....	61
Figura 32	profilo calorimetrico DSC slurry.....	62
Figura 33	termogramma TGA slurry	63
Figura 34	diffrattogramma XRPD slurry, fusione dell'acido palmitico	64
Figura 35	spettro IR slurry.....	64
Figura 36	termogramma DSC co-cristallizzazione con palmitato di sodio.....	65
Figura 37	termogramma TGA co-cristallizzazione con palmitato di sodio.....	66
Figura 38	diffrattogramma XRPD co-cristallizzazione con palmitato di sodio.....	67
Figura 39	termogramma DSC co-cristallizzazione per macinazione	68
Figura 40	termogramma TGA co-cristallizzazione per macinazione.....	69
Figura 41	spettro IR co-cristallizzazione per macinazione	70
Figura 42	Sequenza Hot Stage Microscopy del prodotto di co-cristallizzazione prednisolone 21-trimetilacetato + acido palmitico, riscaldamento a 10 °C/min in atmosfera di argon. La temperatura indicata in ciascun fotogramma è quella registrata dallo strumento.	71
Figura 43	Micrografia SEM 373 X	72
Figura 44	Micrografia SEM 100 X	72
Figura 45	Micrografia SEM 1,79 KX.....	72
Figura 46	Micrografia SEM 6,76 KX.....	73
Figura 48	Micrografia SEM 400 X	74
Figura 47	Micrografia SEM 602 X	74
Figura 49	Micrografia SEM 1,23 KX.....	74
Figura 50	Micrografia SEM 5,84 KX.....	74
Figura 51	Micrografia SEM 6,05 KX.....	74
Figura 52	Micrografia SEM 500 X	75
Figura 53	Micrografia SEM 860 X	76

Figura 54 Micrografia SEM 1,67 KX.....	76
Figura 55 Micrografia SEM 6,97 KX.....	76
Figura 56 Micrografia SEM 376 X	77
Figura 58 Micrografia SEM 15,00 KX.....	77
Figura 57 Micrografia SEM 4,73 KX.....	77
Figura 59 struttura chimica PVA	78
Figura 60 Sistema PVA / prednisolone 21-trimetilacetato	78
Figura 61 Termogramma DSC del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo trattamento in muffola (punto di prelievo 1).....	80
Figura 62 Diffrattogramma XRPD del sistema PVA puro	81
Figura 63 Diffrattogramma XRPD del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo trattamento in muffola (punto di prelievo 1).....	82
Figura 64 Spettro FT-IR del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo trattamento in muffola (punto di prelievo 1).	83
Figura 65 Diffrattogramma XRPD del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo muffola e stufa (punto di prelievo 1).	84
Figura 66 Spettro FT-IR del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo muffola e stufa (punto di prelievo 1).	86
Figura 67 Spettro FT-IR sovrapposizione degli spettri FT-IR muffola vs. muffola+stufa (punto 1).	87
Figura 68 Spettro FT-IR del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo muffola (punto di prelievo 2).	88
Figura 69 Spettro FT-IR del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo muffola e stufa (punto di prelievo 2).	89
Figura 70 Spettro FT-IR sovrapposizione degli spettri FT-IR dei due punti di prelievo (muffola).	90

Elenco delle tabelle

Tabella 1 Parametri strumentali u due delle tre acquisizioni dello stesso campione (Figura 26), ottenute variando l'altezza del coltello anti-diffusione,tilizzati per la caratterizzazione del prednisolone 21-trimetilacetato puro.	24
Tabella 2 Parametri strumentali utilizzati per la caratterizzazione dell'acido palmitico puro.	25
Tabella 3 Parametri strumentali utilizzati per la caratterizzazione del palmitato di sodio puro..	26
Tabella 4 Prove preliminari di solubilizzazione in etanolo del prednisolone 21-trimetilacetato con acido dodecanoico (C12), acido miristico (C14) e acido palmitico (C16).	30
Tabella 5 Parametri strumentali utilizzati per la caratterizzazione del prodotto di co-cristallizzazione da soluzione (prednisolone 21-trimetilacetato + acido palmitico).	34
Tabella 6 Parametri strumentali utilizzati per la caratterizzazione del prodotto ottenuto da slurry (prednisolone 21-trimetilacetato + acido palmitico).	38
Tabella 7 Sostanze e quantità impiegate nella sintesi del palmitato di sodio.	41
Tabella 8 Parametri strumentali utilizzati per la caratterizzazione del prodotto di co-cristallizzazione con palmitato di sodio dopo macinazione.	44
Tabella 9 Tecniche di caratterizzazione applicate al sistema PVA/prednisolone 21-trimetilacetato.	48
Tabella 10 Parametri strumentali impiegati per l'analisi Hot Stage Microscopy (HSM).	49
Tabella 11 Parametri strumentali impiegati per l'analisi al microscopio elettronico a scansione (SEM).	50

1 INTRODUZIONE

Il presente studio riguarda la caratterizzazione chimico-fisica allo stato solido di sistemi farmaceutici multicomponente. In particolare l'obiettivo è analizzare il profilo termico e strutturale del prednisolone 21-trimetilacetato, valutandolo sia come principio attivo puro sia integrato in matrici di natura polimerica (PVA) e lipidica.

L'attività sperimentale si articola in tre fasi:

1. caratterizzazione del composto puro mediante DSC, TGA e XRPD;
2. studio dei sistemi binari con acido palmitico e palmitato di sodio, ottenuti per co-cristallizzazione da soluzione, per trattamento in slurry e per macinazione;
3. sviluppo di un sistema a dispersione solida in matrice di polivinil alcol.

La caratterizzazione strutturale e la stabilità di tali sistemi sono state indagate integrando le metodologie termoanalitiche e spettroscopiche (DSC, TGA, XRPD, FT-IR) con indagini morfologiche (HSM, SEM).

I corticosteroidi sistemici hanno una lunga storia di impiego nel trattamento delle patologie autoimmuni e infiammatorie¹. I loro esteri trovano inoltre largo impiego per via topica: il prednisolone acetato, per esempio, è prescritto prevalentemente per condizioni infiammatorie dell'occhio, fra cui il decorso post-operatorio, le allergie e il gonfiore².

Il prednisolone 21-trimetilacetato è un derivato steroideo ottenuto per esterificazione dell'ossidril in posizione C-21 con acido trimetilacetico. L'introduzione di un residuo acilico in questa posizione riduce drasticamente la solubilità acquosa della molecola: nel caso dell'estere acetico la solubilità del prednisolone diminuisce da 200 µg/mL a 0,4 µg/mL, senza variazioni significative del punto di fusione². La ridotta solubilità in ambiente acquoso abbassa la velocità di dissoluzione che, per i farmaci di questa classe, costituisce il passaggio limitante per l'assorbimento³.

Per superare questo limite il principio attivo è stato incorporato in una matrice idrofila di polivinil alcol, polimero impiegato per generare e mantenere dispersioni solide

amorfe supersature di farmaci scarsamente idrosolubili⁴. Lo studio è stato inoltre esteso a sistemi binari con eccipienti lipidici a diverso grado di idrofobicità — l'acido palmitico ($C_{16}H_{32}O_2$) e il corrispondente sale sodico, il palmitato di sodio ($C_{16}H_{31}NaO_2$) — per valutare l'eventuale formazione di interazioni, fenomeni eutettici o incompatibilità con il principio attivo.

Lo studio dello stato solido, dei comportamenti di fase e della stabilità termica di questi sistemi ha richiesto l'impiego integrato di più tecniche analitiche. A supporto della calorimetria differenziale a scansione e della termogravimetria è stata impiegata la termomicroscopia, che consente di rilevare variazioni nella morfologia macroscopica del campione che possono essere utili per interpretare i tracciati DSC e TGA⁵.

L'obiettivo centrale del lavoro è delineare le correlazioni struttura-proprietà che governano questi sistemi, ponendo i presupposti chimico-fisici per la progettazione razionale di formulazioni successive.

1.1 I Glucocorticoidi: Meccanismo d'Azione e Rilevanza Terapeutica

I glucocorticoidi sono ormoni steroidei sintetizzati a partire dal colesterolo dagli enzimi steroidogenici presenti nei mitocondri della zona fascicolata della corteccia surrenale⁶. La loro secrezione è regolata dall'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA): il nucleo paraventricolare dell'ipotalamo rilascia l'ormone liberante la corticotropina (CRH) e la vasopressina (AVP), che inducono l'ipofisi anteriore a secernere adrenocorticotropina (ACTH); questa stimola a sua volta la corteccia surrenale a sintetizzare e rilasciare cortisolo⁶. I glucocorticoidi circolanti esercitano un retrocontrollo negativo sull'asse, reprimendo la trascrizione dei geni CRH, CRH-R1 e POMC — precursore dell'ACTH — sia a livello ipotalamico sia ipofisario.

Il recettore dei glucocorticoidi (GR, codificato dal gene NR3C1) appartiene alla famiglia dei recettori nucleari ed è organizzato in quattro domini: il dominio N-terminale (NTD), che contiene la funzione di attivazione 1 (AF1), indipendente dal ligando e capace di legare cofattori, modulatori della cromatina e l'apparato trascrizionale; il dominio di legame al DNA (DBD), costituito da due sottodomini altamente conservati, ciascuno contenente un dito di zinco di tipo Cys4; una regione cerniera; e il dominio di legame al

ligando (LBD) C-terminale. Il GR si lega come omodimero agli elementi di risposta ai glucocorticoidi (GRE), motivi di 15 paia di basi formati da due ripetizioni palindromiche invertite imperfette di 6 paia di basi separate da uno spaziatore di 3. Il complesso così formato, insieme ad altri fattori di trascrizione e co-regolatori, modula l'attività della RNA polimerasi II.⁶

Accanto alle azioni genomiche i glucocorticoidi esercitano effetti rapidi, indipendenti dalla trascrizione e dalla sintesi proteica: modificano le proprietà chimico-fisiche dei lipidi di membrana, agiscono su una forma del recettore associata alla membrana e, attraverso un'isoforma localizzata nei mitocondri, regolano il metabolismo energetico cellulare in modo indipendente dal ligando.⁶

Sul piano terapeutico i glucocorticoidi sono impiegati principalmente per gli effetti antinfiammatori e immunosoppressivi, che derivano fra l'altro dall'induzione trascrizionale di geni codificanti proteine antinfiammatorie⁶.

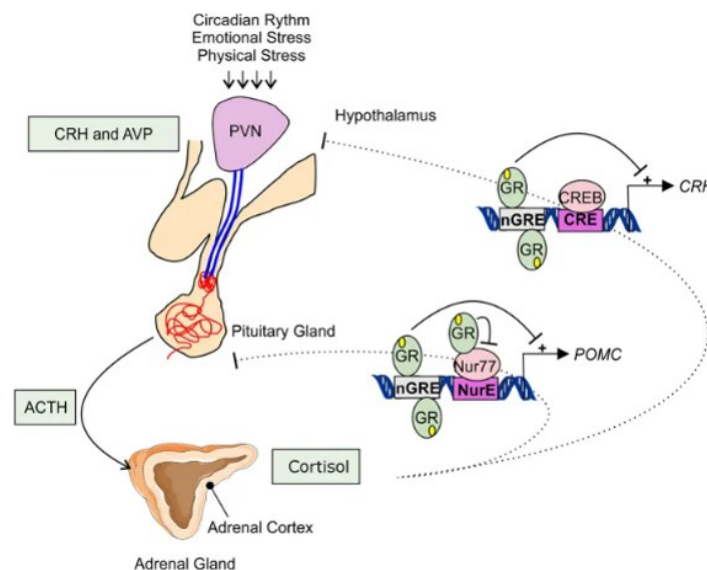


Figura 1 Asse ipotalamo-ipofisi-surrene e meccanismi di retrocontrollo negativo dei glucocorticoidi sui geni CRH e POMC. Riprodotta da Timmermans, S., Souffriau, J. & Libert, C., A General Introduction to Glucocorticoid Biology, Front. Immunol. 10, 1545 (2019).

1.2 Il Prednisolone 21-Trimetilacetato: Proprietà Chimico-Fisiche e Razionale della Modificazione Esterea

Il prednisolone 21-trimetilacetato (nome sistematico 11 β ,17 α ,21-triidrossipregna-1,4-diene-3,20-dione 21-(2,2-dimetilpropanoato), noto anche come prednisolone pivalato; C₂₆H₃₆O₆, PM 444,56 g/mol, CAS 1107-99-9) è un derivato esterificato del prednisolone appartenente alla classe dei corticosteroidi sintetici⁷.

STRUTTURA E RAZIONALE DELLA MODIFICAZIONE ESTEREA

Il composto presenta il caratteristico scheletro ciclopentanoperidrofenantrenico⁷ dei corticosteroidi; la modifica sostanziale consiste nella trasformazione dell'ossidril primario in posizione C-21 in un estere trimetilacetato.

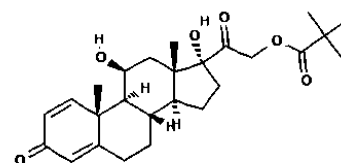


Figura 2 Struttura chimica del prednisolone 21-trimetilacetato. Immagine tratta da PubChem, National Library of Medicine, CID 10095005

Questa modificazione non lascia inalterato il profilo farmacologico della molecola. Gli esteri dei corticosteroidi sono profarmaci e diventano farmacologicamente attivi solo dopo l'idrolisi del legame estereo, poiché l'azione glucocorticoide è esercitata unicamente dai corrispondenti alcoli⁸. L'idrolisi degli esteri in C-17 e C-21 nei fluidi biologici — a opera, per esempio nelle formulazioni oftalmiche, delle esterasi presenti nel film lacrimale e nello stroma corneale² — condiziona quindi sia la potenza locale sia la disponibilità sistemica del composto⁸.

CONSEGUENZE CHIMICO-FISICHE DELL'ESTERIFICAZIONE

L'introduzione del residuo acilico aumenta la lipofilia della molecola e ne riduce la solubilità in acqua. L'effetto sulla solubilità è marcato: nel caso dell'estere acetico la solubilità acquosa del prednisolone scende da 200 a 0,4 $\mu\text{g/mL}^2$. La maggiore lipofilia migliora l'assorbimento percutaneo — il fluocinolone acetonide 21-acetato è circa cinque volte più potente dell'alcol libero corrispondente proprio per l'aumentata lipofilia e il conseguente assorbimento cutaneo⁸ — e comporta un'elevata ritenzione nelle membrane lipidiche: gli esteri in C-21 del fluocinolone acetonide mostrano ritenzioni di membrana comprese fra il 32 e l'87 %, a fronte di permeazioni fra l'1 e il 27 %⁹. Ne

deriva il profilo di un composto che si accumula nell'epidermide bersaglio più di quanto la attraversi, condizione ricercata nelle applicazioni topiche⁹.

La stessa ridotta solubilità acquosa che rende il derivato adatto all'uso topico ne rallenta però la velocità di dissoluzione, che per questa classe di farmaci costituisce il passaggio limitante per l'assorbimento³. È il problema formulativo affrontato nel presente lavoro.

PROPRIETÀ CHIMICO-FISICHE

Il prednisolone 21-trimetilacetato si presenta come solido cristallino bianco. La caratterizzazione condotta in questo lavoro (§4.1.1) ne colloca la fusione a 234,6 °C, evento preceduto dall'inizio della degradazione termica. Il coefficiente di ripartizione calcolato (XLogP3) è pari a 3,8⁷, valore coerente con la natura lipofila del composto.

1.3 La Termodinamica dello Stato Solido: Polimorfismo e Fenomeni di Degradazione Termica

Il polimorfismo è definito come la capacità di una sostanza di cristallizzare in due o più fasi cristalline caratterizzate da disposizioni o conformazioni diverse dei costituenti nel reticolo cristallino¹⁰. Al variare della forma allo stato solido possono modificarsi in modo significativo proprietà chimiche e fisiche rilevanti — stabilità chimica, biodisponibilità, solubilità, punto di fusione, igroscopicità, morfologia e densità — con ricadute dirette sul comportamento del composto¹⁰.

Il fenomeno ha un rilievo particolare in ambito farmaceutico perché forme polimorfe diverse possono generarsi nel corso di processi ordinari come ad esempio la cristallizzazione, la macinazione e il riscaldamento¹⁰ — tutti e tre impiegati nel presente lavoro — e per questa ragione FDA e ICH richiedono un'attenzione specifica al polimorfismo nella valutazione della qualità dei composti farmaceutici¹⁰.

Dal punto di vista termodinamico la stabilità relativa di due polimorfi è governata dalla loro energia libera di Gibbs. Due forme possono trovarsi in relazione monotropica o enantiotropica: nel primo caso una delle due è stabile sull'intero intervallo di temperatura; nel secondo esiste una temperatura di transizione, inferiore al punto di fusione, alla quale le energie libere delle due forme si eguagliano, con una forma stabile

al di sotto e l'altra al di sopra di essa¹¹. Tale temperatura può essere stimata osservando gli eventi di transizione in DSC, calcolando la differenza di energia libera a partire dalle capacità termiche, costruendo il grafico di van 't Hoff da misure di solubilità, oppure mantenendo in slurry una miscela dei due polimorfi a temperature diverse¹¹.

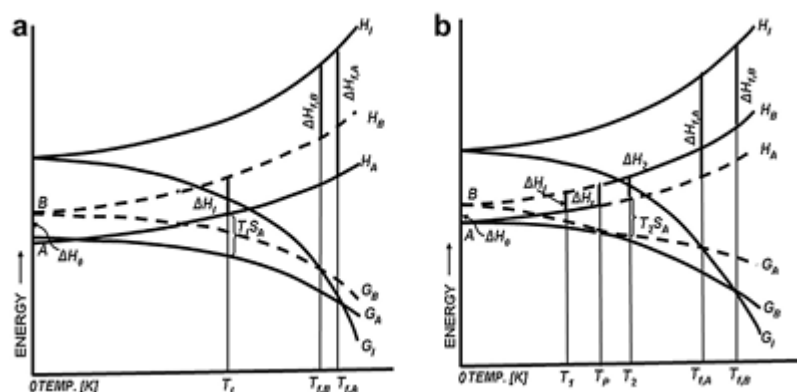


Figura 3 Diagrammi energia/temperatura di un sistema dimorfo monotropico (a) ed enantiotropico (b). T_p : temperatura di transizione; T_f : temperatura di fusione. Riprodotta da Lee, E.H., *Asian J. Pharm. Sci.* 9, 163–175 (2014).

Accanto alle transizioni di fase va considerata la degradazione termica, cioè l'insieme dei processi irreversibili che portano alla rottura della struttura chimica del composto. Nei solidi farmaceutici i due fenomeni possono sovrapporsi, ed è per questo che la caratterizzazione termica si conduce combinando calorimetria differenziale a scansione e termogravimetria: la prima rileva le transizioni, la seconda le perdite di massa, e il confronto fra la temperatura di inizio della degradazione e quella di fusione permette di stabilire criteri di stabilità termica¹⁰. È l'approccio adottato in questo lavoro (§2.2.1, §2.2.2) e, nel caso del prednisolone 21-trimetilacetato, conduce al risultato che condiziona l'interpretazione dell'intero capitolo 4: la degradazione precede la fusione (§4.1.1).

1.4 Dispersioni Solide e Matrici Idrofile di Polivinil Alcol (PVA)

Le dispersioni solide rappresentano una delle strategie di formulazione più studiate per i principi attivi poco solubili. Sono definite come la dispersione allo stato solido di uno o più principi attivi in un carrier o matrice inerte, ottenuta per fusione, per evaporazione del solvente o per processi misti fusione-solvente, dove la matrice è idrofila e il farmaco

idrofobo³. Il vantaggio deriva dal miglioramento della bagnabilità e della velocità di dissoluzione del principio attivo e, in alcuni casi, della sua stabilità fisica; l'efficacia dell'approccio dipende dalla natura del polimero impiegato, dal rapporto farmaco/matrice e dalla capacità del sistema di impedire fenomeni di ricristallizzazione o separazione di fase durante la conservazione¹².

Nel presente lavoro è stato impiegato come matrice il polivinil alcol, polimero semicristallino, non ionico e solubile in acqua, disponibile in un'ampia gamma di gradi che differiscono per grado di idrolisi e peso molecolare¹³. Il grado di idrolisi — cioè il rapporto fra le unità idrofile di alcol vinilico e quelle idrofobe di vinil acetato residue — influenza in modo determinante le proprietà chimico-fisiche e termomeccaniche del polimero, fra cui la solubilità in acqua, la capacità di rigonfiamento, la flessibilità e la resistenza a trazione¹³.

Il PVA si ottiene industrialmente per idrolisi del polivinil acetato in ambiente alcolico e in presenza di un catalizzatore alcalino. Quando la reazione è portata a completamento il prodotto risulta altamente solubile in acqua e praticamente insolubile in tutti i solventi organici; una rimozione incompleta dei gruppi acetato produce invece resine meno solubili in acqua e più solubili in alcuni liquidi organici¹⁴. Commercialmente è disponibile in gradi parzialmente o totalmente idrolizzati, con pesi molecolari compresi fra 20 000 e 200 000 g·mol⁻¹; presenta una temperatura di transizione vetrosa intorno agli 85 °C e una temperatura di fusione intorno ai 230 °C¹⁴, quest'ultima in accordo con il valore misurato in questo lavoro (§4.7.1).

Nelle formulazioni farmaceutiche il PVA è impiegato per la capacità filmogena¹⁵ e per l'elevata densità di gruppi ossidrilici lungo la catena, potenziali donatori e accettori di legame a idrogeno nei confronti del principio attivo. È stato utilizzato con successo come carrier per dispersioni solide amorfe supersature di farmaci scarsamente idrosolubili⁴, e il grado di idrolisi si conferma parametro critico anche in questo contesto, poiché modula la processabilità e la capacità di inibire la ricristallizzazione del farmaco disperso⁴.

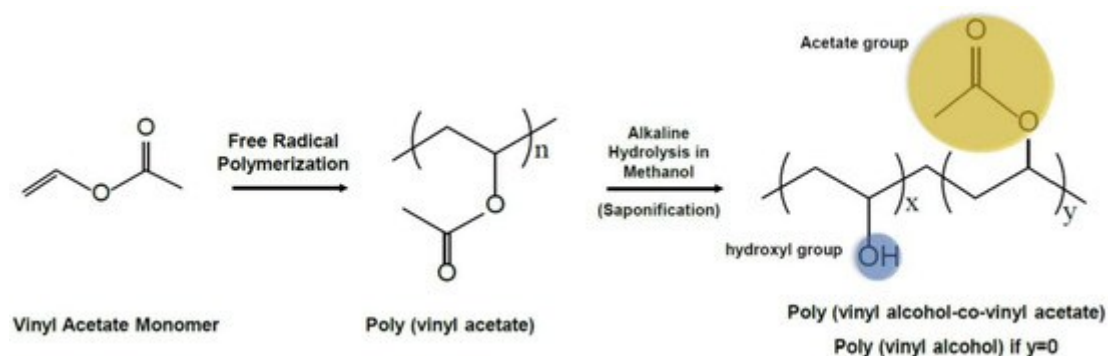


Figura 4 Via di sintesi e struttura chimica del polivinil alcol. L'idrolisi parziale porta alla formazione di copolimeri con unità di vinil acetato residue, la cui presenza riduce la tendenza alla cristallinità del polimero ($x + y = n$).¹⁶

1.5 Sistemi Binari con Eccipienti Lipidici: Acido Palmitico e Palmitato di Sodio

I sistemi binari costituiti da un principio attivo e un eccipiente lipidico rappresentano una strategia di interesse nello sviluppo di forme solide, poiché consentono di modulare l'organizzazione strutturale e il comportamento termico del principio attivo attraverso l'interazione con una seconda fase. Gli acidi grassi a lunga catena — acido stearico, palmitico, miristico e laurico — sono impiegati come carrier in dispersioni solide grazie al loro status di sostanze generalmente riconosciute come sicure (GRAS) e alla capacità di formare una matrice idrofobica in cui il farmaco resta intrappolato conservando la propria integrità chimica e fisica¹⁷. In tali sistemi la caratterizzazione allo stato solido è condotta con l'insieme di tecniche impiegato anche nel presente lavoro: calorimetria differenziale a scansione, diffrazione di raggi X su polveri, microscopia a stadio caldo e spettroscopia infrarossa.

Va precisato che in quegli studi l'acido grasso è impiegato per rallentare la dissoluzione del principio attivo, mentre nel presente lavoro viene esplorato come co-formatore, con l'obiettivo di modificarne lo stato solido; l'effetto sulla velocità di dissoluzione dei sistemi ottenuti resta da verificare sperimentalmente (§6).

Sono stati impiegati l'acido palmitico e il corrispondente sale sodico, il palmitato di sodio. La scelta di studiare entrambe le forme risponde a un criterio preciso: valutare

come cambi la risposta del principio attivo passando da un co-formatore neutro a uno ionico.

L'acido palmitico (acido esadecanoico, $C_{16}H_{32}O_2$) è un acido grasso saturo, presente nel grasso animale e in oli vegetali quali l'olio di palma, da cui prende il nome. È costituito da una catena satura di sedici atomi di carbonio terminante con un gruppo carbossilico¹⁸.

Il palmitato di sodio ($C_{16}H_{31}NaO_2$) ne è il corrispondente sale sodico. Gli alcanati di sodio si sciolgono in acqua in forma micellare al di sopra del punto di Krafft — pari a 60 °C per il palmitato di sodio — mentre al di sotto di tale temperatura si comportano come sali poco solubili¹⁹, il che conferisce al sale proprietà tensioattive assenti nell'acido libero.

Alla diversa solubilità si aggiunge la differenza nel gruppo funzionale reso disponibile per l'interazione con il principio attivo. Nei saponi di sodio il gruppo carbossilico è presente in forma di carbossilato con struttura di tipo ionico, riconoscibile in spettroscopia infrarossa dalle bande di stiramento antisimmetrico e simmetrico del gruppo COO^- , situate rispettivamente attorno a 1560 e 1425 cm^{-1} ²⁰. Il co-formatore mette quindi a disposizione un gruppo anionico in luogo del carbonile dell'acido libero, con una capacità di interazione differente. La salificazione di un principio attivo con un acido grasso non è del resto priva di precedenti: nel caso dell'eritromicina stearato essa riduce l'influenza del cibo sulla biodisponibilità¹⁷.

Il confronto fra le due forme consente pertanto di valutare come il principio attivo si comporti in presenza di una matrice lipidica più apolare o più anfifilica, e se tale differenza si rifletta sulle proprietà termiche osservabili in calorimetria, sulla struttura cristallina rilevabile in diffrazione e sulla posizione delle bande infrarosse dei gruppi funzionali coinvolti.

2 MATERIALI E TECNICHE DI CARATTERIZZAZIONE

2.1 Materiali

Tutti i reagenti e i solventi sono stati utilizzati come forniti, senza ulteriori purificazioni. Il prednisolone 21-trimetilacetato è stato conservato in contenitore chiuso e al riparo dalla luce fino al momento delle analisi; per la preparazione delle soluzioni acquose è stata impiegata acqua distillata.

Elenco dei materiali utilizzati:

- Prednisolone 21-trimetilacetato (Sigma-Aldrich, purezza ≥ 98 %), principio attivo oggetto di studio, impiegato sia allo stato puro per la caratterizzazione chimico-fisica sia nei sistemi binari e nel sistema polimerico;
- Polivinil alcol (Sigma-Aldrich P1763, CAS 9002-89-5, completamente idrolizzato), impiegato come matrice filmogena per la preparazione dei film compositi;
- Acido palmitico (acido esadecanoico, $C_{16}H_{32}O_2$), impiegato tal quale nei sistemi binari e come precursore per la sintesi del palmitato di sodio;
- Palmitato di sodio ($C_{16}H_{31}NaO_2$), non di origine commerciale ma sintetizzato in laboratorio per neutralizzazione dell'acido palmitico (§3.2.5), impiegato come co-formatore anfifilico;
- Idrossido di sodio, impiegato in soluzione acquosa per la sintesi del palmitato di sodio;
- Metanolo, acetone ed etanolo (96 % e 99 %), di grado analitico, impiegati come solventi nelle diverse preparazioni;
- Azoto come carrier gas nelle analisi termiche e argon, gas inerte nelle osservazioni in termomicroscopia.

2.2 Tecniche di indagine

2.2.1 Calorimetria Differenziale a Scansione (DSC)

La calorimetria differenziale a scansione è fra le tecniche di analisi termica più impiegate nella caratterizzazione allo stato solido dei sistemi farmaceutici, e in particolare nello sviluppo delle dispersioni solide.²¹ Si tratta di un metodo indiretto, che individua le transizioni dello stato solido misurando la differenza di flusso termico fra il campione e un riferimento in funzione della temperatura; la rapidità dell'analisi e la minima preparazione richiesta ne fanno un punto di partenza accessibile²¹.

Tre sono gli eventi termici fondamentali che la tecnica consente di individuare:

1. La fusione è una transizione del primo ordine, che si manifesta come picco endotermico: poiché la temperatura di fusione dipende dall'intensità delle interazioni intermolecolari, una sua diminuzione in un sistema multicomponente è comunemente impiegata come indice di miscibilità fra i componenti.²¹
2. La transizione vetrosa è una transizione del secondo ordine e non compare come picco, bensì come gradino della capacità termica.²¹
3. La cristallizzazione è infine un evento esotermico governato dalla cinetica del processo.²¹

L'analisi può essere condotta in condizioni non isoterme, riscaldando o raffreddando a velocità programmata, oppure in condizioni isoterme, queste ultime adatte allo studio delle cinetiche di cristallizzazione e dei tempi di rilassamento.²¹ Le misure sono state eseguite in condizioni non isoterme con un DSC Q2000 (TA Instruments), del tipo a flusso di calore. L'interpretazione dei termogrammi richiede cautela, perché il segnale dipende dalle condizioni sperimentali: mentre la temperatura di fusione è una costante caratteristica del composto, la transizione vetrosa e la cristallizzazione risentono della velocità di scansione e della storia termica del campione, così come della massa, del contatto con il crogiolo, del solvente residuo e dell'umidità.²¹ Nei sistemi complessi gli eventi possono apparire sovrapposti, allargati o del tutto assenti, e il confronto fra termogrammi è significativo solo a parità di condizioni operative²¹.

Va infine considerato che la sensibilità della tecnica verso frazioni cristalline modeste è limitata: contenuti inferiori al 5–10 % possono non essere rilevati, laddove la diffrazione di raggi X su polveri individua l'1–2 %. Per questa ragione i risultati calorimetrici vanno interpretati insieme a quelli ottenuti con tecniche complementari²¹.



Figura 5: DSC Q2000

2.2.2 Termogravimetria (TGA)

L'analisi termogravimetrica è una delle tecniche di analisi termica, definite dalla International Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry (ICTAC) come l'insieme dei metodi che monitorano nel tempo la variazione di una proprietà fisica o chimica di un campione sottoposto a un programma di temperatura.²² Lo strumento, denominato termobilancia, è costituito da una microbilancia di precisione collegata a un portacampione alloggiato in una fornace a temperatura programmata, con un flusso dinamico di gas di spurgo che lambisce il campione. L'atmosfera può essere ossidante, inerte o riducente: quella inerte, di azoto o argon, non reagisce con il campione e consente quindi di attribuire le variazioni di massa ai soli processi interni al materiale²².

Il risultato è un termogramma che riporta la massa, assoluta o percentuale, in funzione della temperatura, e che presenta tipicamente più regioni distinte: al di sotto di 150 °C l'allontanamento di acqua fisisorbita e di composti volatili a basso peso molecolare; fra 150 e 250 °C la perdita di acqua chemisorbita e di prodotti di decomposizione a basso peso molecolare; al di sopra di 250 °C la decomposizione vera e propria, compresa fra

le temperature di onset ed endset, che nei sistemi multicomponente possono essere molteplici; oltre l'endset permane il residuo inorganico non volatile.²²

La derivata prima della curva (DTG) individua i punti di flesso e consente di discriminare fenomeni che nelle miscele avvengono in intervalli di temperatura sovrapposti; la temperatura di onset si determina come intersezione di due rette estrapolate.²² La tecnica non rileva però i fenomeni che non comportano variazione di massa — transizioni di fase e trasformazioni polimorfe — né fornisce informazioni sulla natura dei prodotti di degradazione: per questo va affiancata a tecniche complementari, in primo luogo la calorimetria differenziale a scansione²².

Le condizioni operative influenzano infine il risultato: un aumento della velocità di riscaldamento o della massa iniziale sposta i termogrammi verso temperature più elevate, per cui il confronto fra campioni richiede condizioni identiche. Gli analizzatori convenzionali operano su masse comprese fra 5 e 50 mg, e l'incertezza della misura dipende in massima parte dalla sensibilità della bilancia²².



Figura 6: TGA

2.2.3 Diffrazione a Raggi X su Polvere (XRPD)

La diffrazione di raggi X su polveri consente di stabilire la natura cristallina di un materiale solido e, attraverso questa, di ricavare informazioni sulle fasi presenti.²³ A differenza della diffrazione su cristallo singolo, che restituisce la struttura di un individuo cristallino, l'XRPD fornisce l'informazione relativa a un materiale microcristallino massivo: il pattern rappresenta la diffrazione media di un gran numero di cristalliti orientati casualmente, riportata come intensità diffratta in funzione dell'angolo 2θ ²³.

La formazione del pattern è descritta dalla **legge di Bragg**:

$$n\lambda = 2d \cdot \sin\theta$$

dove n è un numero intero, d la distanza interplanare e λ la lunghezza d'onda della radiazione; il confronto del pattern sperimentale con banche dati di diffrattogrammi noti o calcolati consente di identificare le fasi presenti nel materiale.²³

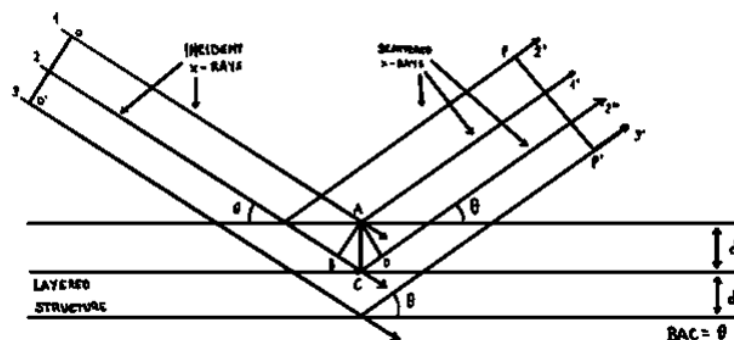


Figura 7: Diffrazione dei raggi X e geometria della legge di Bragg

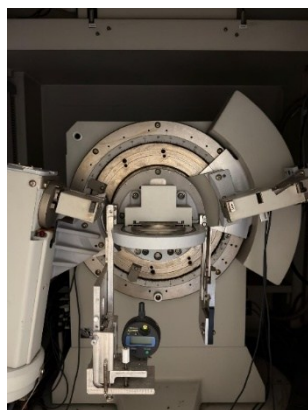


Figura 8: XRPD

Il diffrattogramma distingue inoltre la natura cristallina o amorfa del campione. In un solido cristallino gli atomi occupano posizioni periodiche nello spazio e i raggi X vengono diffusi soltanto in direzioni specifiche, generando picchi di Bragg netti e di elevata intensità; nei materiali amorfi, privi di periodicità e ordinati soltanto a corto raggio (2–5 Å) e a medio raggio (5–20 Å), la diffusione avviene in molte direzioni e produce un ampio rigonfiamento distribuito su un esteso intervallo di 2θ ²³.

La geometria di acquisizione più diffusa negli strumenti da laboratorio è quella focalizzante di Bragg-Brentano, che consente di impiegare il fascio divergente proveniente da un tubo sigillato senza monocromatizzazione, evitando la forte perdita di intensità che tale trattamento comporterebbe. Se ne distinguono la variante θ - θ , con campione fisso, e la variante θ - 2θ , con tubo a raggi X fisso. I rivelatori lineari a stato solido oggi impiegati si comportano come una schiera di rivelatori puntuali, con un guadagno in velocità di acquisizione confrontabile con il numero di canali disponibili; va però segnalato che l'impiego di un rivelatore lineare dritto in questa geometria comporta una defocalizzazione geometrica che influenza la forma dei riflessi agli angoli più bassi²⁴.

L'analisi è stata condotta con un diffrattometro Bruker D2 PHASER in geometria Bragg-Brentano θ - θ , con tubo ad anodo di rame operante a 30 kV e 10 mA (radiazione Cu $K\alpha_1$ + $K\alpha_2$, λ media = 1,54184 Å) e rivelatore lineare LynxEye XE; il portacampione è stato mantenuto in rotazione durante l'acquisizione. Poiché il pattern rappresenta la media su cristalliti orientati casualmente, e tale condizione non è sempre soddisfatta nei campioni

reali, il confronto fra diffrattogrammi è stato condotto sulle posizioni angolari dei riflessi anziché sui rapporti di intensità.²³

In ambito farmaceutico l'applicazione più frequente della tecnica è l'identificazione delle forme polimorfe: oltre il 90 % dei composti farmaceutici esiste in più di una forma solida, e il passaggio da un polimorfo all'altro incide sulla stabilità, sulla velocità di dissoluzione e sulla biodisponibilità; considerazioni analoghe valgono per gli idrati e per le forme solvate. L'XRPD consente inoltre di individuare l'insorgere della cristallizzazione nei principi attivi amorfi, con limiti di rilevabilità del contenuto cristallino dell'ordine dello 0,2–5 % in massa²³. Nel presente lavoro è stata impiegata per verificare se le procedure di preparazione avessero alterato lo stato solido del prednisolone 21-trimetilacetato: una riduzione dell'intensità e della definizione dei riflessi rispetto al farmaco tal quale indica un'amorfizzazione indotta dal processo, mentre la comparsa di riflessi non attribuibili né al principio attivo né agli eccipienti segnala la formazione di una nuova fase cristallina.

2.2.4 FT-IR

La spettroscopia infrarossa fornisce informazioni sulla struttura molecolare a partire dall'assorbimento della radiazione infrarossa²⁵. Una molecola è attiva nell'infrarosso solo se le sue vibrazioni comportano una variazione del momento di dipolo: in tal caso la radiazione viene assorbita alle frequenze coincidenti con quelle vibrazionali. Lo spettro che ne risulta dipende dalla struttura molecolare e dai gruppi funzionali presenti, e costituisce quindi un'impronta digitale del materiale. Le misure si effettuano nella regione del medio infrarosso, fra 4000 e 400 cm⁻¹, dove ricade la maggior parte delle vibrazioni di stiramento e di piegamento²⁵.

Poiché la frequenza di stiramento dipende dalla forza del legame, ogni interazione che la modifichi — in particolare la formazione di legami idrogeno — si manifesta come uno spostamento della banda coinvolta²⁵. È su questo principio che si fonda l'impiego della tecnica nello studio dei sistemi multicomponente allo stato solido: nelle semplici miscele fisiche lo spettro corrisponde alla somma di quelli dei singoli componenti, mentre lo spostamento delle bande diagnostiche segnala la formazione di interazioni

non covalenti, come osservato nella regione dei carbonili in occasione della formazione di cocristalli²⁶.

Nel presente lavoro gli spettri sono stati acquisiti in riflettanza totale attenuata (ATR). In questa modalità la radiazione deve incidere sull'elemento a riflessione interna (IRE) con un angolo superiore a quello critico, e l'IRE deve possedere un indice di rifrazione maggiore di quello del campione. All'interfaccia fra IRE e campione si genera un'onda evanescente che, quando il contatto è stretto, penetra per pochi micrometri nel campione. Rispetto alla modalità in trasmissione, che richiede spessori tipicamente compresi fra 5 e 50 μm e risente fortemente dell'assorbimento dell'acqua, l'ATR consente di analizzare campioni di qualsiasi dimensione con una preparazione minima; resta però indispensabile un contatto sufficiente fra campione e cristallo²⁵.

La tecnica è stata impiegata per verificare l'avvenuta salificazione dell'acido palmitico e per accertare, nei sistemi binari e nei film PVA/farmaco, la presenza di spostamenti delle bande diagnostiche indicativi di interazioni per legame idrogeno.



Figura 9: FT-IR

2.2.5 Piastra riscaldante

La piastra riscaldante con agitazione magnetica è un'apparecchiatura di uso comune nei laboratori chimici e farmaceutici, impiegata per riscaldare e omogeneizzare soluzioni. Il piano di appoggio, in acciaio inossidabile, è scaldato da una resistenza ed è isolato dagli altri componenti da un elemento riduttore di calore; l'agitazione è affidata a un'ancoretta magnetica movimentata da un motore in corrente continua, con regolazioni distinte per la temperatura e per la velocità di rotazione²⁷.

La piastra è stata impiegata per portare le soluzioni a 60–70 °C, temperatura necessaria alla completa solubilizzazione dei componenti nelle prove di co-cristallizzazione del prednisolone 21-trimetilacetato con acido palmitico e con palmitato di sodio, e per abbassare successivamente la temperatura in modo controllato, inducendo la sovrasaturazione e la precipitazione dei sistemi combinati. È stata inoltre utilizzata nella sintesi del palmitato di sodio (§3.2.5).



Figura 10: piastra riscaldante

2.2.6 Muffola

La muffola è un forno elettrico da laboratorio nel quale il campione viene riscaldato per conduzione, convezione o irraggiamento, allo scopo di ottenere una temperatura uniforme e di mantenere il materiale trattato isolato dai contaminanti di combustione. Un impiego analitico caratteristico è la determinazione del contenuto in ceneri, condotta per ossidazione a secco nell'intervallo 500–600 °C, con permanenza del campione in camera da 12 a 18 ore ²⁸.

La temperatura effettiva all'interno della camera non è tuttavia perfettamente costante: su un forno da laboratorio caratterizzato mediante termocoppie disposte in dodici posizioni diverse dello spazio di lavoro sono stati misurati un gradiente termico complessivo di circa 29 °C e fluttuazioni temporali di circa 21 °C ²⁸. L'uniformità termica della camera non è quindi un dato acquisito e va tenuta presente quando la muffola è impiegata per trattamenti che richiedono condizioni omogenee.

Nella sperimentazione svolta la muffola è stata impiegata come metodo di essiccazione rapida dei film compositi PVA/prednisolone 21-trimetilacetato (90 °C per 40 minuti), da confrontare con il protocollo in stufa ventilata (90 °C per 4–5 ore). Il trattamento ha

prodotto una massa dall'aspetto marcatamente disomogeneo, che ha reso necessario il campionamento in due punti distinti (§3.3); il confronto fra i due metodi di essiccazione è discusso al §4.7.



Figura 11: Muffola

2.2.7 Stufa ventilata

La stufa ventilata è un sistema di essiccazione a convezione impiegato in laboratorio, costituito da una camera di essiccazione, una resistenza elettrica, una ventola e un sensore di temperatura. L'aria calda è generata dalla resistenza, collocata su un lato della camera, e vi è immessa dalla ventola; piastre forate poste in corrispondenza dell'ingresso rendono più uniforme il flusso d'aria, e la potenza erogata dalla resistenza è regolata confrontando la temperatura misurata in camera con quella impostata²⁹.

L'essiccazione avviene per passaggio continuo del flusso di aria calda sulla superficie del materiale, che ne innalza la temperatura e ne rimuove l'umidità superficiale: i gradienti di temperatura e di umidità che si stabiliscono fra superficie e interno costituiscono la forza motrice per la migrazione dell'umidità, consentendo la rimozione dell'acqua dall'intero materiale. La direzione del flusso d'aria e la posizione dell'uscita influenzano in misura significativa l'uniformità della temperatura all'interno della camera²⁹.

In questo studio la stufa ventilata è stata impiegata per l'essiccazione dei film compositi PVA/prednisolone 21-trimetilacetato, con un protocollo a 90 °C per 4–5 ore applicato dopo il trattamento in muffola (§3.3). Il confronto fra i due passaggi di essiccazione, condotto mediante spettroscopia infrarossa e diffrattometria, è discusso al §4.7.



Figura 12: Stufa ventilata

2.2.8 Hot Stage Microscopy (HSM)

La microscopia con tavolino riscaldante o termomicroscopia consiste nell'accoppiamento dell'analisi termica con la microscopia ottica, per la caratterizzazione allo stato solido dei materiali in funzione della temperatura. Uno strumento tipico è costituito da un tavolino riscaldante programmabile controllato da computer, da un microscopio per l'osservazione in tempo reale, da filtri polarizzatori e da una fotocamera digitale per la registrazione degli eventi termici. Il campione è riscaldato in un crogiolo di zaffiro o su un vetrino, in ambiente aperto o chiuso; lo stadio può essere dotato di un'unità ad azoto liquido per il raffreddamento rapido o di un flusso di gas di spurgo, e la sua temperatura può essere variata fra -200 e 600 °C, con la possibilità di eseguire più cicli di riscaldamento e raffreddamento nel corso dello stesso esperimento⁵.

La tecnica consente di osservare processi di cristallizzazione, desolvatazione, transizioni polimorfiche e di fase, fusione e transizioni vetrose, ed è impiegata nello screening di cocristalli e di eccipienti per dispersioni solide. Con un filtro polarizzatore è inoltre possibile distinguere la forma cristallina da quella amorfa, poiché i materiali cristallini

presentano birifrangenza — la doppia rifrazione della luce in un materiale trasparente e molecolarmente ordinato — mentre i composti amorfi ne sono privi⁵.

L'HSM viene impiegata a supporto di DSC e TGA per rilevare piccole variazioni del campione che queste tecniche possono non cogliere, grazie all'osservazione visiva diretta e in tempo reale, contribuendo a evitare interpretazioni errate dei risultati calorimetrici e termogravimetrici⁵.

Nel presente lavoro le osservazioni sono state condotte in luce trasmessa senza filtro polarizzatore, in atmosfera inerte di argon per prevenire fenomeni ossidativi, con una velocità di riscaldamento di 10 °C/min pari a quella impiegata in DSC, così da correlare direttamente gli eventi osservati otticamente con i segnali calorimetrici corrispondenti (§4.5).

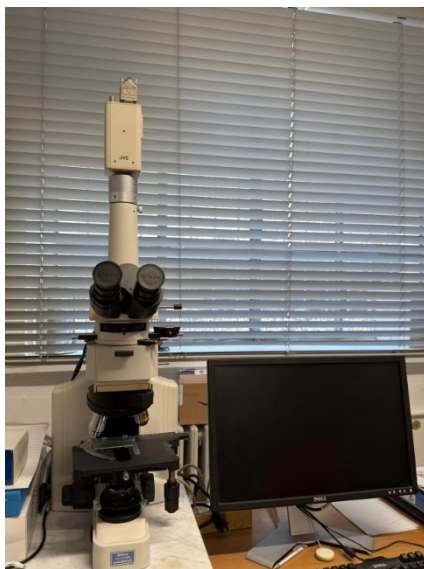


Figura 13: Hot Stage Microscopy (HSM)

2.2.9 Microscopio Elettronico a Scansione (SEM)

Il microscopio elettronico a scansione impiega un fascio di elettroni al posto della luce visibile. Gli elettroni, emessi da un cannone elettronico con energie tipicamente comprese fra 2 e 40 keV, sono ridotti a una sonda sottile da lenti condensatrici elettromagnetiche e fatti scandire sull'area di interesse dalle bobine di scansione; penetrano quindi nel campione in un volume a forma di goccia, le cui dimensioni

dipendono dall'energia del fascio e dalla composizione del materiale, generando elettroni secondari, elettroni retrodiffusi e raggi X caratteristici³⁰.

Gli elettroni secondari, a energia relativamente bassa, sono impiegati per l'indagine della topografia superficiale, mentre gli elettroni retrodiffusi forniscono un contrasto legato al numero atomico, con gli elementi più pesanti che appaiono più chiari. Nei campioni isolanti l'accumulo di carica distorce l'immagine, ed è per questo che si applica generalmente un sottile rivestimento metallico di oro, platino, palladio o cromo³⁰.

Per i campioni di questo studio le osservazioni sono state condotte con un microscopio elettronico a scansione Zeiss EVO, equipaggiato con un sistema di microanalisi a dispersione di energia (EDS) con sonda Oxford Instruments X-Max non impiegato in questo studio. Le immagini sono state acquisite in alto vuoto, con tensione di accelerazione di 5 kV e segnale degli elettroni secondari, senza rivestimento conduttivo (§3.4.2).



Figura 14 SEM

2.2.10 Bagno a Ultrasuoni

Si definiscono ultrasuoni le onde sonore di frequenza superiore al limite dell'udito umano, situato approssimativamente a 20 kHz. Il meccanismo alla base dei loro effetti è la cavitazione acustica: propagandosi nel liquido, l'onda genera cicli alternati di alta e bassa pressione e, nella fase di rarefazione, si formano bolle di vuoto che crescono nei

cicli successivi fino a implodere violentemente durante la fase di compressione, generando punti caldi localizzati a temperature e pressioni estreme. La cavitazione stabile, nella quale le bolle oscillano per numerosi cicli, induce microcorrenti nel liquido circostante che favoriscono il trasferimento di materia, mentre la cavitazione transiente, caratterizzata da crescita rapida e collasso violento, è responsabile della maggior parte degli effetti disgregativi³¹.

Il componente che genera gli ultrasuoni è il trasduttore, che converte l'energia elettrica in energia acustica ad alta frequenza. Nei bagni a ultrasuoni il trasduttore è montato all'esterno di una vasca, tipicamente sul fondo; la vasca è riempita di un mezzo liquido, di norma acqua, che trasmette le onde all'oggetto immerso inducendo cavitazione in tutto il bagno. La distribuzione dell'energia all'interno della vasca non è però uniforme, e l'intensità del trattamento varia con la posizione del campione³¹.

Nel presente lavoro il bagno a ultrasuoni è stato impiegato a supporto delle preparazioni per co-cristallizzazione con acido palmitico, per favorire la solubilizzazione completa dei componenti prima della fase di cristallizzazione (§3.2.2).



Figura 15 bagno ad ultrasuoni

3 METODOLOGIE SPERIMENTALI

3.1 Caratterizzazione chimico-fisica delle materie prime

3.1.1 Caratterizzazione del prednisolone 21-trimetilacetato puro

Il prednisolone 21-trimetilacetato puro è stato caratterizzato mediante diffrazione a raggi X su polveri (XRPD), analisi termogravimetrica (TGA) e calorimetria differenziale a scansione (DSC), allo scopo di stabilire i riferimenti da confrontare con quelli dei sistemi misti. I parametri strumentali impiegati sono riportati in Tabella 1.

Tabella 1 Parametri strumentali utilizzati per la caratterizzazione del prednisolone 21-trimetilacetato puro.

Parametro	DSC	TGA	XRPD
Strumento	DSC Q2000 (TA Instruments)	TGA Q5000 (TA Instruments)	Bruker D2 PHASER
Massa campione	3,10 mg	5,63 mg	—
Portacampione	Crogiolo Tzero in alluminio	Crogiolo in platino (Platinum-HT)	—
Programma termico	-25 → 300 → -25 → 25 °C	Rampa fino a 220 °C	—
Velocità di riscaldamento	10 °C/min	10 °C/min	—
Atmosfera	Azoto, 50 mL/min	Azoto: bilancia 10 mL/min, campione 25 mL/min	—
Geometria	—	—	Bragg-Brentano θ - θ
Sorgente	—	—	Cu K α (K α_1 + K α_2), λ media 1,54184 Å
Tensione / corrente	—	—	30 kV / 10 mA

Rivelatore	—	—	LynxEye XE, modalità monodimensionale
Intervallo angolare (2θ)	—	—	$3^\circ - 35^\circ$
Passo	—	—	$0,0305^\circ$
Tempo per passo	—	—	1 s
Fenditura di divergenza	—	—	Nessuna (No Slit)
Rotazione portacampione	—	—	15 rpm

3.1.2 Caratterizzazione dell'acido palmitico puro

L'acido palmitico, utilizzato come co-formatore nei sistemi di co-cristallizzazione, è stato caratterizzato mediante diffrazione a raggi X su polveri (XRPD), per stabilire il pattern di riferimento da confrontare con quello dei sistemi misti. I parametri strumentali sono riportati in Tabella 2 e coincidono con quelli impiegati per il prednisolone 21-trimetilacetato (§3.1.1), fatta eccezione per l'intervallo angolare, esteso fino a 46° in 2θ . Le analisi calorimetrica e termogravimetrica non sono state eseguite sul composto puro. Come riferimento per il comportamento termico sono stati pertanto assunti i valori di letteratura: temperatura di fusione pari a 335,8 K ($62,7^\circ\text{C}$) ed entalpia di fusione pari a $53\,711\text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}$, corrispondente a $209,5\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ ¹⁸. Quest'ultimo valore costituisce il termine di paragone impiegato nel Capitolo 4 per valutare la frazione di acido palmitico presente in forma cristallina libera nei sistemi binari (§4.2, §4.3).

Tabella 2 Parametri strumentali utilizzati per la caratterizzazione dell'acido palmitico puro.

Parametro	XRPD
Strumento	Bruker D2 PHASER
Geometria	Bragg-Brentano $\theta-\theta$
Sorgente	Cu K α (K α_1 + K α_2), λ media 1,54184 Å

Tensione / corrente	30 kV / 10 mA
Rivelatore	LynxEye XE, modalità monodimensionale
Intervallo angolare (2θ)	3° – 46°
Passo	0,0305°
Tempo per passo	1 s
Fenditura di divergenza	Nessuna (No Slit)
Rotazione portacampione	15 rpm
Durata della scansione	26 min

3.1.3 Caratterizzazione del palmitato di sodio puro

Il palmitato di sodio, ottenuto per neutralizzazione dell'acido palmitico con idrossido di sodio (§3.2.5), è stato caratterizzato mediante calorimetria differenziale a scansione (DSC), diffrazione a raggi X su polveri (XRPD) e spettroscopia infrarossa in trasformata di Fourier (FT-IR). L'analisi termogravimetrica non è stata eseguita sul composto puro.

Il campione è stato analizzato mediante tre acquisizioni diffrattometriche successive, condotte con i parametri riportati in tabella e variando la sola altezza del coltello anti-diffusione, allo scopo di valutarne l'effetto sulle intensità relative dei riflessi a basso angolo (§4.1.3). Il diffrattogramma riportato in Figura 25 è quello acquisito nella configurazione standard.

Tabella 3 Parametri strumentali utilizzati per la caratterizzazione del palmitato di sodio puro.

Parametro	DSC	XRPD	FT-IR
Strumento	DSC Q2000 (TA Instruments)	Bruker D2 PHASER	Thermo Scientific Nicolet iS20
Massa campione	3,80 mg	—	—
Portacampione	Crogiolo Tzero in alluminio	—	—

Programma termico	-25 → 350 → -25 → 25 °C	—	—
Velocità di riscaldamento	10 °C/min	—	—
Atmosfera	Azoto, 50 mL/min	—	—
Geometria	—	Bragg-Brentano θ - θ	—
Sorgente	—	Cu K α (K α_1 + K α_2), λ media 1,54184 Å	—
Tensione / corrente	—	30 kV / 10 mA	—
Rivelatore	—	LynxEye XE, modalità monodimensionale	—
Intervallo angolare (2θ)	—	3° – 46°	—
Passo / tempo per passo	—	0,0305° / 1 s	—
Fenditura di divergenza	—	Nessuna (No Slit)	—
Coltello anti-diffusione	—	Variato fra le tre acquisizioni	—
Rotazione portacampione	—	15 rpm	—
Intervallo spettrale	—	—	4000 – 400 cm ⁻¹
Risoluzione	—	—	4 cm ⁻¹
Modalità	—	—	ATR

3.2 Preparazione dei sistemi di co-cristallizzazione

Quando si vuole modificare un principio attivo in fase di progettazione della forma farmaceutica, la co-cristallizzazione offre un'alternativa a sali, solvati e polimorfi. Un co-cristallo è un sistema multicomponente in cui il principio attivo e un co-formatore farmaceuticamente accettabile, presente in quantità stechiometrica, condividono lo stesso reticolo cristallino.³²

Cambiando la forma cristallina cambiano con essa stabilità, velocità di dissoluzione e solubilità, oltre a igroscopicità e punto di fusione, mentre le proprietà biologiche del principio attivo restano inalterate: il risultato atteso è un miglioramento della biodisponibilità e dell'effetto terapeutico. Il legame fra i componenti non è irreversibile: per diluizione della soluzione, oppure attraverso un meccanismo pH-dipendente, il co-cristallo può dissociarsi nei suoi componenti.³²

Dal punto di vista strutturale i componenti sono tenuti insieme da eterosintoni supramolecolari, cioè da interazioni che si stabiliscono fra gruppi funzionali diversi, a differenza degli omosintoni che coinvolgono gruppi funzionali identici. Gli eterosintoni più frequenti riguardano le coppie acido carbossilico–azoto aromatico, acido carbossilico–ammide e alcol–piridina, e si realizzano attraverso forze non covalenti fra le quali prevale il legame a idrogeno; concorrono inoltre interazioni ioniche, forze di van der Waals, interazioni lipofilo–lipofilo e interazioni π – π .³²

Nel presente lavoro sono stati impiegati due co-formatori derivati dallo stesso acido grasso a catena lunga: l'acido palmitico, che mette a disposizione il gruppo carbossilico, e il palmitato di sodio, che offre invece il corrispondente carbossilato in forma ionica. In entrambi i casi i gruppi del principio attivo potenzialmente coinvolti sono le funzioni ossidrilica e carbonilica del nucleo steroideo. I co-cristalli si distinguono dai sali per la minore estensione del trasferimento protonico fra principio attivo e co-formatore: il sale si forma quando la differenza di pKa fra i due partner è sufficientemente ampia.³² Il criterio più usato si basa su $\Delta pK_a = pK_a(\text{base}) - pK_a(\text{acido})$: per valori inferiori a zero si attende un co-cristallo, per valori superiori a tre un sale, mentre nell'intervallo fra zero e tre sono possibili entrambi³².

Sulla base di questi presupposti, nel presente lavoro sono state esplorate tre vie preparative — cristallizzazione da soluzione, trattamento in slurry e macinazione — impiegando come co-formatori l'acido palmitico e il suo sale sodico, precedute da una prova preliminare di solubilizzazione su tre acidi grassi saturi a catena crescente.³²

3.2.1 Prove preliminari di solubilizzazione del prednisolone 21-trimetilacetato con acidi grassi

Prima di programmare gli studi di co-cristallizzazione è stata condotta una prova preliminare di solubilizzazione del prednisolone 21-trimetilacetato in presenza di tre acidi grassi saturi a catena lineare di lunghezza crescente:

1. Acido dodecanoico o laurico (C12)
2. Acido miristico (C14)
3. Acido palmitico (C16).

All'aumentare del numero di atomi di carbonio della catena alchilica aumenta il carattere lipofilo della molecola e si riduce la solubilità nei solventi organici polari, con una minore facilità di miscelazione omogenea con un principio attivo di polarità diversa: in sistemi acquosi contenenti etanolo o acetone la solubilità degli acidi grassi saturi si riduce infatti nell'ordine acido laurico > acido miristico > acido palmitico.³³

Le prove sono state condotte in etanolo, scelto perché maneggevole e compatibile con l'intero protocollo sperimentale. Si tratta tuttavia di un mezzo sfavorevole per questa classe di composti: fra gli alcoli impiegati per la solubilizzazione degli acidi grassi saturi l'etanolo è quello che ne scioglie meno, secondo l'ordine 2-propanolo > n-propanolo > etanolo³⁴; e in un confronto più ampio, esteso a idrocarburi e solventi clorurati, etanolo e acetone risultano i due solventi in cui l'acido palmitico è meno solubile, per effetto dell'autoassociazione delle molecole di solvente, che tendono ad attrarsi reciprocamente anziché legare il soluto¹⁸. La solubilità dipende inoltre in modo diretto dalla temperatura³⁴: per l'acido palmitico in etanolo la frazione molare all'equilibrio passa da 0,023 a 24,7 °C a 0,039 a 29,6 °C¹⁸. Per queste ragioni si è ricorsi, quando necessario, a riscaldamento o a sonicazione per accelerare la dissoluzione.

Le quantità impiegate, riportate in Tabella 4, non sono state mantenute costanti fra le prove: i risultati vanno quindi letti come indicazioni qualitative di lavorabilità dei sistemi e non come misure di solubilità, che non è stata determinata in questo lavoro. In tutte e tre le prove i sistemi acido grasso/principio attivo sono stati portati in soluzione: l'acido dodecanoico e l'acido miristico hanno richiesto riscaldamento e aggiunte successive di solvente, mentre l'acido palmitico ha richiesto un ciclo di sonicazione di 15–20 minuti.

Una quarta prova ha verificato la compatibilità reciproca dei tre acidi grassi insieme al principio attivo in un'unica miscela: la solubilizzazione è risultata pressoché completa, con una frazione residua attribuita all'acido miristico e risolta con un ulteriore ciclo di sonicazione.

Le prove hanno mostrato che tutti e tre gli acidi grassi sono lavorabili in etanolo insieme al principio attivo. La scelta è caduta sull'acido palmitico per il suo ampio impiego come eccipiente in ambito farmaceutico¹⁷ e per la maggiore lunghezza della catena alchilica, che ne accentua il carattere lipofilo — la proprietà che si intendeva sfruttare nella modulazione del comportamento del principio attivo.

Tabella 4 Prove preliminari di solubilizzazione in etanolo del prednisolone 21-trimetilacetato con acido dodecanoico (C12), acido miristico (C14) e acido palmitico (C16).

Prova	Componente	Quantità pesata	Condizioni	Esito
1 (C16)	Acido palmitico	0,5 g	Sonicazione 15–20 min	—
	Prednisolone 21-trimetilacetato	0,005 g	—	Solubilizzazione completa
2 (C14)	Acido miristico	0,4 g	~4 aliquote di etanolo, a caldo	Solubilizzazione completa

	Prednisolone 21-trimetilacetato	0,3 g	—	—
3 (C12)	Acido dodecanoico	0,3 g	~4 aliquote di etanolo, a caldo	Solubilizzazione completa, soluzione limpida
	Prednisolone 21-trimetilacetato	0,2 g	—	—
4 (miscela)	Acido palmitico	0,2 g	A caldo	Solubilizzazione quasi completa
	Acido miristico	0,4 g	A caldo	Frazione residua, risolta con sonicazione
	Acido dodecanoico	0,3 g	A caldo	Solubilizzazione completa
	Prednisolone 21-trimetilacetato	0,2 g	A caldo	Solubilizzazione completa

3.2.2 Co-cristallizzazione da soluzione con acido palmitico

La co-cristallizzazione fra prednisolone 21-trimetilacetato e acido palmitico è stata condotta allo scopo di studiare una strategia complementare al sistema PVA per modulare le proprietà chimico-fisiche del principio attivo, sfruttando la natura lipofila dell'acido grasso a lunga catena come co-formatore.

Materiali:

- **Prednisolone 21-trimetilacetato** (PM 444,56 g/mol)
- **Acido palmitico** (PM 256,43 g/mol)
- **Acetone**

- Etanolo
- Co-cristallizzatore
- Becher
- Bagno ad ultrasuoni
- Cristallizzatore

Rapporto molare e quantità impiegate

Come rapporto molare di riferimento è stato scelto 1:1 fra i due componenti: è la stechiometria più semplice, e corrisponde alla formazione di una singola interazione fra una molecola di principio attivo e una di co-formatore — interazione che nei co-cristalli è prevalentemente un legame a idrogeno.³²

Sono stati pesati 1,006 g di prednisolone 21-trimetilacetato e 0,641 g di acido palmitico. Il calcolo delle moli corrispondenti è riportato di seguito:

PM prednisolone 21-trimetilacetato: 444,56 g/mol

PM acido palmitico: 256,43 g/mol

Solubilità prednisolone 21-trimetilacetato in acetone: 30 mg/mL (determinati sperimentalmente, §3.2.1)

Solubilità acido palmitico in etanolo: 120 mg/mL (determinati sperimentalmente, §3.2.1)

$$n = \frac{1,006g}{444,56 \frac{g}{mol}} = 0,00226 mol$$

$$g \text{ acido palmitico} = 0,00226 mol * 256,43 \frac{g}{mol} = 0,577 g$$

Il rapporto molare effettivamente realizzato è quindi di 1:1,10, con un lieve eccesso di co-formatore rispetto alla stechiometria nominale.

È stata determinata la quantità minima di solvente necessaria alla completa solubilizzazione dei componenti:

$$S = \frac{m}{V}$$

$$V = \frac{m}{s}$$

$$\text{Prednisolone 21 – trimetilacetato} \rightarrow \frac{\text{grammi effettivi pesati}}{\text{solubilità}} \rightarrow \frac{1,006 \text{ g}}{0,030 \text{ g/mL}} =$$

33,5 ~ 35 mL di acetone da utilizzare

$$\text{Acido palmitico} \rightarrow \frac{0,641 \text{ g}}{0,120 \text{ g/mL}} = 5,34 \sim 7 \text{ mL utilizzati in eccesso}$$

Solubilizzazione

1. Becher A: 1 g (1006 mg) di prednisolone 21-trimetilacetato in 35 mL di acetone
2. Becher B: 0,641 g (641 mg) di acido palmitico in 7 mL di etanolo

Scelta dei volumi di solvente

I volumi di solvente sono stati stabiliti come quantità minima necessaria alla completa solubilizzazione di ciascun componente, determinata sperimentalmente nel corso delle prove preliminari (§3.2.1): 35 mL di acetone per il principio attivo, corrispondenti a una concentrazione di 28,7 mg/mL, e 7 mL di etanolo per l'acido palmitico, corrispondenti a 91,6 mg/mL.

Quest'ultima concentrazione equivale al 10,4 % in massa ed è prossima al limite di solubilità dell'acido palmitico in etanolo a temperatura ambiente, che i dati di letteratura collocano intorno all'11,7 % in massa a 24,7 °C, corrispondente a una frazione molare di 0,0232¹⁸. Per questa ragione la dissoluzione dell'acido palmitico ha richiesto riscaldamento.

Procedura:

1. Il prednisolone 21-trimetilacetato (1,006 g) è stato solubilizzato in 35 mL di acetone, con l'ausilio del bagno ad ultrasuoni.
2. L'acido palmitico (0,641 g) è stato solubilizzato in 7 mL di etanolo a caldo.

3. Le due soluzioni sono state agitate manualmente e quindi riunite nel co-cristallizzatore, dove si è lasciato procedere il processo di co-cristallizzazione per evaporazione controllata del solvente.



Figura 16 co-cristallizzazione da soluzione con acido palmitico

Tabella 5 Parametri strumentali utilizzati per la caratterizzazione del prodotto di co-cristallizzazione da soluzione (prednisolone 21-trimetilacetato + acido palmitico).

Parametro	DSC	TGA	XRPD	FT-IR
Strumento	DSC Q2000 (TA Instruments)	TGA Q5000 (TA Instruments)	Bruker D2 PHASER	Thermo Scientific Nicolet iS20
Massa campione	4,8 mg	5,899 mg	—	—
Portacampione	Crogiolo Tzero in alluminio (42,0 mg)	Crogiolo in platino (Platinum-HT)	—	—
Programma termico	-25 → 350 °C; 350 → -25 °C; -25 → 25 °C	Rampa fino a 450 °C	—	—
Velocità di riscaldamento	10 °C/min	10 °C/min	—	—

Atmosfera	Azoto, 50 mL/min	Azoto: bilancia 10 mL/min, campione 25 mL/min	—	—
Geometria	—	—	Bragg-Brentano θ – θ	—
Radiazione	—	—	Cu $K\alpha$ ($K\alpha_1$ + $K\alpha_2$), λ media 1,54184 Å	—
Tensione / corrente	—	—	30 kV / 10 mA	—
Rivelatore	—	—	LynxEye XE (monodimensionale)	—
Intervallo angolare (2θ)	—	—	$3^\circ - 46^\circ$	—
Passo	—	—	$0,0305^\circ$	—
Tempo per passo	—	—	1 s	—
Durata della scansione	—	—	26 min	—
Fenditura di divergenza	—	—	Nessuna (No Slit)	—
Coltello anti-diffusione	—	—	Variato fra le due acquisizioni	—
Acquisizioni	—	—	Due, indipendenti	—

Rotazione del portacampioni	—	—	15 giri/min	—
Modalità	—	—	—	ATR
Intervallo spettrale	—	—	—	4000 – 523 cm^{-1}
Risoluzione	—	—	—	4 cm^{-1}

3.2.3 Co-cristallizzazione da slurry

La co-cristallizzazione da slurry è un approccio impiegato per la produzione di co-cristalli i cui componenti presentano solubilità incongruenti. Si parte da una sospensione: uno dei due componenti, o entrambi, vengono posti in una quantità di solvente volutamente insufficiente a scioglierli. Se il co-cristallo è la fase stabile, nuclea e cresce a spese dei cristalli dei singoli componenti, che progressivamente si sciolgono: è lo stesso meccanismo della trasformazione polimorfa mediata dalla soluzione³⁵.

Nato come tecnica di screening, il metodo è semplice da eseguire e richiede poco solvente; inoltre il co-cristallo può formarsi anche senza che se ne conosca in anticipo la stechiometria. Ha però una condizione vincolante: si presta alla produzione di un co-cristallo solo se questo è, fra tutte le forme possibili, la più stabile dal punto di vista termodinamico, ed è proprio per questo che la stessa tecnica serve anche a individuare la forma più stabile di un sistema. Il limite sta nei tempi: poiché la conversione è mediata dalla soluzione, un prodotto puro si ottiene solo se tutte le altre forme cristalline si sono convertite entro la durata del trattamento³⁵.

Materiali:

- **Prednisolone 21-trimetilacetato** (PM 444,56 g/mol)
- **Acido palmitico** (PM 256,43 g/mol)
- **Acetone**
- **Etanolo**

- **Becher**
- **Ancoretta magnetica**
- **Piastra riscaldante**

Anche per la preparazione da slurry è stato adottato il rapporto molare 1:1 come riferimento, coerentemente con la co-cristallizzazione da soluzione (§3.2.2). Sono stati pesati 0,5193 g di prednisolone 21-trimetilacetato, pari a 1,168 mmol, e 0,3262 g di acido palmitico, pari a 1,272 mmol: il rapporto molare effettivamente realizzato è di 1:1,09, con un eccesso di co-formatore di circa il 9 %. I due sistemi risultano pertanto sostanzialmente equivalenti sul piano composizionale (61 % di principio attivo e 39 % di acido palmitico in entrambi i casi) e differiscono unicamente per il metodo di preparazione.

PM acido palmitico: 256,43 g/mol

$n = 0,001168 \text{ mol}$

$m \text{ acido palmitico} = 0,001168 * 256,43 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = 0,300 \text{ g} \rightarrow$

sono stati pesati realmente 0,3262 g di acido palmitico

Procedura:

1. Il prednisolone 21-trimetilacetato (0,5193 g) e l'acido palmitico (0,3262 g) sono stati posti insieme nello stesso becher.
2. Al solido è stato aggiunto un volume minimo di solvente misto — tre gocce di acetone e tre gocce di etanolo — insufficiente a portare in soluzione i componenti, in modo da ottenere una sospensione densa anziché una soluzione.
3. La sospensione è stata mantenuta sotto agitazione magnetica su piastra riscaldante per 4 ore.

L'impiego dei due solventi già utilizzati nella co-cristallizzazione da soluzione (§3.2.2) — acetone per il principio attivo ed etanolo per l'acido palmitico — riflette la diversa affinità dei due componenti per i rispettivi solventi. Il tempo di agitazione di quattro ore è stato scelto per consentire un numero sufficiente di cicli di dissoluzione e

ricristallizzazione, essendo la durata del trattamento il fattore che limita la completezza della conversione³⁵.

Tabella 6 Parametri strumentali utilizzati per la caratterizzazione del prodotto ottenuto da slurry (prednisolone 21-trimetilacetato + acido palmitico).

Parametro	DSC	TGA	XRPD	FT-IR
Strumento	DSC Q2000 (TA Instruments)	TGA Q5000 (TA Instruments)	Bruker D2 PHASER	Thermo Scientific Nicolet iS20
Massa campione	4,6 mg	6,024 mg	—	—
Portacampione	Crogiolo Tzero in alluminio (41,9 mg)	Crogiolo in platino (Platinum-HT)	—	—
Programma termico	−25 → 350 °C; 350 → −25 °C; −25 → 25 °C	Rampa fino a 450 °C	—	—
Velocità di riscaldamento	10 °C/min	10 °C/min	—	—
Atmosfera	Azoto, 50 mL/min	Azoto: bilancia 10 mL/min, campione 25 mL/min	—	—
Geometria	—	—	Bragg-Brentano θ – θ	—
Radiazione	—	—	Cu K α (K α_1 + K α_2), λ media 1,54184 Å	—

Tensione corrente /	—	—	30 kV / 10 mA	—
Rivelatore	—	—	LynxEye XE (monodimensional e)	—
Intervallo angolare (2θ)	—	—	3° – 46°	—
Passo	—	—	0,0305°	—
Tempo per passo	—	—	1 s	—
Durata della scansione	—	—	26 min	—
Fenditura di divergenza	—	—	Nessuna (No Slit)	—
Coltello anti- diffusione	—	—	Variato fra le acquisizioni	—
Acquisizioni	—	—	Tre, indipendenti	—
Rotazione del portacampion e	—	—	15 giri/min	—
Modalità	—	—	—	ATR
Intervallo spettrale	—	—	—	4000 – 523 cm ⁻¹
Risoluzione	—	—	—	4 cm ⁻¹

3.2.4 Co-cristallizzazione con palmitato di sodio

Dopo la caratterizzazione dei sistemi ottenuti con acido palmitico da soluzione e da slurry (§3.2.2 e §3.2.3), è stata esplorata una variante ionica del co-formatore: il palmitato di sodio, preparato per neutralizzazione dell'acido palmitico con idrossido di sodio.

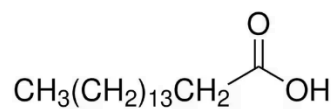


Figura 17 Acido Palmitico

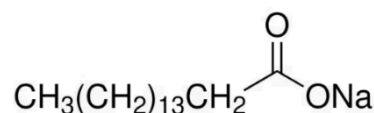


Figura 18 Palmitato di sodio

Le ragioni della scelta — la diversa solubilità in acqua legata al punto di Krafft e la disponibilità di un gruppo carbossilato in luogo del carbossile — sono esposte al §1.5. Sul piano operativo esse comportano due conseguenze dirette: la solubilizzazione del sale in acqua richiede di operare al di sopra dei 60 °C ¹⁹, condizione adottata sia nella sintesi (§3.2.5) sia nella preparazione del sistema binario (§3.2.6); e la verifica dell'avvenuta conversione può essere condotta per via spettroscopica, seguendo la scomparsa della banda del carbonile acido e la comparsa di quelle del carbossilato²⁰ (§4.1.3).

3.2.5 Preparazione del palmitato di sodio

Il palmitato di sodio è stato ottenuto per neutralizzazione dell'acido palmitico con idrossido di sodio, secondo la via comunemente impiegata per la preparazione dei saponi di sodio degli acidi grassi¹⁹. La reazione è stata condotta in rapporto molare 1:1 fra acido e base, con riscaldamento su piastra, e l'avvenuta conversione è stata successivamente verificata mediante spettroscopia infrarossa (§4.1.3), secondo l'approccio adottato in letteratura per questa classe di composti²⁰.

Materiali e quantità impiegate:

Tabella 7 Sostanze e quantità impiegate nella sintesi del palmitato di sodio.

Sostanza	Quantità	Peso molecolare	Moli
Acido palmitico	0,5 g	256,43 g/mol	1,95 mmol
Idrossido di sodio soluzione madre	—	40,00 g/mol	—
Idrossido di sodio aliquota impiegata	1,95 mL di soluzione 1 M (0,078 g)	40,00 g/mol	1,95 mmol
Etanolo 96 %	10 mL	—	—

Procedura:

1. L'acido palmitico (0,5 g, 1,95 mmol) è stato trasferito in un becher da 50 mL e disciolto a caldo in 10 mL di etanolo al 96 %.
2. È stata preparata parallelamente una soluzione acquosa di idrossido di sodio 1 M, sciogliendo lentamente la base in acqua distillata tiepida; la dissoluzione lenta è resa necessaria dal carattere fortemente esotermico del processo.
3. Dalla soluzione è stata prelevata un'aliquota di 1,95 mL, corrispondente a 1,95 mmol di idrossido di sodio e quindi al rapporto molare 1:1 con l'acido palmitico.
4. Le due soluzioni sono state riunite e mantenute sotto agitazione su piastra riscaldante a 60–70 °C per 15 minuti.
5. Il solvente è stato lasciato evaporare; il precipitato di palmitato di sodio è stato raccolto ed essiccato per le successive analisi.

La temperatura di lavoro adottata è coerente con il punto di Krafft del palmitato di sodio, pari a 60 °C ¹⁹, al di sotto del quale il sale si comporta come un composto poco solubile in acqua.

3.2.6 Co-cristallizzazione da soluzione con palmitato di sodio

Il palmitato di sodio ottenuto per sintesi (§3.2.5) è stato impiegato come co-formatore in una preparazione da soluzione condotta secondo la stessa impostazione adottata per l'acido palmitico (§3.2.2), allo scopo di valutare l'effetto della forma ionica del co-formatore sullo stato solido del principio attivo.

Sono stati pesati 0,5 g di prednisolone 21-trimetilacetato, pari a 1,125 mmol, e 0,313 g di palmitato di sodio, pari a 1,124 mmol: il rapporto molare realizzato è quindi di 1:1,00.

Materiali e quantità:

- **Prednisolone 21-trimetilacetato:** 0,5 g (PM 444,56 g/mol)
- **Palmitato di sodio:** 0,313 g (PM 278,40 g/mol) — quantità calcolata per rispettare il rapporto molare 1:1 con il prednisolone 21-trimetilacetato (0,001125 mol)
- **Acetone:** 17 mL
- **Acqua distillata:** 4 mL
- **Cristallizzatore**

$$\text{PM prednisolone 21 – trimetilacetato} = 444,56 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$\text{PM palmitato di sodio} = 278,40 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$\text{Solubilità prednisolone 21 – trimetilacetato in acetone} = 30 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$$

$$\text{Solubilità palmitato di sodio in H}_2\text{O} = 80 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ (determinati sperimentalmente, §3.2.1)}$$

$$n = \frac{0,5\text{g}}{444,56 \text{ g/mol}} = 0,001125 \text{ mol}$$

$$m \text{ palmitato di sodio} = 0,001125 \text{ mol} * 278,40 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = 0,313 \text{ g}$$

Scelta dei volumi di solvente

I volumi sono stati stabiliti come quantità minima necessaria alla completa solubilizzazione di ciascun componente, determinata sperimentalmente: 17 mL di acetone per il principio attivo, corrispondenti a 29,4 mg/mL, e 4 mL di acqua distillata per il palmitato di sodio, corrispondenti a 78,2 mg/mL.

$$S = \frac{m}{V} \quad V = \frac{m}{S}$$

$$\text{Prednisolone acetato} \rightarrow \frac{\text{grammi pesati}}{\text{solubilità}} \rightarrow \frac{0,5 \text{ g}}{0,030 \text{ g/mL}} =$$

16,66 ~ 17 mL di acetone da utilizzare

$$\text{Palmitato di sodio} \rightarrow \frac{0,313 \text{ g}}{0,08 \text{ g/mL}} = 3,91 \sim 4 \text{ mL di H}_2\text{O distillata da utilizzare}$$

Procedura:

1. Il prednisolone 21-trimetilacetato (0,5 g) è stato disciolto a caldo in 17 mL di acetone.
2. Il palmitato di sodio (0,313 g) è stato disciolto a caldo in 4 mL di acqua distillata. Il riscaldamento si è reso necessario in quanto il palmitato di sodio presenta un punto di Krafft di 60 °C, al di sotto del quale si comporta come un sale poco solubile in acqua¹⁹.
3. Le due soluzioni sono state riunite nel co-cristallizzatore, dove si è lasciato procedere il processo di co-cristallizzazione per evaporazione controllata del solvente.



Figura 19
Solubilizzazione del
principio attivo e del
palmitato di sodio

3.2.7 Macinazione del prodotto di co-cristallizzazione con palmitato di sodio

Il prodotto ottenuto per evaporazione del solvente (§3.2.6) si presentava come una massa compatta e poco maneggevole, non adatta al prelievo riproducibile delle aliquote necessarie alle analisi termiche. Il materiale è stato pertanto sottoposto a macinazione manuale con mortaio e pestello fino all'ottenimento di una polvere visivamente omogenea.

Il campione macinato è stato caratterizzato mediante DSC, TGA e spettroscopia FT-IR e confrontato con il prodotto tal quale (§4.4), allo scopo di verificare che l'omogeneizzazione meccanica non alterasse lo stato solido del sistema. L'analisi diffrattometrica non è stata condotta su questo campione.

Materiali:

- **Prednisolone 21-trimetilacetato** (0,5 g, PM 444,56 g/mol)
- **Palmitato di sodio** (0,313 g, PM 278,40 g/mol)
- **Mortaio con pestello**

Procedura:

1. **Prednisolone 21-trimetilacetato e palmitato di sodio** sono stati pesati nelle stesse quantità impiegate per la co-cristallizzazione da soluzione (§3.2.6), a rispettare il medesimo rapporto molare 1:1.
2. I due componenti sono stati posti insieme nel mortaio e macinati manualmente con il pestello, senza aggiunta di solvente, fino all'ottenimento di una polvere visivamente omogenea.

La polvere ottenuta è stata quindi caratterizzata con i parametri strumentali riportati in Tabella 8.

Tabella 8 Parametri strumentali utilizzati per la caratterizzazione del prodotto di co-cristallizzazione con palmitato di sodio dopo macinazione.

Parametro	DSC	TGA	FT-IR
Strumento	DSC Q2000 (TA Instruments)	TGA Q5000 (TA Instruments)	Thermo Scientific Nicolet iS20
Massa campione	5,10 mg	6,143 mg	—
Portacampione	Crogiolo Tzero in alluminio (42,1 mg)	Crogiolo in platino	—

Programma termico	-25 → 350 °C; 350 → -25 °C; -25 → 25 °C	Rampa fino a 450 °C	—
Velocità di riscaldamento	10 °C/min	5 °C/min	—
Atmosfera	Azoto, 50 mL/min	Azoto (bilancia 10 mL/min; campione 25 mL/min)	—
Modalità	—	—	ATR
Intervallo spettrale	—	—	4000 – 525 cm ⁻¹
Risoluzione	—	—	4 cm ⁻¹

3.3 Preparazione dei film compositi PVA/prednisolone 21-trimetilacetato

L'amorfizzazione del principio attivo è una strategia efficace per aumentarne la solubilità e la velocità di dissoluzione in acqua e risulta ampiamente applicata ai farmaci scarsamente idrosolubili. La stabilità fisica del farmaco risulta però compromessa dalla maggiore energia libera e dal disordine a lungo raggio che caratterizzano la fase amorfa, con la conseguenza che fenomeni di cristallizzazione e di separazione di fase possono verificarsi durante la produzione o la conservazione. La strategia più diffusa per contrastare questo problema consiste nel disperdere molecularmente il farmaco amorfo in una matrice polimerica, ottenendo una dispersione solida amorfa (ASD)¹².

La stabilità fisica di una ASD dipende da alcune proprietà del polimero: la capacità di interagire con il principio attivo, la mobilità segmentale, il peso molecolare e la temperatura di transizione vetrosa¹². Tali interazioni sono legami deboli di natura non covalente — legami a idrogeno, interazioni ioniche, forze di van der Waals, interazioni dipolo-dipolo e acido-base — fra i quali il legame a idrogeno è il più frequentemente osservato; il loro instaurarsi impedisce l'autoassociazione delle molecole di principio attivo e quindi la ricristallizzazione. La loro formazione non è tuttavia garantita¹³.

Razionale della scelta del PVA come carrier polimerico

Come carrier è stato scelto il polivinil alcol, polimero semicristallino, non ionico e solubile in acqua, a bassa tossicità, non cancerogeno, biodegradabile e dotato di un'elevata densità di gruppi ossidrilici lungo la catena, potenziali donatori e accettori di legame a idrogeno nei confronti dei gruppi carbonilici del prednisolone 21-trimetilacetato. La preparazione è stata condotta per via solvente e non per fusione, poiché l'impiego del polivinil alcol nelle tecniche fusive è reso problematico dalla sua elevata temperatura di fusione e dal suo profilo di degradazione termica¹³.

Materiali:

- **Prednisolone 21-trimetilacetato** (100 mg, $\geq 98\%$ purezza, Sigma-Aldrich)
- **Polivinil alcol (PVA)** in granuli/polvere (5,00 g)
- **Metanolo** (50 mL)
- **Acqua distillata** (50 mL)

Procedura e rationale di ciascuna fase

1. Il polivinil alcol (5,00 g) è stato disciolto in 50 mL di acqua distillata a 90 °C sotto agitazione magnetica, fino a completa dissoluzione (30–40 minuti). La temperatura elevata è necessaria per rompere la fitta rete di legami idrogeno intra- e intermolecolari fra i gruppi ossidrilici delle catene, che stabilizza il polimero allo stato solido.¹⁴
2. La soluzione polimerica è stata raffreddata a 30 °C, per non esporre il principio attivo a temperature che potrebbero comprometterne l'integrità al momento dell'unione.
3. Il prednisolone 21-trimetilacetato (100 mg) è stato disciolto in 50 mL di metanolo a 30 °C (20–30 minuti).
4. La soluzione metanolica è stata aggiunta lentamente a quella di polivinil alcol, mantenendo agitazione a 100 rpm per 24 ore a 30 °C.
5. Il sistema è stato sottoposto a essiccazione in muffola a 90 °C per 40 minuti.

6. Il materiale è stato quindi trasferito in capsule di Petri ed essiccato in stufa ventilata a 90 °C per 4–5 ore.
7. Il prodotto è stato rimosso, frantumato e conservato in essiccatore fino al momento delle analisi, per prevenire il riassorbimento di umidità in un materiale a matrice idrosolubile.

Il trattamento in muffola ha prodotto una massa bianca e pastosa dall'aspetto marcatamente disomogeneo. Per tenerne conto in fase analitica il campionamento è stato effettuato in due punti distinti del medesimo becher: il punto di prelievo 1, corrispondente alla porzione più asciutta, e il punto di prelievo 2, corrispondente alla porzione più umida. Entrambi i punti sono stati campionati sia dopo il trattamento in muffola sia dopo la successiva essiccazione in stufa, ottenendo i quattro campioni discussi nel §4.7.

Il materiale così ottenuto costituisce un prototipo preliminare di sistema a dispersione solida polivinil alcol/prednisolone 21-trimetilacetato, con un carico teorico di principio attivo pari all'1,96 % p/p, e rappresenta il sistema centrale attorno al quale è costruita la caratterizzazione del Capitolo 4.

Tabella 9 Tecniche di caratterizzazione applicate al sistema PVA/prednisolone 21-trimetilacetato.

Tecnica	Campione analizzato	Parametri principali
DSC	Sistema dopo trattamento in muffola (punto di prelievo 1)	Strumento DSC Q2000 (TA Instruments); massa campione 3,10 mg; crogiolo in alluminio 42,0 mg, riferimento 42,5 mg; programma in tre segmenti: riscaldamento fino a 100 °C, raffreddamento, scansione analitica fino a 300 °C; velocità di riscaldamento 10 °C/min; convenzione Exo Up; atmosfera di azoto
XRPD	Polivinil alcol tal quale; sistema dopo muffola (punto di prelievo 1); sistema dopo muffola e stufa	Strumento Bruker D2 PHASER; radiazione Cu K α_1 ($\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$); intervallo 2θ 5°–50°; passo 0,0292°; tempo per passo 1 s; durata della scansione $\approx 26 \text{ min}$
FT-IR	Sistema dopo muffola (punti di prelievo 1 e 2); sistema dopo muffola e stufa (punti di prelievo 1 e 2); sovrapposizioni fra i due trattamenti e fra i due punti di prelievo	Strumento Thermo Scientific Nicolet iS20; modalità ATR; intervallo spettrale 4000–525 cm^{-1}

3.4 Analisi microscopiche: Termomicroscopia (HSM) e Microscopia Elettronica a Scansione (SEM)

3.4.1 Termomicroscopia (HSM).

L'analisi è stata condotta sul prodotto di co-cristallizzazione fra prednisolone 21-trimetilacetato e acido palmitico ottenuto da soluzione (§3.2.2), allo scopo di correlare gli eventi termici rilevati in calorimetria (§4.2) ai corrispondenti fenomeni osservabili otticamente: fusione, transizioni di fase e comportamento eutettico.

Il campione è stato preparato in configurazione a sandwich fra due vetrini fissati con anelli e osservato con obiettivo 10× in atmosfera di argon. La rampa termica è stata condotta a 10 °C/min da temperatura ambiente fino a 249,5 °C, con temperatura dell'acqua di raffreddamento pari a 12 °C e acquisizione video a 1 fotogramma ogni 2 secondi (0,5 fps). L'osservazione è stata effettuata in luce trasmessa, senza impiego del filtro polarizzatore.

Tabella 10 Parametri strumentali impiegati per l'analisi Hot Stage Microscopy (HSM).

Parametro	Valore
Strumento	Hot stage Linkam THMS600 accoppiato a microscopio ottico
Software di controllo	Linksys 32
Software di acquisizione video	VirtualDub2 (formato .avi)
Obiettivo	10×
Modalità di osservazione	Luce trasmessa, senza filtro polarizzatore
Atmosfera	Argon
Preparazione del campione	Campione posto a sandwich fra due vetrini coprioggetto, bloccati con anelli metallici, in configurazione chiusa a tenuta

Parametro	Valore
Velocità di riscaldamento	10 °C/min
Intervallo di temperatura	Da temperatura ambiente a 249,5 °C
Temperatura dell'acqua di raffreddamento	12 °C
Frequenza di acquisizione video	1 fotogramma ogni 2 secondi (0,5 fps)
Campione analizzato	Prodotto di co-cristallizzazione prednisolone 21-trimetilacetato + acido palmitico da soluzione (§3.2.2)

3.4.2 Microscopio Elettronico a Scansione (SEM).

Le analisi sono state condotte su quattro campioni — prednisolone 21-trimetilacetato puro, prodotto di co-cristallizzazione con acido palmitico, prodotto ottenuto da slurry e palmitato di sodio puro — allo scopo di caratterizzarne l'abito cristallino, le dimensioni particellari e il grado di aggregazione.

Le condizioni operative adottate sono state: tensione di accelerazione 5,00 kV, segnale degli elettroni secondari (SE1), modalità in alto vuoto e distanza di lavoro compresa fra 8,5 e 9,0 mm. I campioni sono stati osservati senza rivestimento conduttivo.

Tabella 11 Parametri strumentali impiegati per l'analisi al microscopio elettronico a scansione (SEM).

Parametro	Valore
Strumento	Microscopio elettronico a scansione Zeiss EVO
Tensione di accelerazione (EHT)	5,00 kV
Segnale utilizzato	Elettroni secondari (SE1, Signal A)
Modalità operativa	Alto vuoto

Parametro	Valore
Distanza di lavoro (WD)	8,5 – 9,0 mm
Preparazione del campione	Osservazione senza rivestimento conduttivo
Campioni analizzati	Prednisolone 21-trimetilacetato puro; prodotto di co-cristallizzazione con acido palmitico; prodotto ottenuto da slurry; palmitato di sodio puro

4 RISULTATI E DISCUSSIONE

Il capitolo raccoglie e discute i risultati sperimentali, nell'ordine: la caratterizzazione chimico-fisica delle materie prime di partenza, lo studio dei sistemi ottenuti per co-cristallizzazione del **prednisolone 21-trimetilacetato con acido palmitico** (da soluzione e da slurry) e con **palmitato di sodio** (da soluzione e per macinazione), e soprattutto lo sviluppo del sistema a dispersione solida **PVA/prednisolone 21-trimetilacetato**.

4.1 Caratterizzazione chimico-fisica delle materie prime

4.1.1 Caratterizzazione chimico-fisica del prednisolone 21-trimetilacetato puro

Il profilo calorimetrico (Figura 20) mostra in riscaldamento un intenso picco endotermico a 234,6 °C, attribuibile alla fusione del farmaco. In raffreddamento non compare alcuna ricristallizzazione, ma un gradino con flesso a circa 103 °C, riconducibile a una transizione vetrosa. Il fuso vetrifica anziché ricristallizzare: la sostanza fusa non è più quella di partenza. Coerentemente, la TGA registra nella stessa zona una perdita di massa già rilevante, per cui l'evento a 234,6 °C va letto come fusione accompagnata da decomposizione.

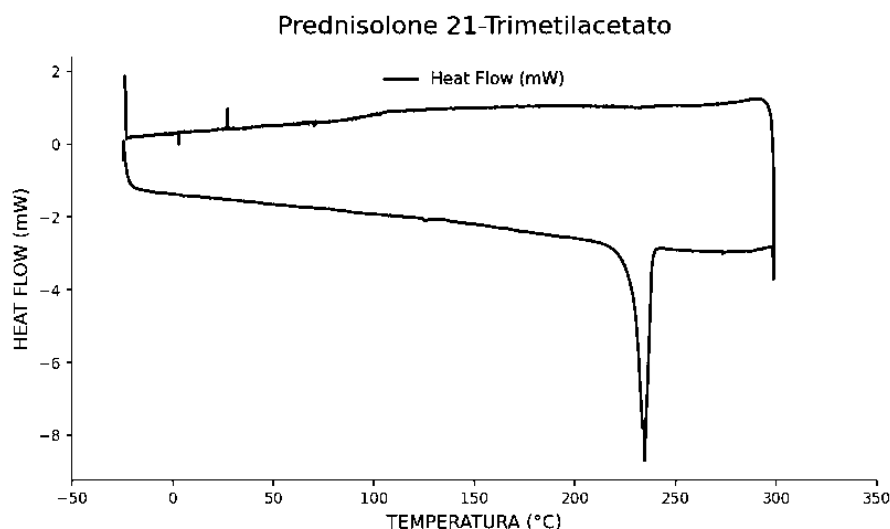


Figura 20 termogramma DSC del prednisolone 21-trimetilacetato puro

Il termogramma (Figura 21) riporta la perdita di massa con la sua derivata prima (DTG). Fino a 150 °C la perdita di massa è modesta e continua, attribuibile a umidità superficiale o solvente residuo. La decomposizione ha velocità massima a 197 °C, quindi prima della fusione rilevata in DSC: il picco calorimetrico va quindi letto come fusione e decomposizione contestuali. La scansione, programmata fino a 220 °C, si conclude con la perdita di massa ancora in atto. La decomposizione inizia comunque a temperature ben superiori ai 90 °C impiegati per l'essiccazione dei film di PVA.

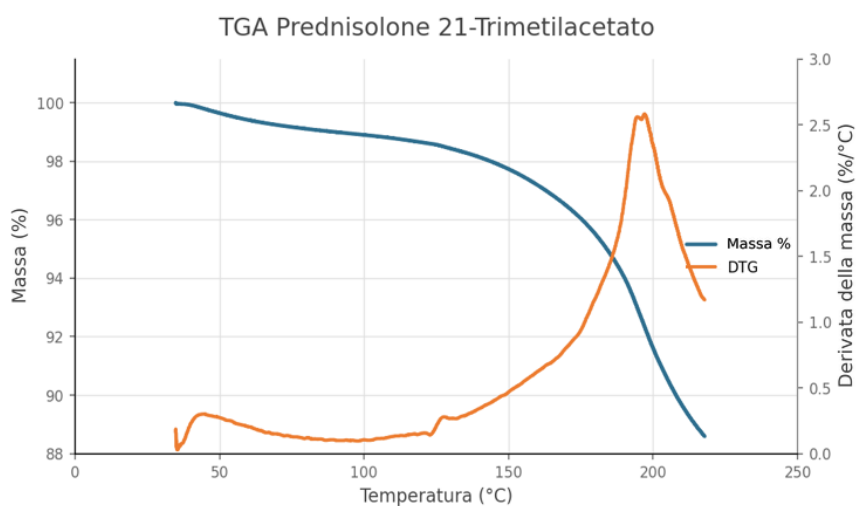


Figura 21 termogramma TGA del prednisolone 21-trimetilacetato puro

Il diffrattogramma (Figura 22) mostra picchi netti e ben risolti su un fondo basso e privo di alone amorfo: il materiale è altamente cristallino²³. I riflessi più intensi cadono a $6,47^\circ$, $15,94^\circ$ e $8,39^\circ$ 2θ . La regione $6-9^\circ$, in cui il farmaco produce riflessi intensi, è la stessa in cui ricadono i riflessi dell'acido palmitico.

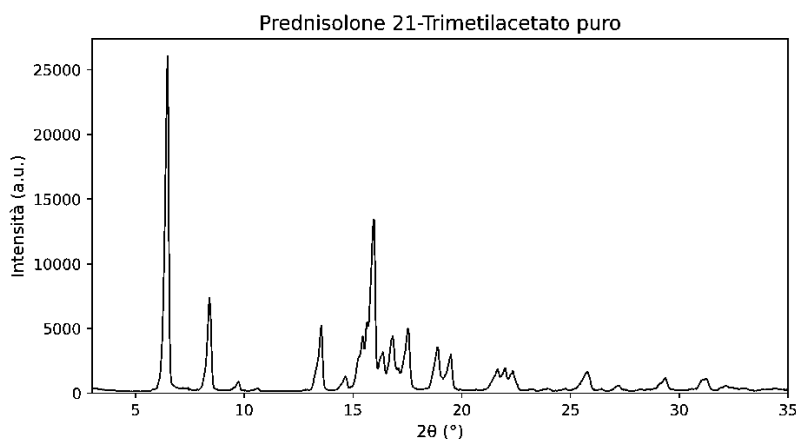


Figura 22 diffrattogramma del prednisolone 21-trimetilacetato

4.1.2 Caratterizzazione dell'acido palmitico puro

Il diffrattogramma (Figura 23) è dominato da pochi riflessi molto intensi su un fondo basso, indice di un materiale ben cristallizzato. I riflessi a basso angolo ($5,01^\circ$, $7,48^\circ$, $9,98^\circ$ e $12,44^\circ$ 2θ) costituiscono una serie di ordini successivi corrispondente a una spaziatura lamellare di $35,4 \text{ \AA}$, mentre quelli a $21,70^\circ$ e $24,14^\circ$ derivano dall'impaccamento laterale delle catene alchiliche. Il valore misurato è stato confrontato con i dati di letteratura relativi alle forme polimorfe degli acidi carbossilici saturi a catena pari³⁶. Per l'acido esadecanoico la forma C è monoclinica, gruppo spaziale $P2_1/a$ con $Z = 4$ e parametri di cella $a = 9,440 \text{ \AA}$, $b = 4,975 \text{ \AA}$, $c = 45,74 \text{ \AA}$ e $\beta = 128,65^\circ$: lo spessore del doppio strato molecolare, pari a $c \cdot \sin\beta$, risulta quindi di $35,7 \text{ \AA}$. L'accordo con il valore sperimentale, entro lo $0,8 \%$, identifica il materiale di partenza come forma polimorfa C.

La tecnica consente di stabilire la forma cristallina presente, ma non il grado di purezza del campione: un'eventuale fase amorfa non produrrebbe riflessi, e il limite di rilevabilità per una fase cristallina minoritaria si colloca fra lo $0,2$ e il 5% in massa²³. Questo pattern costituisce il riferimento per i sistemi misti discussi più avanti.

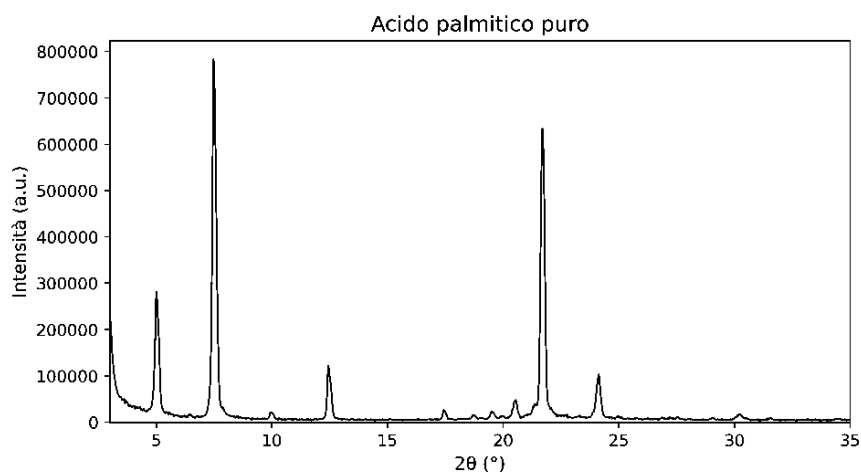


Figura 23 diffattogramma dell'acido palmitico puro

4.1.3 Caratterizzazione del palmitato di sodio puro

Il profilo calorimetrico (Figura 24) mostra in riscaldamento una sequenza di eventi endotermici successivi, il più intenso a 258 °C. Il confronto con il raffreddamento li distingue in due gruppi: gli eventi al di sotto dei 100 °C sono irreversibili, coerentemente con la perdita di acqua di idratazione; quelli al di sopra dei 140 °C sono reversibili con sotto raffreddamento contenuto, e corrispondono alla fusione a stadi dei saponi di sodio a catena lunga, che attraversano una successione di fasi mesomorfe prima del liquido isotropo.³⁷ Rispetto all'acido di partenza la complessità dello stato solido aumenta quindi in modo netto: questo profilo costituisce il riferimento diagnostico per i sistemi contenenti il principio attivo.

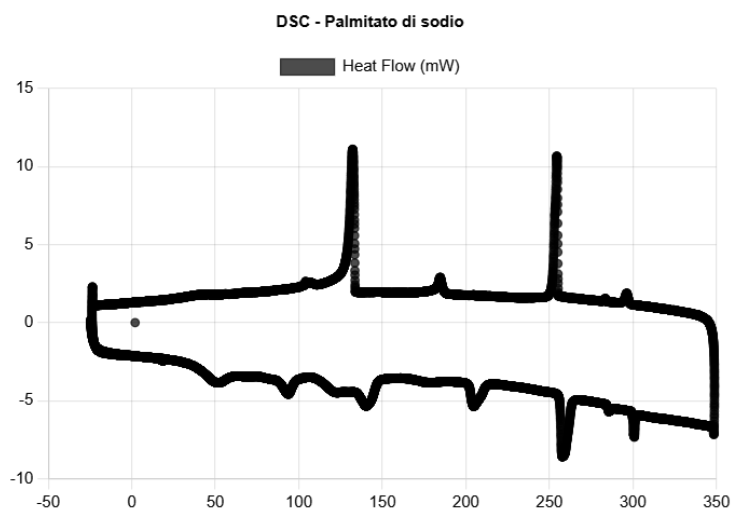


Figura 24 profilo calorimetrico del palmitato di sodio puro

Il diffrattogramma (Figura 25) presenta un fortissimo segnale a basso angolo, il cui massimo cade al di sotto del limite inferiore di scansione. Tutti i riflessi osservati appartengono a un'unica serie di ordini successivi corrispondente a una spaziatura lamellare di 45,9 Å, contro i 35,4 Å dell'acido palmitico (§4.1.2): l'introduzione dello ione sodio aumenta quindi in modo netto lo spessore dello strato. L'assenza di riflessi estranei alla serie indica che le lamelle si dispongono preferenzialmente parallele al portacampione, coerentemente con la morfologia squamosa osservata al SEM (§4.6).

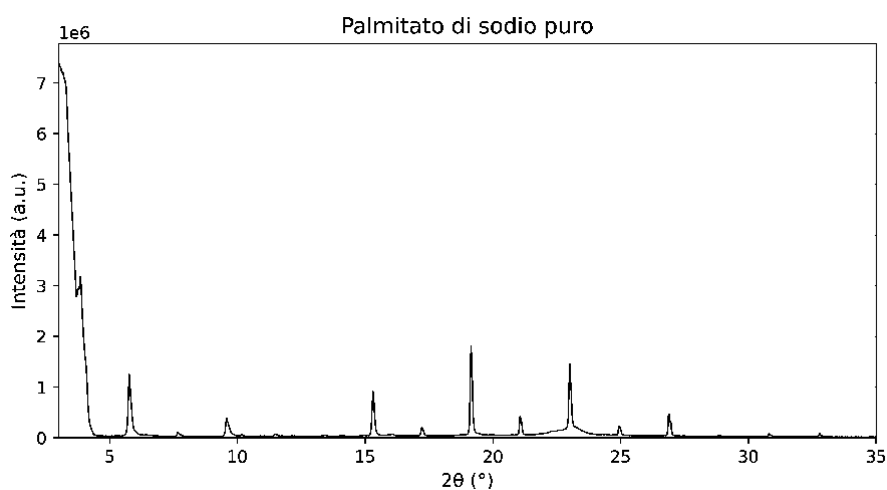


Figura 25 Diffrattogramma XRPD del palmitato di sodio puro

Effetto della geometria del fascio sul pattern XRPD

Il confronto fra due delle tre acquisizioni dello stesso campione (Figura 26), ottenute variando l'altezza del coltello anti-diffusione, mostra posizioni dei riflessi identiche e intensità relative molto diverse: il riflesso a $5,77^\circ$ 2θ , secondario nell'acquisizione di riferimento, diventa il più intenso dell'intero pattern. L'assenza di spostamenti esclude una reale differenza di fase; la variazione è riconducibile alla geometria del fascio a basso angolo e alla marcata orientazione preferenziale di questo materiale lamellare. Nel presente lavoro il confronto fra diffrattogrammi si basa pertanto sulle posizioni dei riflessi e non sui rapporti di intensità.

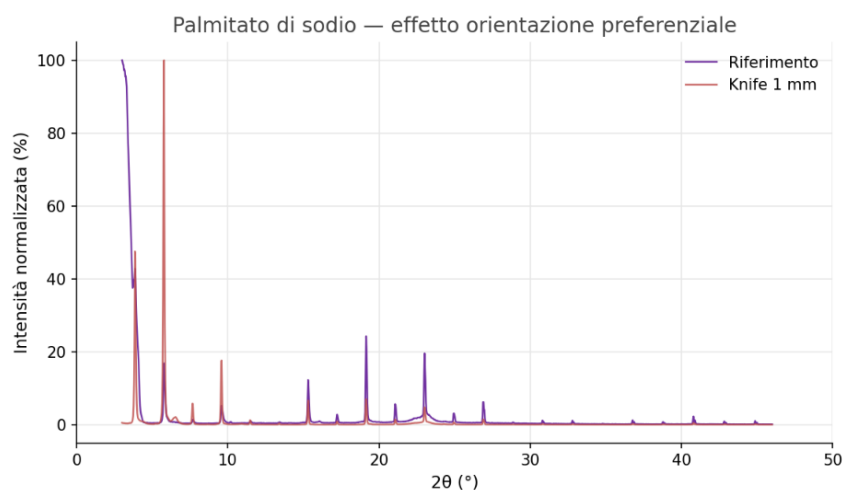


Figura 26 effetto della geometria del coltello sul pattern XRPD

Lo spettro IR (Figura 27) documenta l'avvenuta salificazione. Le bande di stiramento e di rocking dei gruppi CH_2 restano nelle posizioni attese, segno che la reazione ha coinvolto la sola testa carbossilica; una banda larga e debole a 3330 cm^{-1} è riconducibile all'acqua di idratazione, coerentemente con gli eventi a bassa temperatura osservati in DSC. Il dato decisivo è l'assenza della banda $\text{C}=\text{O}$ dell'acido libero, attesa intorno a 1700 cm^{-1} , dove lo spettro resta piatto sulla linea di base, e la comparsa delle due bande dello ione carbossilato a 1557 e 1435 cm^{-1} , in accordo con i valori riportati per i saponi di sodio²⁰.

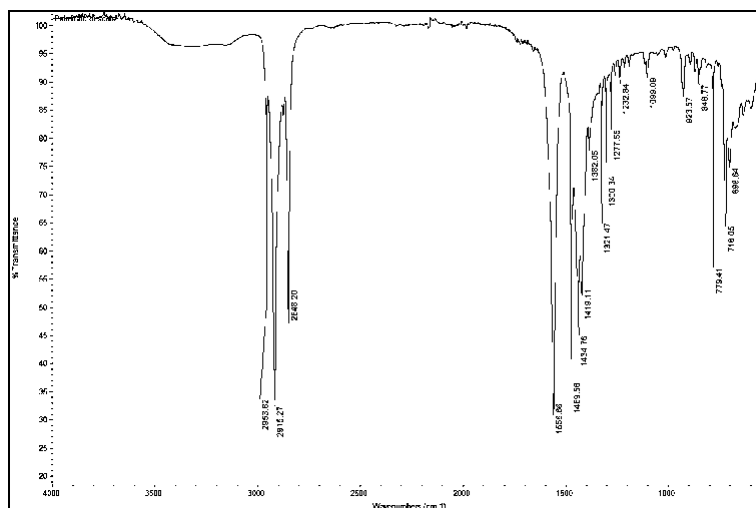


Figura 27 spettro IR del palmitato di sodio puro

4.2 Co-cristallizzazione da soluzione con acido palmitico

Il profilo calorimetrico (Figura 28) è più complesso di quelli dei componenti puri. Il primo evento, con onset a 61,5 °C, coincide con la fusione dell'acido palmitico “libero”, che conserva quindi il proprio punto di fusione; l'evento dominante cade a 234,8 °C, esattamente in corrispondenza della temperatura di fusione del farmaco puro (§4.1.1). Rapportando le entalpie misurate alla composizione del campione (61 % di farmaco e 39 % di acido palmitico in peso), il principio attivo conserva circa il 90 % dell'entalpia di fusione attesa e resta dunque in larga parte cristallino, mentre l'acido palmitico ne restituisce meno della metà rispetto al valore di riferimento¹⁸ - indice che una parte del co-formatore non è presente come fase cristallina libera. Nella zona intermedia compaiono due eventi minori, intorno a 131 °C e 201 °C, il secondo dei quali compatibile con l'inizio della degradazione del farmaco individuato in TGA (vedi sotto). Nella fase di raffreddamento la curva resta priva di eventi, segno che le trasformazioni osservate in riscaldamento sono irreversibili.

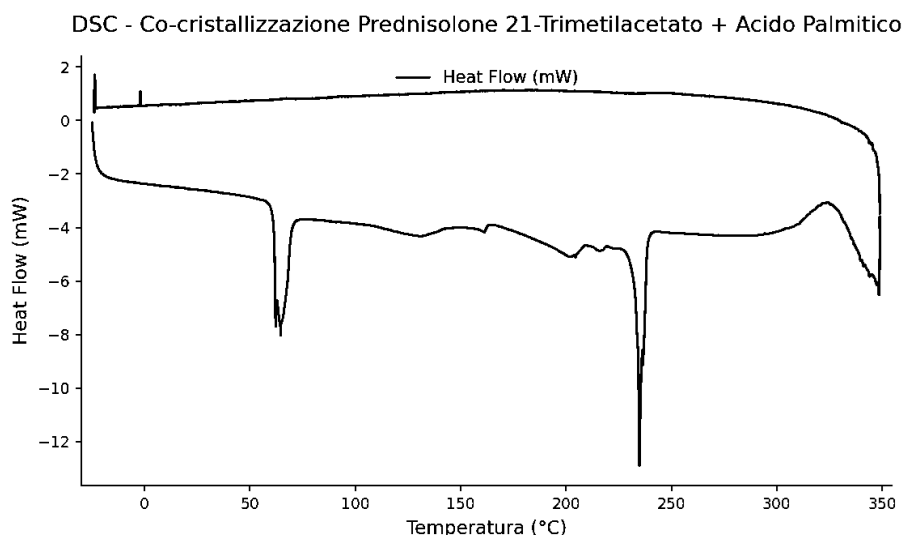


Figura 28 profilo calorimetrico DSC co-cristallizzazione con acido palmitico

Il termogramma (Figura 29) mostra una prima perdita di massa del 3,5 % fino a 120 °C, dovuta alla perdita di umidità o solvente residuo, seguita da due stadi di decomposizione parzialmente risolti. Il primo, con velocità massima a 223 °C, comporta la perdita di circa metà della massa iniziale: un valore superiore all'intero contenuto di acido palmitico del campione, che non può quindi essere attribuito a un solo componente. La sua entità corrisponde invece bene alla somma dell'acido palmitico e della frazione di farmaco che si degrada nello stesso intervallo (§4.1.1), per cui in questa fase i due componenti perdono massa insieme. Il secondo stadio, con massimo a 328 °C, riguarda la decomposizione della frazione residua di farmaco e porta a un residuo finale del 9,4 %, riconducibile al residuo carbonioso del nucleo steroideo. Nel complesso il bilancio di massa dei due stadi corrisponde alla somma dei comportamenti dei singoli componenti, senza l'unico evento degradativo intermedio che ci si attenderebbe se i due componenti fossero interamente impegnati in una fase nuova.

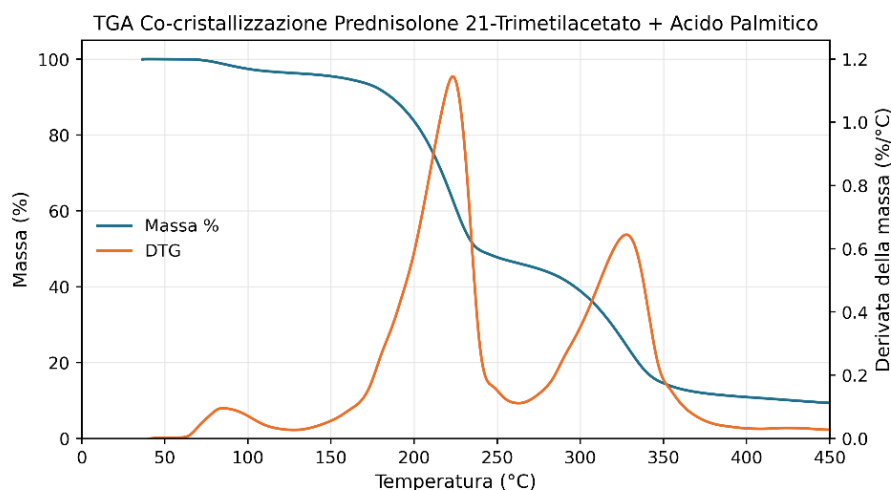


Figura 29 termogramma TGA co-cristallizzazione con acido palmitico

Il diffrattogramma (Figura 30) mostra picchi netti su un fondo basso: il prodotto è fortemente cristallino. Si riconoscono i riflessi di entrambi i componenti di partenza, nelle posizioni attese e senza spostamenti. Accanto a questi compaiono però riflessi non attribuibili né al farmaco né all'acido palmitico, riproducibili in acquisizioni indipendenti, i più intensi dei quali a $6,2$, $11,3$, $12,3$ e $18,4^\circ 2\theta$. Tre di questi — $6,2$, $12,3$ e $18,4^\circ$ — insieme a un quarto riflesso a $24,7^\circ$ corrispondono agli ordini da 1 a 4 di un'unica periodicità lamellare di $14,4 \text{ \AA}$, che non appartiene a nessuno dei due materiali di partenza e indica quindi una terza fase cristallina. Il dato è coerente con quanto osservato in DSC, dove l'acido palmitico restituisce meno della metà dell'entalpia di fusione attesa. Il prodotto non è dunque una semplice miscela fisica dei due materiali di partenza; la natura di questa fase non è determinabile dai soli dati di diffrazione su polvere e richiede tecniche a risoluzione strutturale superiore (§6).

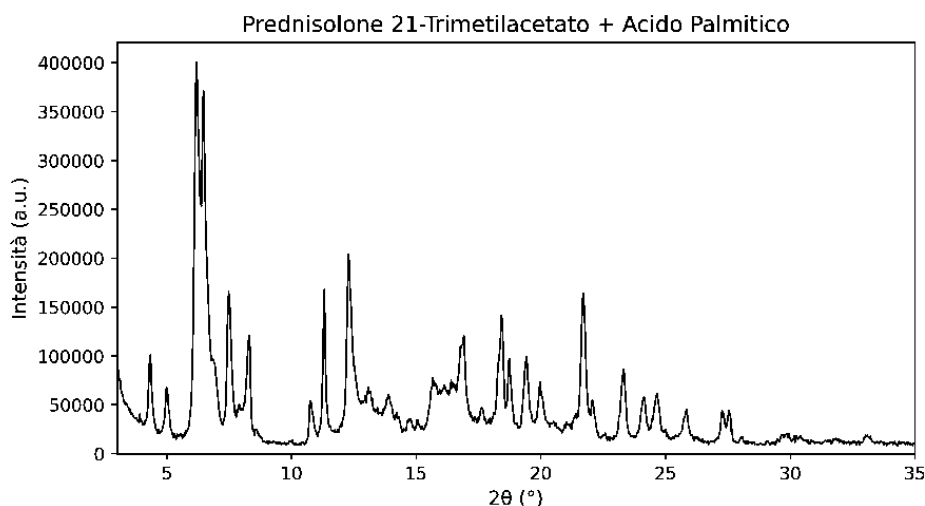


Figura 30 diffattogramma XRPD co-cristallizzazione con acido palmitico

Lo spettro IR (Figura 31) mostra un pattern complesso in cui si riconoscono i contributi funzionali di entrambi i componenti di partenza. Questo è un risultato atteso: la co-cristallizzazione non genera nuovi legami covalenti e preserva i gruppi funzionali dei singoli componenti, quindi l'informazione diagnostica va cercata negli spostamenti di posizione delle bande più che nella comparsa di segnali radicalmente nuovi (§2.2.4)²⁶. Nella regione carbonilica si distinguono tre bande, a 1704, 1653 e 1612 cm^{-1} , attribuibili rispettivamente al carbonile dell'acido palmitico²⁰, al chetone coniugato dell'anello A del farmaco e al doppio legame dello stesso sistema dienonico, tutte in posizione compatibile con quella attesa per i rispettivi gruppi funzionali. L'assenza di spostamenti rispetto ai valori di riferimento indica che eventuali interazioni tra i due componenti non alterano l'intorno chimico dei gruppi coinvolti. Va però osservato che il carbonile estereo del farmaco, atteso intorno a 1735 cm^{-1} , non risulta risolto perché sovrapposto alla banda dell'acido palmitico: la regione carbonilica è quindi meno informativa di quanto la sua ricchezza suggerisca, e la spettroscopia infrarossa non è in grado, da sola, di confermare o escludere la fase cristallina aggiuntiva individuata in XRPD.

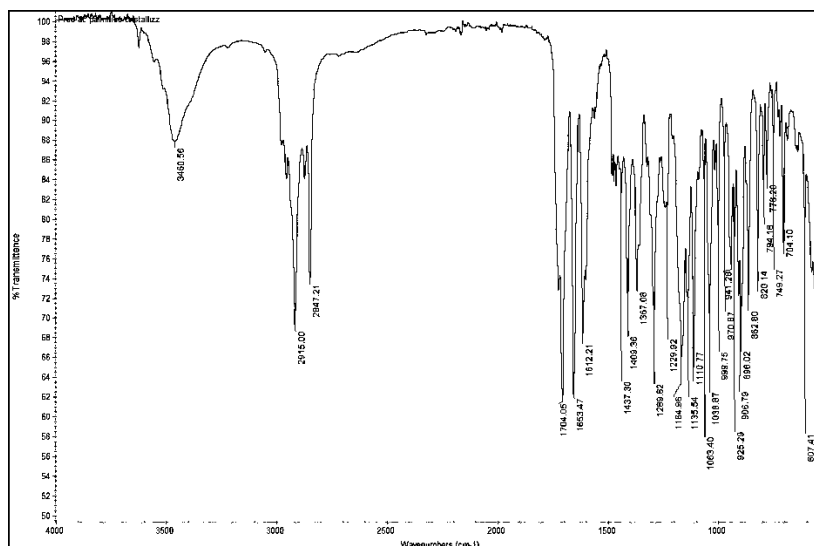


Figura 31 spettro IR co-cristallizzazione con acido palmitico

4.3 Co-cristallizzazione da slurry

Il profilo calorimetrico (Figura 32) mostra come primo evento un picco netto a 64 °C la cui entalpia corrisponde all'intero contenuto di acido palmitico previsto dalla composizione nominale¹⁸: nel prodotto da slurry il co-formatore è quindi presente in forma completamente cristallina e fonde come atteso. Il picco di fusione del prednisolone 21-trimetilacetato a 235 °C è invece del tutto assente, sostituito da un allargamento endotermico poco definito con minimo intorno a 205 °C, compatibile con la decomposizione del farmaco osservata in TGA. Il principio attivo non risulta dunque rilevabile come fase cristallina per via calorimetrica, a differenza di quanto avviene nella preparazione da soluzione (§4.2). Nella fase di raffreddamento la curva resta piatta: gli eventi osservati in riscaldamento sono irreversibili.

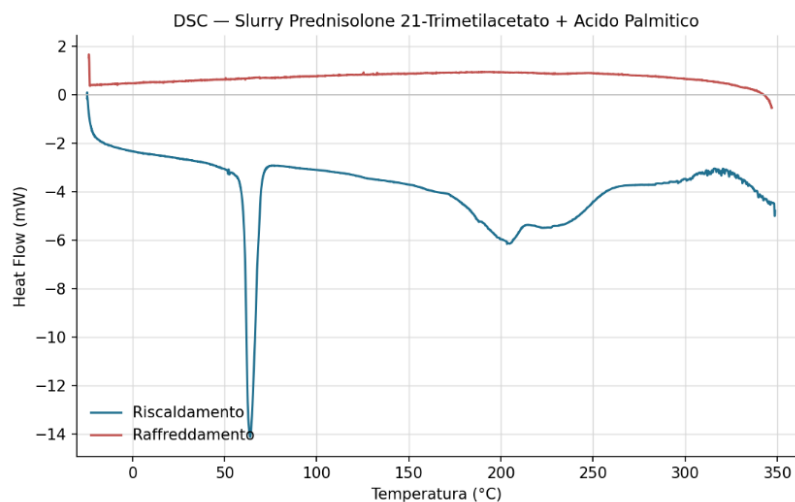


Figura 32 profilo calorimetrico DSC slurry

Il termogramma (Figura 33) mostra un profilo a più stadi. Fino a 150 °C la perdita di massa è trascurabile, pari all'1,6 %, inferiore a quella del campione da soluzione. Seguono due eventi di decomposizione ben separati, con velocità massima a 231 e 338 °C, che comportano rispettivamente il 41 % e il 49 % della massa iniziale; rispetto alla co-cristallizzazione da soluzione (§4.2) il peso relativo dei due stadi è invertito, ed è qui il secondo a dominare la curva. Il residuo finale è dell'8,3 %, confrontabile con quello del campione da soluzione. La netta separazione tra i due stadi indica che i due componenti perdono massa in modo sostanzialmente indipendente.

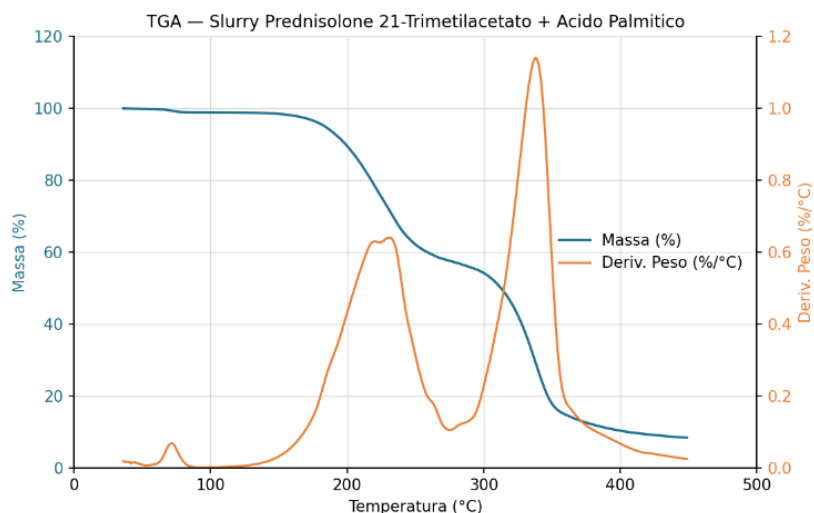


Figura 33 termogramma TGA slurry

Il diffrattogramma (Figura 34) mostra picchi netti su tutto l'intervallo analizzato: il prodotto è fortemente cristallino. A differenza del campione ottenuto da soluzione (§4.2), il pattern è nettamente dominato dall'acido palmitico, i cui riflessi sono i più intensi dell'intero diffrattogramma, mentre quelli del farmaco restano presenti ma di intensità sensibilmente ridotta. Compaiono inoltre i riflessi non attribuibili ai componenti puri già individuati nel campione da soluzione, in particolare quelli a 6,2 e 12,3° 2θ: la fase cristallina aggiuntiva si forma quindi in entrambe le preparazioni. Il dato completa quello calorimetrico: la scomparsa del picco di fusione del farmaco osservata in DSC non corrisponde a una sua amorfizzazione, poiché i suoi riflessi restano rilevabili, ed è più verosimilmente dovuta alla dissoluzione del principio attivo nell'acido palmitico fuso nel corso della scansione.

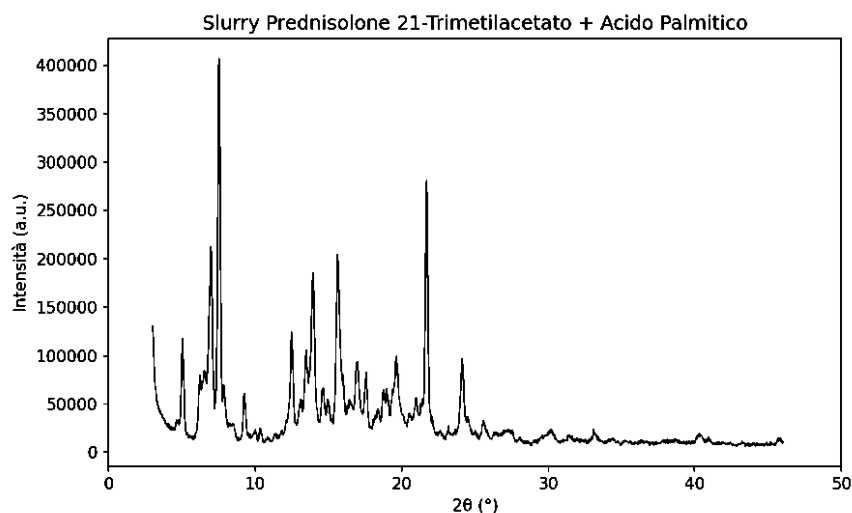


Figura 34 diffrattogramma XRPD slurry, fusione dell'acido palmitico

Lo spettro IR (Figura 35) è molto simile a quello del campione ottenuto da soluzione. Nella regione carbonilica si distinguono le tre bande attese, a 1703, 1655 e 1614 cm^{-1} , in posizione praticamente identica a quella misurata nel prodotto da co-cristallizzazione, con scarti inferiori a 1,5 cm^{-1} . Le bande delle catene alchiliche dell'acido palmitico sono qui nette e ben risolte, in particolare il doppietto di rocking dei gruppi CH_2 a 719 e 728 cm^{-1} , appena accennato nel campione da soluzione: un dato coerente con il maggiore contenuto di acido palmitico cristallino libero che DSC e XRPD attribuiscono al prodotto da slurry²⁰.

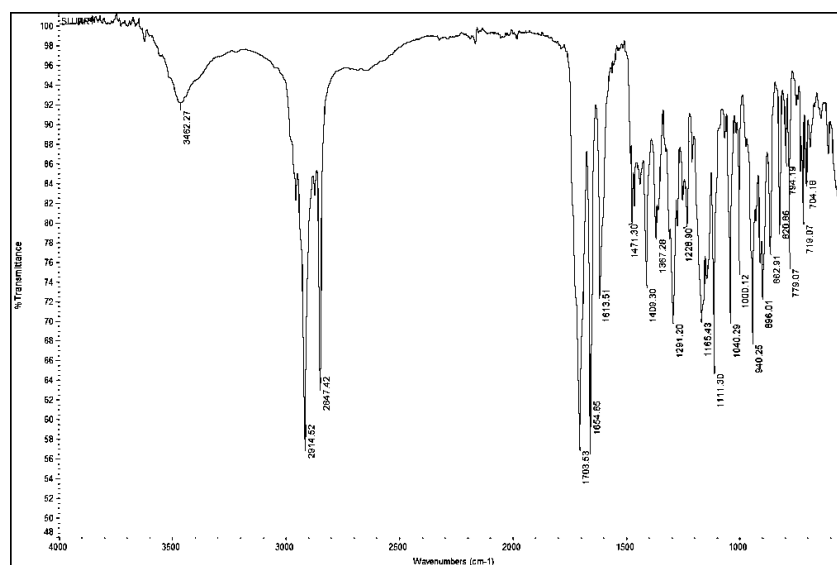


Figura 35 spettro IR slurry

4.4 Co-cristallizzazione con palmitato di sodio

4.4.1 Co-cristallizzazione con palmitato di sodio da soluzione

Il profilo calorimetrico (Figura 36) è molto più semplice di quello del palmitato di sodio puro (§4.1.3): fino a 200 °C la curva è sostanzialmente piatta e la sequenza di transizioni mesomorfe del sale è di fatto scomparsa. L'evento dominante è un unico picco intenso e stretto, con onsets a 215 °C e massimo a 224 °C, circa 11 °C al di sotto della temperatura di fusione del prednisolone 21-trimetilacetato, che fonde a 235 °C sia puro (§4.1.1) sia nei sistemi con acido palmitico (§4.2). La sua entalpia, pari a 71 J/g, supera di circa il 60 % quella attribuibile alla sola fusione del farmaco (44 J/g per la composizione del campione): anche il co-formatore contribuisce quindi allo stesso evento. L'abbassamento del punto di fusione e la confluenza dei due contributi in un unico picco indicano un comportamento di tipo eutettico, cioè la miscibilità dei due componenti allo stato fuso. Poiché un singolo endoterma eutettico si osserva anche nelle miscele fisiche che non formano co-cristalli³², il dato calorimetrico da solo non dimostra la formazione di una fase nuova: va letto insieme alla perdita di ordine cristallino del sale, documentata più avanti in XRPD, e alla stabilizzazione termica del farmaco (§4.4.2). Gli eventi minori che seguono il picco principale non hanno corrispondenza in raffreddamento, dove la curva resta priva di transizioni, e sono quindi riconducibili a decomposizione.

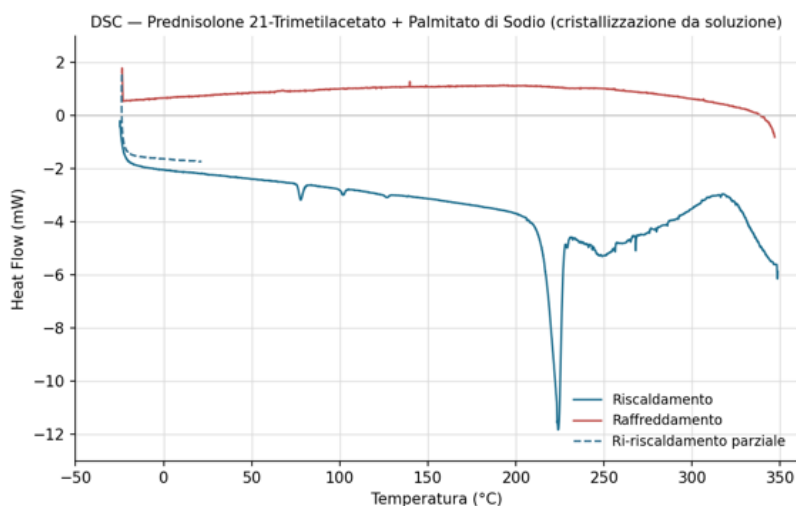


Figura 36 termogramma DSC co-cristallizzazione con palmitato di sodio

L'analisi termogravimetrica (Figura 37) è stata condotta su 1,149 mg di campione, valore molto inferiore all'intervallo entro cui la sensibilità della bilancia garantisce misure attendibili (5–50 mg negli strumenti convenzionali)²². La massa registrata diventa negativa oltre i 293 °C, fino a circa –49 % a fine corsa, un valore privo di significato fisico: con una massa iniziale così bassa il segnale utile diventa confrontabile con la deriva della bilancia e con gli effetti di galleggiamento termico legati alla variazione di densità del gas di spurgo con la temperatura²². Poiché la deriva interessa l'intera scansione e non soltanto il tratto finale, nessuno dei valori percentuali di perdita di massa può essere ritenuto attendibile, in particolare il 33 % registrato al di sotto dei 100 °C, ben superiore al contenuto di acqua di cristallizzazione compatibile con il palmitato di sodio presente. Il dato viene quindi riportato a sola documentazione della procedura sperimentale, e la ripetizione della misura con una massa di campione adeguata è indicata tra gli sviluppi futuri (§6).

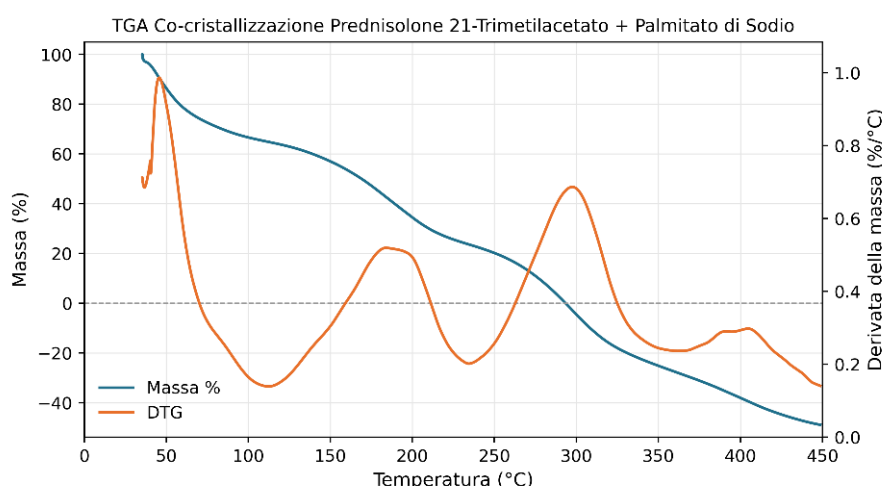


Figura 37 termogramma TGA co-cristallizzazione con palmitato di sodio

Il diffrattogramma (Figura 38) mostra picchi netti su un fondo basso, tutti coincidenti con quelli del prednisolone 21-trimetilacetato puro (§4.1.1), che mantiene quindi integralmente la propria fase cristallina. Il dato più significativo è però un'assenza: i riflessi del palmitato di sodio, e in particolare la serie di ordini successivi a basso angolo che ne costituisce la firma più intensa (§4.1.3), sono ridotti a tracce appena distinguibili dal fondo, pur rappresentando il sale quasi il 40 % in peso del campione. Il co-formatore

ha dunque perso il proprio ordine cristallino a lungo raggio nel corso della cristallizzazione da soluzione. Il risultato concorda con la DSC dello stesso campione: le due tecniche descrivono un sistema con il farmaco cristallino e il palmitato di sodio amorfizzato.

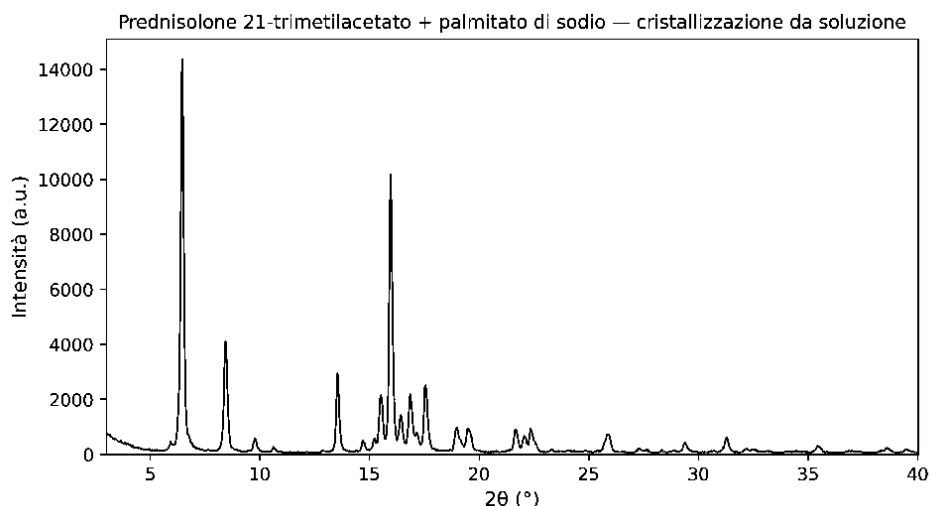


Figura 38 diffattogramma XRPD co-cristallizzazione con palmitato di sodio

4.4.2 Co-cristallizzazione con palmitato di sodio per macinazione

Il profilo calorimetrico (Figura 39) è quasi sovrapponibile a quello del prodotto ottenuto da soluzione (§4.4.1): tracciato piatto a bassa temperatura, con le sole increspature trascurabili a 77 e 126 °C, e picco dominante a 224 °C con entalpia superiore a quella attribuibile alla sola fusione del principio attivo. In raffreddamento non si osserva alcun evento apprezzabile. La sostanziale sovrapponibilità dei due termogrammi indica che lo stesso comportamento si ottiene anche senza solvente, per sola azione meccanica: l'abbassamento del punto di fusione e la scomparsa delle transizioni del sale non dipendono quindi dalla cristallizzazione da soluzione, ma dalla combinazione dei due componenti.

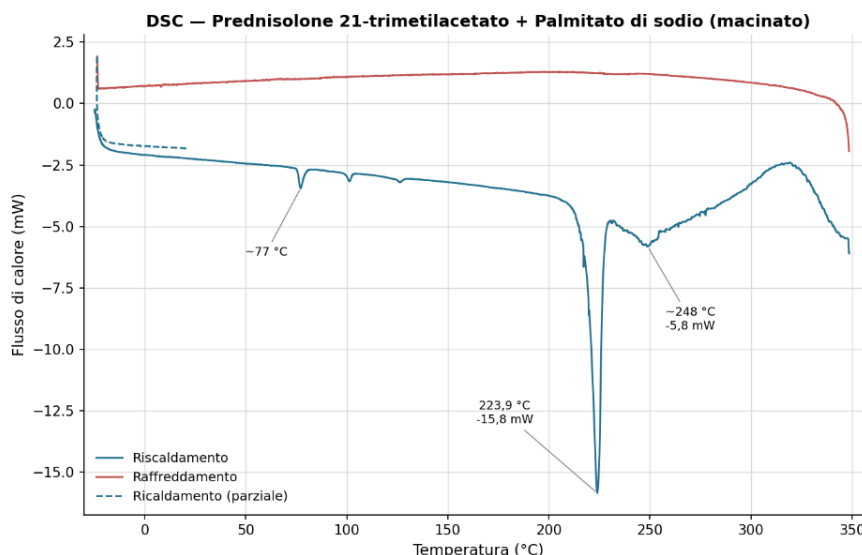


Figura 39 termogramma DSC co-cristallizzazione per macinazione

La curva TGA (Figura 40), acquisita a 5 °C/min, resta praticamente piatta fino a 200 °C, con una perdita di massa inferiore all'1 %: il contenuto di umidità e di solvente residuo è qui trascurabile. Il primo evento di decomposizione ha velocità massima a 236 °C, circa quaranta gradi al di sopra del valore misurato sul farmaco puro (197 °C, §4.1.1); poiché una minore velocità di riscaldamento tende ad anticipare gli eventi²², lo scarto è semmai sottostimato. Il dato è rilevante: il principio attivo tal quale comincia a degradarsi prima ancora di fondere, mentre in questo sistema la degradazione si avvia solo dopo il picco di fusione osservato in DSC. Si tratta della più netta evidenza di stabilizzazione termica riscontrata nel presente lavoro. Seguono due ulteriori stadi, con massimi a 314 e 397 °C, e un residuo a fine corsa del 27 %, largamente superiore a quello dei sistemi con acido palmitico. Solo un quarto circa di tale valore è attribuibile al residuo inorganico di sodio: la parte restante è un residuo carbonioso, la cui entità eccede quella osservata negli altri campioni di questo lavoro.

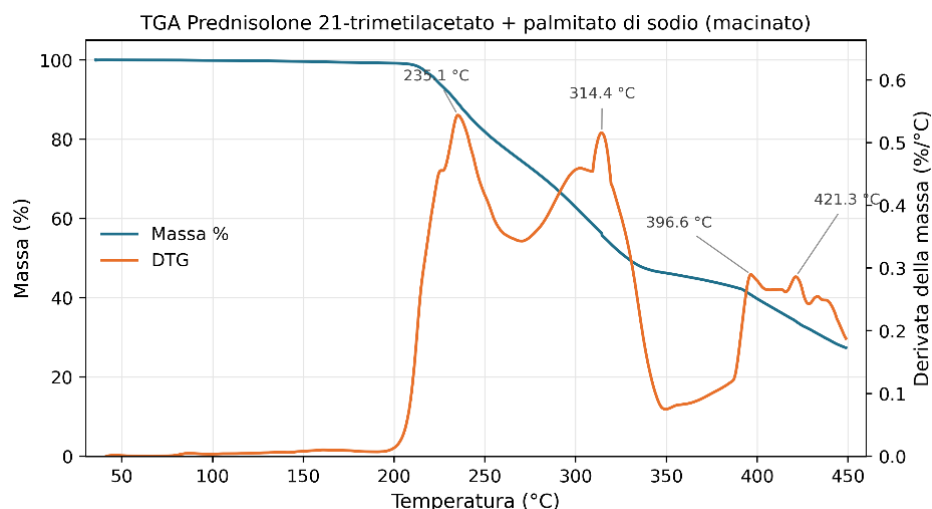


Figura 40 termogramma TGA co-cristallizzazione per macinazione

Lo spettro FT-IR (Figura 41) mostra i contributi di entrambi i componenti, ma in proporzioni molto diverse. Le bande del farmaco sono nette e ben risolte, in particolare il doppietto carbonilico a 1738 e 1720 cm^{-1} , riconducibile all'estere in C-21 e al chetone in C-20, che nei sistemi con acido palmitico non era distinguibile perché sovrapposto al carbonile dell'acido grasso; non si osserva inoltre alcuna traccia della banda dell'acido carbossilico libero, segno che la macinazione non ha indotto trasferimento protonico né alterazione chimica del farmaco. Le bande dello ione carbossilato a 1557 e 1435 cm^{-1} , tra le più intense dell'intero spettro nel palmitato di sodio puro (§4.1.3), risultano invece fortemente attenuate, così come la banda di rocking dei gruppi CH_2 a 718 cm^{-1} . Tale attenuazione è coerente con l'amorfizzazione del co-formatore rilevata in XRPD nel prodotto da soluzione (§4.4.1) e fornisce una terza evidenza indipendente, accanto a DSC e XRPD, del fatto che nel sistema con palmitato di sodio è il co-formatore, e non il principio attivo, a subire la trasformazione.

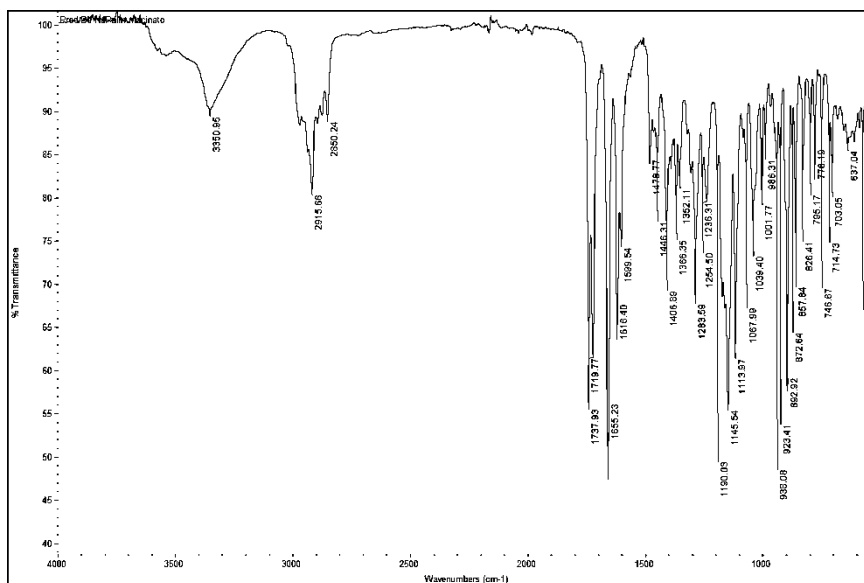


Figura 41 spettro IR co-cristallizzazione per macinazione

4.5 Hot Stage Microscopy (HSM)

Co-cristallizzazione acido palmitico + prednisolone 21-trimetilacetato

L'analisi è stata condotta sul campione ottenuto per co-cristallizzazione da soluzione (§4.2), riscaldato a 10 °C/min in atmosfera di argon fra due vetrini, con osservazione in luce trasmessa da 31 a 249,5 °C.

Fino a circa 140 °C l'aggregato resta invariato, come lamina compatta dai bordi netti e rettilinei. Da circa 145 °C i bordi perdono progressivamente definizione e la trasparenza aumenta; il fenomeno prosegue in modo continuo, senza eventi bruschi, per tutta la restante parte della rampa. Solo oltre i 220 °C l'aggregato assume la forma arrotondata e lobata tipica di una fase fluida, fino a un profilo a goccia. Alla massima temperatura raggiunta la trasformazione non è ancora completa su tutto il campo osservato e la goccia presenta una lieve colorazione ambrata nella zona centrale; non si osservano bolle né residui carboniosi.

Il dato più significativo è la gradualità del processo. La trasformazione visiva non coincide con il picco endotermico principale registrato in DSC a 235 °C, ma comincia circa cento gradi prima, in corrispondenza dell'evento minore che lo stesso termogramma mostra a 131 °C (§4.2). Il picco DSC va quindi letto come lo stadio

conclusivo di una trasformazione avviata molto prima, e non come una fusione netta e isolata. L'HSM, da sola, non consente di separare il contributo della fusione da quello della decomposizione, ma mostra che nessuno dei due processi è confinato all'intervallo del picco calorimetrico.

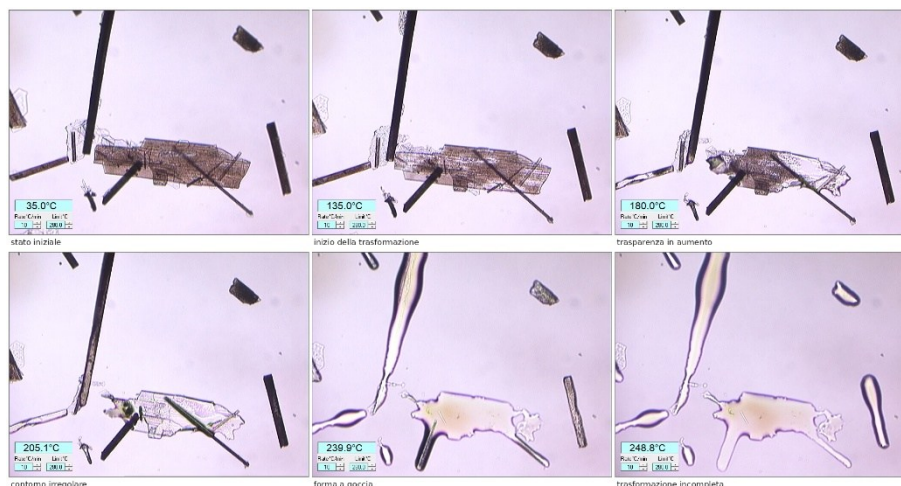


Figura 42 Sequenza Hot Stage Microscopy del prodotto di co-cristallizzazione prednisolone 21-trimetilacetato + acido palmitico, riscaldamento a 10 °C/min in atmosfera di argon. La temperatura indicata in ciascun fotogramma è quella registrata dallo strumento.

4.6 Microscopio Elettronico a Scansione (SEM)

L'analisi morfologica al SEM è stata condotta su quattro campioni — prednisolone 21-trimetilacetato puro, prodotto di co-cristallizzazione con acido palmitico, palmitato di sodio puro e prodotto da slurry — secondo i parametri strumentali descritti al §3.4.2 (EHT 5,00 kV, segnale SE1, WD 8,5–9,0 mm, alto vuoto) e sulla base del principio di funzionamento illustrato al §2.2.9. I campioni sono stati osservati senza rivestimento conduttivo.

Prednisolone 21 trimetilacetato + acido palmitico (co-cristallizzazione)

A basso e medio ingrandimento (100X, 373X) il prodotto si presenta come una popolazione di listelli allungati e rigidi, lunghi fino a diverse centinaia di μm , sovrapposti e incrociati in fasci disordinati privi di orientamento comune — un andamento compatibile con una crescita rapida da soluzione.

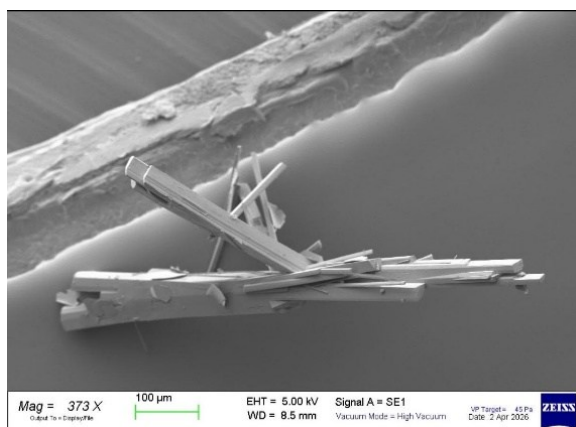


Figura 43 Micrografia SEM 373 X

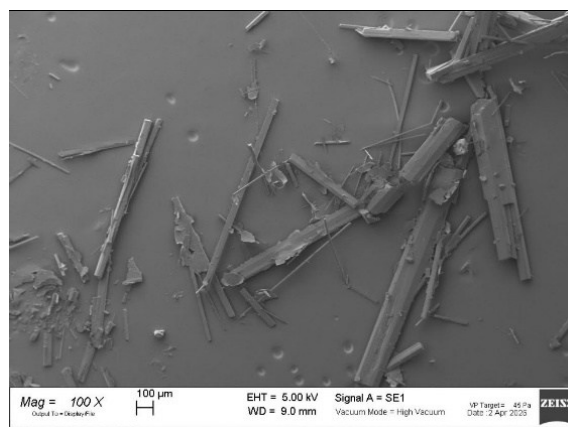


Figura 44 Micrografia SEM 100 X

Ad alto ingrandimento (1,79 KX) i cristalli mostrano sezione rettangolare fortemente appiattita, con facce principali estese e lisce, spigoli netti e sottili lamelle adese alla superficie.

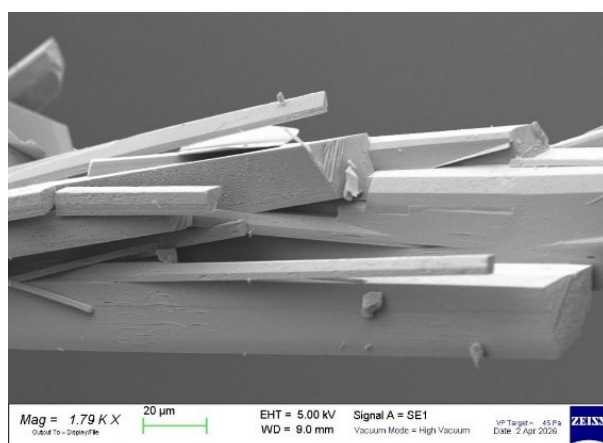


Figura 45 Micrografia SEM 1,79 KX

A 6,76 KX è visibile una microstriatura longitudinale parallela all'asse maggiore, compatibile con una crescita anisotropa.

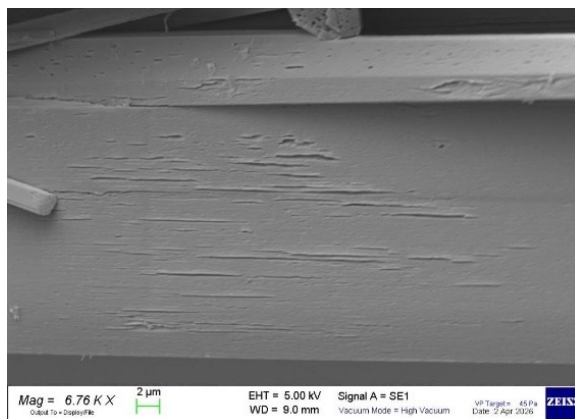


Figura 46 Micrografia SEM 6,76 KX

A nessuno degli ingrandimenti impiegati è visibile una fase separata o un rivestimento superficiale riconducibile all'acido palmitico: le superfici appaiono cristalline, non amorfe o cerose. È quindi plausibile che l'acido grasso abbia modulato la crescita cristallina anziché formare un coating. Va però osservato che il SEM non risolve, a questi ingrandimenti, la fase cristallina aggiuntiva individuata in XRPD (§4.2): il dato morfologico è complementare e non conclusivo sulla natura dell'interazione.

Prednisolone 21 trimetilacetato puro

Il farmaco puro mostra una morfologia nettamente diversa: a 400–602X blocchi prismatici spessi a sezione all'incirca quadrata, con spigoli netti, accompagnati da frammenti irregolari e da un'abbondante frazione fine, con distribuzione dimensionale più eterogenea.

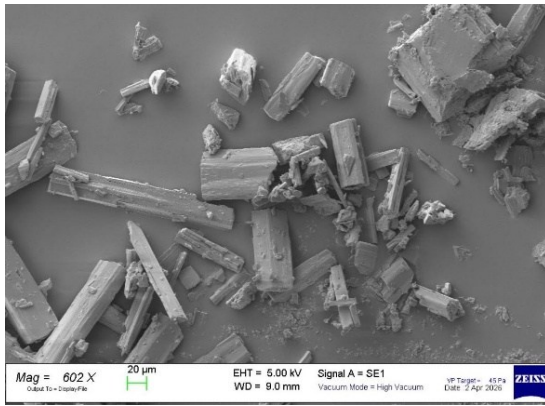


Figura 47 Micrografia SEM 602 X

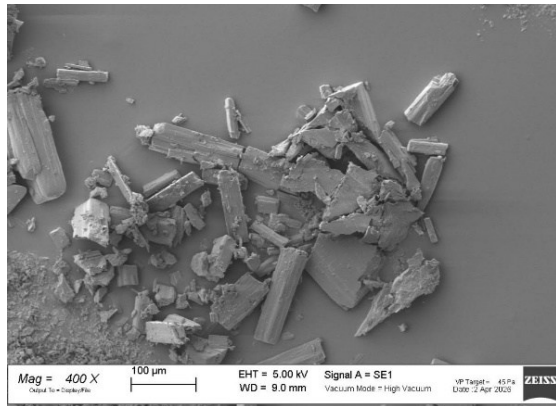


Figura 48 Micrografia SEM 400 X

A 1,23 KX si apprezzano facce prismatiche piatte con striature longitudinali e numerosi piani di frattura netti.

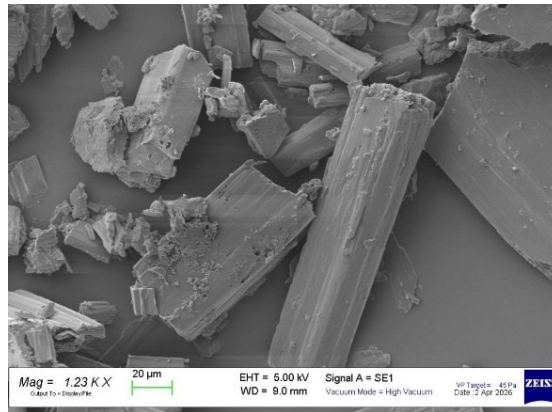


Figura 49 Micrografia SEM 1,23 KX

A 5,84–6,05 KX le superfici di frattura mostrano una texture irregolare e porosa, con micro-cavità e detriti adesi, ben più rugosa delle superfici lisce del campione ricristallizzato.

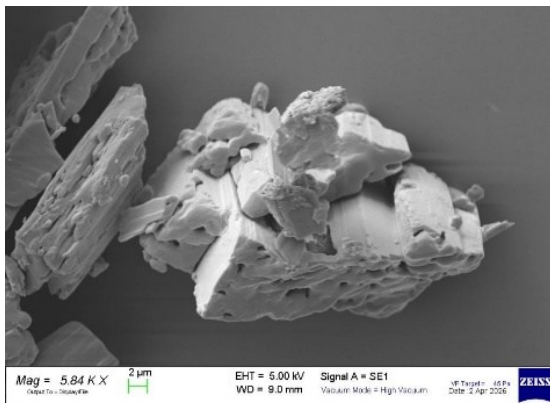


Figura 50 Micrografia SEM 5,84 KX

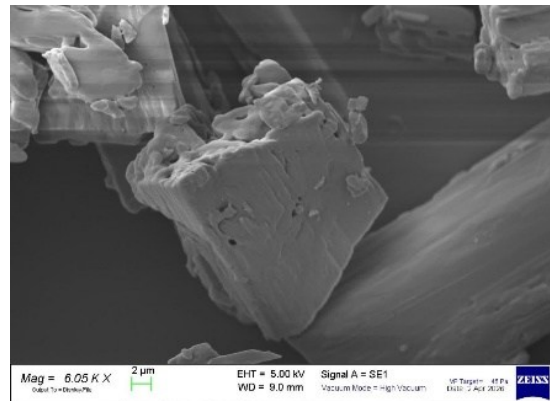


Figura 51 Micrografia SEM 6,05 KX

Il confronto evidenzia una vera e propria modifica dell'abito cristallino: dal prisma spesso del farmaco di partenza al listello lamellare appiattito del prodotto ottenuto in presenza di acido palmitico. Il passaggio è compatibile con una crescita da soluzione modulata dall'acido grasso, che adsorbendosi su alcune facce ne rallenta selettivamente l'accrescimento, indipendentemente dal fatto che ciò comporti una vera interazione chimico-fisica con il principio attivo.³⁸

Palmitato di sodio puro

Il palmitato di sodio presenta una morfologia radicalmente diversa da quella, a base cristallina rigida, del farmaco.

A 500X si osservano aggregati irregolari di lamelle sottili e frastagliate, sovrapposte in modo disordinato, con placche dell'ordine di decine-centinaia di μm ;

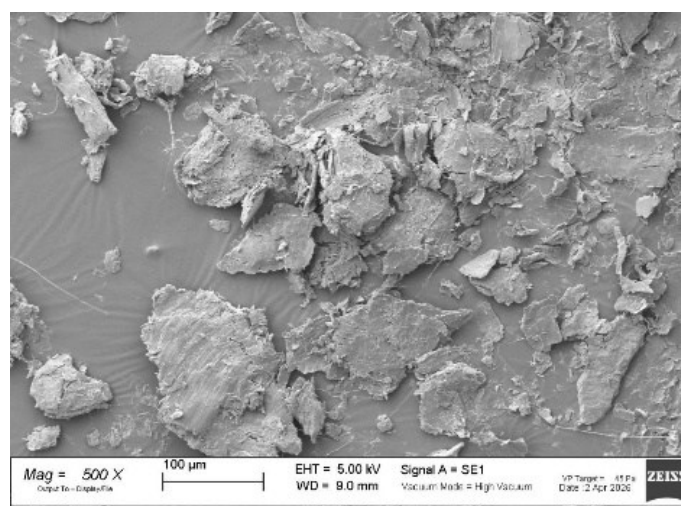


Figura 52 Micrografia SEM 500 X

A 860X e 1,67 KX emerge una struttura a strati ripiegati, con superfici porose da cui si dipartono fibrille sottili.

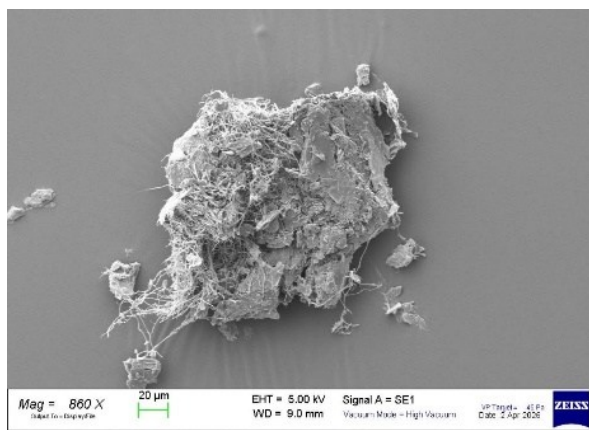


Figura 53 Micrografia SEM 860 X

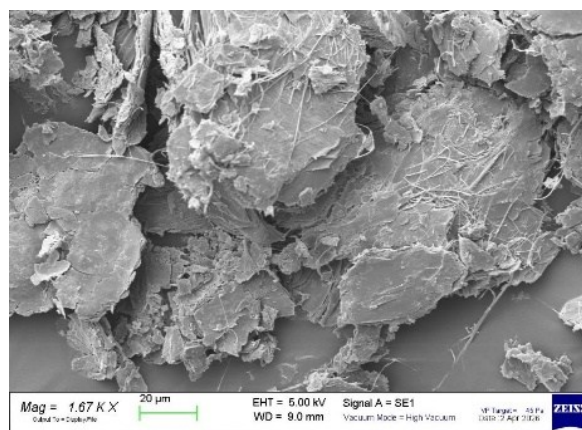


Figura 54 Micrografia SEM 1,67 KX

A 6,97 KX la componente fibrosa diventa dominante: un fitto intreccio di filamenti flessibili di diametro submicronico, organizzati in fasci paralleli e intrecciati, morfologia radicalmente diversa dalla struttura cristallina rigida del principio attivo.

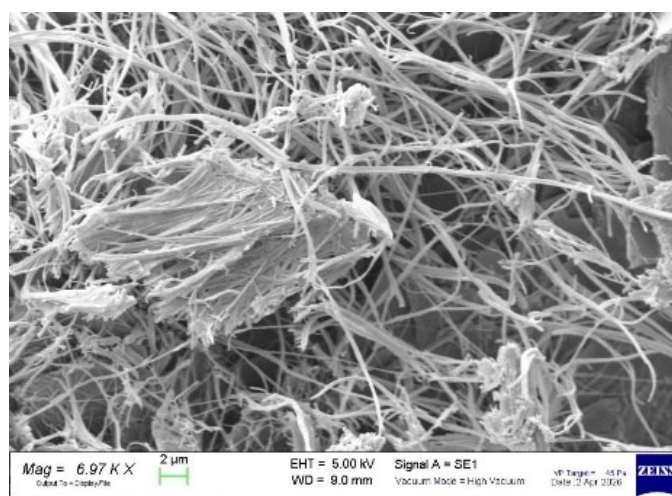


Figura 55 Micrografia SEM 6,97 KX

Slurry

Il campione ottenuto da slurry mostra a 376X agglomerati globulari e irregolari, con superficie rugosa e granulare, privi della morfologia allungata del farmaco non trattato: un quadro compatibile con una ricristallizzazione secondaria per ripetuti cicli di dissoluzione e riprecipitazione durante il trattamento a caldo (§3.2.3).

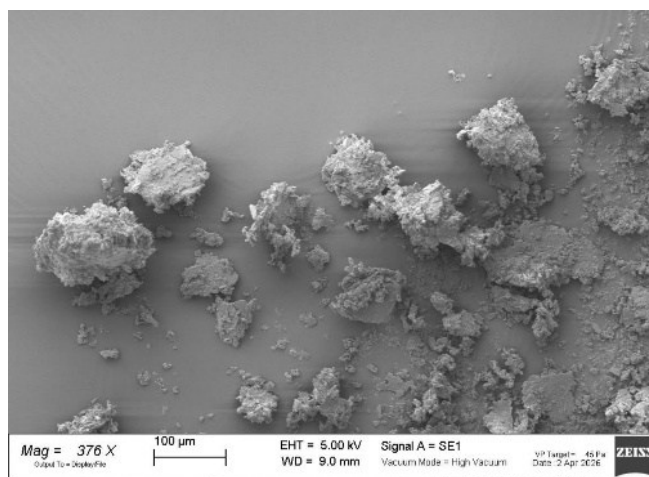


Figura 56 Micrografia SEM 376 X

A 4,73 KX restano però visibili microcristalli allungati inglobati o adesi agli aggregati maggiori, e a 15,00 KX si osservano piccoli cristalli con facce piatte ben distinte raccolti in agglomerati densi. La conversione è dunque solo parziale, verosimilmente per un tempo di trattamento insufficiente.

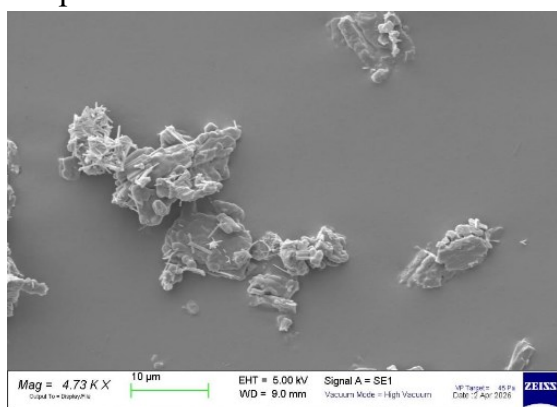


Figura 58 Micrografia SEM 4,73 KX

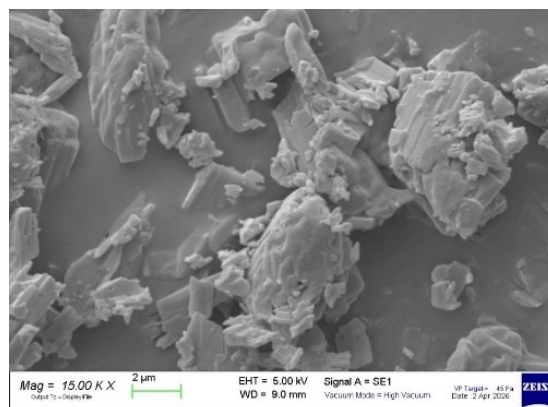


Figura 57 Micrografia SEM 15,00 KX

Il trattamento tramite la tecnica slurry in generale sembra aver indotto una dissoluzione parziale seguita da riprecipitazione, con aggregati policristallini più compatti e una perdita solo parziale della morfologia originaria — un quadro coerente con una conversione incompleta, probabilmente per un tempo di trattamento insufficiente.

I campioni ottenuti per co-cristallizzazione con palmitato di sodio, per macinazione manuale e per cristallizzazione da soluzione (§4.4), non sono stati caratterizzati al SEM. Un'analisi morfologica di questi sistemi sarebbe particolarmente istruttiva alla luce dei

risultati di DSC e XRPD, che indicano per il co-formatore una perdita completa dell'ordine cristallino: permetterebbe di verificare se alla scomparsa dei riflessi diffrazionistici corrisponda anche la scomparsa della caratteristica struttura lamellare-fibrosa qui descritta (§6).

4.7 Film PVA-farmaco

Formazione del gel prednisolone 21-trimetilacetato + PVA + metanolo

Dopo l'aggiunta della soluzione metanolica del farmaco a quella acquosa di PVA (§3.3) si è formata una massa bianca e opaca di consistenza gelatinosa (Figura 60), per due fenomeni concomitanti, entrambi conseguenza del rapporto solvente finale 1:1 v/v tra acqua e metanolo.

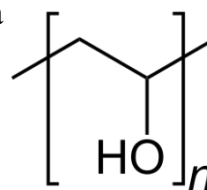


Figura 59 struttura chimica PVA

Il primo riguarda il polimero: il PVA è ben solubile in acqua ma non in metanolo¹⁴: quando le due soluzioni si uniscono, il metanolo si comporta da non-solvente e abbassa la solubilità delle catene polimeriche, che si aggregano tramite legami idrogeno tra i gruppi ossidrilici di catene diverse. Le 24 ore di agitazione a 30 °C favoriscono poi la formazione di piccole zone cristalline che agiscono da punti di reticolazione fisica, con un meccanismo analogo a quello della gelificazione del PVA¹⁶, qui però innescato dalla combinazione di non-solvente, tempo e temperatura.



Figura 60 Sistema PVA / prednisolone 21-trimetilacetato

Il secondo riguarda il principio attivo: il prednisolone 21-trimetilacetato è un composto marcatamente lipofilo (§1.2), disciolto in metanolo puro: la diluizione 1:1 con la fase acquosa ne riduce drasticamente la solubilità e ne provoca la precipitazione. La rete polimerica in formazione intrappola quindi, insieme ad acqua e metanolo residui, particelle di farmaco già separate come fase solida. L'opacità della massa deriva da entrambi i contributi — la componente cristallina del PVA, che diffonde la luce, e il farmaco precipitato¹⁶.

Questa osservazione è rilevante per l'interpretazione dei risultati che seguono: il principio attivo non viene disperso a livello molecolare nella soluzione polimerica, ma vi si ritrova già in forma particellare prima ancora dell'essiccazione — condizione che, nei sistemi filmogeni, porta alla coalescenza delle particelle durante l'evaporazione del solvente e a film di superficie irregolare, a differenza di quanto avviene partendo da una vera soluzione³⁹. Le condizioni di miscelazione, e non soltanto quelle di essiccazione, costituiscono quindi un fattore limitante per l'ottenimento di una dispersione solida amorfa.

Il successivo trattamento in muffola (90 °C per 40 minuti, §3.3) ha prodotto un'essiccazione fortemente disomogenea: acqua e metanolo evaporano più rapidamente in superficie, dove si forma un film solido più povero di solvente e più concentrato in polimero, mentre la porzione inferiore resta gelatinosa e viscosa, ancora ricca di solvente residuo. Si è quindi stabilito un gradiente di essiccazione dall'alto verso il basso, con formazione di una pelle superficiale²⁹, che ha reso necessario il campionamento in due punti distinti del medesimo becher (§3.3).

4.7.1 Sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato (muffola) (punto di prelievo 1)

Il profilo calorimetrico (Figura 61) è stato registrato in tre segmenti: un primo riscaldamento fino a 100 °C, un raffreddamento e la scansione fino a 300 °C. In quest'ultima la linea di base resta regolare fino a circa 200 °C, priva di eventi risolvibili: i volatili erano già stati allontanati nel primo segmento. Seguono due eventi endotermici, un picco netto a 228 °C e uno più ampio e profondo a 268 °C, entrambi riconducibili al polivinil alcol. Il primo non va inteso come una fusione netta: il PVA non presenta fusione pura, ma una transizione termochimica in cui la fusione dei domini cristallini avviene simultaneamente a una parziale decomposizione, per cui l'entalpia misurata ha significato apparente⁴⁰; il secondo corrisponde alla degradazione della matrice¹³.

Il picco a 228 °C non può in ogni caso essere ricondotto al principio attivo: con un carico teorico dell'1,96 % p/p la sua fusione contribuirebbe al più con circa 1 J/g, contro i circa 19 J/g misurati. Il valore è del resto ben al di sotto della soglia entro cui le tecniche

termiche e diffrattometriche forniscono un dato significativo su una dispersione farmaco-polimero, indicata in letteratura intorno al 5 % p/p⁴¹. La verifica dello stato solido del farmaco va quindi affidata alla diffrattometria a raggi X, tenendo presente che anche questa opera in condizioni sfavorevoli.

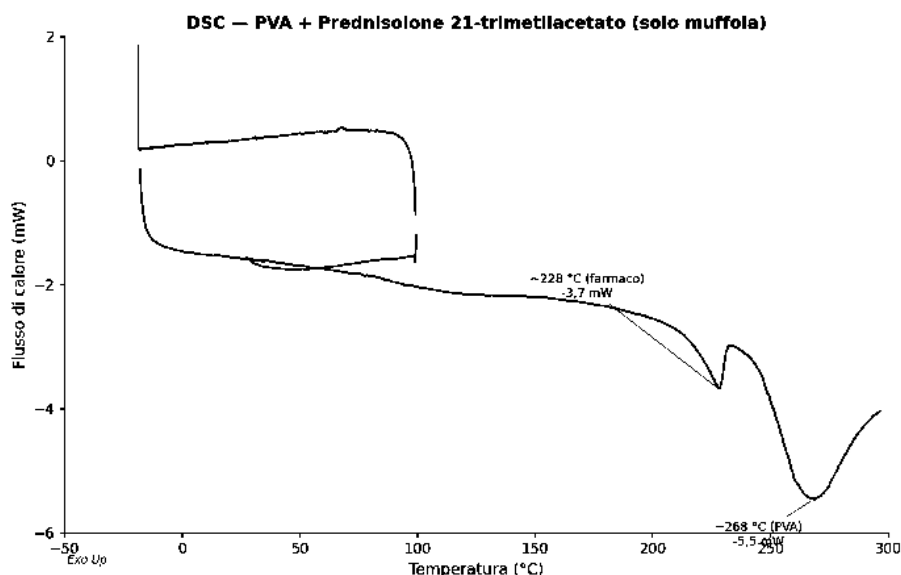


Figura 61 Termogramma DSC del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo trattamento in muffola (punto di prelievo 1).

PVA puro — XRPD (riferimento)

Il diffrattogramma del polivinil alcol tal quale (Figura 62) mostra il tipico pattern di un polimero semicristallino: poche riflessioni larghe sovrapposte a un fondo di diffusione elevato, senza i picchi stretti caratteristici di un solido molecolare cristallino. Il segnale dominante cade a $19,2^\circ 2\theta$, posizione associata ai piani (101) delle regioni ordinate del polimero; si distinguono inoltre riflessioni secondarie più deboli a $11,1$, $22,6$ e $40,2^\circ 2\theta$, attribuite rispettivamente ai piani (100), (200) e alla riflessione cristallina riportata fra 40 e 42° ¹⁵. Il quadro è in accordo con quanto riportato per film di PVA puro^{15,40}.

Il dato più utile ai fini della caratterizzazione dei compositi è però la larghezza di questi segnali: la riflessione principale presenta una larghezza a metà altezza di $1,6^\circ 2\theta$, quasi un ordine di grandezza superiore a quella delle riflessioni del prednisolone 21-trimetilacetato cristallino (§4.1.1). Questa differenza consente di distinguere senza

ambiguità, nei diffrattogrammi dei film discussi di seguito, il contributo diffuso della matrice polimerica dai riflessi stretti dell'eventuale farmaco cristallino residuo.

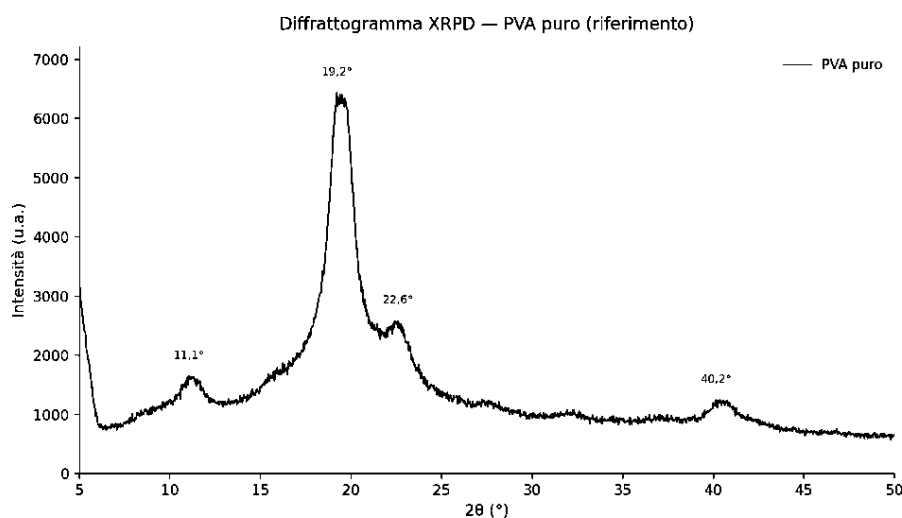


Figura 62 Diffrattogramma XRPD del sistema PVA puro

Prednisolone 21-trimetilacetato + PVA (punto di prelievo 1): XRPD

Il diffrattogramma (Figura 63) mostra la sovrapposizione di due contributi: un ampio alone privo di struttura fine, centrato intorno a 19–20° 2θ e sovrapponibile al pattern del PVA di riferimento, e una fitta serie di riflessi molto stretti, oltre venti nell'intervallo analizzato. Il film contiene dunque una fase cristallina ben sviluppata e non costituisce una dispersione solida amorfa.

L'attribuzione di questi riflessi richiede tuttavia cautela. Alcuni coincidono con posizioni caratteristiche del prednisolone 21-trimetilacetato puro (6,5, 13,5, 16,0, 17,2 e 17,6° 2θ), ma altri di intensità confrontabile o maggiore (8,0, 9,3, 11,9, 20,1, 23,9 e 31,8° 2θ) non trovano corrispondenza né nel farmaco né nel polimero; i rapporti di intensità non riproducono quelli del pattern di polvere del principio attivo, e la larghezza dei riflessi, compresa fra 0,05 e 0,16° 2θ, risulta inferiore a quella misurata sul farmaco tal quale. Poiché il pattern di polvere è significativo solo quando deriva dalla media su un gran numero di cristalliti orientati casualmente (§2.2.3)²³, questi elementi indicano che tale condizione non è soddisfatta: il principio attivo non è finemente disperso nella matrice,

ma vi è presente come cristalli grossolani, coerentemente con la sua precipitazione al momento della miscelazione delle due soluzioni (§4.7).

Il dato va inoltre letto tenendo conto che le dispersioni solide sono materiali eterogenei su scala micrometrica, e che le tecniche che analizzano il campione come materiale massivo non forniscono alcuna informazione localizzata⁴²: è la ragione per cui il campionamento è stato effettuato in due punti distinti (§3.3). Un'attribuzione univoca dei riflessi richiederebbe la ripetizione dell'acquisizione su campione finemente macinato e in rotazione.

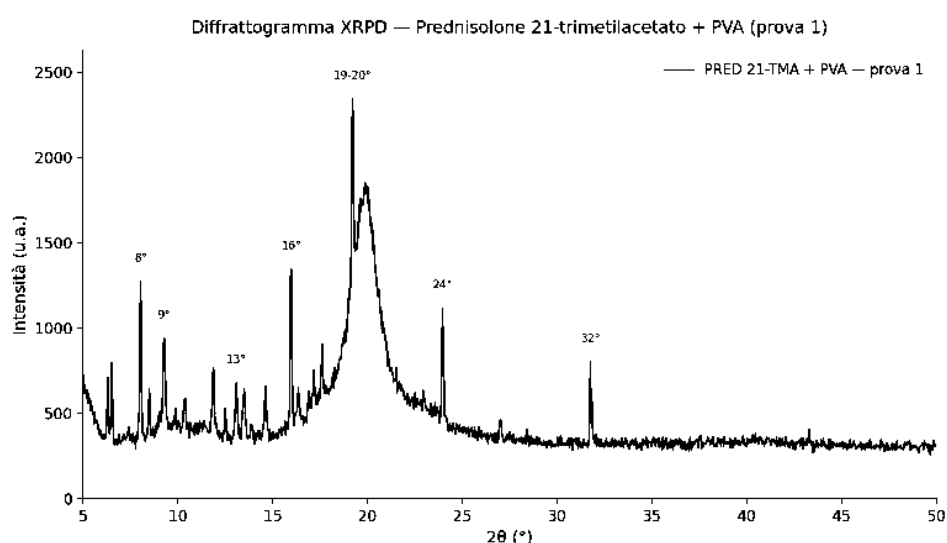
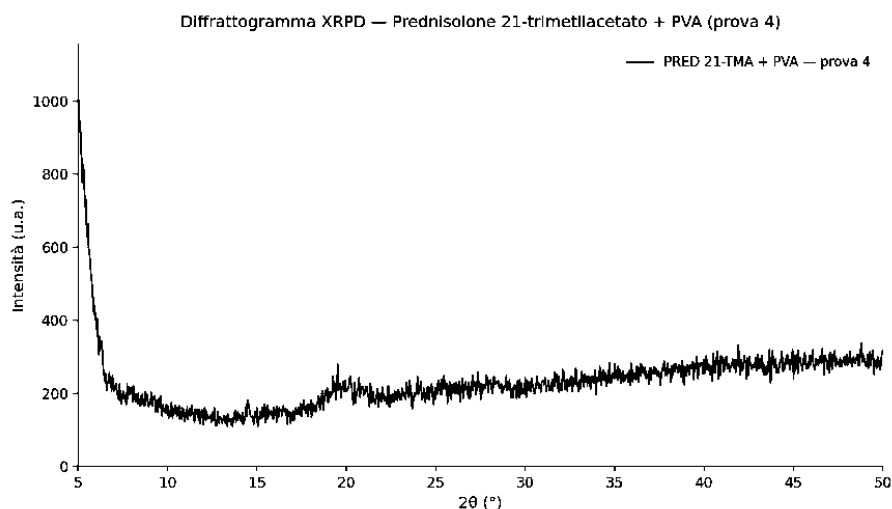


Figura 63 Diffattogramma XRPD del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo trattamento in muffola (punto di prelievo 1).



Spettro FT-IR

Lo spettro IR (Figura 64) è dominato dalla matrice polimerica: tutte le bande osservate sono attribuibili al PVA. Si riconoscono lo stretching O–H a 3274 cm^{-1} e quello C–H a 2943 cm^{-1} , il bending dell'ossidrile a 1415 cm^{-1} , il wagging C–H a 1324 cm^{-1} e lo stretching C–O a 1091 cm^{-1} ¹⁵. La banda O–H è molto intensa e profonda, con trasmittanza minima del 54 %, segno di un elevato contenuto di acqua residua: la sola muffola non basta quindi a completare l'essiccazione. Nella regione carbonilica compare un'unica banda a 1630 cm^{-1} , riconducibile al bending dell'acqua residua¹⁵.

Va infine osservato che la banda a 1141 cm^{-1} , assegnata allo stretching C–O dei gruppi C–OH della fase cristallina del polimero e impiegata in letteratura come marcatore di cristallinità del PVA rispetto alla banda a 1088 cm^{-1} della fase amorfa¹⁵, non risulta qui risolta: dopo il solo trattamento in muffola la matrice non ha ancora sviluppato un ordine strutturale apprezzabile. La spettroscopia infrarossa documenta quindi lo stato di essiccazione e di organizzazione della matrice, ma non consente di valutare lo stato fisico del farmaco né l'eventuale instaurarsi di interazioni farmaco-polimero.

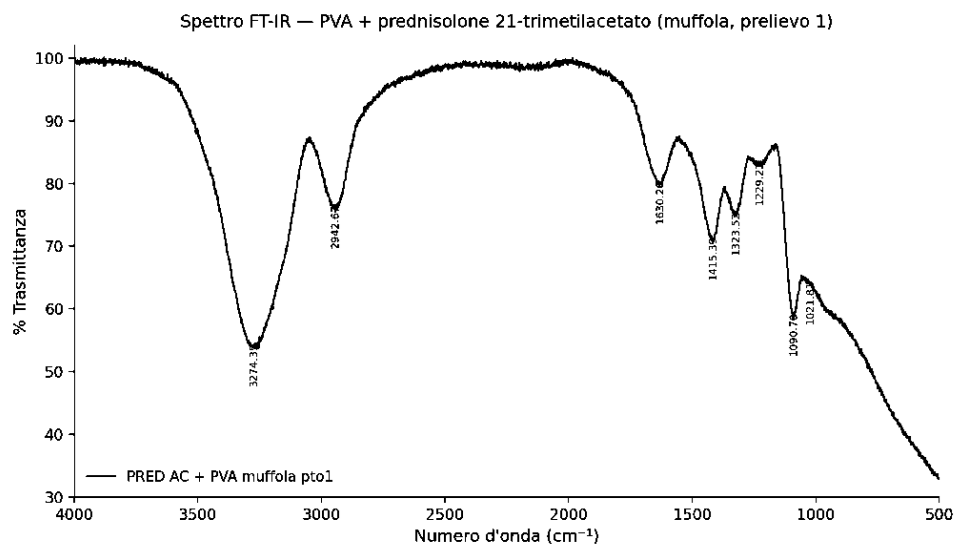


Figura 64 Spettro FT-IR del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo trattamento in muffola (punto di prelievo 1).

4.7.2 Sistema PVA + prednisolone 21 trimetilacetato (muffola +stufa) (punto di prelievo 1)

Il diffrattogramma (Figura 65), acquisito su una porzione del punto di prelievo 1 rimasta viscosa dopo l'essiccazione in stufa, diversa dall'aliquota analizzata in FT-IR, mostra un segnale che scende ripidamente fra 5 e 10° 2θ e resta poi sostanzialmente piatto e rumoroso. Scompaiono tutti i riflessi stretti osservati nel campione dopo sola muffola (§4.7.1): entro i limiti di sensibilità della tecnica il prednisolone 21-trimetilacetato non risulta più rilevabile come fase cristallina.

Il dato non va tuttavia interpretato come un'amorfizzazione del farmaco indotta dall'essiccazione. Insieme ai riflessi del principio attivo si attenua infatti anche l'alone del PVA, il cui rapporto rispetto al fondo passa da circa otto, nei due campioni precedenti, a uno: in questa frazione non è rilevabile alcuna fase cristallina, nemmeno quella del polimero, presente in quantità cinquanta volte superiore. Il risultato descrive dunque lo stato della porzione analizzata — una fase ancora largamente rigonfiata di solvente, nella quale l'ordine a lungo raggio di entrambi i componenti è perduto — e non consente di trarre conclusioni sullo stato solido del film essiccato, che resta da caratterizzare (§6).

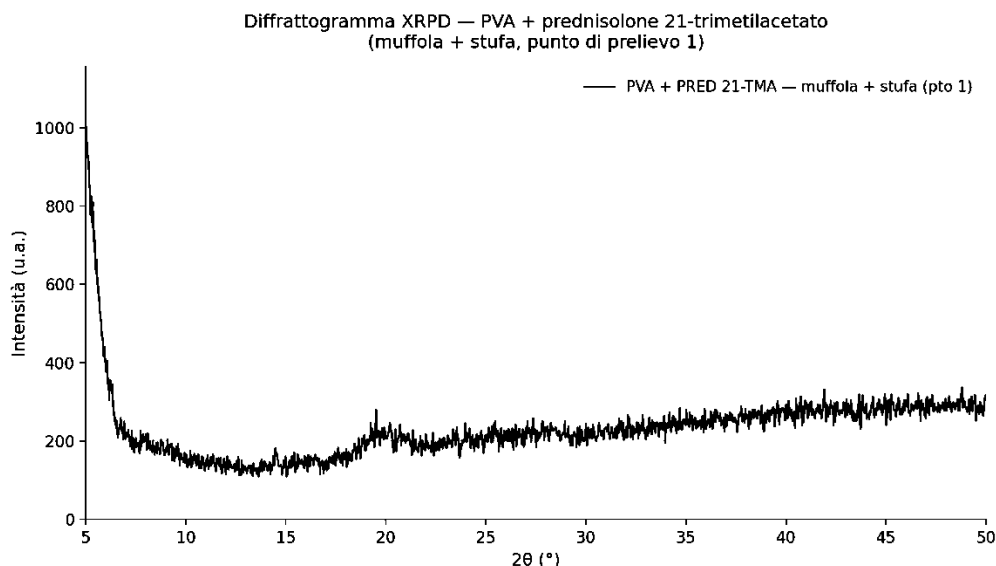


Figura 65 Diffrattogramma XRPD del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo muffola e stufa (punto di prelievo 1).

Lo spettro IR (Figura 66) è dominato, come il precedente, dalle bande del polivinil alcol. Il confronto con il campione trattato con la sola muffola documenta in modo netto l'effetto dell'essiccazione: la banda O–H a 3272 cm^{-1} passa da una trasmittanza minima del 54 % all'82 %, a conferma che, nell'aliquota analizzata, la stufa ha rimosso efficacemente acqua e metanolo residui. L'effetto non si limita però alla perdita di umidità. Nella regione delle bande C–O compare qui un segnale ben risolto a 1142 cm^{-1} , che nel campione precedente era presente solo come spalla non separata. È la banda attribuita allo stretching C–O dei gruppi C–OH della fase cristallina del polimero e impiegata come marcatore di cristallinità rispetto alla banda a 1088 cm^{-1} della fase amorfa¹⁵, entrambe qui risolte: la sua comparsa indica che durante l'essiccazione in stufa il polimero ha sviluppato un maggiore ordine strutturale.

Nella regione compresa fra 1500 e 1700 cm^{-1} si osservano due deboli deflessioni, a 1654 e 1565 cm^{-1} . La loro entità, inferiore al 4 % di assorbimento, è confrontabile con quella dell'interferenza da vapor d'acqua atmosferico presente in tutta la stessa regione dello spettro, e la seconda cade in una posizione non compatibile con un gruppo carbonilico: non possono quindi essere assunte come evidenza della presenza del principio attivo. Coerentemente con un carico teorico dell'1,96 % p/p, la spettroscopia infrarossa documenta efficacemente lo stato della matrice polimerica ma non consente di rilevare il farmaco.

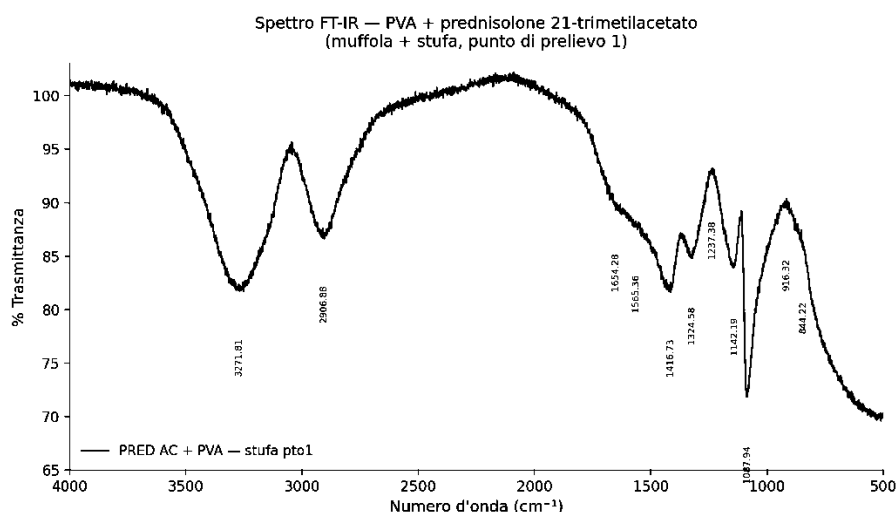


Figura 66 Spettro FT-IR del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo muffola e stufa (punto di prelievo 1).

4.7.3 Sovrapposizione FT-IR: campione muffola vs. campione muffola + stufa (punto 1)

La sovrapposizione degli spettri (Figura 67) consente di verificare se il trattamento in stufa modifichi la natura chimica del sistema o soltanto il suo stato fisico. Il confronto mostra che tutte le bande occupano le stesse posizioni nei due tracciati, e che nessun segnale compare o scompare: l'essiccazione non produce quindi alcuna alterazione chimica.

Le differenze riguardano l'intensità relativa e la risoluzione di alcune bande. Il campione non essiccato presenta un assorbimento più profondo sia nella regione O–H sia nella banda di bending dell'acqua intorno a 1630 cm⁻¹, entrambe fortemente attenuate dopo il trattamento in stufa (§4.7.1, §4.7.2): le due bande descrivono lo stesso fenomeno, la rimozione di acqua e metanolo residui.

La differenza più significativa cade però nella regione delle bande C–O: dopo l'essiccazione completa il segnale si risolve in due componenti distinte, a 1142 e 1088 cm⁻¹, mentre nel campione trattato con la sola muffola compare come un'unica banda larga. È la coppia di bande impiegata come indice di cristallinità del PVA (§4.7.2), e la sua risoluzione indica che l'essiccazione non si limita a rimuovere il solvente ma

consente al polimero di riorganizzarsi. In nessuno dei due spettri compare invece una banda attribuibile al principio attivo.

Nel complesso la stufa agisce quindi su due piani distinti, entrambi fisici: rimuove l'umidità residua e migliora l'ordine strutturale della matrice.

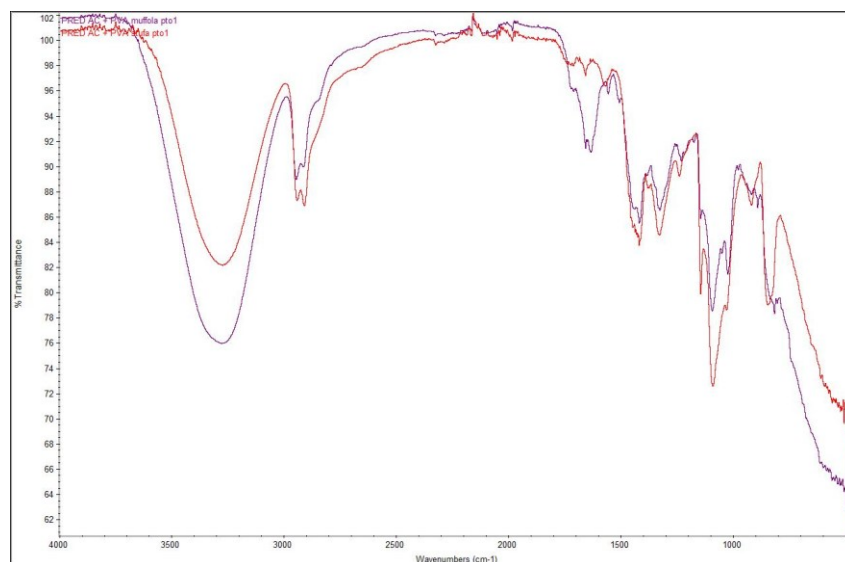


Figura 67 Spettro FT-IR sovrapposizione degli spettri FT-IR muffola vs. muffola+stufa (punto 1).

4.7.4 Sistema PVA + prednisolone 21 trimetilacetato (muffola) (punto di prelievo 2)

Lo spettro IR (Figura 68) presenta un profilo del tutto analogo a quello del punto di prelievo 1 (§4.7.1): le stesse bande del polivinil alcol, nelle stesse posizioni. La banda O–H, con minimo a 3268 cm^{-1} e trasmittanza del 52 %, è sovrapponibile a quella misurata nell'altro punto di prelievo (54 %): il contenuto residuo di acqua e metanolo è quindi confrontabile nelle due zone del campione. È una riproducibilità non scontata, poiché le dispersioni solide sono eterogenee su scala micrometrica e le tecniche che analizzano il campione come materiale massivo non ne restituiscono la distribuzione locale⁴².

Fra 1600 e 1700 cm^{-1} il segnale si presenta anche qui come un'unica banda larga e non risolta, dominata dal bending dell'acqua residua, sebbene con massimo a 1654 cm^{-1} anziché a 1630 cm^{-1} . Nella regione C–O si osserva la sola banda a 1090 cm^{-1} , senza il segnale risolto a 1142 cm^{-1} : come nel punto di prelievo 1, dopo il solo trattamento in muffola la matrice non ha ancora sviluppato un ordine strutturale apprezzabile (§4.7.2).

Nessuna banda risulta attribuibile al principio attivo, coerentemente con un carico teorico dell'1,96 % p/p, e non si osservano segnali indicativi di degradazione chimica.

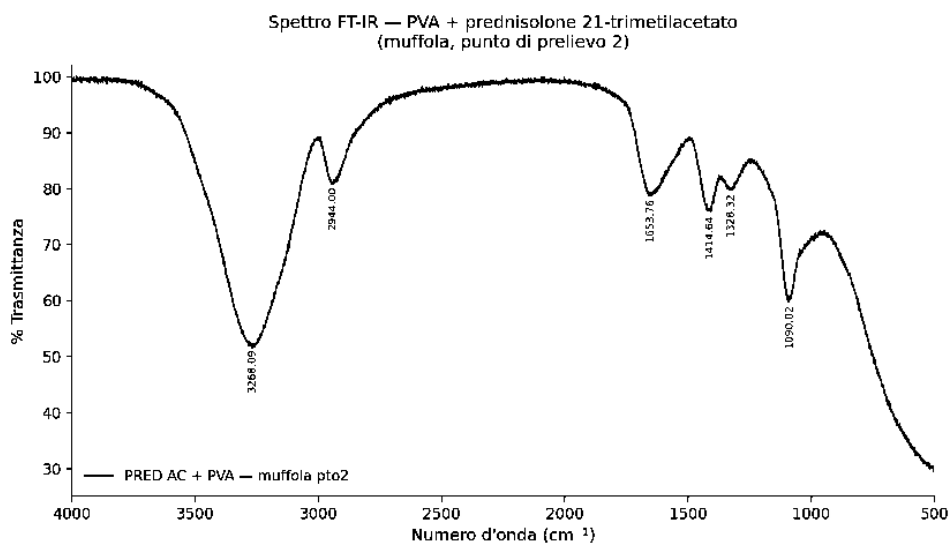


Figura 68 Spettro FT-IR del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo muffola (punto di prelievo 2).

4.7.5 Sistema PVA + prednisolone 21 trimetilacetato (muffola + stufa) (punto di prelievo 2)

Lo spettro IR (Figura 69) risulta complessivamente molto debole: la banda più intensa raggiunge appena il 94 % di trasmittanza, contro il 72 % misurato nell'altro punto di prelievo dello stesso campione. La differenza è riconducibile al contatto fra campione e cristallo ATR e non a una diversa composizione: le posizioni delle bande restano quindi confrontabili, le loro profondità no.

Le bande identificabili appartengono tutte al polivinil alcol; fra queste si ritrova la coppia a 1142 e 1088 cm^{-1} , che conferma anche in questa zona del campione l'organizzazione della matrice già osservata al punto di prelievo 1 (§4.7.2). Fra 1500 e 1750 cm^{-1} compaiono tre deflessioni, a 1735, 1654 e 1561 cm^{-1} , la prima delle quali cadrebbe nella posizione attesa per il carbonile estereo del principio attivo. Nessuna delle tre è però interpretabile: la loro profondità, di pochi decimi di punto percentuale, è confrontabile con quella dei segnali presenti fra 1800 e 2200 cm^{-1} , dove nessun gruppo funzionale può assorbire e che rappresentano quindi il rumore dello spettro. Anche in

questo punto di prelievo la spettroscopia infrarossa documenta dunque lo stato della matrice polimerica, ma non consente di rilevare il principio attivo.

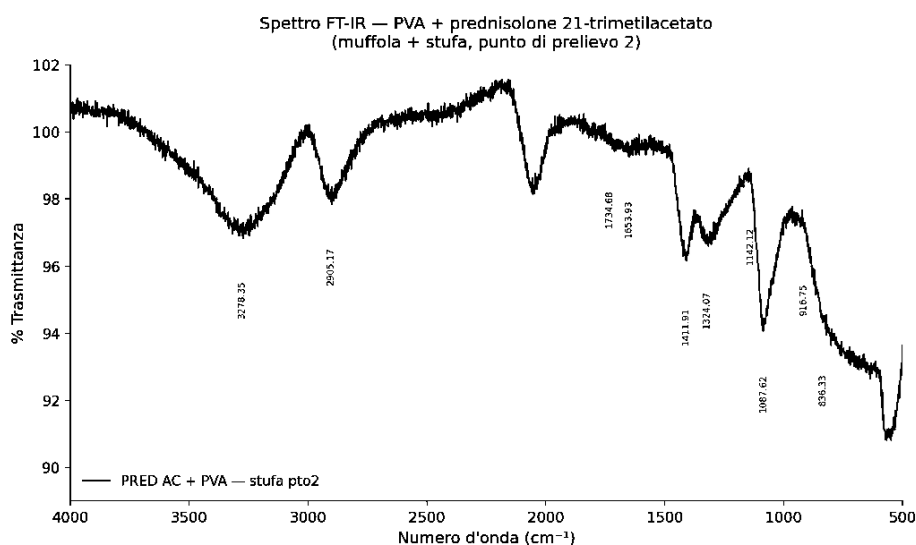


Figura 69 Spettro FT-IR del sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato dopo muffola e stufa (punto di prelievo 2).

4.7.6 Sistema PVA + prednisolone 21-trimetilacetato (muffola) — sovrapposizione FT-IR punti di prelievo 1 e 2

La sovrapposizione degli spettri dei due punti di prelievo (Figura 70) consente di verificare se la disomogeneità macroscopica osservata dopo il trattamento in muffola (§3.3) corrisponda a una reale differenza di composizione fra le due zone del campione.

Il confronto mostra che non è così. I due tracciati presentano le stesse bande, nelle stesse posizioni, e nessun segnale compare in uno e non nell'altro. Nella regione O–H sono praticamente coincidenti, sia in posizione sia in profondità, a conferma di un contenuto di umidità residua comparabile; fra 1600 e 1700 cm⁻¹ entrambi mostrano un'unica banda larga e non risolta, dominata dal bending dell'acqua. Al di sotto dei 1500 cm⁻¹ il primo punto di prelievo presenta bande sistematicamente più profonde, ma nelle stesse posizioni: una differenza di intensità complessiva riconducibile al contatto fra campione e cristallo ATR, non a una diversa composizione.

La disomogeneità del materiale dopo muffola è quindi di natura fisica — consistenza e distribuzione del solvente — e non chimica. Il dato è rilevante perché le dispersioni

solide sono eterogenee su scala micrometrica e le tecniche massive non ne restituiscono la distribuzione locale (§4.7.4): la coincidenza dei due spettri non esclude differenze locali nella distribuzione del principio attivo, ma esclude che le due zone differiscano nella composizione della matrice.

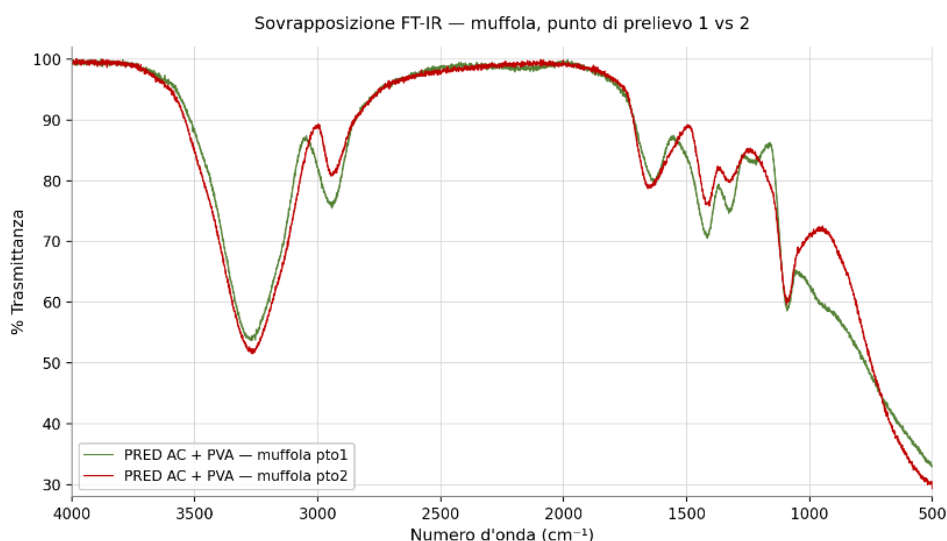


Figura 70 Spettro FT-IR sovrapposizione degli spettri FT-IR dei due punti di prelievo (muffola).

4.8 Discussione integrata multitecnica

Questo paragrafo riprende in modo trasversale i risultati del capitolo, mettendo a confronto i diversi sistemi. Il quadro che ne emerge è meno uniforme di quanto ci si potesse attendere: preparazioni apparentemente simili portano a esiti molto diversi, e ciascuna tecnica mostra, a seconda del sistema, una sensibilità diversa.

Il riferimento cristallino

L'intera discussione poggia sul prednisolone 21-trimetilacetato puro (§4.1.1), materiale altamente cristallino con punto di fusione netto a 234,6 °C. Due elementi ne condizionano la lettura. Il primo è che la TGA colloca la massima velocità di degradazione a 197 °C, quindi prima della fusione: l'evento endotermico osservato in DSC non è una fusione pura e le entalpie che ne derivano vanno intese come apparenti. Il secondo è che il fuso, raffreddando, non ricristallizza ma vetrifica, con transizione vetrosa intorno ai 103 °C — il che suggerisce che la molecola sia intrinsecamente capace di formare una fase amorfa e che il mancato ottenimento di una dispersione amorfa vada

imputato al processo più che al principio attivo; l'ipotesi va però confermata, perché il fuso è in parte degradato (§6).

I sistemi con acido palmitico: due preparazioni, due esiti

In entrambe le strategie che impiegano acido palmitico libero (§4.2, §4.3) il farmaco conserva la propria fase cristallina e i riflessi dei due componenti restano nelle posizioni attese, come confermano le bande infrarosse. Il confronto diretto rivela però una differenza che, analizzando i due campioni separatamente, sarebbe sfuggita: nel prodotto da soluzione l'acido palmitico restituisce meno della metà dell'entalpia di fusione attesa per la sua quota, mentre nel prodotto da slurry la restituisce per intero; specularmente, il picco di fusione del farmaco è ben visibile nel primo caso e del tutto assente nel secondo. La spiegazione più coerente è che nello slurry, dove l'acido grasso è interamente cristallino e fonde per intero a bassa temperatura, il principio attivo si scioglie nel fuso lipidico prima di raggiungere la propria temperatura di fusione — ipotesi confermata dal fatto che i suoi riflessi diffrattometrici restano rilevabili.

Entrambe le preparazioni condividono inoltre un elemento che non trova posto nello schema della semplice miscela fisica: alcuni riflessi riproducibili, fra cui il più intenso di quelli risolti nel campione da soluzione, non corrispondono a nessuno dei due materiali di partenza e si dispongono secondo un'unica periodicità lamellare di 14,4 Å. È la traccia di una terza fase cristallina, coerente con il deficit entalpico dell'acido palmitico. Le tecniche impiegate non ne consentono l'identificazione, e la questione resta aperta (§6).

Dalla forma neutra alla forma ionica: il ruolo della salificazione

Il confronto fra acido palmitico e palmitato di sodio è il risultato più solido del lavoro, perché tutte le tecniche convergono. Il sale puro ha uno stato solido molto più complesso dell'acido di partenza, con una lunga sequenza di transizioni mesomorfe in DSC e una struttura lamellare ordinata in XRPD. Questa complessità sparisce quando il sale viene co-processato con il farmaco: le sue transizioni termiche non si osservano più, i suoi riflessi non sono rilevabili benché il sale rappresenti quasi il 40 % in peso del campione,

e le sue bande infrarosse risultano fortemente attenuate. Tre tecniche indipendenti descrivono un co-formatore che ha perso il proprio ordine cristallino.

L'API, per contro, resta cristallino, ma il suo punto di fusione si abbassa di circa 11 °C rispetto al valore che mostra puro e in tutti gli altri sistemi — un comportamento di tipo eutettico che indica una reale interazione — e la sua degradazione, che nel materiale puro precede la fusione, in questo sistema la segue. Il quadro non si modifica dopo macinazione in mortaio, il che esclude che dipenda dallo stato di aggregazione del campione. L'elemento determinante è la natura ionica del co-formatore: con l'acido libero nessuna tecnica rileva interazioni apprezzabili, mentre il passaggio al carbossilato produce simultaneamente depressione del punto di fusione, amorfizzazione del sale e stabilizzazione termica del principio attivo.

Il sistema PVA-farmaco

Il sistema polimerico (§4.7) è il cuore applicativo del lavoro ed è quello che ha richiesto maggiore cautela, per una ragione semplice: con un carico teorico dell'1,96 % p/p la maggior parte delle tecniche non è in grado di vedere il farmaco. Il contributo calorimetrico atteso dalla sua fusione è dell'ordine di un ventesimo di quello misurato, che appartiene al polimero, e nessuno spettro infrarosso mostra bande del principio attivo al di sopra del rumore. L'unica tecnica realmente informativa è la diffrattometria, perché i riflessi stretti del farmaco emergono con chiarezza dall'alone diffuso del PVA.

Il film ottenuto dopo il solo trattamento in muffola contiene una fase cristallina ben sviluppata, i cui riflessi, per larghezza e rapporti di intensità, indicano cristalli grossolani e non una dispersione fine. L'origine risale a monte di tutte le analisi: unendo la soluzione metanolica del farmaco a un pari volume di soluzione acquosa di polimero, il principio attivo precipita già al momento della miscelazione. Non è quindi l'essiccazione ad aver fatto ricristallizzare il farmaco — il farmaco non è mai stato disperso a livello molecolare. Il diffrattogramma acquisito dopo stufa, in cui ogni riflesso scompare, non contraddice questa lettura: in quel campione si attenua anche il segnale del PVA, presente in quantità cinquanta volte superiore, e la porzione analizzata era ancora rigonfiata di solvente. Il passaggio in stufa produce comunque un effetto documentato

su entrambi i punti di prelievo: rimuove acqua e metanolo residui e consente al polimero di sviluppare un maggiore ordine strutturale, senza alterare chimicamente il sistema.

5 Conclusioni

Il lavoro si è posto come obiettivo la caratterizzazione chimico-fisica allo stato solido del prednisolone 21-trimetilacetato e lo sviluppo di sistemi multicomponente finalizzati a modificarne le proprietà biofarmaceutiche, con particolare riguardo alla scarsa solubilità acquosa che ne limita la velocità di dissoluzione.

5.1 Caratterizzazione delle materie prime

Il prednisolone 21-trimetilacetato di partenza, caratterizzato mediante DSC, TGA e XRPD, è risultato un materiale altamente cristallino, con punto di fusione netto a 234,6 °C. Due elementi si sono rivelati determinanti per l'interpretazione dell'intero lavoro. Il primo è che la termogravimetria colloca l'inizio della degradazione al di sotto della temperatura di fusione, con massima velocità di perdita di massa a 197 °C: l'evento endotermico osservato in calorimetria non è una fusione pura, e i valori di entalpia che ne derivano vanno intesi come apparenti. Il secondo è che il fuso, raffreddando, non ricristallizza ma vetrifica, con una transizione vetrosa intorno ai 103 °C — dato che suggerisce la capacità della molecola di formare una fase amorfa, da confermare perché il fuso è in parte degradato.

Per i due co-formatori lipidici la diffrattometria ha permesso di identificare in modo univoco la forma di partenza: l'acido palmitico è risultato presente nella forma polimorfa C, con spaziatura lamellare di circa 35 Å, mentre il palmitato di sodio, sintetizzato in laboratorio per neutralizzazione, ha mostrato una struttura lamellare ionica di circa 46 Å e una sequenza di transizioni mesomorfe caratteristica dei saponi a catena lunga. La riuscita della salificazione è stata confermata per via spettroscopica dalla scomparsa della banda del carbonile acido e dalla comparsa delle bande dello ione carbossilato.

5.2 Sistemi con acido palmitico

Entrambe le strategie impiegate — cristallizzazione da soluzione e trattamento in slurry — hanno prodotto sistemi in cui il principio attivo conserva la propria fase cristallina, con i riflessi dei due componenti nelle rispettive posizioni e senza spostamenti delle bande infrarosse. Le due preparazioni non sono tuttavia risultate equivalenti: nel prodotto da soluzione l'acido palmitico restituisce meno della metà dell'entalpia di fusione attesa per la sua quota nel campione, mentre il picco di fusione del farmaco è ben visibile; nel prodotto da slurry l'acido grasso è invece interamente cristallino, e il picco del farmaco scompare per dissoluzione del principio attivo nel fuso lipidico, come dimostra la permanenza dei suoi riflessi diffrattometrici.

In entrambi i campioni la diffrattometria ha inoltre individuato alcuni riflessi riproducibili, non attribuibili a nessuno dei due materiali di partenza e disposti secondo un'unica periodicità lamellare di circa 14,4 Å. La presenza di una terza fase cristallina — coerente con il deficit entalpico osservato per l'acido palmitico — impedisce di descrivere questi prodotti come semplici miscele fisiche, e la sua natura non è determinabile con le sole tecniche impiegate. L'analisi morfologica al SEM ha infine evidenziato una vera modifica dell'abito cristallino: il farmaco tal quale cristallizza in blocchi prismatici spessi, mentre in presenza di acido palmitico si ottengono listelli lamellari appiattiti, con superfici regolari e organizzazione più ordinata.

5.3 Sistemi con palmitato di sodio

Il passaggio dal co-formatore neutro alla sua forma ionica ha prodotto il risultato più netto dell'intero lavoro, con la convergenza di tre tecniche indipendenti verso la stessa conclusione: in DSC l'intera sequenza di transizioni mesomorfe del sale scompare, in XRPD i suoi riflessi non sono più rilevabili benché il sale rappresenti quasi il 40 % in peso del campione, e in FT-IR le bande caratteristiche dello ione carbossilato risultano fortemente attenuate.

Il co-formatore perde dunque il proprio ordine cristallino, mentre il farmaco resta cristallino ma vede il proprio punto di fusione abbassarsi di circa 11 °C rispetto al valore mostrato puro e in tutti gli altri sistemi: un comportamento di tipo eutettico, indice di

miscibilità allo stato fuso. A ciò si aggiunge un marcato incremento della stabilità termica del principio attivo, la cui degradazione — che nel materiale puro precede la fusione — in questo sistema la segue, con uno spostamento di quasi quaranta gradi. Il quadro non si modifica dopo macinazione del prodotto in mortaio: gli eventi osservati non dipendono quindi dallo stato di aggregazione del campione, il che ne conferma la natura di proprietà intrinseche del sistema.

5.4 Sistema a dispersione solida PVA/prednisolone 21-trimetilacetato

Il sistema polimerico, cuore applicativo del lavoro, ha richiesto particolare cautela interpretativa: con un carico teorico di farmaco pari all'1,96 % p/p, il contributo calorimetrico atteso dalla sua fusione è dell'ordine di un ventesimo di quello effettivamente misurato, che appartiene al polimero, e nessuno degli spettri infrarossi acquisiti mostra bande del principio attivo al di sopra del rumore strumentale. L'unica tecnica realmente informativa si è rivelata la diffrazione a raggi X, poiché i riflessi stretti del farmaco cristallino emergono con chiarezza dall'alone diffuso del PVA.

Il film ottenuto contiene una fase cristallina ben sviluppata, i cui riflessi, per larghezza e rapporti di intensità, indicano cristalli grossolani anziché una dispersione fine. L'origine del fenomeno risale a monte di tutte le analisi: unendo la soluzione metanolica del farmaco a un pari volume di soluzione acquosa di polimero, il principio attivo — marcatamente lipofilo — precipita già al momento della miscelazione. Il fattore limitante non è quindi l'essiccazione, come inizialmente ipotizzato, ma la fase di miscelazione. Il confronto fra i campioni trattati in muffola e quelli successivamente essiccati in stufa ha comunque documentato l'effetto del secondo passaggio: rimozione efficace di acqua e metanolo residui e sviluppo di un maggiore ordine strutturale del polimero, senza alterazioni chimiche del sistema.

5.5 Considerazioni conclusive

Il filo conduttore dell'intero lavoro è che il prednisolone 21-trimetilacetato conserva una componente cristallina significativa in ogni sistema preparato, e che nessuna delle strategie esplorate ha condotto a una dispersione molecolare del principio attivo. L'obiettivo dell'amorfizzazione, in questa fase, non è stato raggiunto.

Il risultato non è tuttavia privo di indicazioni operative, e anzi ne fornisce tre convergenti. La transizione vetrosa osservata sul fuso dimostra che il farmaco è in grado di esistere in forma amorfa stabile, e che il limite risiede quindi nel processo e non nella molecola. L'abbassamento del punto di fusione osservato con il palmitato di sodio dimostra che un co-formatore ionico è capace di interagire realmente con il principio attivo, laddove la corrispondente forma acida non produce alcun effetto analogo. La precipitazione individuata nel sistema polimerico identifica con precisione il passaggio critico da modificare, che non è l'essiccazione ma il momento in cui le due soluzioni vengono unite.

Sul piano metodologico, il lavoro mostra quanto sia essenziale l'impiego integrato di più tecniche: nessuna di quelle utilizzate, presa singolarmente, avrebbe restituito un quadro corretto. La calorimetria, da sola, avrebbe attribuito al farmaco un picco appartenente al polimero; la diffrattometria, da sola, non avrebbe distinto fra amorfizzazione e semplice rigonfiamento del campione; e solo il confronto sistematico con i pattern dei materiali puri ha permesso di riconoscere la fase cristallina aggiuntiva nei sistemi con acido palmitico. La caratterizzazione allo stato solido dei sistemi multicomponente si conferma così un esercizio in cui la convergenza fra tecniche indipendenti, più che il singolo dato, costituisce il criterio di affidabilità del risultato.

6 Prospettive future

Il presente lavoro ha fornito una caratterizzazione chimico-fisica approfondita, allo stato solido, di diverse strategie di co-processamento del prednisolone 21-trimetilacetato. Il quadro complessivo (§4.8) è che il principio attivo conserva una componente cristallina significativa in tutte le formulazioni preparate, e che nessuna di esse ha prodotto una dispersione molecolare. Proprio la precisione con cui il capitolo precedente individua dove ciascun sistema si ferma consente però di indicare con altrettanta precisione le direttrici di sviluppo.

Il punto critico del sistema PVA: la fase di miscelazione

Il risultato più immediatamente utilizzabile riguarda il sistema PVA/prednisolone 21-trimetilacetato. La diffrattometria mostra che il farmaco vi è presente come cristalli grossolani, e la loro origine risale al momento in cui la soluzione metanolica del principio attivo viene unita a quella acquosa di polimero: la diluizione della fase organica con un pari volume di acqua fa precipitare il farmaco prima ancora che l'essiccazione abbia inizio (§4.7). Questo indirizza in modo concreto la sperimentazione successiva — ridurre la concentrazione del farmaco nella fase metanolica, invertire l'ordine di aggiunta, adottare un sistema di solventi in cui entrambi i componenti restino solubili fino all'evaporazione, oppure ricorrere a un'aggiunta molto più lenta e diluita. Sono modifiche di processo semplici, che agiscono sul punto realmente limitante.

Identificazione della fase cristallina aggiuntiva

Nei prodotti ottenuti con acido palmitico, sia da soluzione sia da slurry, la diffrattometria individua alcuni riflessi riproducibili non attribuibili a nessuno dei due materiali di partenza, disposti secondo un'unica periodicità lamellare di 14,4 Å (§4.2). Stabilirne la natura è forse la questione più interessante lasciata aperta dal lavoro, perché da essa dipende se il sistema vada descritto come una miscela di fasi o come qualcosa di più. Servirebbero tecniche a risoluzione strutturale superiore: in primo luogo la diffrazione su cristallo singolo, qualora fosse possibile isolare cristalli di qualità adeguata, oppure una diffrattometria a temperatura variabile, che seguendo la comparsa e la scomparsa di quei riflessi durante il riscaldamento ne collegherebbe direttamente il comportamento agli eventi termici osservati in DSC.

Ottimizzazione verso l'amorfizzazione

Nessuna delle strategie esplorate ha prodotto un'amorfizzazione stabile ed estesa del farmaco, ma il capitolo precedente offre due indicazioni convergenti su come ottenerla.

La prima è che il principio attivo potrebbe esistere in forma amorfa: il fuso, raffreddando, non ricristallizza ma vetrifica, con una transizione vetrosa intorno ai 103 °C (§4.1.1). Il dato è stato però osservato in raffreddamento e merita di essere

confermato con un ciclo calorimetrico dedicato — fusione appena oltre il punto di fusione, raffreddamento rapido e secondo riscaldamento — che fornirebbe un valore di Tg affidabile, indispensabile per valutare la stabilità fisica di qualunque futura dispersione amorfa²¹. Va tenuto presente che la degradazione precede la fusione: questo rende sconsigliabile l'estrusione a caldo, che opera sulla miscela fusa di farmaco e polimero, mentre restano percorribili i metodi a solvente come lo spray-drying, che evitano la degradazione termica³.

La seconda riguarda la scelta del co-formatore. Il palmitato di sodio è l'unico co-formatore ad aver modificato il comportamento del farmaco, con abbassamento del punto di fusione e perdita completa del proprio ordine cristallino, e lo ha fatto in modo identico partendo da soluzione e dopo semplice macinazione (§4.4). Poiché l'acido palmitico libero non produce nulla di analogo, è la natura ionica del co-formatore a fare la differenza: uno screening di co-formatori ionici, e di rapporti farmaco/co-formatore diversi dall'1:1 qui adottato, è quindi la direzione più promettente.

Verifica funzionale: studi di dissoluzione

L'intera caratterizzazione condotta descrive lo stato solido dei sistemi preparati, ma non ne verifica la funzionalità rispetto all'obiettivo dichiarato del lavoro. Test di dissoluzione comparativi — farmaco puro, sistemi co-processati e film di PVA — permetterebbero di stabilire se la persistenza di cristallinità osservata si traduca effettivamente in un rilascio più lento, o se altri fattori, come l'area superficiale, la morfologia e la natura anfifilica del palmitato di sodio, ne compensino in parte l'effetto. È il passaggio che trasformerebbe una caratterizzazione preformulativa in una valutazione di formulazione.

Verso l'applicazione tecnologica

Superata la fase preformulativa, gli sviluppi applicativi naturali comprendono l'impiego dei sistemi qui studiati come componenti di sistemi filmogeni per il rilascio controllato³⁹. A questi va affiancato uno studio di stabilità a lungo termine, necessario soprattutto per qualunque frazione amorfa ottenuta in sviluppi futuri, data la nota

tendenza delle forme amorfe alla ricristallizzazione spontanea durante la conservazione.¹²

Un'ultima annotazione di natura documentale: del polivinil alcol impiegato è noto il grado di idrolisi, essendo il prodotto completamente idrolizzato (§2.1), mentre il peso molecolare non è specificato. Poiché il peso molecolare è, insieme al grado di idrolisi, fra i parametri che determinano le proprietà del carrier e la stabilità fisica della dispersione, la sua registrazione è condizione necessaria per la riproducibilità di qualunque sviluppo successivo^{12,13}.

BIBLIOGRAFIA

1. Möhlmann, J. E. *et al.* Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Systemic Corticosteroids in Autoimmune and Inflammatory Diseases: A Review of Current Evidence. *Clin. Pharmacokinet.* **63**, 1251–1270 (2024).
2. Nandwani, Y., Kaur, A. & Bansal, A. K. Generation of Ophthalmic Nanosuspension of Prednisolone Acetate Using a Novel Technology. *Pharm. Res.* **38**, 319–333 (2021).
3. Malkawi, R., Malkawi, W. I., Al-Mahmoud, Y. & Tawalbeh, J. Current Trends on Solid Dispersions: Past, Present, and Future. *Adv. Pharmacol. Pharm. Sci.* **2022**, 1–17 (2022).
4. Brough, C. *et al.* Use of Polyvinyl Alcohol as a Solubility-Enhancing Polymer for Poorly Water Soluble Drug Delivery (Part 1). *AAPS PharmSciTech* **17**, 167–179 (2016).
5. Kumar, A., Singh, P. & Nanda, A. Hot stage microscopy and its applications in pharmaceutical characterization. *Appl. Microsc.* **50**, 12 (2020).
6. Timmermans, S., Souffriau, J. & Libert, C. A General Introduction to Glucocorticoid Biology. *Front. Immunol.* **10**, 1545 (2019).
7. Prednisolone 21-pivalate, CID 10095005. (2026).
8. Markovic, B. D. *et al.* Investigation of Solvolysis Kinetics of New Synthesized Fluocinolone Acetonide C-21 Esters—An In Vitro Model for Prodrug Activation. *Molecules* **16**, 2658–2671 (2011).
9. Markovic, B. D., Vladimirov, S. M., Cudina, O. A., Odovic, J. V. & Karljickovic-Rajic, K. D. A PAMPA Assay as Fast Predictive Model of Passive Human Skin Permeability of New Synthesized Corticosteroid C-21 Esters. *Molecules* **17**, 480–491 (2012).

10. Ramos-Inza, S. *et al.* Thermal characterization, polymorphism, and stability evaluation of Se-NSAID derivatives with potent anticancer activity. *J. Therm. Anal. Calorim.* **149**, 1015–1028 (2024).
11. Lee, E. H. A practical guide to pharmaceutical polymorph screening & selection. *Asian J. Pharm. Sci.* **9**, 163–175 (2014).
12. Shi, Q. *et al.* Amorphous Solid Dispersions: Role of the Polymer and Its Importance in Physical Stability and In Vitro Performance. *Pharmaceutics* **14**, 1747 (2022).
13. Kapourani, A., Palamidi, A., Kontogiannopoulos, K. N., Bikiaris, N. D. & Barmpalexis, P. Drug Amorphous Solid Dispersions Based on Poly(vinyl Alcohol): Evaluating the Effect of Poly(propylene Succinate) as Plasticizer. *Polymers* **13**, 2922 (2021).
14. Nagarkar, R. & Patel, J. Polyvinyl Alcohol: A Comprehensive Study. *Acta Sci. Pharm. Sci.* **3**, 34–44 (2019).
15. Kovtun, G., Casas, D. & Cuberes, T. Influence of Glycerol on the Surface Morphology and Crystallinity of Polyvinyl Alcohol Films. *Polymers* **16**, 2421 (2024).
16. Liang, X. *et al.* Polyvinyl Alcohol (PVA)-Based Hydrogels: Recent Progress in Fabrication, Properties, and Multifunctional Applications. *Polymers* **16**, 2755 (2024).
17. Modasiya, U. *et al.* Long-Chained Fatty Acid-Based Solid Dispersions of Voriconazole as an Effective Strategy For Achieving Sustained Release. *AAPS PharmSciTech* **27**, 30 (2025).
18. Calvo, B., Collado, I. & Cepeda, E. A. Solubilities of Palmitic Acid in Pure Solvents and Its Mixtures. *J. Chem. Eng. Data* **54**, 64–68 (2009).
19. Raiguel, S., Avdibegović, D. & Binnemans, K. Removal of lithium from aqueous solutions by precipitation with sodium and choline alkanoate soaps. *Green Chem.* **27**, 1013–1017 (2025).

20. Filopoulou, A., Vlachou, S. & Boyatzis, S. C. Fatty Acids and Their Metal Salts: A Review of Their Infrared Spectra in Light of Their Presence in Cultural Heritage. *Molecules* **26**, 6005 (2021).
21. Ding, S., Shah, R. M., Nguyen, H. V. & Saha, T. Differential Scanning Calorimetry (DSC) in Solid-State Characterization of Solid Dispersions: A Practical Guide. *AAPS PharmSciTech* **27**, 20 (2025).
22. Saadatkhah, N. *et al.* Experimental methods in chemical engineering: Thermogravimetric analysis—TGA. *Can. J. Chem. Eng.* **98**, 34–43 (2020).
23. Rodríguez, I., Gautam, R. & Tinoco, A. D. Using X-ray Diffraction Techniques for Biomimetic Drug Development, Formulation, and Polymorphic Characterization. *Biomimetics* **6**, 1 (2021).
24. Kriegner, D., Matěj, Z., Kužel, R. & Holý, V. Powder diffraction in Bragg-Brentano geometry with straight linear detectors. *J. Appl. Crystallogr.* **48**, 613–618 (2015).
25. van Haaren, C., De Bock, M. & Kazarian, S. G. Advances in ATR-FTIR Spectroscopic Imaging for the Analysis of Tablet Dissolution and Drug Release. *Molecules* **28**, 4705 (2023).
26. Garbacz, P. & Wesolowski, M. DSC, FTIR and Raman Spectroscopy Coupled with Multivariate Analysis in a Study of Co-Crystals of Pharmaceutical Interest. *Molecules* **23**, 2136 (2018).
27. Ibadillah, A. F. *et al.* Designing Magnetic Stirrer Hot Plate Using Contactless Infrared MLX90614 Temperature Sensor Based On PID Controller. *Proc. Int. Conf. Sci. Technol. ICST 2018* **1**, 940–944 (2018).
28. Abadi, F. R. Design of a Simple Muffle Furnace for Temperature Optimization in Ash Content Analysis. *J. Neutrino* **10**, 30–39 (2018).

29. Wang, C. *et al.* Simulation Analysis of 3-D Airflow and Temperature Uniformity of Paddy in a Laboratory Drying Oven. *Foods* **13**, 3466 (2024).
30. Ali, A., Zhang, N. & Santos, R. M. Mineral Characterization Using Scanning Electron Microscopy (SEM): A Review of the Fundamentals, Advancements, and Research Directions. *Appl. Sci.* **13**, 12600 (2023).
31. Sulaiman, A. & Silva, F. V. M. Ultrasound Fundamentals and Ultrasound-Assisted Food Processing Applications. *Processes* **14**, 884 (2026).
32. Thayyil, A. R., Juturu, Thimmasetty, Nayak, Shashank, & Kamath, Shwetha. Pharmaceutical Co-Crystallization: Regulatory Aspects, Design, Characterization, and Applications. *Adv. Pharm. Bull.* **10**, 203–212 (2020).
33. Maeda, K., Satoshi Yamada, & Hirota Syouji. Binodal curve of two liquid phases and solid-liquid equilibrium for water + fatty acid + ethanol systems and water + fatty acid + acetone systems. *Fluid Phase Equilibria* **130**, 281–294 (1997).
34. Gonçalves Bonassoli, A. B. *et al.* Solubility Measurement of Lauric, Palmitic, and Stearic Acids in Ethanol, *n* -Propanol, and 2-Propanol Using Differential Scanning Calorimetry. *J. Chem. Eng. Data* **64**, 2084–2092 (2019).
35. Pawar, N., Saha, A., Nandan, N. & Parambil, J. Solution Cocrystallization: A Scalable Approach for Cocrystal Production. *Crystals* **11**, 303 (2021).
36. Moreno, E. *et al.* Polymorphism of even saturated carboxylic acids from n-decanoic to n-eicosanoic acid. *New J. Chem.* **31**, 947 (2007).
37. Vold, R. D., Rosevear, F. B., & Ferguson, R. H. New allotropic forms of anhydrous sodium palmitate. *Oil Soap* **16**, 48–51 (1939).

38. Pu, S. & Hadinoto, Kunn. Habit modification in pharmaceutical crystallization: A review. *Chem. Eng. Res. Des.* **201**, 45–66 (2024).
39. Tran, T. T. D. & Tran, P. H. L. Controlled Release Film Forming Systems in Drug Delivery: The Potential for Efficient Drug Delivery. *Pharmaceutics* **11**, 290 (2019).
40. Tsiptsias, C., Fardis, D., Ntampou, X., Tsivintzelis, I. & Panayiotou, C. Thermal Behavior of Poly(vinyl alcohol) in the Form of Physically Crosslinked Film. *Polymers* **15**, 1843 (2023).
41. Seiler, V. K., Theil, F., Nagel, N. & Van Lishaut, H. Adding a New Dimension to the Amorphous Solid Dispersion Phase Diagram: Studying Dissolution Kinetics of Crystalline Drugs in a Polymer Matrix Using Temperature Dependent XRPD and DSC. *J. Pharm. Sci.* **111**, 2496–2504 (2022).
42. Alhijaj, M. *et al.* Characterization of Heterogeneity and Spatial Distribution of Phases in Complex Solid Dispersions by Thermal Analysis by Structural Characterization and X-ray Micro Computed Tomography. *Pharm. Res.* **34**, 971–989 (2017).

RINGRAZIAMENTI

Arrivato alla fine di questo percorso, la cosa di cui mi rendo conto più di ogni altra è di non averlo affrontato da solo.

Il mio primo ringraziamento va alla mia Relatrice, la Professoressa Chiara Milanese, per avermi coordinato nel migliore dei modi durante tutto il lavoro e per esserci sempre stata, per qualsiasi cosa. La ringrazio per la disponibilità con cui ha accolto ogni mia domanda e per la fiducia che mi ha accordato nei momenti in cui ero io il primo a non averne.

Grazie a mia mamma e a mio papà, che mi hanno sostenuto in ogni scelta e hanno creduto in questo percorso anche quando io faticavo a crederci: quello che ho raggiunto oggi è in gran parte merito vostro. Grazie a mia sorella, per essermi stata vicina in ogni momento, spesso senza bisogno che spiegassi nulla.

Grazie a Benedetta, per la pazienza e per la presenza costante, e per aver condiviso con me tanto i mesi difficili quanto le soddisfazioni di questo traguardo. Grazie per avermi sempre dato la calma che mi mancava. Hai sempre creduto in me anche quando io non lo facevo.

Infine, grazie ad Alessandro e Matteo: le serate passate insieme e le uscite ogni volta che tornavo a Pavia sono state il modo in cui ho staccato quando ne avevo bisogno e ritrovato la testa per ricominciare.