

POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Biomedica

**Corso di Laurea Magistrale
in Ingegneria Biomedica**

Tesi di Laurea Magistrale

Sintesi e applicazione di nanotubi in biossido di titanio per implantologia dentale e sistemi di rilascio di farmaci



Relatori

prof. Leonardo Iannucci
prof.ssa Sabrina Grassini
prof.ssa Tolou Shokuhfar

Candidato

Stefano Siro

Marzo 2025

Indice

1	Abstract	1
2	Introduzione	3
2.1	I nanotubi di TiO ₂ : struttura, proprietà e vantaggi	3
2.2	Metodi di sintesi dei nanotubi di TiO ₂	6
2.2.1	Template-assisted method	7
2.2.2	Metodo sol-gel.....	9
2.2.3	Metodo idrotermale	11
3	Sintesi dei nanotubi di TiO ₂ mediante anodizzazione.....	15
3.1	Evoluzione del processo di anodizzazione elettrochimica.....	15
3.2	Principi e meccanismi del processo di anodizzazione	18
3.3	Alliestimento del processo di anodizzazione	20
3.3.1	Preparazione del substrato di titanio	20
3.3.2	Scelta dell'elettrolita	20
3.3.3	Effetto della tensione applicata sull'anodizzazione	20
3.3.4	Effetto del tempo di anodizzazione.....	21
3.3.5	Concentrazione degli ioni fluoruro	22
3.3.6	Effetto dell'elettrolita sulla crescita dei nanotubi	22
3.3.7	Effetto della temperatura del bagno elettrolitico.....	23
3.3.8	Effetto del pH dell'elettrolita	23
4	Nanotubi di TiO ₂ per impianti dentali.....	25
4.1	Requisiti per i biomateriali dentali	26
4.2	Biocompatibilità dei nanotubi di TiO ₂	27
4.3	Proprietà meccaniche dei nanotubi di TiO ₂	27
4.3.1	Influenza della morfologia dei nanotubi sulle proprietà meccaniche	27
4.3.2	Test meccanici: nanoidentazione	28
4.3.3	Test di flessione.....	28
4.3.4	Test di compressione.....	28
4.4	Applicazioni dei nanotubi di TiO ₂ in implantologia dentale.....	29
4.4.1	Osteointegrazione.....	29
4.4.2	Prevenzione di infezioni batteriche	30
4.4.3	Utilizzo nanotubi per cementi resinosi.....	31
5	Sistemi di somministrazione di farmaci localizzati (LDDS)	35
5.1	Strategie per rilascio di farmaci	37
5.1.1	Cinetica rilascio farmaco in strutture nano tubolari.....	39

5.1.2	Modifica del rilascio del farmaco tramite controllo delle dimensioni	41
5.1.3	Modifica del rilascio del farmaco tramite il controllo delle dimensioni dei pori in NAA e TNT.....	44
5.1.4	Modifica del rilascio del farmaco mediante la funzionalizzazione dei nanopori 48	
5.1.5	Strategie di rilascio di multi-farmaco sequenziale e ritardato.....	49
5.2	Rilascio in risposta a stimoli esterni.....	53
5.2.1	Rilascio del farmaco tramite molecole fotosensibili	53
5.2.2	Rilascio del farmaco tramite cambiamento della temperatura	55
5.2.3	Rilascio del farmaco tramite variazione del pH	56
5.2.4	Rilascio del farmaco tramite radiofrequenza (RF).....	58
5.2.5	Rilascio del farmaco innescato magneticamente e tramite ultrasuoni	60
6	Conclusioni.....	65
7	Bibliografia.....	67

1 Abstract

Questa tesi presenta un'analisi dello stato dell'arte a proposito dei nanotubi di biossido di titanio (TiO_2), concentrandosi sulla loro sintesi, caratterizzazione e sulle loro applicazioni in campo biomedico, con particolare attenzione all'implantologia dentale e alla somministrazione localizzata di farmaci (in inglese 'Localised Drug Delivery Systems', LDDS). I nanotubi di TiO_2 , grazie alla loro nanostruttura, alle proprietà fisico-chimiche uniche, all'elevata biocompatibilità e alla possibilità di modulazione morfologica, rappresentano un materiale di notevole interesse per il miglioramento delle prestazioni degli impianti dentali e per lo sviluppo di terapie farmacologiche innovative, più efficaci e mirate. L'elaborato introduce i nanotubi di TiO_2 , descrivendone la struttura, le proprietà e i vantaggi specifici. Si analizzano le diverse metodologie di sintesi, tra cui il metodo con assistenza di modello (in inglese 'template-assisted model'), il processo sol-gel, il metodo idrotermale e, con enfasi, l'anodizzazione elettrochimica. Quest'ultima è approfondita, illustrando principi, meccanismi, allestimento sperimentale e l'influenza dei parametri di processo (tensione, tempo, concentrazione di ioni fluoruro, composizione e pH dell'elettrolita, temperatura) sulla morfologia e proprietà finali. Si evidenzia come la precisa modulazione di questi parametri permetta di ottenere nanotubi con caratteristiche desiderate, ottimizzandoli per specifiche applicazioni biomediche. La tesi si concentra poi sull'implantologia dentale, discutendo i requisiti dei biomateriali e come i nanotubi di TiO_2 , grazie all'elevata area superficiale e alla funzionalizzazione, migliorino significativamente l'adesione e la proliferazione cellulare, accelerando l'osteointegrazione e garantendo maggiore stabilità dell'impianto. Si presentano applicazioni quali il rivestimento di impianti per prevenire infezioni (proprietà antibatteriche intrinseche o rilascio di antimicrobici) e l'uso in cementi resinosi. L'ultima parte tratta la somministrazione localizzata di farmaci basata sull'utilizzo di nanotubi di TiO_2 . Dopo una panoramica sui limiti delle terapie tradizionali (scarsa specificità, dosaggi elevati, effetti collaterali sistemici, difficoltà a raggiungere il sito d'interesse), si illustra come i nanotubi, caricati con farmaci e rilasciandoli in modo controllato, superino queste limitazioni. Si descrivono strategie di rilascio: modulazione delle dimensioni, incorporazione di molecole fotosensibili, variazione di temperatura o pH, applicazione di radiofrequenza per rilascio su richiesta.

In conclusione, la tesi evidenzia il potenziale dei nanotubi di TiO_2 per impianti dentali di nuova generazione (migliore osteointegrazione, proprietà antibatteriche) e sistemi avanzati di somministrazione di farmaci (rilascio mirato, maggiore efficacia, minori effetti collaterali). Si delineano le prospettive future, sottolineando l'importanza di ulteriori studi per ottimizzare sintesi, funzionalizzazione e valutare sicurezza ed efficacia in vivo.

2 Introduzione

2.1 I nanotubi di TiO_2 : struttura, proprietà e vantaggi

La nanotecnologia è un campo multidisciplinare della scienza e dell'ingegneria che si occupa della progettazione, manipolazione e applicazione di materiali e dispositivi su scala nanometrica, tipicamente nell'ordine dei 1-100 nm. A questa scala, i materiali mostrano proprietà fisiche, chimiche e biologiche uniche, spesso molto diverse rispetto alla loro controparte macroscopica. I nanomateriali hanno avuto un impatto significativo in diversi settori, tra cui elettronica, medicina, energia, ambiente e scienza dei materiali, grazie alla capacità di manipolare e progettare la materia su scala atomica e molecolare. Questo ha consentito di ottenere materiali più resistenti, efficienti e con performance ottimizzate.

L'impatto più significativo delle nanotecnologie si è avuto nel settore dell'elettronica, trovando applicazione in numerosi dispositivi di consumo. Un esempio emblematico è rappresentato dagli schermi QLED (Quantum Dot LED), ormai ampiamente utilizzati in TV, monitor e smartphone di fascia alta. Questa tecnologia si basa sull'uso di *quantum dot* fotoluminescenti, nanoparticelle di dimensioni comprese tra 1 e 2 nm, che consentono di migliorare la resa cromatica e l'efficienza energetica degli schermi. Rispetto ai tradizionali schermi LCD, i QLED offrono colori più vividi, una luminosità superiore e un consumo energetico ridotto, garantendo un'esperienza visiva più avanzata e prestazioni ottimali. Nell'ambito medico, le nanotecnologie sono state ampiamente utilizzate specialmente nell'ambito del *drug delivery* (rilascio di farmaci). In tal caso i farmaci vengono incapsulati all'interno delle nanoparticelle e rilasciati in maniera mirata nel sito corporeo da trattare. Questo consente un trattamento localizzato che riduce gli effetti collaterali sistemici. Altri esempi, riguardano l'uso di biosensori che permettono la rilevazione precoce di malattie, come il diabete o il cancro, attraverso l'analisi del sangue o delle urine[1].

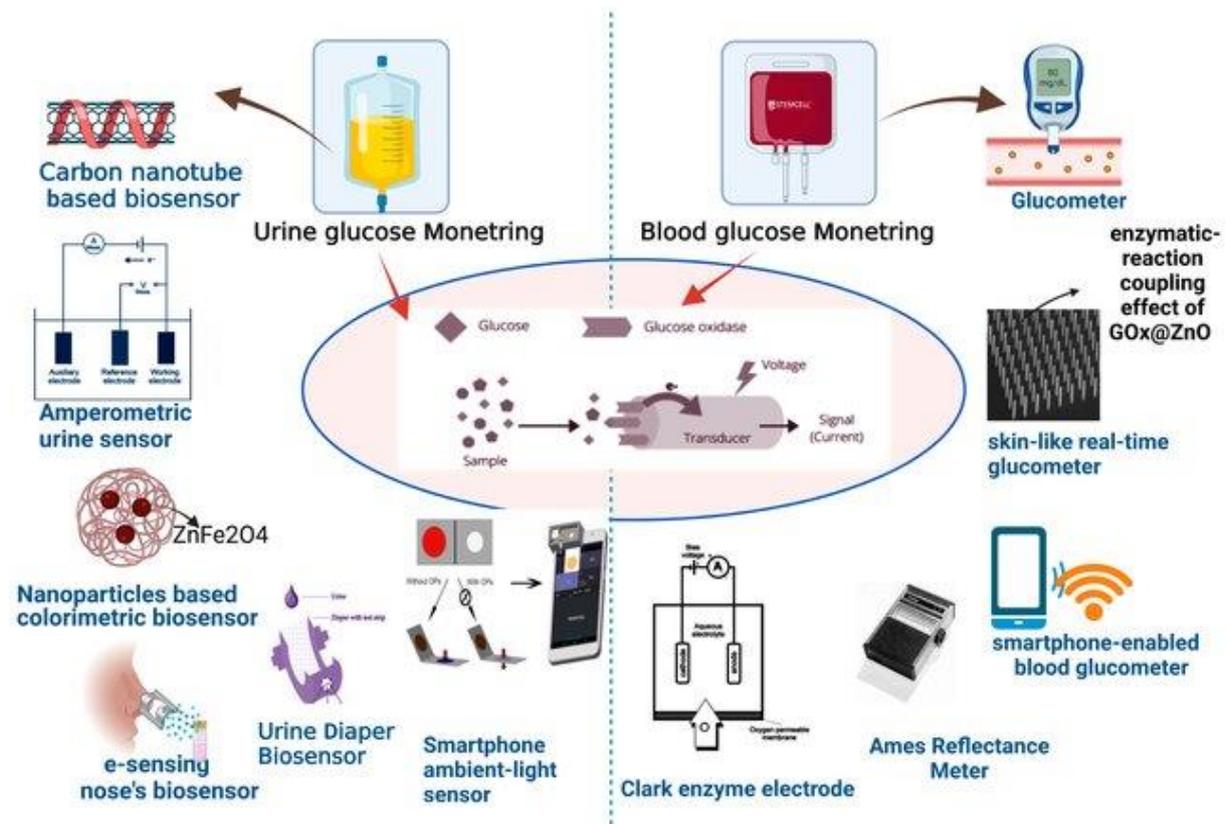


Figura 2.1: Campi di applicazione delle nanotecnologie [1]

I nanorobot magnetici sono un altro esempio. Questi possono navigare nel corpo umano per somministrare farmaci in modo ultra-localizzato o rimuovere cellule tumorali. Un altro uso interessante riguarda gli impianti ortopedici rivestiti con nanoparticelle che favoriscono la crescita ossea e riducono il rischio di infezioni. La scelta dei materiali impiegati per le nanotecnologie è un aspetto importante da considerare poiché le loro proprietà chimico-fisiche hanno impatto sulle prestazioni e sulle possibili applicazioni [2].

Generalmente, i nanomateriali possono essere costituiti da metalli, semiconduttori, polimeri o ceramiche, ognuno con caratteristiche specifiche che ne determinano l'utilizzo in settori come la biomedicina, l'elettronica e l'energia.

Tra questi, una classe di materiali di particolare interesse è rappresentata dagli ossidi di metalli di transizione, che offrono un'ampia versatilità grazie alle loro proprietà elettroniche e per l'elevata stabilità chimica e termica. In particolare, il biossido di titanio (TiO_2), l'ossido di zinco (ZnO), il triossido di tungsteno (WO_3), l'ossido ferrico (Fe_2O_3) e gli ossidi di rame/cuprico ($\text{CuO}/\text{Cu}_2\text{O}$) sono stati ampiamente studiati per svariate applicazioni, dalla depurazione ambientale alla sensoristica avanzata e ai dispositivi fotovoltaici.

Tra tutti gli ossidi di metalli di transizione, il TiO_2 è senza dubbio il materiale più investigato nell'ambito biomedicale grazie alle sue proprietà funzionali come biocompatibilità, stabilità chimica, proprietà fotocatalitiche e capacità di trasferimento di carica ottimizzate.

Biossido di titanio (TiO_2)

Il biossido di titanio è uno dei composti più importanti del titanio e dell'ossigeno ed è un materiale estremamente versatile, adatto a numerose applicazioni tecnologiche. TiO_2 esiste in tre diverse forme cristalline: rutilo, anatasio e brookite, rispettivamente mostrati in Figura 2.2a, 2.2b e 2.2c. Tutte e tre le strutture cristalline sono costituite da ottaedri distorti, ognuno dei quali rappresenta un'unità TiO_6 , in cui ogni ione Ti^{4+} si trova al centro dell'ottaedro ed è coordinato a sei ioni O^{2-} . Tuttavia, il modo in cui questi ottaedri si assemblano per formare catene basate su TiO_6 è diverso e caratteristico per ciascun polimorfo [3].

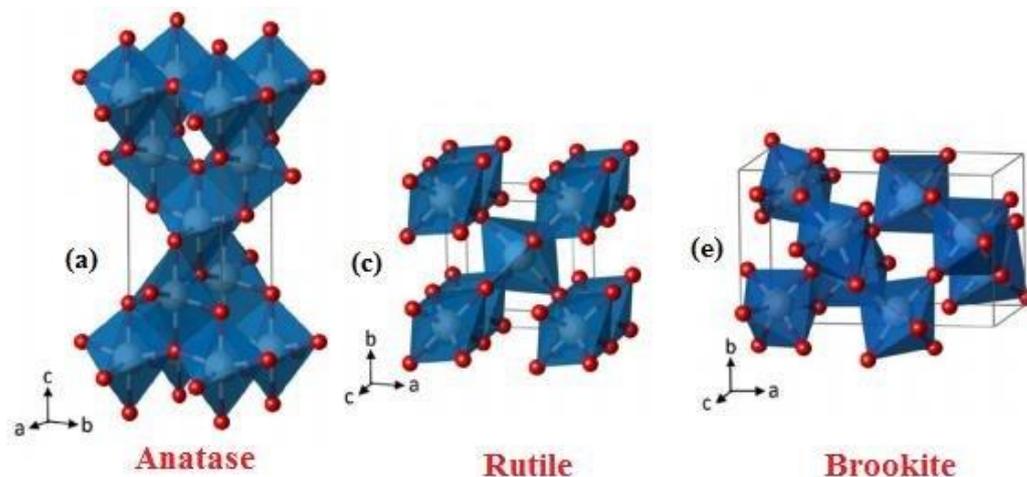


Figura 2.2: Differenti forme cristalline polimorfe del TiO_2 rutilo (a), anatasio (b) e brookite (c) [3].

- Rutile è la forma naturale più comune del biossido di titanio ed è anche il polimorfo più studiato e conosciuto.
- Anatasio, meno abbondante rispetto al rutilo, è di particolare interesse per il suo ruolo chiave nell'iniezione e trasporto degli elettroni.
- Brookite è il meno comune e meno studiato tra i tre polimorfi, ma presenta proprietà uniche che lo rendono interessante per applicazioni specifiche. La brookite, in

particolare sotto forma di nanoparticelle, mostra un'interessante attività fotocatalitica. Questa proprietà può essere sfruttata per la degradazione di inquinanti organici, la purificazione dell'aria e dell'acqua.

In Tabella 2.1 sono riportate alcune delle principali proprietà dei tre polimorfi predominanti del TiO_2 . Rutilo e anatasio hanno una struttura cristallina tetragonale, mentre brookite presenta una simmetria ortorombica.

- Rutilo è la fase più densa e possiede il più alto indice di rifrazione.
- Anatasio è caratterizzato dal band-gap più ampio (~ 3.2 eV), che lo rende ideale per applicazioni in fotocatalisi e celle solari.
- Brookite ha proprietà intermedie tra rutilo e anatasio in termini di densità, band-gap e indice di rifrazione.

Tabella 2.1. *Differenti polimorfi del TiO_2 e alcune delle loro proprietà fisiche.*

Sistema cristallino	Densità (g/cm^3)	Band-gap ottico	Indice di rifrazione
Rutilo	4.13-4.26	3.0	2.72
Anatasio	3.79-3.84	3.19	2.52
Brookite	3.99-4.11	3.11	2.63

Grazie alle sue caratteristiche fotocatalitiche, elettroniche e strutturali, il TiO_2 è un materiale strategico in settori come fotocatalisi, elettronica, sensoristica e accumulo energetico. È ampiamente utilizzato come pigmento, essendo il pigmento bianco più comune nelle vernici e, fino al 2022, è stato impiegato anche come colorante alimentare (E171) in prodotti come gomme da masticare, caramelle e sughi pronti. Tuttavia, dal 2022 il suo uso negli alimenti è stato vietato dall'Unione Europea, in quanto studi scientifici hanno evidenziato che l'accumulo prolungato di TiO_2 nell'organismo può provocare danni al DNA.

Inoltre, il TiO_2 è ampiamente utilizzato in ambito biomedicale, in particolare negli impianti ortopedici e dentali, grazie alla sua biocompatibilità. Questa proprietà è garantita dalla formazione di una superficie passivata di TiO_2 sulla superficie del titanio metallico. Questo strato protettivo viene modificato dalla presenza di ioni calcio e fosfato contenuti nell'ambiente biologico, favorendo così l'integrazione con il tessuto osseo naturale e migliorando l'osteointegrazione degli impianti. Oltre agli impianti, il TiO_2 trova applicazione anche nella formulazione di alcuni farmaci, dove viene impiegato come agente opacizzante e stabilizzante, migliorando la protezione dei principi attivi dalla degradazione foto-indotta. Dal punto di vista elettronico, il TiO_2 è un semiconduttore di tipo n (con un eccesso di elettroni come portatori di carica), con un ampio band-gap che varia leggermente a seconda della fase cristallina. Grazie alla sua foto-stabilità, il TiO_2 è stato impiegato con successo in numerose applicazioni, tra cui:

- Fotocatalisi ambientale: Degradazione di inquinanti e purificazione dell'acqua.
- Foto-scissione dell'acqua: Produzione di idrogeno tramite processi fotoelettrochimici.
- Dispositivi fotovoltaici: In particolare nelle celle solari a colorante sensibilizzato (DSSC).

Per lo stesso motivo, il TiO_2 è ampiamente impiegato anche nei prodotti cosmetici per la protezione solare, poiché assorbe la radiazione UV, riducendo i processi di degradazione foto-indotta nei materiali sensibili alla luce. Infine, il biossido di titanio è un materiale chiave nei

sensori di gas, grazie alla capacità della sua superficie di modificare le proprietà elettriche o ottiche in presenza di specifiche molecole, rendendolo utile per il monitoraggio ambientale e la sicurezza industriale.

Il biossido di titanio è stato impiegato nella sintesi di diverse nanostrutture di TiO_2 , tra cui **nanofili**, **nanoparticelle**, **nanorods**, **nanolamelle**, **nanotubi** e **microsfere**, ognuna caratterizzata da proprietà distintive e applicazioni specifiche. La Figura 2.3 illustra le principali morfologie delle nanostrutture di TiO_2 , evidenziandone le differenze strutturali.

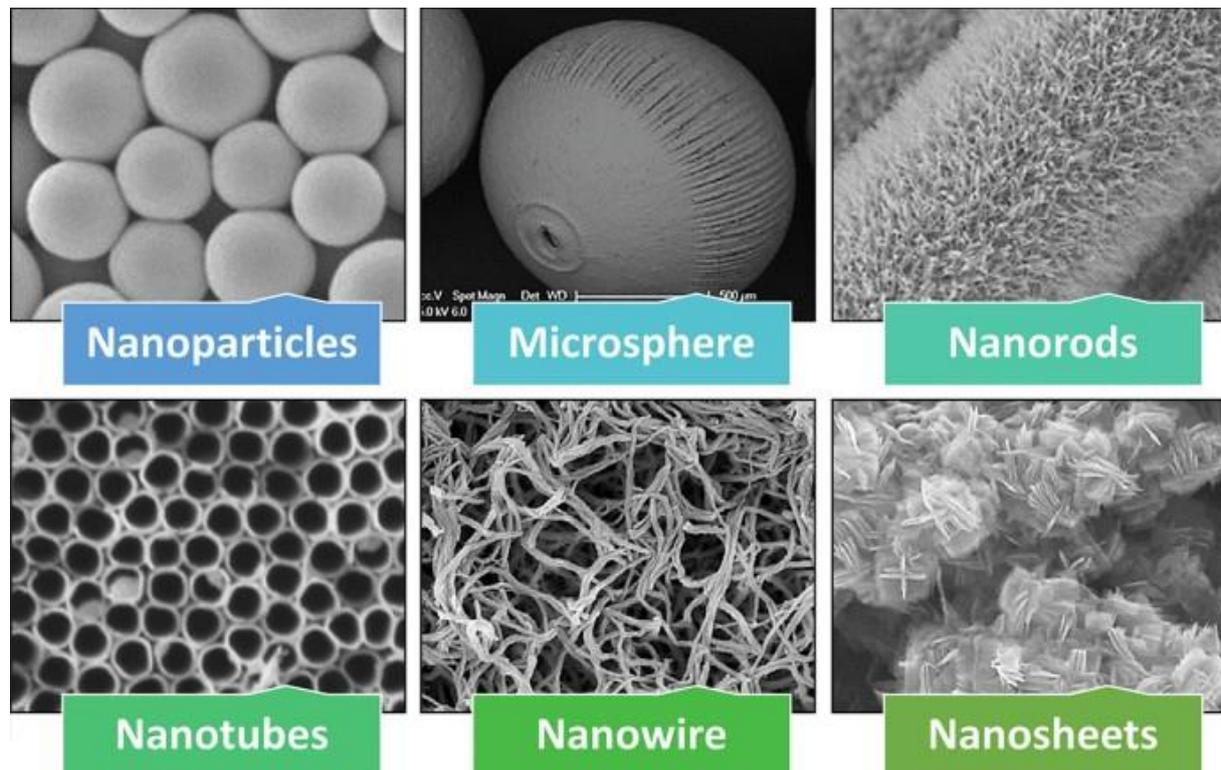


Figura 2.3: *Differenti forme di nanostrutture di TiO_2 . [1]*

Negli ultimi anni, oltre alle nanoparticelle, le strutture nano-tubolari hanno attirato un crescente interesse nella ricerca scientifica grazie alla loro elevata area superficiale specifica, che favorisce il miglioramento delle interazioni chimico-fisiche, il trasferimento di carica ottimizzato e una maggiore stabilità strutturale. Queste caratteristiche rendono i nanotubi materiali estremamente promettenti per una vasta gamma di applicazioni avanzate.

2.2 *Metodi di sintesi dei nanotubi di TiO_2*

Tra le diverse tipologie di nanotubi, quelli a base di biossido di titanio (TiO_2) si distinguono per le loro eccellenti proprietà ottiche, elettroniche e chimiche. Grazie a queste proprietà, trovano applicazione in svariati settori, tra cui biomedicina, depurazione ambientale, produzione di energia e tecnologie avanzate, offrendo soluzioni innovative per dispositivi ad alte prestazioni.

I nanotubi di TiO_2 possono essere autoportanti o cresciuti su substrati metallici, a seconda del metodo di sintesi utilizzato. Sono generalmente organizzati in array ordinati e possono avere diametri che vanno da pochi nanometri fino a centinaia di nanometri, con lunghezze che possono raggiungere diversi micrometri. Oltre all'elevata area superficiale che favorisce le

interazioni con biomolecole, i nanotubi sono altamente biocompatibili con un'ottima stabilità strutturale che li rende adatti per l'uso in impianti ortopedici e dispositivi per la rigenerazione tissutale, nonché come sistemi per il rilascio di farmaci.

Esistono diverse tecniche di sintesi di nanotubi, ognuna di esse presenta specifici vantaggi e limitazioni, rendendo fondamentale una comprensione approfondita dei fattori che influenzano il risultato per ottenere nanotubi di TiO_2 con le caratteristiche desiderate. Inoltre, la scelta dei metodi di sintesi non dipende solo dalle proprietà finali richieste, ma anche dall'applicazione specifica dei nanotubi. Ad esempio, per applicazioni fotocatalitiche si preferiscono nanotubi con una grande area superficiale e un'elevata purezza cristallina, mentre per l'uso in biomedicina è essenziale garantire biocompatibilità e stabilità chimica.

I primi studi sui nanotubi di TiO_2 risalgono al 1996, quando Hoyer ne riportò la sintesi utilizzando un metodo con assistenza di modello (in inglese *template-assisted method*) [4]. Da allora, sono state sviluppate numerose tecniche di fabbricazione, tra cui, il processo sol-gel nel 1998 e il metodo idrotermale nel 1999 i quali consentono di ottenere strutture con caratteristiche ottimizzate per specifiche applicazioni. L'evoluzione più significativa è avvenuta nel 2001, grazie agli studi di Zwilling et al., con l'introduzione del metodo dell'anodizzazione elettrochimica, che ad oggi rappresenta la tecnica più utilizzata per la sintesi dei nanotubi di TiO_2 , grazie alla sua elevata riproducibilità e al maggiore controllo sulla morfologia delle strutture ottenute [5]. L'evoluzione nel tempo dei metodi di sintesi dei nanotubi è riportata in Figura 2.4.



Figura 2.4. Evoluzione nel tempo del processo di sintesi di nanotubi di TiO_2

Dal 2001 numerosi studi si sono concentrati sull'ottimizzazione delle condizioni sperimentali al fine di ottenere nanotubi di TiO_2 di alta qualità, caratterizzati da superfici lisce, elevato rapporto di aspetto, ordine strutturale avanzato ottenuto tramite anodizzazione multistep, morfologie affusolate o coniche, nanotubi autoportanti e aperti alle estremità, fino a strutture trasparenti.

2.2.1 Template-assisted method

La sintesi assistita da modello è un metodo semplice ed economico per la fabbricazione di nanotubi di TiO_2 . In generale, questo approccio si basa sull'uso di materiali porosi, solitamente allumina anodizzata (AAO), che fungono da stampo per la crescita dei nanotubi. Il processo prevede inizialmente la copertura della superficie del template con un sottile strato d'oro, seguita dal riempimento completo dei pori dell'allumina anodizzata trattata con polimetilmetacrilato (PMMA). Successivamente, il blocco polimerico viene separato dallo stampo di Al_2O_3 e utilizzato come secondo template per la crescita degli array di nanotubi di TiO_2 . Una volta depositato il TiO_2 , il secondo template viene rimosso, lasciando i nanotubi di TiO_2 formati. La dimensione (diametro e lunghezza) dei nanotubi di TiO_2 sintetizzati

attraverso il metodo assistito da template può essere facilmente controllata in base alla dimensione del template stesso [6]. Generalmente, i nanotubi ottenuti con questa tecnica vengono rilasciati dopo la rimozione selettiva del template, che può avvenire mediante attacco chimico selettivo o decomposizione termica [7]. La Figura 2.5 riporta lo schema del processo di sintesi di nanotubi di TiO_2 assistita da modello [8].

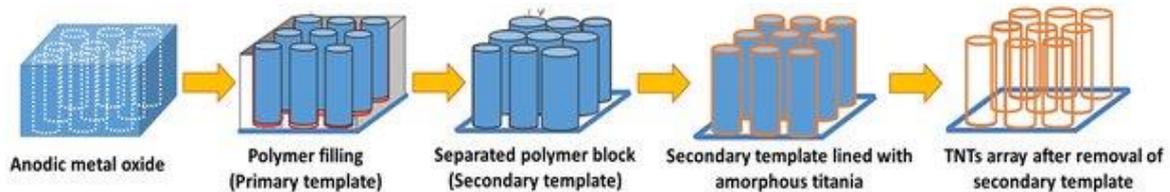


Figura 2.5: Sintesi di nanotubi in TiO_2 mediante sintesi assistita da template [8]

I template utilizzati possono essere classificati in due tipologie principali:

- **Template positivo:** il materiale ossido viene depositato sulla superficie esterna del modello
- **Template negativo:** il materiale ossido viene depositato all'interno dei canali del modello, formando una struttura cava dopo la rimozione del supporto

In Figura 2.6 sono riportate le immagini delle diverse tipologie di template, template positivo in Figura 2.6 a e template negativo in Figura 2.6b [9].

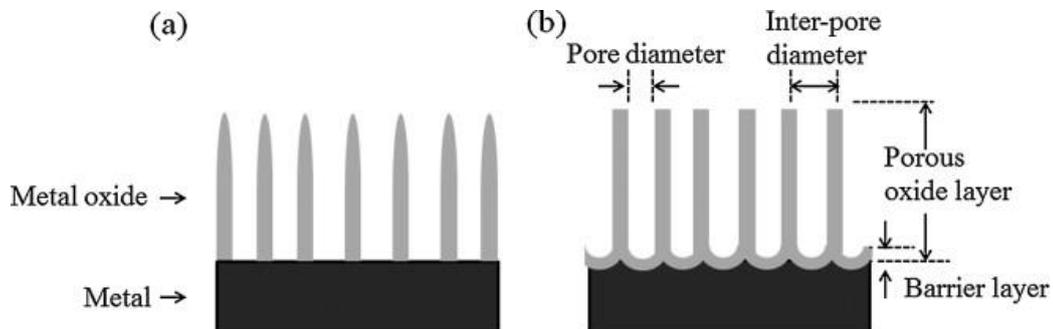


Figura 2.6: Illustrazione dei due diversi tipi di template rigidi: (a) template positivo e (b) template negativo [10]

Oltre ai template rigidi come allumina anodizzata, sono stati studiati diversi template morbidi, tra cui:

- Core-shell-corona a base di polimeri cilindrici,
- Copolimeri a blocchi autoassemblati,
- Strutture biologiche con architetture gerarchiche.

Altri template alternativi includono le nanostrutture di ossido di zinco (ZnO), che offrono un basso costo e una facile fabbricazione [11]. Lo ZnO , grazie alla sua natura anfotera, può essere rimosso facilmente in soluzioni acide o basiche. Altri studi [12] hanno dimostrato che è possibile produrre nanotubi di TiO_2 senza utilizzare mezzi chimici aggressivi per dissolvere il modello di ZnO : la sua rimozione avviene infatti per reazione con ioni idrogeno durante il processo di deposizione in fase liquida. Tuttavia, questa tecnica può portare a contaminazioni

del campione dovute alla precipitazione dei prodotti di reazione. Qiu et al. [13] hanno realizzato array tridimensionali (3D) di nanotubi di TiO_2 ramificati su substrati conduttivi trasparenti, utilizzando nanocilindri e distanziatori di ZnO come modello. Tuttavia, la rimozione del template ZnO mediante attacco chimico selettivo in soluzione acquosa di TiCl_4 ha mostrato il rischio di collasso strutturale dei nanotubi. Un'alternativa promettente è rappresentata dai nanotubi di carbonio (in inglese 'Carbon Nano-Tubes, CNTs), considerati template ideali per la sintesi di nanotubi di TiO_2 , grazie alla loro facile rimozione, piccolo diametro e capacità di supportare la morfologia tubolare [14]. In questo caso, il TiO_2 viene depositato sui CNTs, e successivamente un trattamento di sinterizzazione a temperatura controllata permette la pirolisi del template carbonioso, ottenendo nanotubi di TiO_2 con elevata cristallinità [14]

Un vantaggio chiave della sintesi con template positivo è che il diametro interno e la lunghezza dei nanotubi risultanti sono definiti dalle dimensioni del template originale, mentre il diametro esterno è determinato dallo spessore del materiale depositato. Tuttavia, una delle principali limitazioni è la difficoltà di ottenere nanotubi uniformi in lunghezza e con estremità aperte, motivo per cui l'interesse si è progressivamente spostato verso i template negativi. Le membrane di allumina anodizzata, ottenute tramite ossidazione elettrochimica dell'alluminio in soluzioni acide, sono tra i template negativi più utilizzati. Sebbene il metodo assistito da template rappresenti una strategia efficace per la sintesi controllata di nanotubi di TiO_2 , esso presenta alcune limitazioni che ne possono influenzare l'applicabilità su larga scala.

Uno dei principali svantaggi riguarda le dimensioni ridotte dei nanotubi, determinate dalle restrizioni imposte dai pori del template. Questo fattore limita la possibilità di ottenere strutture con parametri personalizzati, riducendo la flessibilità del processo. Inoltre, la sintesi mediante template è un processo complesso, che richiede più fasi di lavorazione, tra cui la preparazione del template, la deposizione del materiale e la successiva rimozione del supporto. Questi passaggi aggiuntivi aumentano i tempi di produzione, rendendo il metodo meno adatto a una produzione su larga scala.

Un altro aspetto critico è la possibilità di collasso strutturale o contaminazione durante la rimozione del template rigido, che avviene generalmente attraverso attacco chimico in soluzioni acide o alcaline. Questo fenomeno può compromettere l'integrità dei nanotubi, riducendone le prestazioni e la qualità finale del materiale sintetizzato.

Nonostante queste limitazioni, il metodo assistito da template continua a essere una tecnica promettente, in quanto consente di ottenere nanotubi di TiO_2 con geometrie ben definite e proprietà specifiche, rendendolo particolarmente adatto per applicazioni avanzate in ambiti come la fotocatalisi, la sensoristica e la medicina.

2.2.2 Metodo sol-gel

Il metodo sol-gel è un metodo largamente impiegato per la produzione di materiali a base di TiO_2 con elevata purezza ed omogeneità. Questo processo si basa sull'idrolisi e condensazione di un precursore di titanio per formare un sol, che successivamente si trasforma in un gel. In seguito, il solvente viene fatto evaporare, ottenendo un xerogel, il quale viene ulteriormente sottoposto a macinazione e trattamento termico per produrre TiO_2 altamente cristallino [15].

Nel dettaglio la preparazione di nanotubi mediante metodo sol-gel prevede diversi step. In primo luogo, un precursore di titanio (es. titanio isopropossido – $\text{Ti}(\text{OC}_3\text{H}_7)_4$) viene disciolto in un solvente organico. In seguito, si aggiungono acqua e catalizzatori (acidi o basi) per avviare la reazione di idrolisi. La fase successiva è quella di idrolisi e condensazione in cui il precursore reagisce con l'acqua formando gruppi Ti-OH , che successivamente condensano in

strutture reticolari di TiO_2 . Si forma così una sospensione colloidale (sol), che con il tempo si addensa in un gel tridimensionale. Il gel viene poi sottoposto a un processo di essiccazione lenta, che ne riduce il volume e ne aumenta la densità. Il gel essiccato (xerogel) viene sottoposto a calcificazione a temperature comprese tra 300-700 °C, favorendo la cristallizzazione della fase anatasio di TiO_2 . In Figura 2.7 è riportato lo schema del processo di sintesi di nanotubi di TiO_2 mediante metodo sol-gel combinato con metodo assistito da template [15].

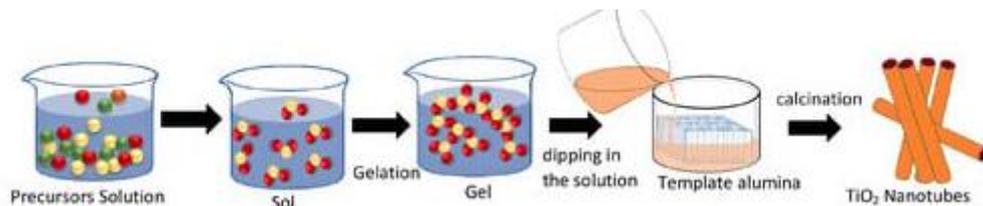


Figura 2.7: Metodo sol-gel per la produzione di nanotubi di TiO_2

Per ottenere nanotubi di TiO_2 altamente ordinati, il metodo sol-gel viene spesso combinato con altri processi, come il metodo idrotermale o quello assistito da template. L'integrazione del metodo sol-gel con altre tecniche ha dimostrato di essere una strategia efficace per la produzione di nanotubi di TiO_2 con un alto grado di ordine e funzionalità, rendendoli idonei per numerose applicazioni avanzate.

Nel caso del metodo idrotermale, il sol viene trasferito in autoclave e sottoposto a trattamenti idrotermali a temperature moderate (circa 100-150 °C), questo consente di ottenere nanotubi ben cristallizzati e uniformi senza necessità di trattamenti termici a elevate temperature. Ad esempio, Pang et al. [16] hanno sintetizzato con successo nanotubi di TiO_2 utilizzando il metodo sol-gel in combinazione con il processo idrotermale, con l'obiettivo di degradare la Rodamina B in soluzione acquosa. In modo simile, Liu et al. hanno sfruttato nanorods di ZnO come template per la crescita di array di nanotubi di TiO_2 attraverso il processo sol-gel.

I nanotubi di TiO_2 sintetizzati con il metodo sol-gel presentano caratteristiche distintive che li rendono particolarmente adatti a diverse applicazioni. Grazie alla loro struttura altamente porosa, questi nanotubi risultano ideali per la fotocatalisi e la sensoristica, mentre il diametro, variabile tra 50 e 200 nm, può essere modulato in base al template utilizzato o al processo idrotermale impiegato. Anche la lunghezza, che può variare tra 1 e 10 μm , è regolabile attraverso la temperatura di sintesi, permettendo l'ottimizzazione della morfologia per specifiche applicazioni. Inoltre, il metodo sol-gel garantisce un'elevata purezza chimica, grazie all'uso di precursori altamente controllati, e consente di modificare la cristallinità del materiale attraverso opportuni trattamenti termici, ottenendo fasi come anatasio, rutilo o brookite.

Inoltre, il metodo consente di modificare la struttura dei nanotubi, ad esempio attraverso l'uso di dopanti o materiali ibridi, migliorando così le loro prestazioni in ambiti come la fotocatalisi o l'elettronica. Un ulteriore vantaggio è la facile scalabilità del processo, che permette l'integrazione dei nanotubi in film sottili o matrici porose, rendendoli compatibili con applicazioni su larga scala.

Tuttavia, il metodo sol-gel presenta anche alcune limitazioni. Per ottenere nanotubi ben definiti è spesso necessario l'uso di modelli o template, il che può complicare il processo di sintesi. Inoltre, il metodo richiede tempi di essiccazione e trattamento termico prolungati, rallentando la produzione rispetto ad altre tecniche più rapide. Un'altra criticità riguarda la

possibile formazione di nanoparticelle anziché nanotubi, nel caso in cui le condizioni di reazione non siano perfettamente ottimizzate, influenzando negativamente l'efficacia del processo.

Nonostante queste limitazioni, i nanotubi di TiO_2 sintetizzati tramite sol-gel trovano applicazione in numerosi settori tecnologici. In fotocatalisi ambientale, vengono utilizzati per la degradazione di inquinanti e la purificazione dell'acqua, sfruttando le proprietà catalitiche del TiO_2 per la rimozione di sostanze nocive. Nel settore delle celle solari dye-sensitized (DSSC), i nanotubi fungono da materiali per elettrodi ad alta efficienza, migliorando l'assorbimento della luce e la separazione delle cariche. In sensoristica, trovano impiego nei sensori di gas e biosensori, contribuendo al rilevamento di biomolecole e alla diagnostica avanzata. Un altro settore di grande interesse è quello delle batterie agli ioni di litio, in cui i nanotubi di TiO_2 sono studiati come materiali di anodo, migliorando la capacità di stoccaggio energetico e la stabilità dei cicli di carica-scarica.

2.2.3 Metodo idrotermale

Il metodo idrotermale è un metodo di sintesi di nanotubi di TiO_2 noto per la sua semplicità e poiché consente di ottenere nanotubi con un elevato grado di cristallinità. Inoltre, è un processo a basso costo di fabbricazione e a basso impatto ambientale nonostante l'impiego di alte temperature e pressioni durante il trattamento termico in autoclave. La sintesi di nanotubi di TiO_2 viene realizzata miscelando polvere di biossido di titanio con una soluzione alcalina, generalmente, una soluzione altamente concentrata di idrossido di sodio (NaOH , 10–11 M). La miscela viene quindi posta in un'autoclave in acciaio inossidabile rivestita in Teflon [ref] e mantenuta a temperature elevate (100–130 °C) per un tempo di 24 ore.

In Figura 2.8 è riportato uno schema del metodo idrotermale utilizzato da Gilani et al. per ottenere nanotubi decorati con quantum dot di rame[17]

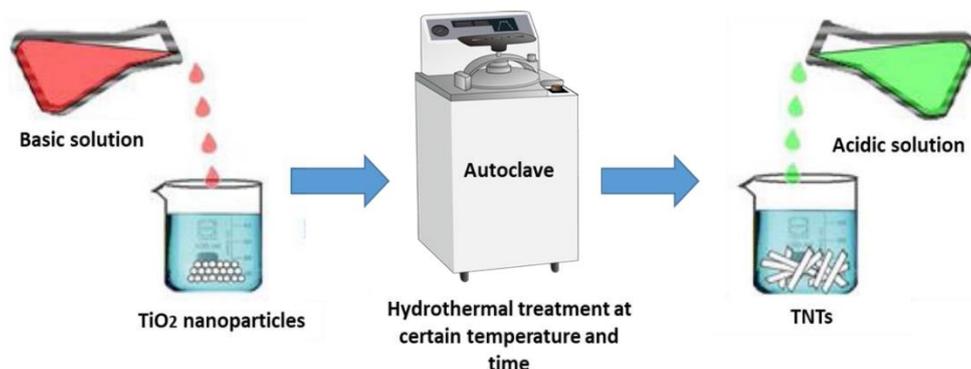


Figura 2.8 Step del processo di sintesi di nanotubi di TiO_2 mediante processo idrotermale.

Durante il processo, il TiO_2 reagisce con NaOH formando strutture lamellari che, successivamente, si arrotolano spontaneamente sotto l'effetto della tensione superficiale, dando origine a nanotubi di titanio idrato ($\text{H}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$). Un trattamento acido finale permette di ottenere nanotubi di TiO_2 puri.

Le caratteristiche morfologiche dei nanotubi di TiO_2 ottenuti con il metodo idrotermale variano in funzione dei parametri di processo, in particolare della temperatura e del tempo di reazione. Questi fattori influenzano non solo il diametro e la lunghezza dei nanotubi, ma anche la loro area superficiale specifica, la struttura cristallina e le proprietà fotocatalitiche. Ad esempio, modificando la temperatura di reazione, è possibile ottenere nanotubi con

dimensioni differenti. Xu et al. hanno osservato che a 110 °C per 20 ore si ottengono nanotubi con un diametro di 8–10 nm. Successivamente, migliorando i parametri sperimentali, sono stati sintetizzati nanotubi con diametri compresi tra 5 e 10 nm e lunghezze variabili tra 50 e 160 nm, mantenendo lo stesso tempo di reazione a 130 °C [18].

Anche altri studi hanno confermato l'influenza della temperatura sulla morfologia dei nanotubi. Dong et al. [24] hanno prodotto nanotubi con diametri esterni compresi tra 10 e 15 nm e una struttura stratificata multilivello. Inoltre, lo stesso autore ha ottenuto nanotubi uniformi e ben definiti con diametri esterni tra 6 e 13 nm e lunghezze di circa 400 nm [24].

L'effetto della temperatura idrotermale è stato ulteriormente analizzato da Lee et al. [24], i quali hanno evidenziato che, all'aumentare della temperatura fino a 150 °C, si verifica un incremento dell'area superficiale specifica, del volume totale dei pori e della dimensione dei mesopori, rispetto alla polvere di TiO₂ non trattata.

Uno studio condotto da Eslami et al. [19] ha inoltre dimostrato che è possibile ottimizzare il rapporto di aspetto dei nanotubi di TiO₂, raggiungendo un'area superficiale di 337 m²/g a una temperatura idrotermale di 150 °C, con diametri inferiori a 50 nm. Inoltre, i nanotubi sintetizzati con questo metodo si sono dimostrati termo-stabili fino a 600 °C, mantenendo la loro struttura anche dopo l'esposizione a temperature elevate. Questa caratteristica li rende particolarmente promettenti per applicazioni in ambito biomedico, poiché garantiscono un'elevata resistenza anche in condizioni ambientali estreme, risultando ideali per impianti a lungo termine e per dispositivi destinati al rilascio controllato di farmaci.

Riguardo al tempo di reazione, variando il tempo di sintesi idrotermale è possibile ottenere nanotubi con diametro e lunghezza variabili. I risultati mostrano che all'aumentare del tempo di reazione, i nanotubi sviluppano una struttura più definita, un maggiore rapporto di aspetto e un'area superficiale più estesa, migliorando così l'efficienza fotocatalitica nella riduzione della CO₂. In Figura 2.9 sono riportate le immagini del microscopio a trasmissione elettronica dei diversi nanotubi ottenuti al variare del tempo di reazione (24, 36, 54, 96 ore) [20].

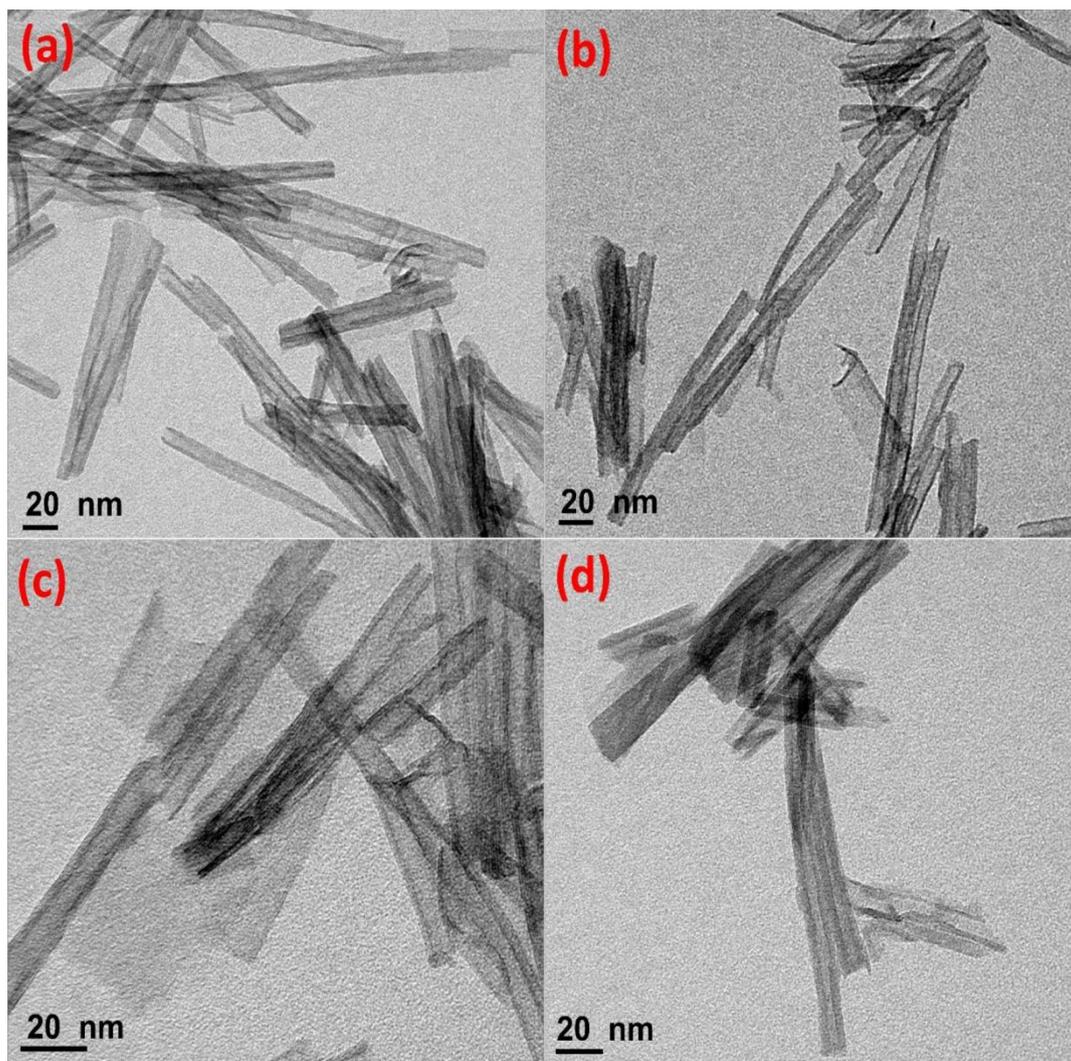


Figura 2.9: Immagini ottenute al microscopio a trasmissione elettronica (TEM) dei nanotubi di TiO_2 sintetizzati a $130\text{ }^\circ\text{C}$ per un tempo di reazione di: (a) 24 h, (b) 36 h, (c) 54 h e (d) 96 h [20].

3 Sintesi dei nanotubi di TiO₂ mediante anodizzazione

3.1 Evoluzione del processo di anodizzazione elettrochimica

Negli ultimi anni, l'anodizzazione è diventata il metodo più utilizzato per la sintesi di strati di nanotubi di TiO₂. L'anodizzazione è un processo elettrochimico in cui un substrato di titanio viene immerso in una soluzione elettrolitica e sottoposto a una differenza di potenziale. Il titanio funge da anodo, mentre un controelettrodo (tipicamente platino o grafite) funge da catodo. Applicando una tensione, il titanio si ossida formando uno strato di biossido di titanio sulla superficie dell'anodo [21]. In Figura 3.1 è riportato lo schema dell'anodizzazione elettrochimica con anodo in titanio e catodo in platino.

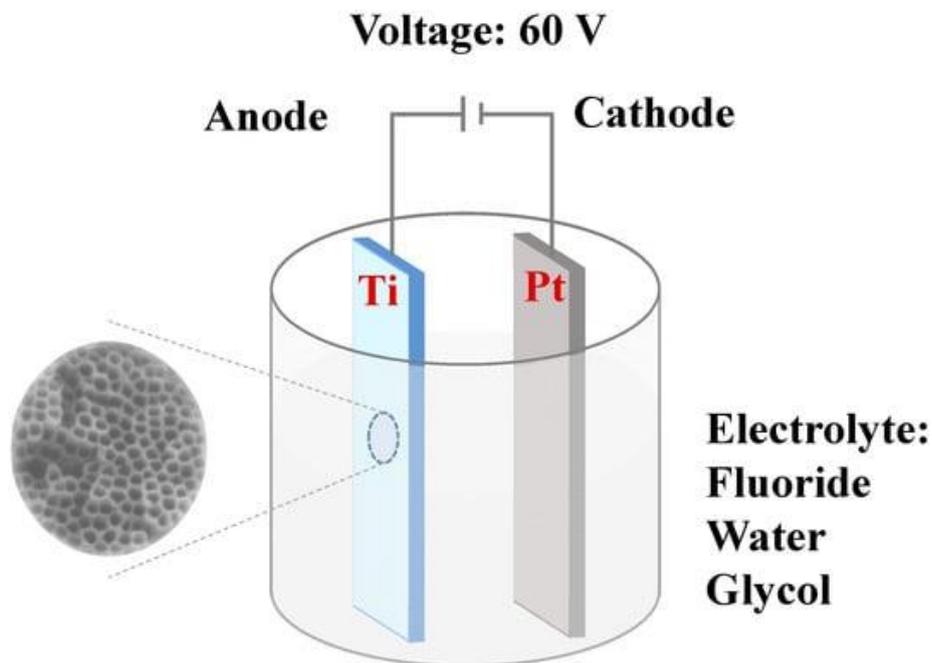


Figura 3.1: Schema del processo di sintesi dell'anodizzazione elettrochimica [22]

Durante il processo, la presenza di ioni fluoruro (F⁻) nell'elettrolita favorisce un meccanismo di dissoluzione chimica localizzata, che porta alla formazione di una struttura nanoporosa o nanotubolare. Il processo si sviluppa in due fasi principali, in primo luogo la formazione dello strato di TiO₂ sulla superficie del titanio per effetto dell'ossidazione anodica. Successivamente, la dissoluzione controllata dello strato di TiO₂ da parte degli ioni fluoruro, che creano pori e favoriscono la crescita di nanotubi allineati.

L'anodizzazione elettrochimica è stata praticata per quasi un secolo. Tuttavia, solo di recente è stato possibile fabbricare strati di nanotubi di ossido di titanio auto-organizzati. Il miglioramento delle condizioni di anodizzazione ha portato alla progressiva evoluzione dei nanotubi di TiO₂. L'evoluzione della sintesi dei nanotubi di TiO₂ auto-organizzati (NTAs) attraverso l'anodizzazione elettrochimica può essere suddivisa in **cinque generazioni**, ciascuna caratterizzata da miglioramenti significativi in termini di lunghezza, morfologia e qualità strutturale.

La prima generazione di nanotubi, ottenuta utilizzando elettroliti acquosi a base di HF, era caratterizzata da nanotubi molto corti (< 500 nm). L'elevata dissoluzione chimica del TiO₂ in presenza di HF limitava la crescita dei nanotubi, impedendo il raggiungimento di lunghezze maggiori e riducendo il loro potenziale per applicazioni avanzate.

Per superare questa limitazione, è stata introdotta la **seconda generazione di nanotubi**, ottenuta in elettroliti neutri contenenti fluoruri, come $\text{Na}_2\text{SO}_4/\text{NaF}$ o $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4/\text{NH}_4\text{F}$. Questo approccio ha permesso di ottenere nanotubi più lunghi (alcuni micrometri), tuttavia la loro superficie esterna risultava molto rugosa, caratterizzata da anelli o increspature sulle pareti dovute alle oscillazioni della corrente durante il processo di anodizzazione.

Successivamente, la **terza generazione** ha introdotto l'uso di elettroliti organici contenenti fluoruro, come formammide, dimetilsolfossido (DMSO), etilenglicole e dietilenglicole, permettendo la crescita di nanotubi più lisci e ultra-lunghi, fino a centinaia di micrometri. Questo progresso ha migliorato notevolmente la qualità strutturale e l'ordine dei nanotubi, rendendoli più adatti a diverse applicazioni avanzate.

Un ulteriore passo avanti è stato compiuto con la **quarta generazione**, in cui si è tentato di sintetizzare TiO_2 NTAs utilizzando elettroliti privi di fluoro, come quelli contenenti HClO_4 . Questi nanotubi sono considerati materiali di quarta generazione, con caratteristiche ancora in fase di ottimizzazione, ma che rappresentano un'alternativa interessante per evitare l'uso di fluoruri nei processi di sintesi.

Infine, la **quinta generazione** di nanotubi è stata sviluppata grazie a un approccio multistep, che ha permesso di ottenere array ordinati di nanotubi a impacchettamento esagonale. Macak et al. [23] hanno migliorato significativamente l'ordine strutturale dei nanotubi, ottimizzando il processo di anodizzazione per ottenere strutture altamente uniformi e migliorare le prestazioni dei materiali in applicazioni fotocatalitiche, elettroniche e biomedicali. Le immagini al microscopio a scansione elettronica (SEM), di ciascuna generazione di nanotubi, sono riportate in Figura 3.2.

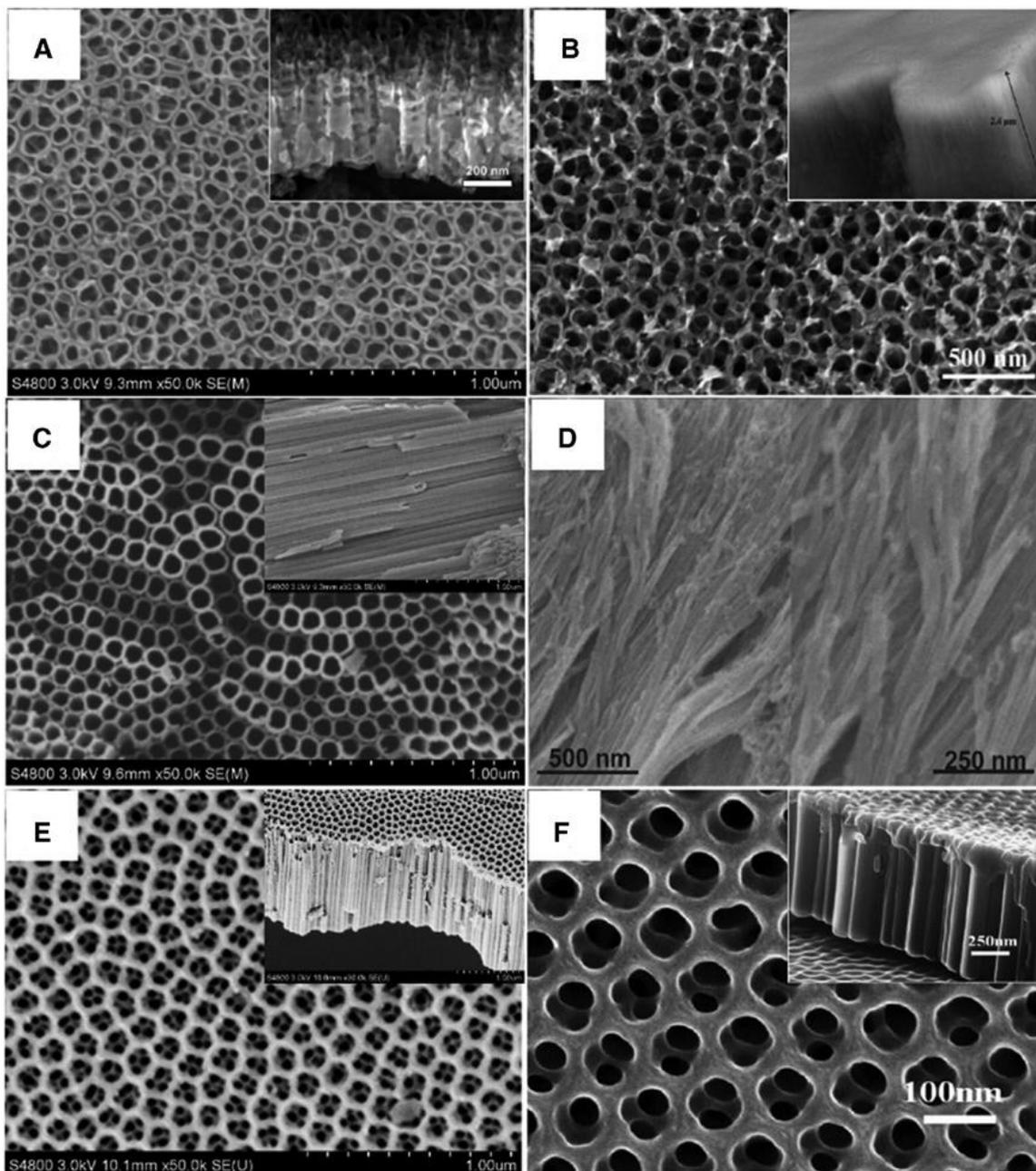


Figura 3.2: Immagini SEM della prima generazione di nanotubi sintetizzati in elettrolita a base di HF (A), della seconda generazione in elettrolita $\text{Na}_2\text{SO}_4/\text{NaF}$ (B), della terza generazione in elettroliti a base di etilenglicole/fluoruro contenenti una piccola quantità d'acqua (C), della quarta generazione in elettrolita privo di fluoruro (F-free) (D), della quinta generazione con anodizzazione in due fasi in etilenglicole/fluoruro con una piccola quantità d'acqua (E) e della quinta generazione con anodizzazione in tre fasi in etilenglicole/fluoruro con una piccola quantità d'acqua (F).

In Tabella 3.1 sono riportate le differenti generazioni di nanotubi di TiO_2 con le relative caratteristiche morfologiche utilizzando diverse tipologie di elettroliti.

Tabella 3.1. Diverse generazioni di sintesi dei nanotubi di TiO_2 utilizzando differenti elettroliti.

TiO ₂ nanotubi	Elettrolita	Morfologia	Reference
Prima generazione	Acido fluoridrico 0.5% wt	Nanotubi corti: Lunghezza: 200–500 nm Diametro: 10–100 nm	[24]

		Spessore parete: 13–27 nm	
Seconda generazione	1M Na ₂ SO ₄ /(NH ₄) ₂ SO ₄ + 0.5 wt% NH ₄ F	Nanotubi con pareti ruvide: Lunghezza: 0.5–2.4 μm Diametro: 10–100 nm Spessore parete: 12 nm	[25], [26]
Terza generazione	0.5 wt% NH ₄ F + 2 v% H ₂ O in etilenglicole	Nanotubi lisci e ultra-lunghi Lunghezza: 5–1000 μm Diametro: 100 nm Spessore parete: 12 nm	[27]
Quarta generazione	0.01–3 M HClO ₄	Nanotubi disordinati Lunghezza: 30 μm Diametro: 20–40 nm Spessore parete: 10 nm	[28]
Quinta generazione	0.5 wt% NH ₄ F+2 v% H ₂ O in etilenglicole	Nanotubi lisci ed esagonali: Lunghezza: 2–10 μm Diametro: 100 nm Spessore parete: 15–20 nm	[29], [30]

3.2 Principi e meccanismi del processo di anodizzazione

Il meccanismo di crescita dei nanotubi di TiO₂ auto-allineati (NTAs) si basa sul raggiungimento di un equilibrio tra l'ossidazione elettrochimica assistita dal campo elettrico e la dissoluzione dello strato di TiO₂. Come illustrato in Figura 3.3a, quando un substrato di Ti viene esposto a una tensione anodica sufficientemente elevata in un elettrolita, si forma uno strato compatto di ossido sulla superficie del titanio attraverso l'interazione tra Ti e O²⁻ o OH⁻ (forniti dall'acqua), secondo le seguenti reazioni:



Simultaneamente, si verifica l'evoluzione dell'idrogeno al catodo, secondo la reazione:



Durante il processo di formazione dello strato di ossido, gli ioni O²⁻ migrano verso l'interfaccia con il substrato di Ti e reagiscono con Ti e Ti⁴⁺ sotto l'azione del campo elettrico, formando così uno strato di TiO₂. Nel frattempo, gli ioni Ti⁴⁺ vengono rilasciati dal metallo e si muovono nella direzione opposta, raggiungendo la superficie superiore dello strato di TiO₂. Tuttavia, la presenza di ioni F⁻ può incidere sul processo, favorendo la dissoluzione dello strato di TiO₂ attraverso la formazione di specie solubili [TiF₆]²⁻, come descritto dalla reazione:



Inoltre, durante il movimento degli ioni Ti^{4+} , questi possono reagire direttamente con gli ioni F^- , formando ulteriori specie solubili $[TiF_6]^{2-}$, come mostrato in Figura 3.3b:



Questi processi combinati determinano la formazione e l'auto-organizzazione dei nanotubi di TiO_2 , in cui il bilanciamento tra crescita e dissoluzione gioca un ruolo chiave nella determinazione della loro morfologia e struttura finale.

In assenza di ioni fluoruro, la corrente tende generalmente a diminuire esponenzialmente, a causa della formazione di uno spesso strato barriera di ossido con bassa conducibilità (Figura 3.3d). Al contrario, negli elettroliti contenenti F^- , la corrente segue un andamento a tre stadi: una fase iniziale di diminuzione (stadio I), seguita da un aumento (stadio II) e infine dal raggiungimento di uno stato stazionario (stadio III) (Figura 3.3C).

- Stadio I: la formazione del compatto strato di TiO_2 porta a una diminuzione della corrente, un fenomeno simile a quello osservato nei processi di anodizzazione senza fluoruro.
- Stadio II: il TiO_2 viene attaccato dagli ioni F^- , generando inizialmente piccole cavità e pori irregolari dovuti alla diversa rugosità dello strato di TiO_2 appena formato o alla presenza di difetti causati da impurità. In questa fase, la corrente aumenta poiché i pori facilitano il trasferimento ionico.
- Stadio III: con l'approfondimento dei pori, la densità del campo elettrico nello strato barriera rimanente aumenta, portando i pori a interferire tra loro e competere per la corrente disponibile. Una volta raggiunto l'equilibrio tra l'ossidazione elettrochimica assistita dal campo e la dissoluzione, si formano nanotubi di TiO_2 uniformi, mantenendo una densità di corrente stabile.

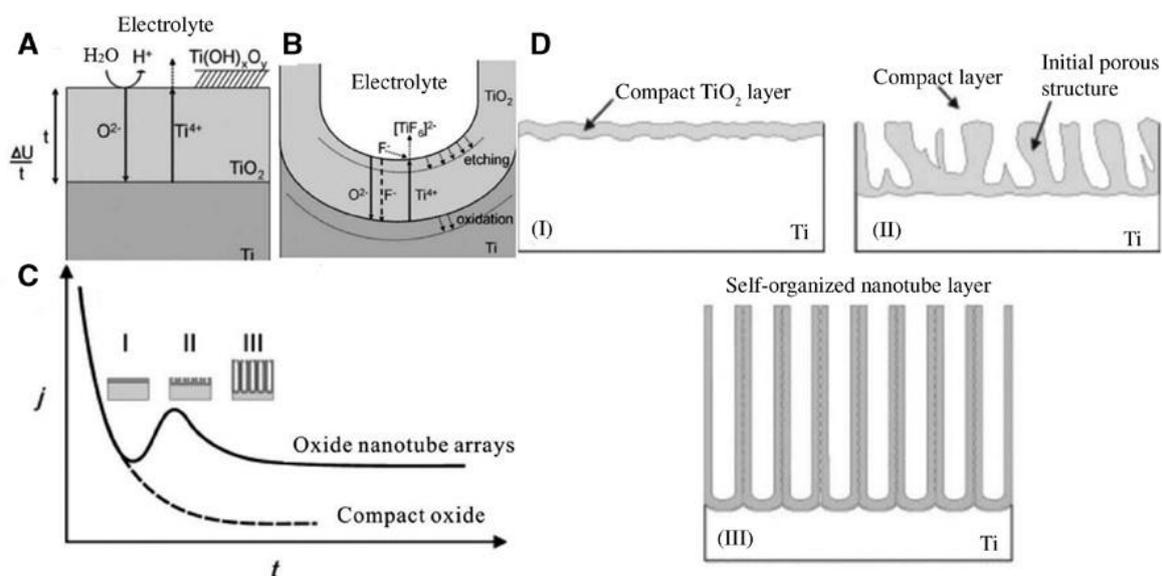


Figura 3.3: Rappresentazione schematica delle caratteristiche dell'anodizzazione del titanio (a) e (b). Andamento tipico della corrente nel tempo ($j-t$) con e senza fluoruri nell'elettrolita (c). Evoluzione corrispondente della morfologia del TiO_2 attraverso diversi stadi morfologici (d).

3.3 *Allestimento del processo di anodizzazione*

3.3.1 Preparazione del substrato di titanio

La preparazione del substrato di titanio è un passaggio essenziale per garantire una crescita uniforme dei nanotubi di TiO₂. Il titanio viene solitamente trattato attraverso:

- Taglio e lucidatura per ottenere una superficie liscia e priva di imperfezioni.
- Pulizia chimica e ultrasuoni in soluzioni di etanolo o acetone per rimuovere eventuali contaminanti organici.
- Attacco acido (acid etching) con una miscela di HF e HNO₃ per migliorare l'adesione dell'ossido.

3.3.2 Scelta dell'elettrolita

L'elettrolita gioca un ruolo determinante nella crescita dei nanotubi. Può essere acquoso o organico e contiene generalmente ioni fluoruro (F⁻), essenziali per la formazione della struttura nanotubolare.

- Elettroliti acquosi: soluzioni di HF, NaF o NH₄F in acido solforico o fosforico.
- Elettroliti organici: soluzioni di NH₄F in glicole etilenico, glicerolo o dimetilsolfossido (DMSO), che permettono di ottenere nanotubi più lunghi e uniformi.

Il rapporto tra diametro e lunghezza dei nanotubi, il loro allineamento orizzontale e verticale e lo spessore delle pareti influenzano significativamente la morfologia e le proprietà strutturali dei nanotubi di TiO₂. Un aspetto di grande interesse è la possibilità di modulare le proprietà dei nanotubi attraverso la variazione dei parametri di anodizzazione. Tra i principali parametri che regolano il processo di crescita dei nanotubi troviamo:

- Tensione applicata tra anodo e catodo
- Tempo di anodizzazione
- Concentrazione di ioni fluoruro
- Composizione dell'elettrolita
- Temperatura del bagno elettrolitico
- pH dell'elettrolita

Anche la preparazione superficiale del substrato, la composizione chimica della superficie e la presenza di sali di supporto nell'elettrolita contribuiscono alla definizione delle proprietà finali dei nanotubi.

3.3.3 Effetto della tensione applicata sull'anodizzazione

La tensione applicata, spesso definita come potenziale di anodizzazione, è uno dei principali parametri che controllano il diametro dei nanotubi. Generalmente a **bassa tensione (10-20V)**, la dissoluzione dell'ossido è limitata, e di conseguenza i nanotubi formati risultano di piccolo diametro circa 20-50 nm [31], [32].

Se si va verso **tensioni più elevate (>60 V)**, la maggiore intensità del campo elettrico favorisce la crescita di nanotubi più larghi e lunghi con un diametro più ampio di circa 100-

150 nm. Alcuni studi hanno evidenziato una relazione lineare tra la tensione applicata e lo spessore delle pareti e il diametro dei nanotubi.

In Figura 3.4 sono riportate le immagini al microscopio a scansione elettronica dei nanotubi ottenuti con anodizzazione elettrochimica variando la tensione applicata a 35,45 e 55 V.

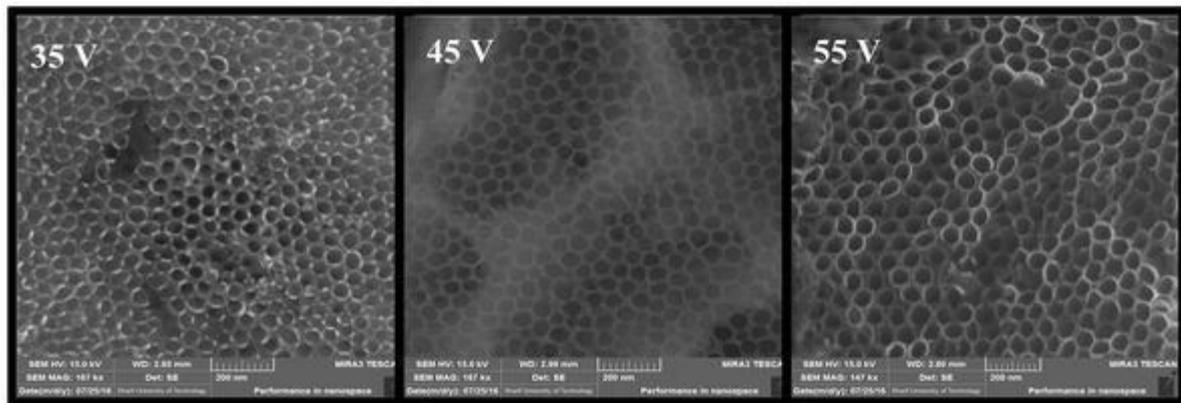


Figura 3.4: Immagini SEM dei nanotubi di TiO_2 variando la tensione applicata a 35,45 e 55V [33].

Nei bagni elettrolitici acquosi, il potenziale applicato solitamente varia tra 10 e 25 V, mentre negli elettroliti organici, dove il controllo della crescita è maggiore, può essere esteso fino a centinaia di volt. Tuttavia, la maggior parte delle ricerche ha utilizzato finestre di tensione comprese tra 20 e 70 V[34].

Per ottenere nanotubi con proprietà specifiche, sono stati impiegati diversi modi di anodizzazione:

- Potenziostatico → fornisce nanotubi con diametri più uniformi.
- Potenziostatico con impulsi di tensione negativa → migliora lo spessore dei nanotubi a doppia parete, aumentando le proprietà fotovoltaiche.
- Potenziodinamico → aumentando gradualmente la tensione, si ottiene un incremento del diametro dal fondo verso la parte superiore dei nanotubi.

A basse intensità di campo elettrico (V/cm), la crescita è controllata da processi ohmici, mentre a tensioni più elevate, la crescita dei nanotubi è dominata da processi di migrazione ionica.

3.3.4 Effetto del tempo di anodizzazione

Il tempo di anodizzazione è un parametro chiave per controllare **lo spessore e la lunghezza** dei nanotubi. Un tempo di anodizzazione più lungo consente la crescita di nanotubi più lunghi, fino al raggiungimento di un equilibrio tra crescita e dissoluzione. In genere, nanotubi con lunghezza $> 10 \mu m$ si ottengono con anodizzazione di 10-20 ore [35], [36]. Volendo generalizzare:

- **Tempi brevi** → generano una struttura spugnosa senza una chiara identificazione dei nanotubi.
- **Tempi più lunghi** → producono nanotubi più definiti e con uno spessore maggiore.

Il tasso di crescita è rapido nelle fasi iniziali ma tende a rallentare nel tempo. Uno studio ha riportato che, in un elettrolita contenente fluoruro a 40 V, dopo 30 minuti di anodizzazione, i

nanotubi avevano una lunghezza di 1 μm , mentre dopo 15 ore la lunghezza era aumentata fino a 3 μm [37]. L'aumento iniziale rapido è dovuto alla dissoluzione del TiO_2 causata dall'eccesso di anioni e dalla migrazione dei cationi all'interno del nanotubo. Una volta raggiunto l'equilibrio tra dissoluzione e ossidazione, la crescita rallenta. Inoltre, la formazione dello strato compatto tra metallo e ossido dipende fortemente dalla tensione applicata, mentre la crescita nell'interfaccia ossido-elettrolita aumenta con il tempo di anodizzazione. Maggiore è il tempo di anodizzazione, maggiore sarà lo spessore del nanotubo. È stato anche osservato che nanotubi più ordinati possono essere ottenuti mediante sonicazione dello strato compatto o rimuovendo i nanotubi iniziali disordinati con nastro adesivo.

Uno studio riportato in letteratura [38] analizza l'effetto del tempo di anodizzazione sulla morfologia dei nanotubi di TiO_2 , come illustrato nelle immagini SEM in Figura 3.5. In particolare, vengono confrontate le strutture ottenute dopo 20 minuti (Figura 3.5a), 1 ora (Figura 3.5b), 3 ore (Figura 3.5c) e 9 ore (Figura 3.5d). Dai risultati emerge che, fino a 1 ora, i nanotubi mantengono una struttura stabile e ben definita, mentre dopo 3 ore iniziano a mostrare segni di collasso strutturale, con un progressivo degrado della loro morfologia.

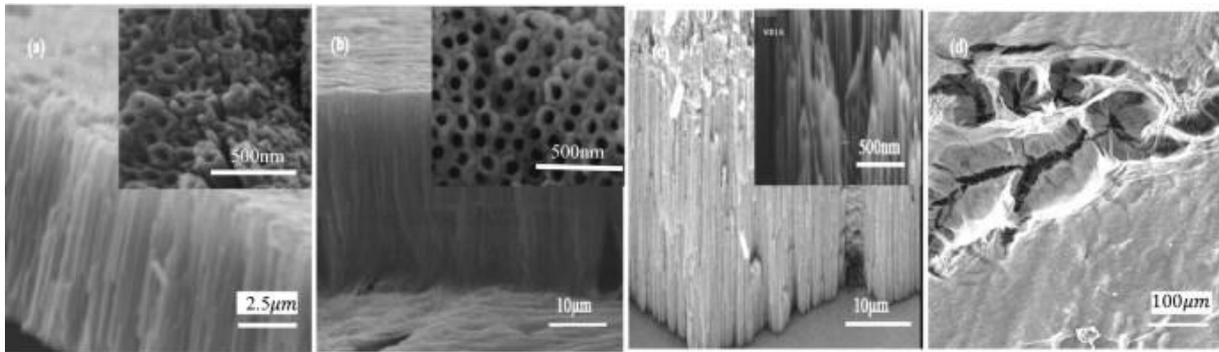


Figura 3.5: Immagini SEM dei nanotubi di TiO_2 cresciuti a diversi tempi di anodizzazione: (a) 20 min, (b) 1 h, (c) 3 h e (d) 9 h.

3.3.5 Concentrazione degli ioni fluoruro

L'elettrolita gioca un ruolo determinante nella crescita dei nanotubi. Può essere acquoso o organico e contiene generalmente ioni fluoruro (F^-), essenziali per la formazione della struttura nanotubolare [39], [40].

- Elettroliti acquosi: soluzioni di HF, NaF o NH_4F in acido solforico o fosforico.
- Elettroliti organici: soluzioni di NH_4F in glicole etilenico, glicerolo o dimetilsolfossido (DMSO), che permettono di ottenere nanotubi più lunghi e uniformi.

3.3.6 Effetto dell'elettrolita sulla crescita dei nanotubi

L'ottimizzazione della composizione dell'elettrolita è fondamentale per controllare la struttura e le proprietà dei nanotubi [41]. Tra i principali fattori che influenzano la crescita vi sono:

- Tipologia e pH dell'elettrolita
- Viscosità e concentrazione di ossigeno disciolto

Le principali generazioni di nanotubi di TiO_2 sono state sviluppate utilizzando quattro diversi tipi di elettroliti:

1. Soluzioni acquose di HF (prima generazione) \rightarrow fortemente acide, favoriscono una crescita veloce ma limitata a meno di 1 μm di spessore.

2. Elettroliti tamponati contenenti fluoruro (seconda generazione) → aggiungendo acidi deboli come KF o NaF, si riduce l'acidità. A pH 4.5, si possono ottenere nanotubi con spessori fino a 4.4 μm .
3. Elettroliti organici contenenti fluoruro (terza generazione) → l'uso di glicoli e solventi organici rallenta la dissoluzione dell'ossido, permettendo la formazione di nanotubi più lunghi e organizzati. Ad esempio, in etilenglicole con 0.25% NH_4F a 60 V per 17 ore, sono stati ottenuti nanotubi di 134 μm di lunghezza. Con l'aggiunta di 0.18% di acqua, la lunghezza è aumentata fino a 250 μm , mentre nanotubi di 1000 μm sono stati ottenuti in etilenglicole con 0.6% NH_4F e 3.5% di acqua a 60 V per 216 ore.
4. Elettroliti privi di fluoruro (quarta generazione) → basati su acidi come HClO_4 o H_3PO_4 , permettono la formazione di nanotubi auto-organizzati con tensioni più basse rispetto agli ambienti fluorurati.

Gli elettroliti basati su acqua deionizzata o solfuri producono nanotubi con strati compatti e strutture più disordinate. A basse tensioni, i nanotubi non risultano ben formati e spesso assumono strutture simili a nanorods o nanofili. Con l'aumento della tensione, emergono nanostrutture porose, caratterizzate da bordi irregolari. In soluzioni contenenti acido solforico e solfuro di sodio, i nanotubi tendono ad avere una struttura più compatta e disordinata.

3.3.7 Effetto della temperatura del bagno elettrolitico

La temperatura dell'elettrolita è un altro parametro che influisce sulla crescita dei nanotubi [41].

- Un aumento della temperatura accelera la velocità di reazione, favorendo un aumento dello spessore delle pareti e della lunghezza dei nanotubi.
- Negli elettroliti acquosi, si osserva un incremento dello spessore interno dei nanotubi a causa dell'ossidazione accelerata.
- Nei fluorurati organici, invece, si registra un aumento dello spessore esterno dovuto alla minore viscosità, che facilita la migrazione degli ioni F^- .

Secondo la letteratura, a 5°C si ottengono nanotubi più organizzati in soluzioni acquose, mentre nei solventi organici la crescita è ottimale a 50-55°C.

3.3.8 Effetto del pH dell'elettrolita

Il pH influenza la formazione dei nanotubi:

- pH acido (< 4): favorisce la dissoluzione del TiO_2 , riducendo la lunghezza dei nanotubi.

pH neutro o leggermente basico (6-8): ottimale per la crescita controllata.

4 Nanotubi di TiO₂ per impianti dentali

Gli impianti dentali rappresentano una soluzione consolidata e affidabile per la sostituzione di denti mancanti e per il miglioramento delle funzionalità masticatorie. Un impianto dentale è un dispositivo medico che svolge il ruolo di radice artificiale per un dente mancante. Viene inserito chirurgicamente nell'osso mascellare o mandibolare per sostenere una protesi dentale.

Un impianto dentale è tipicamente composto da tre parti principali:

- **Vite/Perno:** Questa è la parte dell'impianto che viene impiantata nell'osso. Di solito è una piccola vite o un cilindro in titanio, un materiale biocompatibile, ben tollerato dal corpo e capace di integrarsi con l'osso in un processo chiamato osteointegrazione. La superficie può essere trattata per favorire una migliore osteointegrazione.
- **Abutment (moncone):** Si tratta di un connettore che viene fissato alla superficie della vite dopo un periodo di guarigione, durante il quale l'osso si lega saldamente all'impianto. L'abutment sporge attraverso la gengiva e funziona da base per la protesi dentale.
- **Protesi (corona):** Questa è la parte visibile che sostituisce il dente mancante. La protesi è progettata per integrarsi con i denti naturali in termini di aspetto e funzionalità.

Gli impianti dentali offrono numerosi vantaggi:

- **Osteointegrazione:** La capacità del titanio di integrarsi con l'osso offre una stabilità e una durata eccezionali. Un impianto ben integrato può durare molti anni, se non tutta la vita.
- **Prevenzione della perdita ossea:** La masticazione su un impianto stimola l'osso circostante, prevenendo il riassorbimento osseo che si verifica comunemente dopo la perdita dei denti.
- **Migliore funzionalità:** Gli impianti ripristinano la capacità di masticare e parlare in modo efficiente.

Il successo a lungo termine di un impianto dentale è strettamente legato alla sua capacità di integrarsi con l'osso circostante, un processo noto come osteointegrazione. In questo contesto, gli impianti dentali sono principalmente fatti di **titanio o leghe di titanio**, scelti per la loro biocompatibilità, resistenza alla corrosione e capacità di osteointegrazione. La lega Ti-6Al-4V è la più utilizzata per gli impianti dentali grazie alle sue ottime proprietà. Tra le quali citiamo la biocompatibilità, l'osteointegrazione, la resistenza meccanica e a corrosione. Sebbene la ricerca continui a sviluppare nuove leghe con proprietà potenzialmente superiori, il Ti-6Al-4V rimane il **gold standard** in implantologia per la sua affidabilità, prevedibilità e successo clinico dimostrato nel lungo termine.

La ricerca di soluzioni sempre più efficaci ha portato allo sviluppo di nanotecnologie applicate agli impianti dentali, con l'obiettivo di migliorare ulteriormente l'osteointegrazione e la stabilità a lungo termine. Tra queste, i nanotubi di biossido di titanio (TNT) risulta essere fra le varie soluzioni le più promettenti. La formazione di nanotubi sulla superficie di biossido di titanio è uno dei trattamenti superficiali per migliorare l'osteointegrazione degli impianti dentali in titanio e il metodo migliore per costi e risultati, risulta essere quello dell'anodizzazione [42].

Questi nanotubi, ottenuti quindi tipicamente mediante un processo di anodizzazione elettrochimica del titanio, formano uno strato superficiale nanostrutturato sull'impianto, che conferisce specifiche caratteristiche fisico-chimiche al sistema.

La struttura nano tubolare offre numerosi vantaggi rispetto alle superfici implantari tradizionali. In primo luogo, la maggiore area superficiale fornita dai TNT aumenta i siti di interazione con le cellule ossee, favorendo l'adesione, la proliferazione e la differenziazione degli osteoblasti, cellule chiave nel processo di osteointegrazione. Inoltre, la nano topografia dei TNT, con le sue dimensioni nanometriche, è in grado di imitare l'ambiente extracellulare naturale dell'osso, influenzando positivamente il comportamento cellulare e promuovendo la formazione di nuovo tessuto osseo. Oltre agli effetti benefici sull'osteointegrazione, i TNT possono essere funzionalizzati per il rilascio controllato di farmaci o fattori di crescita, offrendo la possibilità di modulare localmente la risposta biologica e migliorare ulteriormente le prestazioni dell'impianto. Infine, la morfologia dei nanotubi, in termini di diametro, lunghezza, spessore della parete, porosità, ordine e allineamento, influenza in modo significativo le proprietà meccaniche dell'impianto, come la resistenza a flessione, la compressione, la rigidità e la distribuzione degli stress meccanici nell'interfaccia osso impianto dovuto ai carichi elevati.

4.1 Requisiti per i biomateriali dentali

I materiali impiegati per la realizzazione di impianti dentali sono sottoposti a requisiti estremamente stringenti, dettati dalla necessità di assicurare non solo il successo dell'intervento nel lungo periodo, ma anche la sicurezza del paziente e la piena funzionalità dell'impianto stesso. Fondamentale è, innanzitutto, la biocompatibilità: il materiale deve essere ben tollerato dall'organismo, senza rilasciare sostanze tossiche o nocive, né provocare reazioni infiammatorie, allergiche o di rigetto. A seconda dello specifico utilizzo, può essere richiesta una semplice bioinerzia, ovvero una minima interazione con i tessuti circostanti, oppure una spiccata bioattività, intesa come la capacità di stimolare risposte biologiche positive e mirate. Per un impianto dentale, ad esempio, la bioattività si traduce nella capacità di favorire l'osteointegrazione, ovvero la formazione di un legame solido e duraturo tra la superficie dell'impianto e il tessuto osseo.

Dal punto di vista meccanico, l'impianto deve dimostrare un'elevata resistenza per poter sopportare i notevoli e ripetuti carichi masticatori senza subire danni. Deve quindi resistere a forze di trazione, compressione e flessione, nonché a fenomeni di fatica meccanica, mantenendo la propria integrità strutturale nel tempo. Un altro aspetto cruciale è il modulo elastico: per evitare di sollecitare in modo anomalo l'osso circostante, con il rischio di causarne il riassorbimento, la rigidità dell'impianto dovrebbe essere il più possibile simile a quella del tessuto osseo stesso. Inoltre, il materiale deve possedere un'adeguata tenacità a frattura, per resistere alla propagazione di eventuali cricche, e una buona resistenza all'usura, per contrastare l'abrasione dovuta al contatto con i tessuti o con i materiali delle protesi.

L'ambiente orale caratterizzato dalla presenza di umidità e ioni risulta essere molto aggressivo dal punto di vista della corrosione; ciò espone l'impianto a uno stress anche chimico oltre che meccanico. Il materiale dell'impianto deve quindi avere un'ottima resistenza alla corrosione e un'eccellente stabilità chimica nel tempo, cercando di ridurre al minimo il rilascio di ioni metallici all'interno dell'ambiente orale e le alterazioni chimiche che potrebbero compromettere l'impianto stesso. Per monitorare nel tempo l'impianto, questo deve essere visualizzato in modo ben definito nelle radiografiche; quindi, anche la sua radiopacità è un fattore importante. Allo stesso tempo la sua idrofilia o idrofobicità influenza l'adesione delle cellule e di conseguenza l'osteointegrazione.

Naturalmente, un impianto dentale deve ripristinare la corretta funzionalità masticatoria e garantire un'estetica gradevole, integrandosi con la dentatura del paziente. Il materiale, inoltre,

deve essere facilmente lavorabile per poter ottenere la forma desiderata dell'impianto e deve poter essere sterilizzato senza subire danni.

Nel caso specifico dei nanotubi di TiO_2 , la loro particolare nanostruttura impone ulteriori requisiti. Per sfruttare appieno i vantaggi offerti dalla nanotopografia, è necessario un controllo preciso di parametri come diametro, lunghezza, spessore delle pareti e porosità dei nanotubi. Anche l'ordine e l'allineamento dei nanotubi possono essere regolati per ottimizzare le proprietà meccaniche direzionali e la risposta cellulare. Fondamentale è poi garantire una forte adesione tra i nanotubi e il substrato di titanio sottostante, per evitare distacchi durante l'utilizzo. Infine, il processo di produzione dei nanotubi non deve introdurre contaminanti che potrebbero comprometterne la biocompatibilità

4.2 Biocompatibilità dei nanotubi di TiO_2

Nei materiali per applicazioni in ambito biomedico la biocompatibilità risulta essere un requisito fondamentale, e i nanotubi di biossido di titanio (TiO_2) non fanno eccezione. Quando si parla di biocompatibilità dei TNT per impianti dentali, ci si riferisce alla capacità di questi materiali di coesistere con i tessuti viventi circostanti, senza indurre effetti avversi o indesiderati, e favorendo al contempo la risposta biologica necessaria per il successo dell'impianto, in questo caso l'osteointegrazione[43].

Talvolta la biocompatibilità e l'osteointegrazione non sono così semplici. Non è un caso, per esempio, che nel paziente il successo degli impianti dentali in titanio (Ti) può essere compromesso da due fattori principali: o una scarsa osteointegrazione con il tessuto osseo circostante o altrimenti per le infezioni batteriche che si verificano nella regione intorno all'impianto. Entrambi questi fenomeni possono condurre al fallimento dell'impianto stesso con conseguenze importanti per il paziente.

4.3 Proprietà meccaniche dei nanotubi di TiO_2

Un impianto dentale deve essere in grado, ad esempio, di resistere alle forze masticatorie, che sono cicliche e possono variare in intensità e direzione, senza subire fratture o deformazioni permanenti. Inoltre, la rigidità dell'impianto dovrebbe essere il più possibile simile a quella dell'osso circostante per evitare fenomeni di "stress shielding". Il fenomeno dello **stress shielding** in implantologia dentale, si verifica quando un impianto metallico sopporta una porzione eccessiva del carico che normalmente sarebbe sostenuta dall'osso circostante [44]. Ciò porta a una riduzione della densità ossea e della resistenza intorno all'impianto con possibili conseguenze negative per l'impianto stesso che portano rottura o deformazioni ed infezioni batteriche.

4.3.1 Influenza della morfologia dei nanotubi sulle proprietà meccaniche

Sono diversi i fattori che influenzano le proprietà meccaniche dei nanotubi. Per esempio, a livello morfologico il diametro ha un impatto significativo sulle proprietà meccaniche dei nanotubi stessi e sulle loro applicazioni, che a loro volta hanno un impatto sulle loro prestazioni nelle applicazioni di impianti dentali e rivestono un ruolo fondamentale per il successo a lungo termine. Tra i vari fattori geometrici, il diametro e la lunghezza dei nanotubi emergono come parametri chiave che influenzano significativamente la rigidità, la resistenza a flessione e a compressione, nonché il modulo elastico del materiale.

Un diametro maggiore (generalmente $> 50\text{-}100\text{ nm}$) conferisce al singolo nanotubo una maggiore rigidità, grazie ad una sezione trasversale più ampia che resiste meglio alle deformazioni. In secondo luogo, un diametro maggiore permette un'area di contatto maggiore con l'osso circostante, trasferendo più uniformemente il carico dall'impianto all'osso.

Alcuni studi suggeriscono che i nanotubi con diametri più vicini alle dimensioni delle caratteristiche strutturali dell'osso (ad esempio, gli osteoni) potrebbero contribuire a una distribuzione dello stress più fisiologica, riducendo lo stress shielding [43].

Al contrario, **nanotubi più corti (generalmente < 50 nm)** hanno una rigidità superiore, poiché aumentando la lunghezza abbiamo fenomeni di flessibilità e instabilità a carico della punta (buckling). Analogamente, la **resistenza alla flessione** beneficia di un diametro maggiore; pareti più spesse e una sezione trasversale più ampia permettono di sopportare momenti flettenti più elevati. Inversamente, **nanotubi più corti** offrono una superiore resistenza alla flessione, in virtù della minore probabilità di flessione e deflessione sotto carico.

Anche la **resistenza a compressione** è positivamente influenzata da un diametro maggiore, grazie alla distribuzione del carico compressivo su un'area più estesa, riducendo lo stress locale. **Nanotubi più corti** resistono meglio alla compressione, a differenza di quelli più lunghi e sottili che risultano maggiormente suscettibili al buckling.

Il **modulo elastico**, pur essendo una proprietà intrinseca del materiale, è influenzato dalla struttura nano tubolare. In generale, a livello di struttura porosa, **diametri maggiori** si traducono in un modulo elastico apparentemente superiore. La **lunghezza** ha un impatto minore, sebbene possa incidere sul modulo elastico apparente dell'intera struttura, specialmente in caso di nanotubi molto lunghi e flessibili.

Queste relazioni tra parametri geometrici e proprietà meccaniche sono state studiate attraverso tecniche sperimentali come la **nano indentazione**, i **test di flessione** e i **test di compressione**

4.3.2 Test meccanici: nanoindentazione

La nano indentazione è una tecnica utilizzata per valutare le proprietà meccaniche dei TNT. Permette di misurare la durezza e il modulo elastico a livello locale, indentando la superficie dei nanotubi con una punta di dimensioni nanometriche.

- Studi di nano indentazione hanno dimostrato che sia la durezza che il modulo elastico dei TNT aumentano con l'aumentare del diametro dei nanotubi. La lunghezza dei nanotubi ha un effetto meno pronunciato sui risultati di nano indentazione, ma può influenzare la misurazione se i nanotubi sono molto lunghi e si flettono durante l'indentazione.

4.3.3 Test di flessione

Questi test sono utilizzati per valutare la resistenza alla flessione e il modulo di flessione di materiali, compresi i film sottili o gli strati di TNT su un substrato.

- I test di flessione possono essere più difficili da applicare direttamente ai singoli nanotubi, ma possono fornire informazioni sulla resistenza meccanica complessiva dello strato di TNT. Studi su film sottili di TiO₂ hanno dimostrato che la resistenza alla flessione e il modulo di flessione aumentano con la densità e l'ordine dei nanotubi, parametri a loro volta influenzati dal diametro e dalla lunghezza.

4.3.4 Test di compressione

I test di compressione sono utilizzati per determinare la resistenza a compressione e il comportamento sotto carico compressivo di un materiale.

- Anche in questo caso questi test non sono eseguiti sui singoli nanotubi, ma su campioni di TNT compatti. Gli studi hanno generalmente dimostrato che la resistenza

a compressione aumenta con l'aumentare del diametro e la diminuzione della lunghezza dei nanotubi, a causa della maggiore resistenza al buckling di nanotubi più corti e con pareti più spesse.

I risultati di tali studi, condotti su campioni di nanotubi, confermano le tendenze generali descritte, evidenziando l'importanza di ottimizzare il diametro e la lunghezza dei nanotubi per ottenere le prestazioni meccaniche desiderate in ambito implantare.

4.4 Applicazioni dei nanotubi di TiO_2 in implantologia dentale

L'implantologia dentale moderna si avvale di tecnologie all'avanguardia per garantire il successo e la durata degli impianti. Tra queste, i nanotubi di biossido di titanio (TiO_2) rappresentano un'innovazione significativa. La loro particolare struttura nanometrica e l'elevata area superficiale offrono proprietà superiori rispetto alle superfici convenzionali, aprendo nuove frontiere nel campo dell'osteointegrazione. L'impiego dei nanotubi di TiO_2 in implantologia dentale promette di migliorare l'interazione biologica tra impianto e tessuto osseo, con potenziali benefici in termini di tempi di guarigione e successo clinico. In questo contesto, verranno esaminate alcune applicazioni dei nanotubi di TiO_2 nel settore implantare, evidenziandone i vantaggi.

4.4.1 Osteointegrazione

I TNT possono essere usati per migliorare la ritenzione delle mini-viti ortodontiche in lega Ti-6Al-4V. Queste mini-viti pur avendo buone proprietà meccaniche, hanno un tasso di fallimento di circa il 10%, a due mesi dall'inserimento, a causa della mancata ritenzione meccanica con i denti. Per aumentare le probabilità di successo di un impianto, una strategia efficace è quella di accelerare il processo di osteointegrazione iniziale, in modo da ottenere una stabilizzazione rapida. Il metodo che riguarda l'utilizzo dei TNT prevede l'anodizzazione per creare nanotubi di TiO_2 sulla superficie, seguita da pre-calcificazione periodica e trattamenti termici per generare cluster di idrossiapatite.

Nello specifico:

1. Formazione di uno strato di nanotubi di TiO_2 : Lo strato permette di aumentare l'area superficiale (circa 46 volte), fornendo un maggior numero di siti di ancoraggio per le cellule ossee.
2. Trattamento di pre-calcificazione ciclica: La minivite con lo strato di nanotubi viene sottoposta a cicli di immersione in soluzioni contenenti ioni calcio e fosfato, componenti principali dell'idrossiapatite (HA), il minerale principale dell'osso. Questo processo, chiamato pre-calcificazione, permette la formazione sulla superficie del nanotubo di uno strato di rivestimento bioattivo.

In conclusione, si dimostra che combinando l'anodizzazione con i cicli di pre-calcificazione e trattamento termico si conferisce una maggiore bioattività alle superfici delle mini-viti ortodontiche in lega Ti-6Al-4V, migliorandone significativamente la ritenzione e, di conseguenza, il potenziale successo come dispositivi di ancoraggio temporaneo[45]. La topografia superficiale degli impianti dentali per l'osteointegrazione risulta essere importante perché la struttura della superficie di un impianto dentale influenza la sua integrazione con l'osso.

Ci sono diversi livelli di interazione tra impianto e tessuto osseo:

- Livello macro: a livello macroscopico, l'impianto si "incastra" meccanicamente con l'osso, sfruttando pori e irregolarità superficiali di dimensioni superiori a cento micrometri.
- Livello micro: a livello microscopico, la crescita di nuovo osso (osteogenesi da contatto) avviene per la formazione di una "linea di cemento" che si integra con la superficie dell'impianto. Questo fenomeno, inizialmente osservato con i materiali in fosfato di calcio, avviene anche su superfici metalliche con micro e nanostrutture.
- Livello nano: le nanostrutture, come i TNT, possono ulteriormente migliorare l'osteointegrazione fornendo un substrato ideale per la deposizione della linea di cemento.

La "linea di cemento" definita come un sottile strato di matrice ossea che si forma sull'impianto. L'ipotesi è che i TNT agiscano come "contenitori" per la linea di cemento, migliorando l'ancoraggio tra impianto e osso. Per verificare questa ipotesi, sono stati utilizzati impianti con due diverse microstrutture di base (lavorata e sabbiata/incisa con acido) su cui sono stati creati i TNT. Gli impianti sono stati inseriti in tibie di ratto e analizzati con diverse tecniche di microscopia (SEM e STEM) per osservare l'interazione tra la linea di cemento e i nanotubi. L'analisi del diametro dei TNT è importante per capire come le dimensioni dei nanotubi possono influenzare l'interazione con la linea di cemento e quindi l'osteointegrazione. I risultati ottenuti tramite l'analisi delle immagini STEM (microscopia elettronica a trasmissione a scansione) delle sezioni trasversali dell'interfaccia tra la linea di cemento e l'impianto ci dicono che:

- indipendentemente dalla microstruttura sottostante si è osservata una connessione continua tra la linea di cemento e i NT in tutti i campioni analizzati.
- in alcuni casi, la linea di cemento penetrava in maniera limitata all'interno dei TNT, formando delle strutture globulari.
- la penetrazione della linea di cemento sembrava verificarsi più frequentemente nei NT con diametri interni leggermente maggiori della media.

La linea di cemento non solo si deposita sulla superficie dei TNT, ma può anche penetrare al loro interno, creando un "nano-ancoraggio" tra l'impianto e l'osso, migliorando l'osteointegrazione [46].

Per il successo a lungo termine oltre all'osteointegrazione risulta essere importante anche l'integrazione dei tessuti molli (STI), ovvero la capacità dell'impianto di integrarsi con la gengiva.

I TNT funzionalizzati sono nanotubi di biossido di titanio la cui superficie è stata modificata con l'aggiunta di molecole o gruppi funzionali specifici. Questa funzionalizzazione può conferire ai TNT nuove proprietà o migliorarne quelle esistenti, rendendoli più adatti a specifiche applicazioni. I TNT funzionalizzati con D-ammino K122-4 mostrano proprietà meccaniche migliorate e favoriscono l'integrazione dei tessuti molli, riducendo al contempo l'adesione batterica [47]. TNT modificati hanno promosso l'attaccamento e la proliferazione degli HGF (fibroblasti gengivali umani), migliorando l'integrazione con i tessuti molli.

4.4.2 Prevenzione di infezioni batteriche

L'osteointegrazione può essere compromessa da infezioni batteriche, che rappresentano un problema importante in implantologia dentale. La ricerca di metodi efficaci per prevenire tali infezioni ha portato allo studio di soluzioni innovative nel campo della nanotecnologia. Tra

queste, i nanotubi in biossido di titanio si sono rivelati utili per le loro promettenti proprietà antibatteriche, sia nel caso di funzionalizzazione superficiale con molecole o farmaci aventi proprietà antibatteriche sia senza alcuna funzionalizzazione. Le infezioni batteriche possono portare al riassorbimento osseo e al fallimento dell'impianto stesso. La formazione di biofilm sulle superfici impiantate è una delle principali preoccupazioni, poiché rende difficile per il sistema immunitario o per i farmaci combattere efficacemente i batteri.

Un'analisi ha combinato i dati di diversi studi, sia *in vitro* (in laboratorio) che *in vivo* (su modelli animali), per ottenere una visione più completa sull'effetto antibatterico delle nanostrutture di TiO₂. I risultati suggeriscono che le nanostrutture stesse di TiO₂ potrebbero avere un effetto antibatterico, ma questo effetto sembra avere delle importanti limitazioni.

Effetto specifico per alcuni batteri: per esempio efficace contro lo *S. aureus*, ma non contro l'*E.coli*.

Effetto dipendente dal tempo: presente a breve termine negli studi *in vitro*, ma più evidente a lungo termine negli studi *in vivo*. Quindi i risultati risultano essere contrastanti. Mentre alcuni studi hanno mostrato un chiaro effetto antibatterico delle superfici con nanotubi di TiO₂, altri non hanno trovato differenze significative rispetto alle superfici non trattate. Addirittura, alcuni studi hanno riportato una maggiore adesione batterica sulle superfici nanostrutturate.

I risultati contrastanti possono avere diverse spiegazioni:

Variabilità nei metodi di studio. Le differenze nei protocolli di ricerca, nei tipi di batteri testati e nei metodi di valutazione dell'effetto antibatterico possono aver contribuito ai risultati contrastanti. Da considerare anche l'importanza del diametro dei nanotubi. Il diametro dei nanotubi di TiO₂ sembra influenzare l'adesione batterica; infatti, diametri maggiori oltre i 150µm sembrano aumentare le probabilità di infezioni batteriche.

Un effetto antibatterico potrebbe essere anche dato dalla rugosità della superficie. Il processo di anodizzazione utilizzato per creare i nanotubi di TiO₂ rende la superficie più ruvida e idrofila. Questo può favorire l'adesione delle cellule dell'osso (osteoblasti) e, in alcuni casi, può anche avere un effetto antibatterico, probabilmente influenzando l'adesione di proteine come la fibronectina. Si ipotizza che i nanotubi di TiO₂ possano uccidere i batteri attraverso un meccanismo chiamato "morte al tocco", che potrebbe essere legato alla capacità fotocatalitica del titanio di generare specie reattive dell'ossigeno (ROS) che danneggiano i batteri.

Nonostante i risultati promettenti, sono necessari ulteriori studi per comprendere appieno il potenziale antibatterico delle superfici con nanotubi di TiO₂.

4.4.3 Utilizzo nanotubi per cementi resinosi

I cementi resinosi autoadesivi sono utilizzati in odontoiatria per fissare restauri indiretti come corone e ponti. Sono molto utilizzati grazie alla loro capacità di aderire ai tessuti dentali senza bisogno di un primer o di un adesivo aggiunto. Funzionano grazie alla presenza di monomeri acidi che penetrano e demineralizzano la superficie del dente, creando una ritenzione micromeccanica e un legame chimico con l'idrossiapatite. Tuttavia, i monomeri acidi possono interferire con la reazione di polimerizzazione, riducendo il grado di conversione (in inglese 'degree of conversion', DC) e influenzando negativamente le proprietà fisiche e meccaniche del cemento [48]. I nanotubi di biossido di titanio con le loro proprietà possono essere usati per migliorare le caratteristiche fisico-chimiche e meccaniche di questi cementi.

Lo studio mira [46] a valutare se l'aggiunta di TNT a un cemento resinoso autoadesivo specifico può migliorarne le proprietà fisico-chimiche, meccaniche e biologiche. Vengono testate tre diverse concentrazioni di nanotubi (0,3% 0,6% e 0,9% p/p). Per valutare di quanto sono migliorate le proprietà meccaniche del materiale si è usato il DC, indice che indica la percentuale di doppi legami carbonio-carbonio che hanno reagito per formare singoli legami carbonio-carbonio durante la polimerizzazione. Il calcolo del DC è riportato nell'equazione (7). Analizzando la luce infrarossa assorbita dal cemento, i ricercatori sono riusciti a determinare con precisione quanto il cemento si era indurito in ogni condizione. Questo ha permesso loro di capire come l'aggiunta dei nanotubi e il tipo di indurimento influenzano la reazione di solidificazione del cemento.

Calcolo del DC:

$$DC(\%) = 100 \times [1 - (R_{Tmin}/R_{0min})] \quad (7)$$

dove R è il rapporto tra l'assorbanza a 1638 cm^{-1} (C=C) e l'assorbanza a 1608 cm^{-1} (riferimento) al tempo T. In Figura 4.1 sono riportati gli spettri FTIR del cemento a diverse fasi della polimerizzazione. Confrontando l'intensità di questi picchi a 1608 e 1638 cm^{-1} nel tempo, si può calcolare il grado di conversione del cemento e capire come questo viene influenzato dalla presenza di TiO_2 e dalla modalità di polimerizzazione.

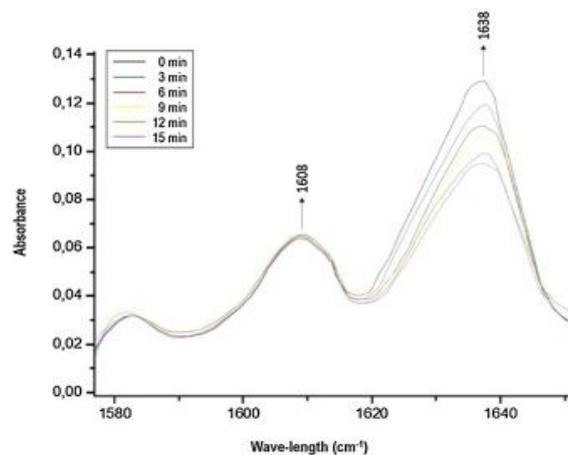


Figura 4.1 Spettro FTIR acquisito sul campione di cemento a diversi intervalli di tempo

Sia l'aggiunta di TNT che la modalità di polimerizzazione (auto o doppia) hanno influenzato in modo significativo il DC del cemento. Anche l'interazione tra questi due fattori è risultata significativa.

Il DC è aumentato nel tempo per tutti i gruppi. L'aggiunta di TNT, indipendentemente dalla concentrazione, ha portato a un aumento del DC sia per la polimerizzazione auto indurente che per quella a doppia polimerizzazione, a tutti i tempi di misurazione. Confrontando le modalità di polimerizzazione il gruppo DCT (doppia polimerizzazione) ha raggiunto un DC elevato a 9 minuti, mentre il gruppo SCT (autopolimerizzazione) ha mostrato un DC inferiore.

I risultati indicano che l'aggiunta di TNT al cemento resinoso autoadesivo può accelerare e aumentare il grado di conversione, migliorando potenzialmente le sue proprietà meccaniche.

La doppia polimerizzazione ha portato a un DC più elevato rispetto all'auto polimerizzazione, ma l'aggiunta di $\text{TiO}_2\text{-nt}$ ha migliorato il DC anche nei campioni auto polimerizzanti.

5 Sistemi di somministrazione di farmaci localizzati (LDDS)

La somministrazione di farmaci è un processo complesso che mira a veicolare un composto farmaceutico nel corpo umano in modo da ottenere l'effetto terapeutico desiderato, minimizzando allo stesso tempo i possibili effetti collaterali. I nanotubi di biossido di titanio (TiO_2) rappresentano una soluzione promettente nel campo del rilascio controllato di farmaci, grazie alle loro proprietà chimico-fisiche. La loro struttura nanometrica permette diversi vantaggi; per esempio, l'elevata area superficiale la quale permette un caricamento maggiore del farmaco in termini quantitativi, ma allo stesso tempo offre la possibilità di un rilascio controllato. Un'altra caratteristica importante oltre alla struttura dei nanotubi in biossido di titani è l'elevata biocompatibilità, rendendoli perfetti per applicazioni in ambito biomedico.

Rispetto alle metodologie convenzionali di somministrazione farmacologica, i nanotubi di TiO_2 hanno il vantaggio di rilasciare il farmaco in modo controllato nel tempo e nello spazio, in risposta a stimoli esterni specifici, quali temperatura, luce o variazioni di pH [49]. La possibilità di modulare il rilascio del farmaco in base alle specifiche esigenze del paziente e al sito d'azione ottimizza l'efficacia terapeutica e, contemporaneamente, riduce al minimo il rischio di effetti collaterali indesiderati. Questa strategia avanzata è definita "rilascio di farmaci stimolo-responsivo" (Stimulus-Responsive Drug Delivery, DDS).

I metodi tradizionali di somministrazione e rilascio dei farmaci, pur essendo ampiamente utilizzati e adatti a diverse esigenze terapeutiche, presentano intrinsecamente diverse problematiche:

- **Scarsa solubilità:** Molti farmaci (circa il 90% di quelli in commercio) [50] sono idrofobici e scarsamente solubili in acqua. Questo limita la loro efficacia, rendendo difficile la somministrazione sistemica e più lenta la loro eliminazione dall'organismo portando ad un accumulo indesiderato con effetti collaterali [50]. Il farmaco essendo poco solubile in acqua è più difficile che venga assorbito nel tratto gastrointestinale e che quindi passi nel sangue, ma allo stesso tempo una volta nel circolo sanguigno il farmaco idrofobico può avere difficoltà a raggiungere il suo sito target, soprattutto se questo si trova in ambiente acquoso. Tutto ciò rende più difficile trovare sempre nuove formulazioni con eccipienti che permettano al farmaco di essere più adatto alla somministrazione.
- **Breve tempo di circolazione:** In alcuni casi i farmaci tendono ad essere rapidamente eliminati dal corpo [50].
- **Mancanza di selettività:** I farmaci spesso non colpiscono solo il tessuto o l'organo malato, ma anche altre parti del corpo, causando effetti collaterali[50].
- **Farmacodinamica sfavorevole:** Il modo in cui il farmaco interagisce con il corpo (assorbimento, distribuzione, metabolismo, escrezione) può non essere sempre controllato e ottimale [50].
- **Inattivazione e rimozione:** Alcuni farmaci vengono inattivati o rimossi dal tratto gastrointestinale, dai reni, dal fegato, o da altri organi, prima di poter raggiungere il sito d'azione. Questo fa sì che in certi casi meno del 1% del farmaco somministrato raggiunga effettivamente il bersaglio, richiedendo così dosi più elevate per ottenere l'effetto terapeutico desiderato [50].

Principali metodi di somministrazione tradizionale

Somministrazione orale: è il metodo più utilizzato per il rilascio di farmaco nel corpo umano, ma presenta comunque diverse problematiche e limitazioni che vanno a

compromettere l'efficacia terapeutica. Per esempio, la bassa biodisponibilità a livello orale, la clearance presistemica (metabolismo di primo passaggio) e la variabilità nell'assorbimento [51].

Somministrazione endovenosa: La via endovenosa, pur garantendo un'azione farmacologica rapida e una biodisponibilità del 100% (poiché il farmaco viene introdotto direttamente nel flusso sanguigno), è una procedura intrinsecamente invasiva. L'inserimento di un ago o catetere in vena comporta rischi non trascurabili di infezioni nel sito di inserzione, soprattutto in caso di somministrazioni prolungate o ripetute. Situazioni che si possono verificare in pazienti oncologici o con ricoveri medio lunghi. Inoltre, possono verificarsi complicazioni locali come flebiti, ovvero infiammazioni della vena dovute all'irritazione meccanica o chimica del farmaco o del catetere stesso. Un altro rischio significativo è rappresentato dalle reazioni allergiche [51].

Somministrazione intramuscolare: prevede l'iniezione del farmaco direttamente nel tessuto muscolare, è meno invasiva della via endovenosa ma non è esente da effetti indesiderati locali. La procedura di iniezione può provocare dolore di intensità variabile nel sito di iniezione, sia durante l'atto stesso che nelle ore successive. Inoltre, l'iniezione intramuscolare può causare irritazione locale, con arrossamento, gonfiore e fastidio nella zona trattata[51].

Per ovviare ad alcuni degli svantaggi dovuti alla somministrazione tradizionale, l'utilizzo dei nanotubi di TiO_2 risulta essere sempre più studiato.

Biocompatibilità: non sono tossici grazie all'utilizzo di leghe di titanio. Per migliorare ulteriormente la loro biocompatibilità possono essere modificati superficialmente con polimeri come il PEG (polietilenglicole) per ridurre la clearance dal corpo [52]. La clearance si riferisce alla velocità con cui un farmaco viene eliminata dal corpo. Il PEG può aumentare le dimensioni dei nanotubi e ridurre la loro interazione con le cellule del sistema reticoloendoteliale, che sono responsabili della rimozione di particelle estranee dal flusso sanguigno. Questo rallenta la clearance dei nanotubi, prolungando la loro circolazione e aumentando il tempo di permanenza del farmaco nel corpo. Il PEG è anche molto idrofilo e può creare uno strato protettivo attorno ai nanotubi, riducendo l'adsorbimento di proteine e cellule del sistema immunitario. Questo aiuta a prevenire il riconoscimento e l'eliminazione dei nanotubi da parte del corpo, aumentando la loro permanenza nel flusso sanguigno e migliorando la loro capacità di raggiungere il sito di azione desiderato[52]. Questo comportamento permette ai nanotubi di comportarsi come nanocarrier per la somministrazione di farmaci in siti specifici.

Elevata area superficiale: grazie alla loro struttura nanometrica hanno un'elevata area superficiale che permette un maggiore caricamento di farmaco e un suo rilascio più lento. Situazione ottima per farmaci con bassa biodisponibilità e poco solubili [52].

Rilascio controllato: la struttura nano porosa e la possibilità di essere funzionalizzati superficialmente con diversi gruppi chimici permette il rilascio controllato del farmaco¹. Il meccanismo di controllo della diffusione gestisce la cinetica del rilascio farmacologico permettendo un rilascio controllato e continuo nel tempo. Per esempio, i TNT modificati con 3-Glicidossipropil trimetossilato (GPTMS) hanno dimostrato di caricare e prolungare il rilascio di desametosse(DEX)[52].

Risposta agli stimoli: I TNT possono essere funzionalizzati per rispondere a stimoli esterni per il rilascio del farmaco come variazione di luce, pH, o temperatura. Caratteristiche utili, per

esempio, per il trattamento di tumori che richiede il rilascio localizzato del farmaco[52]. I TNT possono inserirsi in siti mirati del tessuto tumorale, riducendo la clearance del farmaco[52].

Stabilità: grazie alla loro struttura sono molto stabili e non tendono a disintegrarsi o gonfiarsi in ambiente biologico

Proprietà fotocatalitiche: i TNT hanno proprietà fotocatalitiche, il che li rende utili in applicazioni antibatteriche. Si possono prevenire infezioni in impianti (dentali per esempio) o altri dispositivi medici [43].

Strategie per il rilascio di farmaci:

- Controllo della morfologia: forma e struttura dei TNT e modifica chimica
- Rilascio responsivo a stimoli esterni: utilizzo di stimoli esterni per controllare il rilascio del farmaco, superando i limiti del rilascio basato solo sulla diffusione.

5.1 Strategie per rilascio di farmaci

Dopo che i nanotubi di TiO_2 sono stati fabbricati e caricati con il farmaco desiderato, il passo successivo è controllare come questo farmaco verrà rilasciato una volta che l'impianto è stato inserito nel corpo. Il rilascio iniziale avviene, in genere, attraverso un processo di diffusione. Questo significa che le molecole del farmaco, inizialmente concentrate all'interno dei nanotubi, iniziano a muoversi verso l'esterno, passando dai TNT ai tessuti circostanti. Questo movimento è guidato dalla tendenza naturale delle molecole a spostarsi da zone di alta concentrazione a zone di bassa concentrazione, un principio descritto dalla prima legge di Fick.

Il solo rilascio di farmaco per diffusione non è sempre la soluzione ottimale in alcuni casi clinici. Sono diversi i fattori che influenzano il profilo di rilascio del farmaco e la velocità. Capire quali siano questi fattori risulta essere importante per migliorare la strategia di rilascio.

Proprietà del farmaco:

- Dimensione molecolare: Le dimensioni delle molecole del farmaco influenzano la diffusione e il rilascio di questo. Le più piccole passano più velocemente attraverso i nanotubi, mentre per quelle di dimensioni più grandi il rilascio risulta essere più lento.
- Carica elettrica: La carica del farmaco può influenzare la sua interazione con la superficie dei TNT. Infatti, per migliorare le proprietà di rilascio e renderle più specifiche si funzionalizza la superficie stessa del nanotubo. Una carica opposta tra farmaco e superficie del TNT può portare a un'attrazione elettrostatica, rallentando il rilascio.
- Velocità di dissoluzione: un altro fattore è la rapidità con cui il farmaco si dissolve nel fluido circostante (ad esempio, i fluidi corporei). Un farmaco che si dissolve lentamente verrà rilasciato più lentamente.
- Coefficiente di diffusione: è una misura che quantifica la velocità intrinseca che ha una molecola a spostarsi in un determinato ambiente.

Caratteristiche dei nanotubi

- Dimensioni (diametro e lunghezza): Nanotubi più lunghi e con diametri più piccoli offrono un percorso di diffusione più lungo e tortuoso, rallentando il rilascio. Al contrario, nanotubi più corti e con diametri maggiori facilitano un rilascio più rapido.
- Carica e chimica della superficie: La superficie dei TNT può essere modificata chimicamente per alterare la sua carica e le sue proprietà di interazione con il farmaco. Questo può essere usato per attrarre o respingere il farmaco, influenzando la velocità di rilascio.
- Interazione farmaco e TNT: L'affinità chimico-fisica tra il principio attivo e le pareti dei TNT è cruciale, e può variare da una forte adesione (rilascio lento) ad una debole o inesistente (rilascio rapido).

Poiché diverse applicazioni terapeutiche richiedono profili di rilascio differenti (ad esempio, un rilascio rapido per un antibiotico in caso di infezione acuta, o un rilascio lento e prolungato per un farmaco antirigetto dopo un trapianto), è essenziale poter controllare il rilascio del farmaco in modo preciso. I sistemi di rilascio basati su TNT devono quindi essere progettati con flessibilità e parametri ottimizzati.

L'obiettivo ideale, in molti casi, è ottenere un rilascio di ordine zero[43]. Questo significa che il farmaco viene rilasciato a una velocità costante nel tempo, indipendentemente dalla sua concentrazione residua all'interno dei TNT. Questo tipo di rilascio garantisce un livello terapeutico stabile e prolungato, evitando picchi e cali di concentrazione che possono essere inefficaci o addirittura dannosi.

Per raggiungere questo obiettivo, e per adattare il rilascio alle specifiche esigenze terapeutiche, sono state sviluppate diverse strategie:

- **Modifiche strutturali dei nanotubi:** come già accennato, variare il diametro e la lunghezza dei nanotubi è un modo diretto per influenzare il percorso di diffusione e quindi la velocità di rilascio.
- **Modifiche chimiche della superficie:** La superficie interna dei TNT può essere modificata attraverso reazioni chimiche per introdurre gruppi funzionali specifici. Questi gruppi possono interagire con il farmaco in vari modi (attrazione elettrostatica, legami idrogeno, interazioni idrofobiche) per modulare il rilascio.
- **Controllo delle aperture dei pori con polimeri:** Le aperture dei pori dei nanotubi possono essere "regolate" depositando strati sottili di polimeri. Questi polimeri possono agire come una sorta di "cancello" che si apre o si chiude in risposta a determinati stimoli, o semplicemente restringere il passaggio, rallentando la diffusione del farmaco.
- **Rivestimenti polimerici biodegradabili:** I TNT possono essere rivestiti con strati di polimeri che si degradano gradualmente nel tempo. Man mano che il polimero si degrada, il farmaco viene rilasciato. La velocità di degradazione del polimero, e quindi la velocità di rilascio del farmaco, può essere controllata scegliendo polimeri con diverse proprietà.
- **Micelle polimeriche come nanocarrier:** Le micelle sono aggregati sferici di molecole polimeriche che possono "intrappolare" al loro interno farmaci, in particolare quelli idrofobici. Queste micelle cariche di farmaco possono essere poi incorporate nei

TNT. Il rilascio avviene quando le micelle si disgregano o quando il farmaco diffonde fuori dalle micelle e poi dai TNT.

5.1.1 Cinetica di rilascio di un farmaco da strutture nano-tubolari

Quando i nanotubi di titanio (TNT) entrano in contatto con soluzioni fisiologiche, il rilascio del farmaco avviene principalmente attraverso un processo di diffusione. Le molecole del farmaco, caricate all'interno dei nanotubi, si spostano gradualmente verso l'esterno, spinte dalla differenza di concentrazione tra l'interno e l'esterno dei tubi. Questo trasferimento di massa, che definiamo diffusione, è il motore principale del rilascio.

Diversi fattori possono influenzare la velocità con cui il farmaco lascia i TNT. Ad esempio, le molecole di farmaco più piccole tendono a muoversi più velocemente di quelle grandi. Anche il modo in cui il farmaco interagisce con la superficie interna dei nanotubi gioca un ruolo cruciale: se c'è una forte attrazione, il rilascio sarà più lento. La velocità con cui il farmaco si dissolve, la sua capacità di diffondersi, le dimensioni dei nanotubi stessi (diametro e lunghezza), l'acidità della soluzione e le cariche elettriche sulla superficie dei tubi sono tutti elementi che contribuiscono a determinare quanto velocemente il farmaco viene rilasciato.

A seconda di come combiniamo questi fattori, possiamo ottenere diversi profili di rilascio. In alcuni casi, il farmaco viene rilasciato molto rapidamente all'inizio, per poi rallentare (rilascio a raffica). In altri casi, il rilascio è costante nel tempo (rilascio di ordine zero), il che è ideale per terapie che richiedono una dose costante di farmaco. Possiamo anche avere combinazioni di questi due tipi di rilascio, o addirittura sistemi in cui il rilascio viene attivato da stimoli esterni.

In particolare, il rilascio di ordine zero è molto interessante perché permette di mantenere una concentrazione costante del farmaco nel corpo, massimizzando l'efficacia della terapia e riducendo il rischio di effetti collaterali. In pratica, è come avere una piccola pompa che rilascia il farmaco in modo uniforme e continuo, proprio dove serve.

La comprensione dei meccanismi di rilascio del farmaco dai nanotubi di titanio (TNT) è cruciale per lo sviluppo di sistemi di rilascio di farmaci locali (LDD) efficaci. A tal fine, numerosi studi hanno esplorato i parametri che influenzano il rilascio, concentrandosi sulla modellazione matematica del processo.

La prima legge di Fick descrive il rilascio del farmaco modellizzando il processo di diffusione. A differenza dei materiali erodibili, i TNT mantengono la loro integrità strutturale durante il rilascio, semplificando la modellazione. In questo contesto, le equazioni di Fick permettono di stimare la variazione della concentrazione del farmaco nel tempo, fornendo preziose informazioni sulla cinetica di rilascio.

Diversi modelli matematici sono stati applicati per descrivere il rilascio dai materiali mesoporosi, inclusi i TNT. Tra questi, i modelli di Weibull, Higuchi, ordine zero, primo ordine e Korsmeyer-Peppas offrono strumenti analitici per prevedere il comportamento del rilascio e ottimizzare i parametri di progettazione dei TNT. [56]

Questi modelli matematici, applicati ai TNT, permettono di prevedere la cinetica di rilascio del farmaco e il trasferimento di massa dai nanotubi, assistendo nello sviluppo di LDD avanzati.

$$\text{Diffusione fickiana: } d\Phi/dt = D(d^2\Phi/dx^2)$$

$$\text{Ordine zero: } Q_t = Q_0 + k_0 t$$

$$\text{Primo ordine: } \ln Q_t = \ln Q_0 - k_1 t$$

$$\text{Higuchi : } Q_t = kHt^{0,5}$$

$$\text{Weibull: } \log[-\ln(1 - m)] = \beta \log(t - T_i) - \log a$$

$$\text{Korsmeyer-Peppas: } M_t / M_\infty = kt^n$$

Figura 5.1 Modelli di rilascio per materiali mesoporosi tra cui: Weibull, Higuchi, ordine zero, primo ordine e Korsmeyer-Peppas. [56]

Nella Figura 5.1 si possono vedere modelli matematici per il rilascio di farmaci, dove ci sono una serie di parametri chiave che determinano la cinetica di rilascio. I principali sono: la concentrazione del farmaco (Φ), il tempo (t), il coefficiente di diffusione (D), le dimensioni dei nanotubi (x) e la quantità di farmaco rilasciata (Q_t). Altri parametri, come le costanti di velocità di rilascio (k_0 , k_1 , kH), la frazione accumulata di farmaco (m) e gli esponenti di rilascio (n), permettono di descrivere in modo più accurato il processo di rilascio.

Variando in modo opportuno questi parametri si può controllare la velocità di rilascio del farmaco e ottimizzarne il dosaggio. Ad esempio, modificando le dimensioni dei nanotubi o la chimica della loro superficie, è possibile influenzare il coefficiente di diffusione e, di conseguenza, la velocità di rilascio. L'obiettivo è quello di ottenere un rilascio che rientri nella finestra terapeutica desiderata, tenendo conto dell'attività del farmaco e della sua biodisponibilità.

Le esigenze terapeutiche possono variare notevolmente a seconda della patologia e del tipo di trattamento. In alcuni casi, può essere necessario un rilascio rapido e concentrato del farmaco, mentre in altri casi è preferibile un rilascio lento e prolungato. I TNT offrono una piattaforma versatile per adattare il rilascio del farmaco a queste diverse esigenze, consentendo di ottenere profili di rilascio personalizzati.

Per raggiungere questo obiettivo, è necessario intervenire sulla struttura e sulla superficie dei nanotubi. Nella Figura 5.2. sono presenti diverse strategie di modifica della struttura del TNT o di sua funzionalizzazione: la modulazione delle dimensioni dei nanotubi, la funzionalizzazione della superficie con gruppi chimici specifici, il rivestimento dei nanotubi con biopolimeri, l'utilizzo di micelle polimeriche come vettori di farmaci e l'implementazione di sistemi di rilascio responsivi a stimoli esterni, come campi magnetici, ultrasuoni e radiofrequenza. Attraverso queste strategie, è possibile controllare con precisione il rilascio del farmaco dai TNT, aprendo la strada a nuove applicazioni terapeutiche e a trattamenti più efficaci.

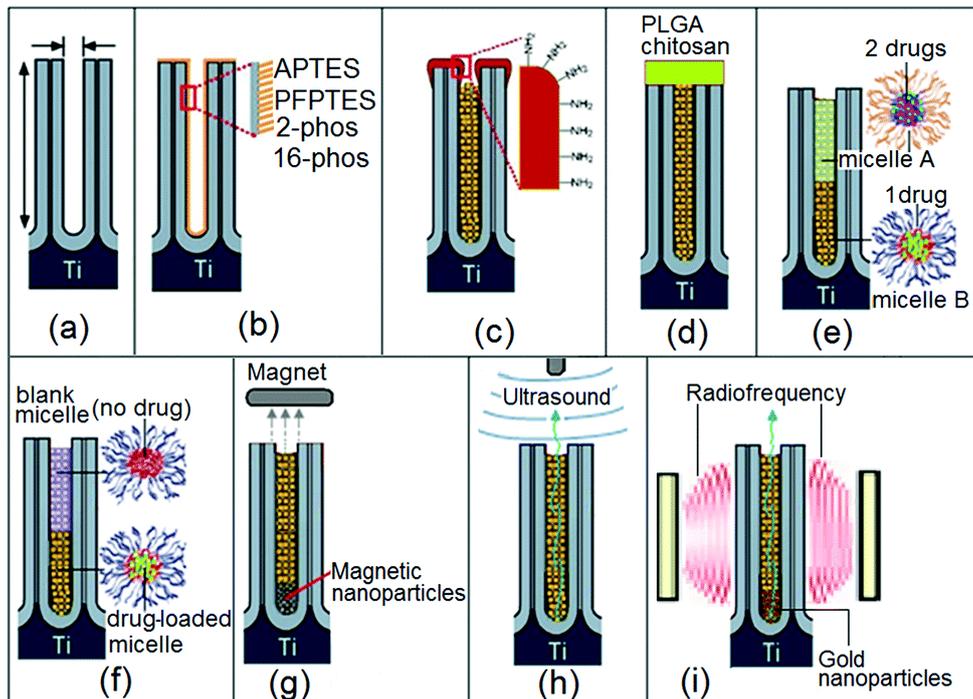


Figura 5.2 Strategie per controllare il rilascio di farmaci da impianti nanoporosi e nanotubolari di rilascio di farmaci

5.1.2 Modifica del rilascio del farmaco tramite controllo delle dimensioni

Il processo elettrochimico maggiormente utilizzato per creare strati di ossido nanostrutturati su metalli come il titanio è l'anodizzazione. Regolando l'elettrolita, la tensione, il tempo e la temperatura, è possibile controllare le dimensioni e la forma dei nanotubi di biossido di titanio risultanti. Tale processo viene definito anodizzazione controllata e applicando un potenziale diverso (costante o variabile nel tempo) ottengo diametri diversi. La velocità di rilascio del farmaco dai TNT è, in prima approssimazione, governata dalla diffusione (legge di Fick). Le dimensioni dei nanotubi, agendo come "nanocanali", influenzano il processo. Nanotubi più piccoli offrono un percorso di diffusione più ristretto e, quindi, un rilascio più lento. Oltre che il diametro anche la lunghezza dei nanotubi può essere controllata con precisione regolando il tempo di anodizzazione durante la loro fabbricazione. Studi [48] hanno dimostrato che un aumento della lunghezza dei TNT (da 25 a 100 μm , mantenendo costante il diametro a 110 nm) porta a un prolungamento del tempo di rilascio del farmaco. Questo perché le molecole di farmaco situate più in profondità nei nanotubi più lunghi devono percorrere una distanza maggiore per essere rilasciate.

Il diametro e la lunghezza possono anche essere controllati in modo combinato per ottenere un profilo di rilascio del farmaco ancora più personalizzato. Le condizioni di anodizzazione (in particolare, la tensione e la durata) influenzano in combinazione sia il diametro che la lunghezza dei TNT.

Aumentando la tensione di anodizzazione, aumentano sia la lunghezza che il diametro dei TNT. Aumentando la durata dell'anodizzazione, aumenta la quantità di farmaco che può essere caricata nei TNT (probabilmente perché i nanotubi diventano più lunghi e/o più larghi) [52]. Le diverse sequenze di polarizzazione sono progettate per ottenere diverse morfologie di nanotubi, in particolare per controllare il diametro alla base e all'apertura del tubo [53].

La Figura 5.3 mostra come i profili di rilascio cambiano in base alle dimensioni dei TNT.

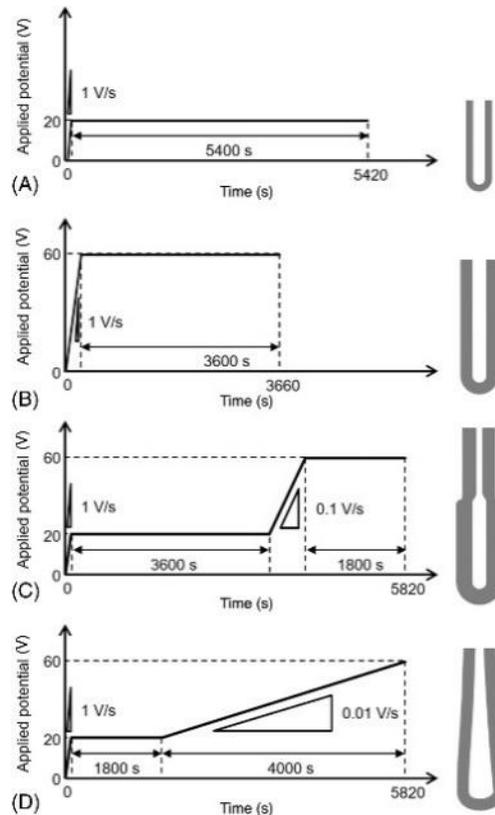


Figura 5.3. Relazione tra potenziale applicato e tempo. (A) TNT da 20V, (B) TNT da 60v, (C) TNT a due diametri, (D) TNT completamente rastremati. Figura tratta da6 con modifiche

Sequenze di tensione:

- **45 nm:** Nanotubi dritti (anodizzazione a 20V)
- **80 nm:** Nanotubi dritti (anodizzazione a 60V)
- **50 nm (due diametri):** Diametro minore in superficie e maggiore in profondità (anodizzazione da 20V a 60V)
- **49 nm (completamente rastremati):** Diametro che aumenta gradualmente dalla superficie alla profondità (anodizzazione con aumento graduale da 20V a 60V)
- **Finitura a specchio:** Campione di controllo senza nanotubi

Il rilascio dai campioni esaminati possiamo definirlo in due fasi. Un rilascio iniziale a raffica, ovvero rilascio cumulativo nelle prime 8 ore e rilascio lento, quindi il rilascio cumulato da 8 ore a 28 giorni. I nanotubi da 80 nm hanno mostrato il maggiore rilascio a raffica, mentre quelli da 50 nm hanno mostrato il maggiore rilascio lento e un rilascio sostenuto per tutta la durata dell'esperimento. Questi risultati suggeriscono che la morfologia dei nanotubi ha un impatto significativo sul comportamento di rilascio del farmaco [53]. Il processo di rilascio è mostrato in Figura 5.4.

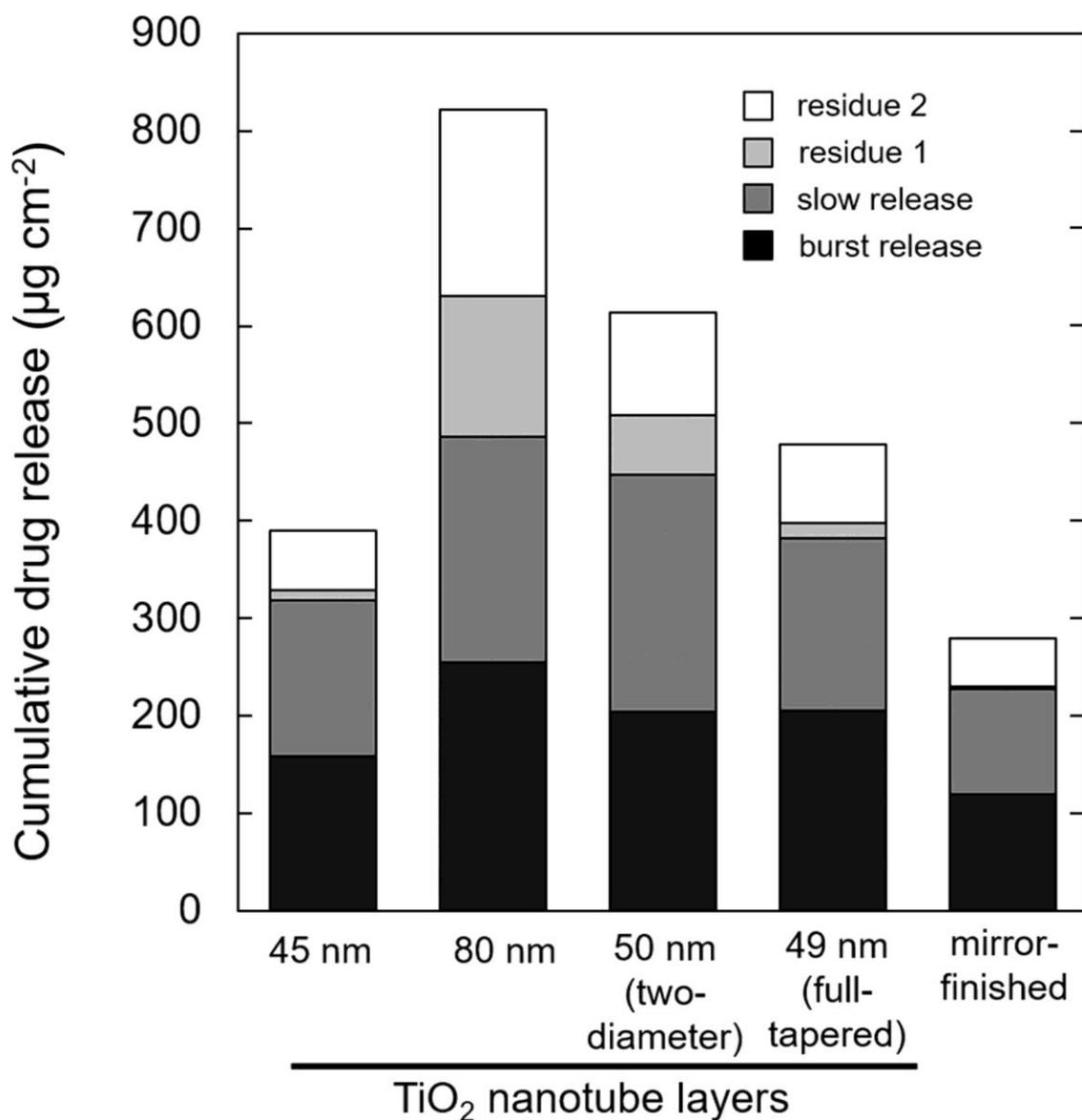


Figura 5.4: Quantità di farmaco rilasciata da ciascun processo e trattenuta per ciascun campione. Figura tratta da[53] con modifiche.

Le osservazioni FE-SEM hanno confermato la formazione delle strutture nano tubolari previste.

Profilo di rilascio

Rilascio a raffica: per 80 nm > 50 nm > 49 nm (completamente rastremati) > 45 nm > finitura a specchio.

Rilascio lento: per 50 nm (due diametri) > 49 nm (completamente rastremati).

Vantaggi dei nanotubi con modulazione del diametro:

- **Soppressione del rilascio a raffica iniziale:** I campioni da 50 nm (due diametri) e 49 nm (completamente rastremati) hanno un rilascio a raffica iniziale ridotto grazie al diametro minore in superficie.
- **Rilascio lento:** Il campione da 50 nm (due diametri) ha mostrato il maggiore rilascio lento, suggerendo una migliore capacità di rilascio prolungato del farmaco.

Gli strati di nanotubi di TiO₂ a diametro modulato su Ti e leghe di Ti ottimizzano le proprietà LDDS, adattando il rilascio del farmaco alle esigenze individuali del paziente, così da massimizzare l'effetto terapeutico.

5.1.3 Modifica del rilascio del farmaco tramite il controllo delle dimensioni dei pori in NAA (in inglese Anodized aluminum oxide nanotubes) e TNT

Come affermato in precedenza, la velocità di diffusione delle molecole di farmaco da strutture nano-confinato come i nanopori, secondo la legge di Fick, dipende dalle loro dimensioni. Poiché la dimensione dei pori in questi nano-canali può essere controllata con precisione su scala nanometrica, questa strategia è principalmente concepita per controllare il rilascio del farmaco. Quindi, ci si aspetta che modificando le dimensioni dei nanopori sia possibile modificare la loro capacità di rilascio.

Anodized aluminum oxide nanotubes (NAA) sono strutture nanometriche composte da ossido di alluminio, caratterizzate da una disposizione regolare di pori cilindrici. Questi materiali trovano applicazioni in diversi ambiti come il rilascio controllato di farmaci, la filtrazione, sensoristica e in ambiti elettronici.

Per studiare l'influenza delle dimensioni dei pori sul modello di rilascio del farmaco, abbiamo studiato NAA con diametri dei pori compresi tra 65 e 160 nm; e TNT con lunghezze dei nanotubi da 25 a 100 μm . L'intera dimensione di questi impianti è: 12 mm (larghezza) \times 12 mm (lunghezza) \times 0,25 mm (spessore). Per preparare NAA con diversi diametri dei pori ma della stessa lunghezza, è stata applicata una procedura di allargamento dei pori, utilizzando acido fosforico 0,1 M per 10 min, 50 min, 85 min e 120 min per creare un intervallo di diametri dei pori, ovvero 65 nm, 90 nm, 120 nm e 160 nm, rispettivamente. Le strutture e le dimensioni dei pori sono state confermate nelle immagini SEM come illustrato nella la Figura 5.5a. I diametri dei pori di NAA sono stati controllati da un processo di dissoluzione chimica (allargamento dei pori) e la Figura 5.5b mostra il grafico dei diametri dei pori rispetto al tempo di trattamento. Si è scoperto che i diametri dei pori da 65 nm a 160 nm corrispondono linearmente al tempo di allargamento dei pori (da 10 min a 120 min). Tutti i campioni preparati avevano uno spessore costante (lunghezza dei pori) di 20 μm . Una tipica struttura di TNT è presentata nella la Figura 5.5c, in cui è mostrata un'immagine SEM trasversale, con l'insero che raffigura l'effettivo impianto TNT fabbricato su un foglio di Ti. La lunghezza dei nanotubi è controllata dal tempo di anodizzazione e la Figura 5.5d mostra il grafico delle lunghezze del TNT (25 μm , 50 μm , 75 μm e 100 μm) che risultano essere linearmente dipendenti dal tempo di anodizzazione (ovvero 30 min, 60 min, 90 min e 120 min). Tutti i diametri dei pori del TNT sono mantenuti costanti a 110 nm.

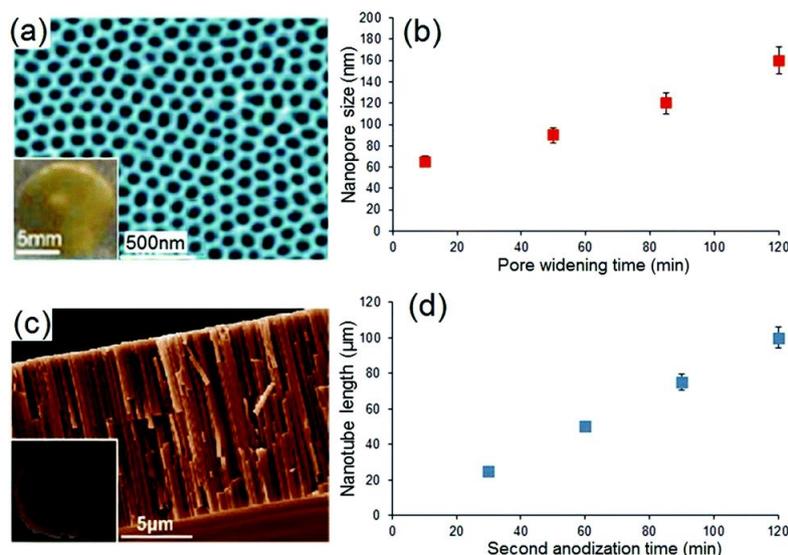


Figura 5.5 a) Immagine SEM di una superficie tipica di NAA che mostra la struttura dei nanopori, con inserto che mostra l'intero campione di NAA fabbricato su foglio di alluminio. (b) Grafico che mostra l'influenza del tempo di allargamento dei pori (10-120 min) sui diametri dei pori (65-160 nm) di NAA utilizzando acido fosforico 0,1 M. (c) Immagine SEM trasversale di uno strato di TNT fabbricato su foglio di titanio che mostra le strutture verticali dei nanotubi, con inserto che mostra la foto dell'impianto di TNT reale. (d) Grafico che mostra l'influenza del tempo di anodizzazione (30-120 min) sulla lunghezza del nanotubo (25-100 µm) di TNT

Studi sul rilascio di farmaci su questi campioni di NAA e TNT sono stati eseguiti utilizzando l'indometacina, un farmaco antinfiammatorio insolubile in acqua, come farmaco modello. Dall'analisi termogravimetrica (TGA), è stato confermato che NAA con dimensioni dei pori variabili da 65 nm a 160 nm ha dato origine a un carico di farmaco dal 19% al 26% e con un rilascio del farmaco che si estende da 5 a 6 giorni. I nanotubi in biossido di titanio una capacità di carico del farmaco simile, che va dal 15% al 26%, con un rilascio del farmaco più lungo, ovvero da 6 a 23 giorni. Questi risultati sono quelli previsti e confrontabili con la letteratura poiché dimensioni dei pori maggiori e lunghezza del tubo maggiore offrono più spazio e volume per caricare i farmaci e con quantità di farmaco maggiori immagazzinate all'interno degli impianti, il tempo di rilascio è stato prolungato, indicando la loro proporzionalità alla loro dimensione. È stato anche dimostrato che il TNT più corto (con lunghezza di 25 µm e 50 µm) offre un volume inferiore per il contenimento del farmaco (15-17% in peso) rispetto al TNT più lungo (75 µm e 100 µm). Tuttavia, è stato osservato che ci sono alcune limitazioni a questa correlazione quando si considerano le strutture più lunghe dei nanopori e dei nanotubi. Questo perché non c'è un aumento comparabile nella capacità di carico con una maggiore lunghezza del tubo. Le molecole del farmaco molto probabilmente non possono raggiungere le estremità più profonde dei nanotubi molto lunghi e stretti durante il processo di caricamento a causa dei limiti geometriche del possibile intrappolamento dell'aria che occupa il fondo dei canali. La tabella 5.1 presenta i dati della percentuale di stoccaggio del farmaco e del carico specifico del farmaco.

Tabella 5.1 Riepilogo del carico di farmaco ottenuto da TGA per la perdita di peso di indometacina da varie dimensioni di NAA TNT

Dimensioni pori NAA (nm)	Stoccaggio farmaco (%peso)	Carico farmaco (mg/cm²)	Lunghezza TNT (µm)	Stoccaggio farmaco (%peso)	Carico farmaco (mg/cm²)
65	18.9	1.9	25	15.4	1.98
90	20.1	2.48	50	17.3	2.02
120	22.3	2.64	75	25.8	2.86
160	26	2.97	100	25.4	2.53

I profili di rilascio del farmaco per NAA con diverse dimensioni dei nanopori e lunghezze dei pori costanti sono illustrati nella Figura 5.6. I grafici presentano il rilascio cumulativo del farmaco (%) rispetto al tempo di rilascio (giorni), con ingrandimenti nel grafico che mostrano il rilascio a raffica correlato al tempo di rilascio (ore). Questi risultati mostrano che il tempo di rilascio è stato leggermente ridotto a causa dell'ampliamento dei diametri dei pori. Nella Figura 5.6a sono state osservate due fasi di rilascio del farmaco; in primo luogo, un rilascio precoce o a raffica per 0-3 ore che è aumentato fino al 65-78% all'inizio, seguito da un rilascio prolungato e più lento che è durato 5 o 6 giorni. Il grande burst iniziale indica una quantità enorme di farmaco eluito dal sistema, il che implica che il contenimento fisico del farmaco all'interno della nanostruttura è debole. Un diametro dei pori più grande suggerisce uno spazio maggiore per il trasporto molecolare, poiché porta a un maggiore contatto tra farmaco e mezzo acquoso, con conseguente minore impedenza per la diffusione del farmaco nella soluzione in massa. Le dimensioni più piccole dei pori (65 nm e 90 nm) potrebbero coinvolgere meglio le interazioni superficiali tra le molecole del farmaco e le pareti dei pori, che a loro volta amplificano gli effetti capillari risultando in un rilascio più lento. La differenza rispetto alla percentuale di rilascio cumulativo dei farmaci e al tempo richiesto per il completamento del rilascio da NAA non è statisticamente significativa. Tuttavia, si prevede che la riduzione a diametri dei pori notevolmente più piccoli (da 10 nm a 20 nm) ridurrà ulteriormente il tempo di rilascio del farmaco e la capacità di caricamento del farmaco.

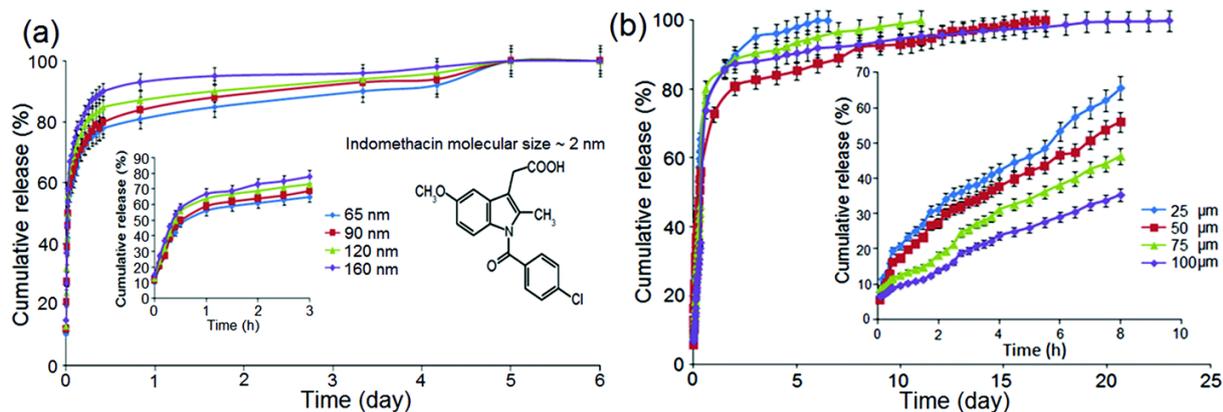


Figura 5.6 Rilascio cumulativo (%) di indometacina da NAA e TNT. Gli inserti dei grafici mostrano il rilascio iniziale per le prime ore

I profili di rilascio del farmaco dell'indometacina caricata nell'impianto TNT con un diametro dei pori costante di 110 nm e diverse lunghezze dei nanotubi (25-100 μm) sono mostrati nella Figura 5.6b. Questi risultati mostrano che il tempo di rilascio è stato esteso a causa di un aumento della lunghezza del nanotubo. Il grafico mostra un intervallo di rilascio più lungo che si estende da 6 a 24 giorni. Il profilo di rilascio è di nuovo bifasico con una fase rapida (burst) nelle prime 6 ore; seguita da un rilascio complessivo nelle successive 1-3 settimane. Il rilascio burst del 32-64% è attribuito all'elevata concentrazione iniziale del farmaco nella parte superiore della superficie dei TNT. È interessante notare che è stato scoperto che più lunghe sono le strutture dei nanotubi, minore è il rilascio burst. Questo rilascio prolungato del farmaco osservato è supportato dal fatto che il farmaco è stato intrappolato più in profondità all'interno dei canali verticali e pertanto ha avuto bisogno di più tempo per diffondersi poiché gli effetti capillari erano più efficaci.

Questi risultati sono in accordo con studi precedenti su NAA e TNT, confermando l'influenza delle dimensioni dei pori sul caricamento del farmaco (paclitaxel) e sulle prestazioni di rilascio del farmaco. Ad esempio, Gong *et al.* hanno dimostrato il rilascio controllato di coniugati di isotiocianato di fluoresceina e destrano da NAA, dimostrando che il loro rilascio potrebbe essere facilmente controllato a seconda delle dimensioni dei pori di NAA.[55] Un'influenza simile sulle dimensioni dei pori è stata riportata anche in letteratura quando si utilizzano matrici di silice mesoporosa come piattaforma di rilascio del farmaco. Un esempio è MCM-41 templato, dove la sua differenza di dimensioni si rifletteva sulla velocità di diffusione dell'ibuprofene.

Il tasso di rilascio del farmaco può essere modellato dalle curve di miglior adattamento secondo l'equazione seguente (8):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{\exp[-D(2n+1)^2\pi^2t/L^2]}{(2n+1)^2} \quad (8)$$

dove M_t rappresenta la quantità cumulativa di farmaco rilasciato al tempo t ; M_∞ quantità cumulativa di farmaco dopo un tempo infinito; D il coefficiente di diffusione del farmaco all'interno delle nanostrutture; L lo spessore dell'impianto di rilascio del farmaco. Tutti questi parametri possono essere ottenuti da dati sperimentali, ad eccezione di D . Questa quantità

sconosciuta può essere calcolata dall'equazione. La diffusione del farmaco attraverso i pori del substrato è il passaggio limitante la velocità che governa il processo e quindi determina l'entità di D (valore del coefficiente). Inoltre, si può dedurre dall'equazione che la velocità di rilascio del farmaco è proporzionale alla variazione dimensionale dell'impianto. Di conseguenza, il rilascio del farmaco può essere quantificato matematicamente.

In conclusione, questi studi hanno dimostrato che ci sono alcune limitazioni derivanti dall'approccio di modifica strutturale dovute a un compromesso tra capacità di carico e prestazioni di rilascio, che devono essere ottimizzate a seconda della terapia richiesta, del dosaggio, delle proprietà delle molecole del farmaco, del tempo di rilascio. Questi risultati hanno mostrato che alterando i diametri dei pori di 10–20 nm, è possibile manipolare il carico e il rilascio del farmaco del 10–20%. Sono evidenti le limitazioni dell'utilizzo di diametri dei pori più grandi, perché le molecole del farmaco possono diffondersi molto rapidamente dalle strutture nanoporose (poiché la dimensione delle molecole è notevolmente inferiore rispetto ai nanopori). Questi risultati hanno confermato che l'ottimizzazione delle dimensioni dei pori negli impianti è essenziale per soddisfare requisiti specifici come il farmaco caricato totale, il dosaggio del farmaco e il tempo di rilascio. Si può concludere che gli impianti NAA e TNT sono stati studiati per il caricamento di farmaci, ad esempio farmaci antitumorali, antibiotici, anabolizzanti, peptidi e proteine morfogenetiche, per dimostrare le loro potenziali applicazioni nelle terapie localizzate per ossa e cancro.

5.1.4 Modifica del rilascio del farmaco mediante la funzionalizzazione dei nanopori

Funzionalizzando la superficie dei nanotubi posso ottenere un rilascio farmacologico ottimizzato. L'obiettivo è modulare l'interazione farmaco-superficie attraverso modifiche chimiche, variando da idrofobiche a idrofile, influenzando così il caricamento e la cinetica di rilascio.

Per esaminare l'effetto della funzionalizzazione sulle caratteristiche di rilascio dei TNT, sono stati impiegati mono-strati autoassemblati (SAM) di organosilani e acidi fosfonici. In particolare, sono stati utilizzati organosilani come il 3-amminopropil trietossisilano (APTES) e il penta-fluorofenildimetilclorosilano (PFPTES), e acidi fosfonici come l'acido 2-carbossietil-fosfonico (2-phos) e l'acido 16-fosfono-esadecanoico (16-phos). I SAM offrono un processo di modifica molto versatile e buona stabilità nell'uso di diversi gruppi funzionali.

In questo studio, è stato valutato il rilascio di indometacina, un farmaco insolubile in acqua, da TNT modificati. I risultati hanno evidenziato che la cinetica di rilascio è influenzata dalla chimica superficiale dei TNT. I TNT funzionalizzati con 2-phos, che conferisce proprietà idrofile, hanno un rilascio più lento rispetto ai TNT modificati con 16-phos, che inducono un ambiente più idrofobico. La differenza nel tempo di rilascio tra TNT non modificati, idrofobici e idrofili è risultata essere di 3-4 giorni, evidenziando l'impatto significativo della funzionalizzazione superficiale. In termini di rilascio prolungato, la prestazione in ordine crescente è stata: 16-phos TNT < TNT nudo < 2-phos TNT, indicando come si vede in Figura 5.7 d che la superficie idrofila supporta un rilascio più esteso nel tempo.

Il caricamento del farmaco sui TNT avviene tramite adsorbimento, un processo potenziato su scala nanometrica e influenzato dalla chimica superficiale. La funzionalizzazione con APTES e 2-phos ha migliorato l'adsorbimento dell'indometacina sulle pareti dei TNT, grazie alle loro proprietà idrofile, con un aumento del caricamento del 30-36% rispetto ai TNT non modificati. Per il caricamento del farmaco effettuato in TNT modificati in superficie, considerando APTES (idrofilo) e PFPTES (idrofobico) come agenti modificatori che erano

legati covalentemente all'interno delle pareti di TNT, il caricamento del farmaco si è rivelato più efficace con la superficie modificata rispetto alla controparte non modificata.

Il gruppo silano presente nell'APTES facilita l'idrofilizzazione della superficie interna dei TNT, e in modo analogo, altri gruppi funzionali possono essere utilizzati per modulare le proprietà superficiali.

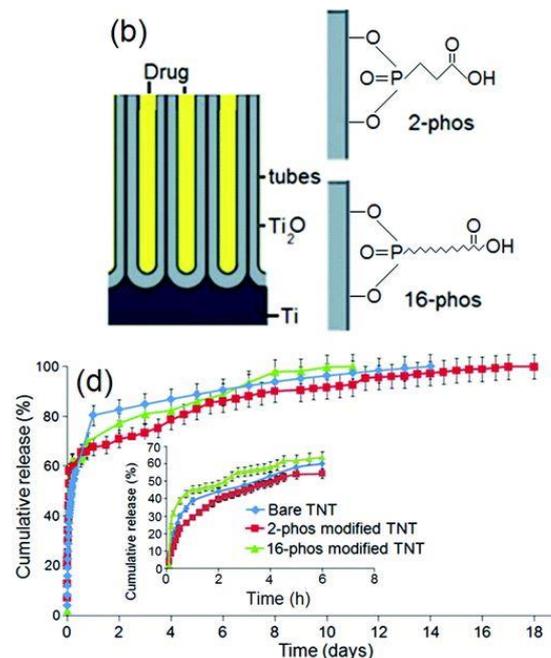


Figura 5.7: Schemi che mostrano il concetto di modifica chimica: (b) su TNT mediante acido fosfonico utilizzando acido 2-carbossietil-fosfonico (2-phos) e acido 16-fosfono-esadecanoico (16-phos), (d) rilascio del farmaco da TNT modificato con 2-phos, 16-phos e campione di controllo (TNT nudo e non modificato).

5.1.5 Strategie di rilascio di multi-farmaco sequenziale e ritardato

Per il trattamento di patologie complesse, l'approccio tradizionale basato su un singolo farmaco può risultare in alcuni casi non efficace. Risulta quindi necessario sviluppare strategie che permettano la somministrazione controllata di più farmaci, ciascuno con la propria specificità d'azione. Una soluzione a questo problema potrebbe essere l'uso di nano-vettori come le micelle polimeriche caricate con diverse sostanze e inserite all'interno dei nanotubi in biossido di titanio. L'idea alla base è di sfruttare la capacità delle micelle di incapsulare farmaci diversi, proteggendoli e controllandone il rilascio. I TNT, a loro volta, hanno la funzione di serbatoio, permettendo di veicolare le micelle in modo mirato nel tempo. In questo modo, è possibile ottenere un rilascio multi-farmaco che può essere:

- Simultaneo: tutti i farmaci vengono rilasciati contemporaneamente.
- Sequenziale: i farmaci vengono rilasciati uno dopo l'altro, in un ordine prestabilito.
- Ritardato: uno o più farmaci vengono trattenuti all'interno dei TNT per un periodo di tempo programmato, per poi essere rilasciati in un secondo momento.

In questo modo si aumenta l'efficacia terapeutica, sfruttando la sinergia dei diversi farmaci che vengono rilasciati in tempi e modalità precise. Può migliorare la compliance del paziente così da ridurre la frequenza di somministrazione dei vari farmaci, somministrando anche dosi più basse del farmaco riduce i possibili effetti collaterali

Come si vede dalla Figura 5.8 il rilascio multi-farmaco è possibile grazie alla struttura stessa dei nanotubi e delle micelle polimeriche che vengono usate come vettori per i farmaci. La struttura geometrica dei TNT permette di alloggiare strati distinti di micelle, ciascuno contenente uno o più farmaci. Questo permette la formazione di due o più strati immiscibili di nano-vettori all'interno dei TNT, ottenuta sfruttando le proprietà interfaciali opposte delle micelle. In particolare, utilizziamo micelle polimeriche "regolari" (idrofobiche) e "invertite" (idrofile), che, grazie alla loro incompatibilità, si auto-assemblano in strati separati all'interno dei nanotubi, prevenendo la miscelazione dei farmaci.

Questa stratificazione controllata permette di ottenere un rilascio sequenziale dei farmaci, in cui il numero, la quantità, il tempo e l'ordine di rilascio possono essere modulati agendo sulle condizioni di caricamento, sulle dimensioni dei TNT e sulle proprietà superficiali dei nano-vettori.

Sono stati selezionati tre farmaci modello per lo studio:

- **Indometacina (ind):** antinfiammatorio idrofobico, incapsulato in micelle regolari di TPGS.
- **Gentamicina (gen):** antibiotico idrofilo, incapsulato in micelle invertite di DGP 2000.
- **Itraconazolo (itr):** antimicotico idrofobico, anch'esso incapsulato in micelle di TPGS, sia singolarmente (itr-TPGS) che in combinazione con l'indometacina (ind-itr-TPGS).

Le micelle invertite, sintetizzate appositamente per avere un nucleo idrofilo in grado di solubilizzare la gentamicina, sono state caricate per prime sul fondo dei TNT. Successivamente, le micelle regolari sono state caricate nella parte superiore, creando una struttura a strati.

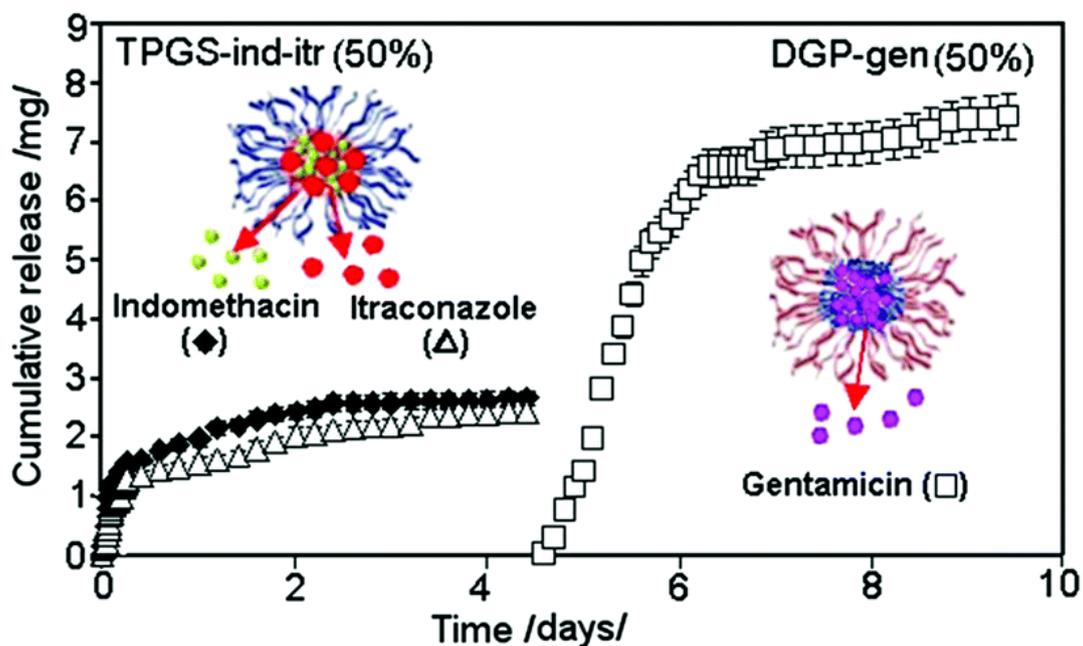


Figura 5.8: Rilascio sequenziale e multiplo di farmaci da impianto TNT caricato con due trasportatori di farmaci

La Figura 5.8 presenta un grafico che illustra il funzionamento del nostro sistema di somministrazione multi-farmaco basato su nanotubi di titanio (TNT). In questo esperimento, i TNT sono stati caricati con due strati distinti di nano-vettori, ciascuno deputato al rilascio di farmaci specifici.

Lo strato superiore è composto da micelle "regolari" di TPGS, incapsulanti due farmaci idrofobici: l'indometacina (ind), un antinfiammatorio, e l'itraconazolo (itr), un antimicotico. Lo strato inferiore, invece, è costituito da micelle "invertite" di DGP 2000, contenenti gentamicina (gen), un antibiotico idrofilo.

Nel grafico si può notare un rilascio sequenziale, suddiviso in due fasi distinte di cinque giorni ciascuna, per una durata totale di dieci giorni. Questa configurazione conferma la capacità del sistema di rilasciare in modo indipendente tre farmaci, due dal vettore superiore e uno da quello inferiore, dimostrando il controllo sulla quantità di farmaci rilasciati.

La transizione netta tra le due fasi di rilascio è un aspetto importante. Il rilascio della gentamicina (gen) dallo strato inferiore inizia solo dopo il completo rilascio dell'indometacina (ind) e dell'itraconazolo (itr) dallo strato superiore. Questo comportamento è attribuito alla forte repulsione tra le micelle di TPGS (idrofile) e DGP 2000 (idrofobe), che mantiene i due strati separati e impedisce la miscelazione dei farmaci. I profili di rilascio risultano quindi indipendenti e distinti l'uno dall'altro come si nota in Figura 5.9.

Si potrebbe invertire la sequenza di rilascio del sistema senza avere particolari problemi modificando l'ordine di caricamento dei nano vettori; ciò è indice della flessibilità del sistema. Questo permette di adattare il sistema a diverse esigenze terapeutiche, rilasciando farmaci idrofobici e idrofili in sequenze personalizzate.

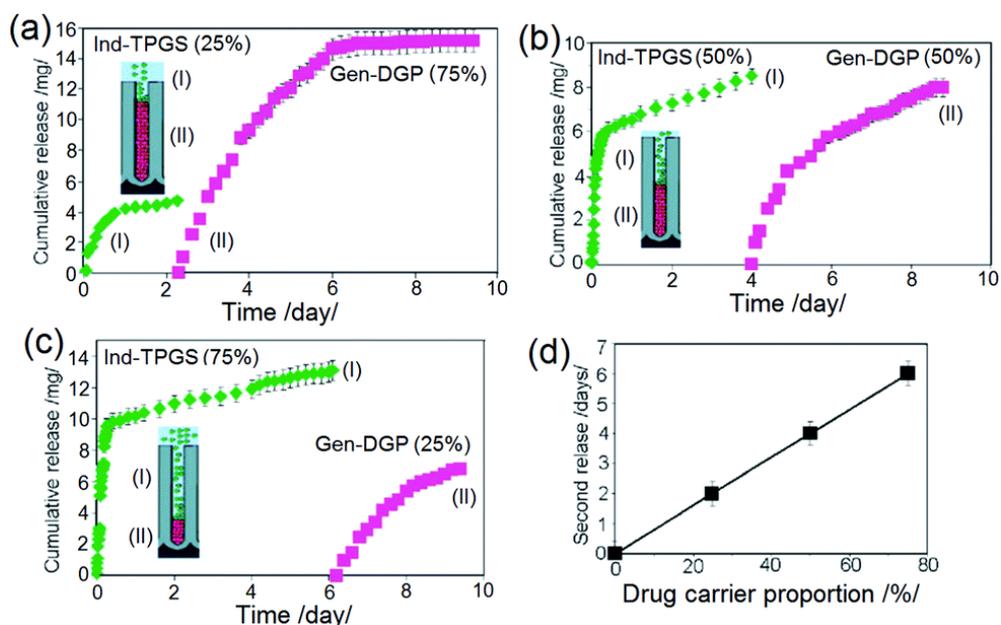


Figura 5.9: Caratteristiche di rilascio del farmaco in vitro di due trasportatori di farmaci, tra cui TPGS caricato con indometacina e DGP 2000 caricato con gentamicina

Per dimostrare la capacità del nostro sistema di rilascio multifarmaco di controllare con precisione la sequenza e la tempistica di rilascio dei farmaci, sono stati condotti una serie di esperimenti variando la composizione degli strati di nano-vettori all'interno dei nanotubi di titanio (TNT). Sono state preparate diverse formulazioni utilizzando micelle di TPGS caricate

con indometacina (TPGS-ind) e micelle di DGP 2000 caricate con gentamicina (DPG-gen), variando il rapporto tra i due tipi di micelle (25:75, 50:50, 75:25).

I risultati ottenuti, riassunti nei grafici di rilascio presentati in Fig. 5.10, mettono in evidenza come le proporzioni e i rapporti dei nano vettori all'interno dei nanotubi influenzino le tempistiche del rilascio sequenziale. Modificando il rapporto tra le micelle, abbiamo potuto modulare con precisione il tempo di rilascio di ciascun farmaco. Ad esempio, il tempo di rilascio del secondo farmaco è stato variato da 2 ore a 6 ore, fino a 4 giorni, a seconda della proporzione e della quantità di micelle caricate nei TNT.

Questi risultati confermano che le micelle di TPGS (idrofile) e DGP 2000 (idrofobe) non si mescolano all'interno dei nanotubi, mantenendo la loro separazione in strati distinti. Il rilascio di ciascun farmaco avviene in modo indipendente, simulando il comportamento di nanoparticelle con caricamento del farmaco strato per strato.

Inoltre, è stato osservato che il rilascio di entrambi i farmaci segue cinetiche sia di ordine zero che di primo ordine. Questo comportamento è particolarmente vantaggioso per le terapie ossee, dove è spesso auspicabile una somministrazione combinata di farmaci con rilascio sia immediato che prolungato.

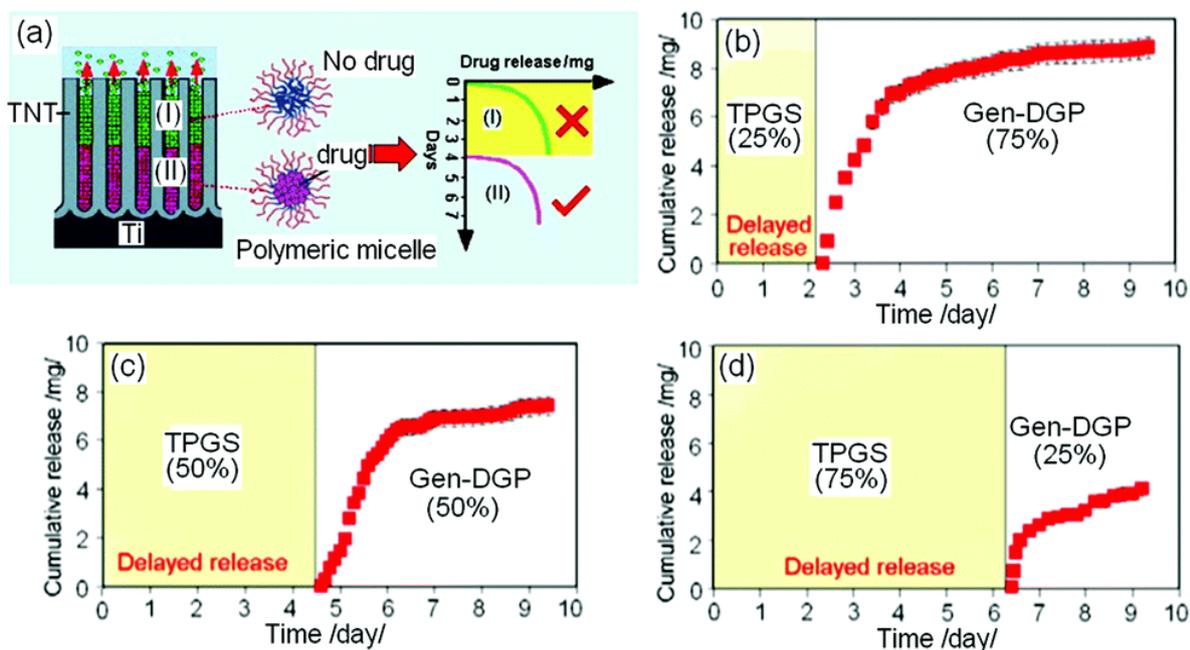


Figura 5.10: a) Schema che mostra il rilascio ritardato da TNT con micelle polimeriche vuote nello strato superiore dei nanotubi che non trasportano farmaci; mentre lo strato inferiore immiscibile di micelle (di un altro tipo) è stato incapsulato con farmaci, dando origine al rilascio ritardato di farmaci terapeutici. Le caratteristiche di rilascio mostrano il tempo di ritardo regolabile controllando il rapporto di micelle vuote (TPGS vuote) e micelle caricate di farmaci (DGP-gen) con rapporti di (b) 1 : 3 (c) 1 : 1, (d) 3 : 1. Figura tratta da [55]

Oltre al rilascio multi-farmaco sequenziale, si può utilizzare un approccio diverso per ottenere un rilascio ritardato e programmabile del farmaco. Questo metodo ha lo scopo di fornire una somministrazione localizzata di farmaci in un momento posticipato rispetto all'impianto.

Il design di questo sistema ricorda da vicino quello del rilascio multi-farmaco, con la principale differenza nell'utilizzo di micelle "vuote" (non caricate) in combinazione con

micelle caricate con un singolo farmaco. Nello specifico, abbiamo utilizzato l'indometacina (ind) incapsulata in micelle di Pluronic, TPGS e PEO-PPO-PEO.

Si è variato il rapporto tra micelle vuote e micelle cariche di farmaco (1:3, 1:1, 3:1), caricando le micelle vuote nella parte superiore dei TNT e le micelle cariche nella parte inferiore. I grafici di rilascio, presentati in Figura 5.10, evidenziano un rilascio bifasico:

- **Fase 1 (rilascio ritardato):** un rilascio iniziale minimo o nullo nelle prime 6-8 ore, dovuto alla presenza delle micelle vuote che fungono da barriera alla diffusione del farmaco.
- **Fase 2 (rilascio terapeutico):** un rilascio più lento e sostenuto del farmaco per 7-10 giorni, a seconda del rapporto tra micelle vuote e cariche.

Le micelle vuote sopprimono il rilascio iniziale del farmaco creando un effetto di ritardo programmabile. Questo approccio è particolarmente vantaggioso in contesti clinici dove è desiderabile posticipare l'effetto terapeutico, ad esempio in ortopedia e terapie ossee per prevenire infezioni post-chirurgiche.

5.2 Rilascio in risposta a stimoli esterni

I sistemi di rilascio di farmaci dai TNT possono essere attivati o modulati da stimoli esterni. In caso di eventi specifici in cui c'è bisogno di una risposta rapida questo approccio può risultare molto utile. Nella maggior parte delle situazioni il rilascio di farmaco in modo costante e prolungato nel tempo risulta essere utile (un esempio è il caso della prevenzione del rigetto dopo un trapianto). Alcuni casi specifici richiedono un rilascio del farmaco "su richiesta", come per esempio un'inflammatione improvvisa o un problema virale acuto.

Il rilascio di farmaci dai nanotubi di TiO_2 può essere attivato da stimoli esterni, come la luce, il calore o il pH. Questo può essere ottenuto funzionalizzando i nanotubi con molecole che rispondono a questi stimoli. La capacità di controllare il rilascio del farmaco mi dà la possibilità di creare terapie mirate e personalizzate per ogni paziente, consentendo il rilascio farmacologico solo nel sito di interesse e al momento opportuno.

5.2.1 Rilascio del farmaco tramite molecole fotosensibili

La funzionalizzazione dei nanotubi di TiO_2 con molecole fotosensibili consente di creare sistemi in cui il rilascio del farmaco può essere attivato e modulato mediante l'irradiazione luminosa. Specifiche lunghezze d'onda possono attivare le molecole che rilasciano il farmaco nel sito di interesse. La possibilità di controllare in maniera precisa la lunghezza d'onda permette di avere un rilascio mirato di farmaco.

Questo approccio offre diversi vantaggi:

- Rilascio di farmaci sito-specifico: focalizzando la luce su una specifica area corporea, consento il rilascio farmacologico solo dove richiesto.
- Rilascio di farmaci controllato nel tempo: si può avere un controllo oltre che a livello spaziale anche a livello temporale; controllando intensità e durata irradiazione luminosa che determinano velocità rilascio farmaco.
- Riduzione degli effetti collaterali: anche gli effetti collaterali risultano essere ridotti potendo controllare in modo preciso il rilascio del farmaco nello spazio e nel tempo.

Le molecole fotosensibili che possono essere utilizzate nella funzionalizzazione dei TNT sono diverse. Per esempio:

- **Le porfirine:** Sono composti organici con un'elevata capacità di assorbimento della luce, che possono essere utilizzate per generare specie reattive dell'ossigeno (ROS) in seguito all'irradiazione. Le ROS possono a loro volta degradare il farmaco o il legame tra il farmaco e il nanotubo, innescando il rilascio del farmaco.
- **I derivati della cumarina:** In seguito all'irradiazione, i derivati della cumarina possono subire isomerizzazione o reazioni di ciclo addizione, che possono essere sfruttate per rilasciare il farmaco.
- **I *quantum dot*:** Sono nanocristalli semiconduttori che emettono luce a specifiche lunghezze d'onda in seguito all'eccitazione. Possono essere utilizzati per attivare il rilascio di farmaci da nanotubi di TiO₂ funzionalizzati con molecole che rispondono a specifiche lunghezze d'onda.

I meccanismi di rilascio di farmaci indotti dalla luce in nanotubi di TiO₂ funzionalizzati possono variare a seconda della molecola fotosensibile utilizzata e del tipo di interazione tra il farmaco e il nanotubo. Alcuni dei meccanismi più comuni includono:

- **Fotodegradazione del farmaco:** L'irradiazione luminosa può indurre la degradazione del farmaco, rilasciandolo dal nanotubo. Ad esempio, alcuni farmaci antitumorali possono essere progettati per degradarsi in seguito all'esposizione a una specifica lunghezza d'onda della luce, rilasciando il farmaco attivo solo nell'area del tumore.
- **Rottura del legame farmaco-nanotubo:** La luce può rompere il legame chimico tra il farmaco e il nanotubo, consentendo il rilascio del farmaco. Questo meccanismo può essere utilizzato con farmaci che sono legati al nanotubo tramite un legame fotosensibile, come un legame estere che si rompe in seguito all'irradiazione.
- **Cambiamenti conformazionali:** L'irradiazione luminosa può indurre cambiamenti conformazionali nella molecola fotosensibile o nel nanotubo, che possono portare al rilascio del farmaco. Ad esempio, alcune molecole fotosensibili possono cambiare la loro forma in seguito all'esposizione alla luce, causando il rilascio del farmaco che era precedentemente intrappolato all'interno della struttura del nanotubo.
- **Generazione di ROS:** Le ROS generate dalla molecola fotosensibile in seguito all'irradiazione possono degradare il farmaco o il legame farmaco-nanotubo, innescando il rilascio del farmaco. Questo meccanismo è spesso utilizzato con le porfirine, che possono generare ROS in seguito all'esposizione alla luce, inducendo la degradazione del farmaco o del legame farmaco-nanotubo.

Tra le possibili applicazioni in ambito biomedico possiamo ricordare:

- **Le terapie antitumorali:** Il rilascio controllato di farmaci chemioterapici direttamente nel tumore può migliorare l'efficacia del trattamento e ridurre gli effetti collaterali. Alcuni farmaci antitumorali come la doxorubicina possono essere usati per funzionalizzare i TNT, così da essere rilasciati direttamente in cellule tumorali dopo l'irradiazione luminosa.
- **Terapia antimicrobica:** Per il trattamento di infezioni localizzate si possono caricare i TNT con antibiotici (per esempio la vancomicina) e rilasciati nel sito di infezione in seguito all'esposizione alla luce. Ciò permette l'uccisione dei batteri in maniera mirata rilasciando gli agenti antimicrobici presenti nei nanotubi.

- Rigenerazione tissutale: Il rilascio controllato di fattori di crescita può promuovere la rigenerazione tissutale in seguito a lesioni o interventi chirurgici. I nanotubi di TiO₂ possono essere funzionalizzati con fattori di crescita come il VEGF (fattore di crescita endoteliale vascolare) e rilasciati nel sito della lesione per stimolare la crescita di nuovi vasi sanguigni e la riparazione dei tessuti.
- Somministrazione di farmaci al sistema nervoso centrale: per superare la barriera emato-encefalica è rilasciare il farmaco direttamente nel cervello i nanotubi di biossido di titanio possono essere funzionalizzati per fare questo. Studi in questa direzione vengono fatti per utilizzare questo approccio nel trattamento di malattie neurodegenerative.

5.2.2 Rilascio del farmaco tramite cambiamento della temperatura

Tra i sistemi a rilascio controllato innescato da stimoli esterno, la temperatura si distingue come un metodo interessante, soprattutto nel contesto dell'ipertermia oncologica. L'ipertermia oncologica è una modalità di trattamento del tumore in cui il tessuto viene esposto a temperature elevate (generalmente tra 40-45°C) per danneggiare e uccidere le cellule tumorali o per renderle più sensibili ad altre terapie come la radioterapia e la chemioterapia. Poiché le cellule tumorali, a causa del loro metabolismo alterato e del microambiente spesso disorganizzato (con vasi sanguigni irregolari e scarsa ossigenazione), sono più sensibili ai danni da calore rispetto alle cellule normali.

Solitamente vengono utilizzati dei polimeri fotosensibili per funzionalizzare i nanotubi in biossido di titanio e renderli sensibili alle variazioni di temperatura. Questi polimeri subiscono una transizione da uno stato idrofilo a uno stato idrofobo al di sopra di una specifica temperatura, nota come temperatura critica di soluzione (LCST). Questo cambiamento conformazionale può essere sfruttato per innescare il rilascio di farmaci [48].

Un esempio è uno studio [54] che ha impiegato la vitamina B come farmaco modello e TNT come piattaforma di rilascio. La strategia chiave di questo studio consiste nella funzionalizzazione dei TNT con uno strato di idrogel composito composto da poli(N-isopropilacrilammide) (PNIPAAm) e poli(acrilammide) (PAAm). Questo idrogel è stato applicato come rivestimento sulla superficie dei TNT, sigillando completamente le aperture dei nanotubi.

L'idrogel composito PNIPAAm/PAAm presenta uno stato ad alto contenuto d'acqua che impedisce il rilascio del farmaco da TNT quando la temperatura circostante è al di sotto della sua temperatura di soluzione critica inferiore, mentre l'idrogel composito è in uno stato di collasso per consentire il rilascio del farmaco da TNT una volta che la temperatura è superiore alla temperatura di soluzione critica inferiore, come mostrato in Figura 5.11a. Il profilo di rilascio del farmaco dei TNT puri a 25°C è superiore a quello dei TNT rivestiti di idrogel nelle stesse condizioni, poiché non vi è alcuna barriera che blocchi il rilascio del farmaco. Quando la temperatura aumenta a 38°C a causa della reazione infiammatoria, i TNT rivestiti di idrogel mostrano profili di rilascio molto più elevati rispetto a quelli dei TNT rivestiti di idrogel a 25°C, come mostrato nella Figura 5.11b. Questo perché 38°C è superiore alla temperatura critica inferiore della soluzione dell'idrogel composito; quindi, l'idrogel composito era in uno stato di collasso per consentire il rilascio del farmaco dai TNT.

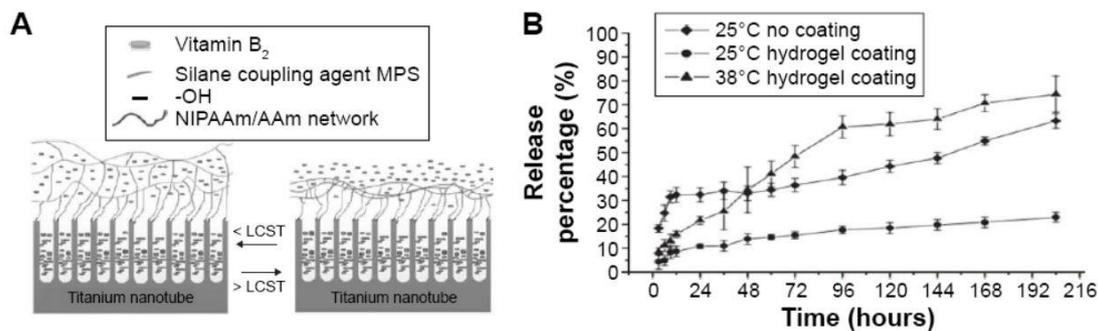


Figura 5.11: Illustrazione schematica dello stimolo a temperatura controllata per innescare il rilascio del farmaco basato su TNT. (A) Panoramica dei TNT caricati con farmaci con rivestimento in idrogel (B) profili di rilascio del farmaco dai TNT. Figura tratta da [50] con modifiche.

I vantaggi che offre il rilascio del farmaco in risposta a una variazione di temperatura sono:

- Rilascio di farmaci sito-specifico. La variazione della temperatura può essere facilmente ottenuta in aree corporee specifiche, evitando di provocare un cambiamento della temperatura in zone sensibili. Questa variazione di temperatura può essere fatta generando un campo magnetico esterno o utilizzando ultrasuoni.
- Anche in questo caso la velocità di rilascio del farmaco nel tempo può essere controllata facilmente in base alla velocità di variazione della temperatura
- Riduzione degli effetti collaterali e miglioramento efficacia terapeutica: se da una parte il rilascio mirato del farmaco riduce l' 'esposizione sistemica, dall' altra parte ne migliora l'efficacia del trattamento

Fra le varie applicazioni che hanno i TNT utilizzati per rilascio farmaco con variazione di temperatura abbiamo:

- Terapia antitumorale: durante il processo di ipertermia, tecnica che utilizza il calore per eliminare le cellule tumorali, il rilascio dei farmaci chemioterapici può essere affidato ai nanotubi di biossido di titanio così da aumentare l'efficacia finale del trattamento.
- Somministrazione di farmaci a tessuti profondi: una delle difficoltà per i metodi di somministrazione tradizionale è quella di permettere al farmaco di raggiungere i tessuti più profondi. Poiché potrebbero essere eliminati dal corpo prima di raggiungerli. Invece il rilascio farmacologico attivato da una variazione di temperatura può ovviare a questo problema.
- Terapia genica: la variazione di temperatura può permettere il rilascio di materiale genico incapsulato nei nanotubi.

Allo stesso tempo l'utilizzo della temperatura come stimolo esterno ha delle controindicazioni; basti pensare al rischio di danneggiamento dei tessuti prossimi al sito del trattamento per un aumento eccessivo di temperatura o per un tempo di esposizione troppo prolungato.

5.2.3 Rilascio del farmaco tramite variazione del pH

Un altro metodo per il rilascio controllato di farmaci dai TNT potrebbe essere quello di utilizzare polimeri sensibili alla variazione del pH. Questi polimeri cambiano le loro proprietà

(ad esempio, si gonfiano o si contraggono) in risposta a variazioni del pH dell'ambiente circostante [50].

Il rilascio di farmaci innescato dal pH dai nanotubi di TiO_2 può essere ottenuto attraverso diversi meccanismi, tra cui:

- Cambiamenti conformazionali: le variazioni di pH possono indurre cambiamenti conformazionali nel nanotubo o nel farmaco, portando al rilascio del farmaco.
- Degradazione del farmaco: alcuni farmaci possono essere progettati per degradarsi a specifici valori di pH, rilasciando il farmaco attivo solo nell'area desiderata.
- Rottura del legame farmaco-nanotubo: il pH può influenzare il legame chimico tra il farmaco e il nanotubo, consentendo il rilascio del farmaco a determinati valori di pH.

I nanotubi di TiO_2 con rilascio di farmaci innescato dal pH hanno un grande potenziale per diverse applicazioni biomediche, tra cui:

- Terapia antitumorale: il pH del microambiente tumorale è spesso più acido rispetto ai tessuti sani. I nanotubi di TiO_2 possono essere progettati per rilasciare farmaci chemioterapici in risposta a questo pH acido
- Somministrazione di farmaci al sistema nervoso centrale: il pH del fluido cerebrospinale è diverso da quello del sangue. I nanotubi di TiO_2 sensibili al pH possono essere utilizzati per rilasciare farmaci nel cervello in modo controllato.
- Terapia antimicrobica: il pH può variare nei siti di infezione. I nanotubi di TiO_2 possono essere utilizzati per rilasciare agenti antimicrobici in risposta a queste variazioni di pH, trattando le infezioni in modo mirato.

Il seguente studio [50] ha dimostrato che l'aggiunta di acido poli lattico-co-glicolico (PLGA), un polimero biocompatibile e biodegradabile, ai TNT può migliorare significativamente il controllo del rilascio del farmaco. Nel loro studio, hanno utilizzato Carprofen (un antinfiammatorio non steroideo) e Lidocaina (un anestetico locale) come farmaci modello, incorporandoli in sistemi PLGA/TNT.

Per studiare l'influenza del pH sul rilascio, sono stati condotti esperimenti a 37°C in diversi tamponi: acetato di sodio (pH 3.5), soluzione salina tamponata con fosfato (pH 7.4) e tampone fosfato (pH 10.5). I risultati hanno mostrato che il grado di rigonfiamento del PLGA, e di conseguenza la velocità di rilascio del farmaco, variava in funzione del pH [48].

Il meccanismo di rilascio proposto prevede due fasi come riportato Figura 5.12:

1. Diffusione Iniziale (t_1): Il farmaco diffonde rapidamente attraverso il polimero PLGA gonfio. Il grado di rigonfiamento, e quindi la velocità di diffusione, dipende dal pH.
2. Degradazione del Polimero (t_2): Il farmaco rimanente viene rilasciato a seguito della graduale degradazione del PLGA.

I profili di rilascio di Lidocaina e Carprofen da PLGA/TNT sono stati confrontati con quelli ottenuti da TNT puri (utilizzati come controllo). Si è evidenziato l'effetto del PLGA nel modulare il rilascio in funzione del pH.

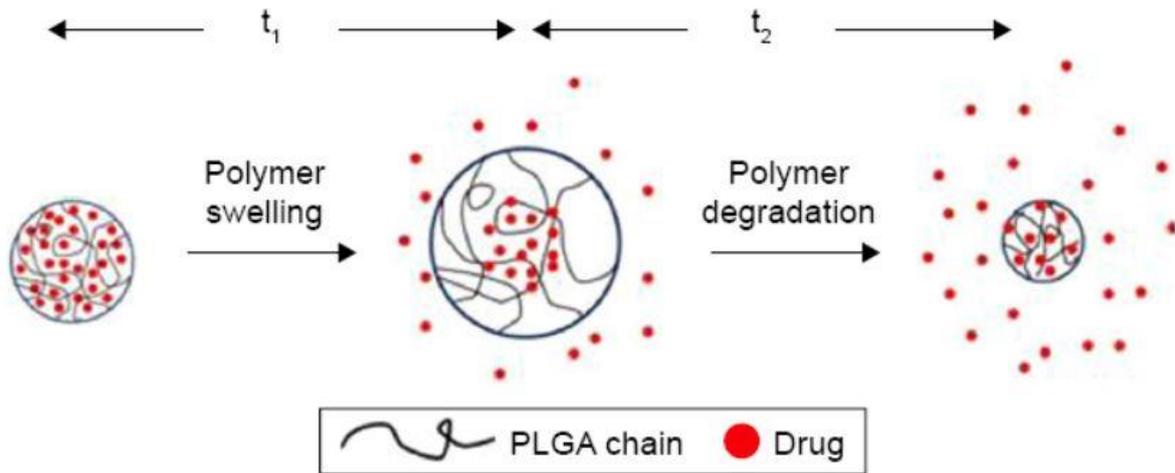


Figura 5.12: Diagramma schematico che spiega la forma di rilascio del farmaco dipendente dal pH. Figura tratta da [50] con modifiche.

5.2.4 Rilascio del farmaco tramite radiofrequenza (RF)

Fra i vari approcci responsivi agli stimoli esterni per il rilascio controllato di farmaco, quello stimolato dalle radiofrequenze risulta essere fra i migliori. È un sistema di rilascio di farmaci in cui i TNT sono utilizzati in combinazione con nanoparticelle d'oro (AuNP) e stimolazione RF.

I TNT hanno la funzione di "contenitore" o "serbatoio" per il farmaco. Il farmaco può essere:

- Incorporato all'interno del lume del nanotubo.
- Adsorbito sulla superficie del nanotubo.
- Incastrato in una matrice polimerica (micelle) che è poi attaccata ai TNT.

Le nanoparticelle d'oro (AuNP) sono incorporate all'interno dei TNT e funzionano da trasduttori termici. Queste nanoparticelle hanno la proprietà di assorbire efficientemente l'energia delle onde radio (RF) e convertirla in calore. Sono, in sostanza, "nano-antenne" e "nano-riscaldatori".

L'applicazione di un campo di radiofrequenza dall'esterno del corpo è la causa esterna che attiva il rilascio del farmaco. La RF è scelta perché:

- Le RF non risultano essere invasive
- L'intensità e la durata dell'esposizione RF possono essere regolate con precisione, permettendo di controllare la quantità di farmaco rilasciata e gli eventuali effetti collaterali.

I TNT sono caricati sia con il farmaco che con le AuNP. I TNT caricati vengono posizionati nel sito bersaglio (ad esempio, un tumore che ha bisogno di trattamento farmacologico). Quando si desidera rilasciare il farmaco, si applica un campo RF. Le AuNP assorbono l'energia RF e si riscaldano e il calore generato dalle AuNP provoca il rilascio del farmaco dai TNT.

La radiofrequenza si riferisce alle oscillazioni elettriche nell'intervallo di frequenza di 3 kHz-300 GHz, è un'onda non ionizzante e quindi sicura da usare. Più sicura ancora rispetto al laser o infrarossi [53]

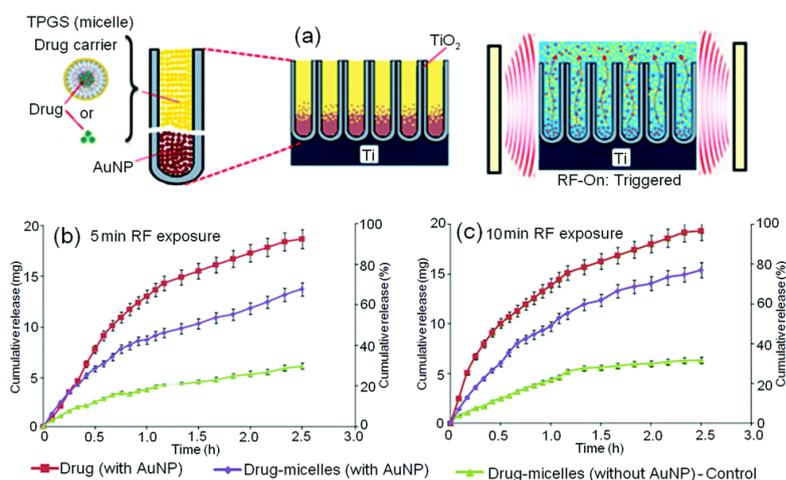


Figura 5.13: Profili di rilascio attivato da RF del farmaco (TPGS incapsulato in indometacina) da TNT con e senza AuNP come trasduttore di energia rispetto al campione di controllo. Figura tratta da [53]

Dalla Figura 5.13 si può osservare [53] che l'applicazione esterna di un campo a radiofrequenza (RF) provoca un rilascio più rapido di micelle polimeriche e farmaci dai nanotubi di titanio (TNT). Si può notare la differenza con il rilascio significativamente più lento riscontrato in assenza di stimolazione RF, configurando quest'ultimo come la condizione di controllo. I grafici illustrano in dettaglio il profilo di rilascio del nano-vettore carico di farmaco, presentando sia la percentuale cumulativa (%) che la massa (mg) rilasciata nel tempo. Questi dati sono correlati a TNT impiantati e sottoposti a differenti durate di esposizione RF, nello specifico 5 e 10 minuti.

In una prima fase sperimentale, la radiofrequenza è stata applicata fin dall'inizio del processo di rilascio a diverse tipologie di campioni: micelle cariche di farmaco senza nanoparticelle d'oro (AuNP) – il campione di controllo –, micelle di farmaco con AuNP, e farmaco direttamente veicolato con AuNP. L'analisi dei risultati ha evidenziato come, entro un arco temporale di 1-3 ore dall'applicazione del riscaldamento RF (generato dalle nanoparticelle d'oro precedentemente incorporate e posizionate alla base dei TNT) si sia verificato un rilascio quasi completo e immediato (90-100%) in tutti e tre i gruppi di campioni. In tutti e tre i campioni si notano variazioni di velocità di rilancio del farmaco. Il farmaco veicolato direttamente con AuNP è risultato avere un rilascio più rapido, seguito dalle micelle di farmaco contenenti AuNP, mentre le micelle di farmaco prive di AuNP sono quelle a rilascio più lento.

Inoltre, l'analisi ha dimostrato che un aumento del tempo di esposizione RF, da 5 a 10 minuti, si traduce in un incremento sia della velocità che della quantità totale di farmaco. Le nanoparticelle d'oro si confermano come efficienti trasduttori termici, capaci di convertire l'energia a radiofrequenza in calore e trasferirla efficacemente. Questo trasferimento di energia è il meccanismo chiave che innesca il rilascio controllato. Al contrario, il campione di controllo, privo di AuNP, non ha evidenziato alcuna accelerazione nel processo di rilascio del farmaco, poiché in questo caso il rilascio di farmaco e micelle è avvenuto in modo molto graduale, esclusivamente attraverso la diffusione libera e naturale, senza alcuna stimolazione esterna, estendendosi per un periodo di circa due settimane. Questo rilascio passivo dai nanotubi ha raggiunto solamente il 30% circa rispetto ai campioni stimolati con RF nell'arco delle 3 ore di osservazione.

Il riscaldamento localizzato delle AuNP, osservato in questo sistema, presenta analogie con il fenomeno sfruttato nell'ipertermia indotta da RF. La potenza RF erogata dal generatore e

trasferita ai campioni viene di solito mantenuta a livelli di bassa potenza (intorno ai 20W), garantendo la sicurezza del processo. L'aumento di temperatura risulta essere molto selettivo (confinato alle nanoparticelle d'oro), il che ha intrinsecamente contribuito all'accelerazione della diffusione e al conseguente rilascio dei principi attivi terapeutici. Questo aspetto sottolinea la selettività della stimolazione RF e la non invasività dell'approccio.

Questo sistema DDS attivato a distanza e sicuro si presenta come una strategia promettente per un controllo accurato del dosaggio, consentendo un rilascio stimolato rapido e gestibile temporalmente. Può essere applicato in diverse situazioni terapeutiche in cui sia richiesto un intervento tempestivo. Sebbene la validità del metodo sia stata dimostrata in questo studio [52] attraverso due esempi specifici – un farmaco scarsamente solubile in acqua (indometacina) e un sistema di veicolazione (micelle TPGS) – è fondamentale sottolineare la natura generica dell'approccio. Non sembrano esserci limitazioni che impediscono l'applicazione ad altri metodi terapeutici (come antibiotici, farmaci antinfiammatori).

I vantaggi sono un controllo spazio-temporale poiché il farmaco viene rilasciato solo dove si applicano le RF. Allo stesso modo gli effetti collaterali sono minimizzati poiché si riduce l'esposizione dei tessuti sani al farmaco. Ed infine questo trattamento può far parte di una terapia combinata.

5.2.5 Rilascio del farmaco innescato magneticamente e tramite ultrasuoni

Una strategia per il rilascio rapido di farmaci è basata sull'utilizzo del campo magnetico come stimolo esterno per innescare nanoparticelle magnetiche (MNP) caricate all'interno dei TNT. Lo schema concettuale del rilascio stimolato magneticamente è mostrato in Figura 5.14. Il sistema è composto da TNT caricati con micelle polimeriche con farmaco incapsulato nella parte superiore, che hanno la funzione di carrier farmacologici, e nanoparticelle magnetiche (NP) nella parte inferiore dei nanotubi [53]. Il concetto di stimolo-rilascio si basa sull'applicazione di un campo magnetico per indurre il movimento delle particelle magnetiche dal fondo, il che costringe le micelle cariche di farmaco a essere rilasciate dall'impianto ogni volta che viene applicato un campo magnetico.

Le nanoparticelle magnetiche che vengono caricate all'interno dei nanotubi di biossido di titanio sono di ossido di ferro, modificate superficialmente con aggiunta di dopamina che ha la funzione di migliorarne la biocompatibilità [53]. Sono state utilizzate tre diverse micelle cariche di farmaco (Pluronic, TPGS e PEO-PPO-PEO) e il loro andamento di rilascio *in vitro* è mostrato in Figura 5.14.

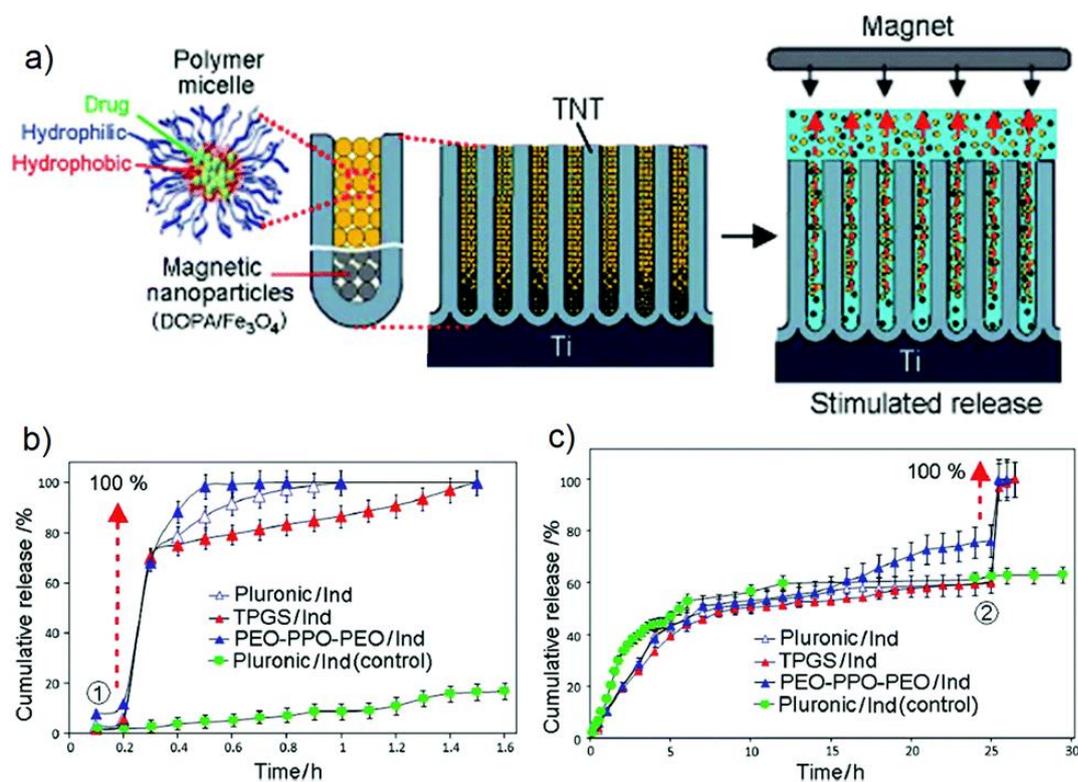


Figura 5.14: Schema del rilascio di farmaci presenti di TNT responsivo a stimoli magnetici. Due profili di rilascio con applicazione del campo magnetico in tempi diversi. Figura tratta da [10]

Per vedere come l'applicazione di un campo magnetico a questo sistema abbia fortemente influenzato il rilascio del farmaco sono stati usati due metodi diversi [53]. Nel primo l'applicazione del campo è immediata (Figura 5.14 b), mentre nel secondo il campo magnetico viene applicato al sistema dopo che già una certa quantità di farmaco è stata rilasciata per diffusione (Figura 5.14 c). Nell'applicazione del campo magnetico in una fase precoce, si è verificato il 100% del rilascio del farmaco entro il normale periodo di rilascio burst. Tutti e 3 i nano-carrier in un tempo di 1,5 ore hanno rilasciato il farmaco, con minime differenze fra di loro dovute alle non uniformità di caricamento. Nello stesso tempo il rilascio cumulativo della condizione di controllo (rilascio tramite diffusione) ha solo rilasciato il 20% del farmaco. Nel secondo caso il campo magnetico è stato applicato dopo che già il 50% dei carrier farmacologici era stato rilasciato per diffusione dai nanotubi. Il grafico in Figura conferma nuovamente che il rilascio totale dei nano-carrier una volta applicato il campo magnetico, avviene molto rapidamente. L'analisi termogravimetrica (TGA) ha dimostrato che dopo l'innesco magnetico, i nanotubi erano completamente vuoti al termine dell'esperimento di rilascio [53].

Fattori che governano il rilascio innescato in questo particolare tipo di LDDS includono l'intensità del campo magnetico, la direzione, le proprietà inerenti delle NP (a seconda del tipo, della struttura, delle dimensioni e della composizione chimica utilizzata), la quantità di MNP e micelle caricate nella parte inferiore e superiore dei TNT. rimangono piccole complicazioni e problemi di sicurezza derivanti da fonti esterne che possono causare il rilascio accidentale o la perdita di farmaci da questi sistemi.

Il rilascio di farmaco stimolato dal campo magnetico può avere delle limitazioni intrinseche, come il rilascio incontrollato di farmaco dovuto a campi magnetici esterni ambientali. Per risolvere queste situazioni alcuni studi [53] hanno esplorato l'applicazione del campo ultrasonico locale. Questa tecnologia è già stata ampiamente utilizzata nella diagnostica medica e i suoi vantaggi includono la possibilità per il corpo di ricevere un segnale

diagnostico da agenti di contrasto ecogeni e facilitare il movimento guidato di DDS basati su nanoparticelle nelle cellule per il rilascio di farmaci. Il concetto di utilizzo di onde ultrasoniche (USW) come trigger per LDDS responsivi allo stimolo che combinano impianti TNT è presentato nella Figura 5.15. Il principio di questo concetto proposto per il rilascio di micelle di farmaci mediato da ultrasuoni si basa sull'esercizio di onde di pressione oscillanti da una sonda (Sonotrode) inserita nel mezzo (PBS a pH 7,2) vicino al TNT caricato con micelle di farmaci. L'indometacina, un farmaco antinfiammatorio non steroideo, è stato utilizzato come modello per il farmaco insolubile in acqua incapsulato in micelle TPGS. Sono stati studiati diversi parametri USW per controllare il rilascio di farmaco-micelle, tra cui lunghezza dell'impulso, tempo di pulsazione, ampiezza e intensità di potenza. La quantità di trasportatori di farmaco rilasciati da TNT in PBS durante la generazione di USW è stata monitorata attentamente e le misurazioni sono state ottenute utilizzando spettroscopia UV-Vis e TGA. La Figura 5.15 mostra i profili di rilascio di farmaco-micelle da impianti TNT innescati da USW utilizzando diverse lunghezze di impulso, generate in base a diversi numeri di impulsi per unità di tempo, ovvero 1, 5, 10 e 15 impulsi al minuto, rispetto al rilascio per diffusione libera senza innesco (campione di controllo). Questi diversi tipi di rilasci, ovvero caratteristiche di rapida crescita (campo magnetico) o cicliche, pulsatili/graduali (mediate da USW) stimulate da USW, sono potenzialmente utili per misure correttive urgenti durante emergenze mediche e applicabili come impianti ortopedici in terapie ossee, stent o terapia cerebrale. Sono necessari ulteriori studi su modelli in vivo che utilizzano diversi impianti di rilascio di farmaci per fornire maggiori informazioni sulle applicazioni pratiche di questo metodo [53].

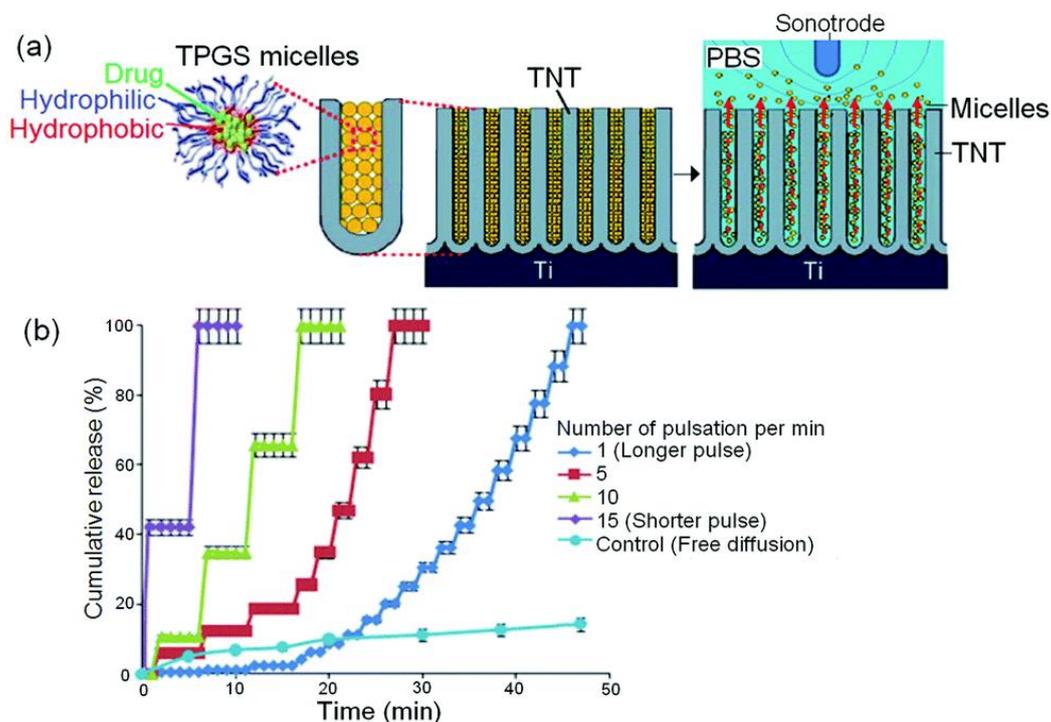


Figura 5.15: a) Schema di rilascio di farmaco da impianti TNT mediante radiofrequenza e nanoparticelle d'oro. b) Profili di rilascio a diversi tempi di esposizione di farmaco TPGS incapsulato in indometacina da TNT attivato da RF del con e senza AuNP come trasduttore di energia rispetto al campione di controllo (non attivato). Figura tratta da [53]

Il rilascio guidato da ultrasuoni è stato applicato ad altri tipi di nano-carrier [55], ad esempio, i liposomi, con l'ausilio di un agente di contrasto MRI, come nanoparticelle di ossido di ferro, che sono caricate con farmaci (permettendo quindi il loro tracciamento e visualizzazione tramite MRI).

I liposomi sono vescicole sferiche costituite da un doppio strato lipidico, simili alle membrane cellulari. Questa struttura li rende ideali per incapsulare farmaci, sia idrofili che idrofobici. Possono essere modificati per essere "termosensibili", ovvero per rilasciare il loro contenuto in risposta a un aumento della temperatura. Una sorgente termica esterna derivata da ultrasuoni ad alta intensità controllati dalla mappatura della temperatura MR ha dimostrato [55] una tecnica praticabile e non invasiva per generare ipertermia locale per il rilascio del farmaco. Tuttavia, l'argomento sulla stabilità del veicolo del farmaco per i liposomi, fattori che potrebbero influenzare la velocità di rilascio e la quantità di farmaco all'interno dei magneto-liposomi termosensibili rimane controverso e quindi deve essere studiato a fondo prima che possa diventare uno strumento per il rilascio locale di farmaci guidato da immagini.

6 Conclusioni

I TNT hanno dimostrato di essere adatti nella somministrazione localizzata di farmaci, poiché risultano essere sicuri, efficaci, prevedibili e riproducibili. Dalle diverse strategie di rilascio del farmaco, gli studi hanno evidenziato come questo tipo di somministrazione di adatti alle diverse esigenze terapeutiche. Ci sono diversi parametri che influenzano il caricamento e il rilascio del farmaco: le dimensioni delle strutture dei nanotubi (dimensione e lunghezza), le loro proprietà interfacciali e chimiche, le dimensioni molecolari, le proprietà chimiche e di diffusione delle molecole del farmaco, nonché le interazioni farmaco e farmaco-vettore con i nanotubi. La superficie idrofila favorisce un carico maggiore del farmaco e prolunga il tempo di rilascio, per cui anche le proprietà delle molecole del farmaco sono un fattore influente. Ci sono problemi che devono ancora essere affrontati, come l'efficienza di incapsulamento del farmaco e l'eliminazione del rilascio a raffica. Inoltre, le proprietà dei materiali, ad esempio, la resistenza meccanica, il modulo elastico, la schermatura dello stress, il carico ottimale per questi impianti non sono completamente conosciute e devono anche essere valutate da studi futuri.

L'applicazione di micelle polimeriche come nano-vettori di farmaci per l'incapsulamento di farmaci negli studi presi in considerazione ha dimostrato di essere un buon approccio per ottenere un rilascio prolungato e sostenuto di farmaci con cinetica di ordine zero.

Lo sviluppo di LDDS per progettare impianti di rilascio di farmaci multipli e ritardanti utilizzando nano-vettori di farmaci mostra che variando il rapporto di farmaco e la loro posizione all'interno degli impianti TNT, è possibile controllare il loro tempo di rilascio, la durata ritardata, la quantità di farmaco rilasciata in un dato momento, l'ordine di rilascio e la cinetica di rilascio. Il sistema può essere applicato sia per farmaci insolubili che idrosolubili con azioni terapeutiche immediate, ritardate, sequenziali e sostenute. In particolare, i sistemi più avanzati hanno le capacità per affrontare un trattamento multi-farmaco per un lungo periodo per prevenire infezioni batteriche, sopprimere l'infiammazione, migliorare l'integrazione dell'impianto e facilitare la rigenerazione dei tessuti. Sebbene l'utilizzo di questo approccio sia principalmente quella di rilasciare farmaci in impianti ossei, può essere applicato anche ad altri tipi di impianti e ad applicazioni di somministrazione locale, ad esempio come stent coronarici.

Negli studi è stato anche considerato il rilascio del farmaco stimolato da fattori esterni come il campo magnetico, USW e RF.

In sintesi, gli impianti di rilascio di farmaci TNT possono essere considerati una soluzione sicura, scalabile ed economica per la somministrazione localizzata di farmaci in un ampio range di applicazioni, tra cui terapie ossee, infezioni, infiammazioni, guarigione post-chirurgica, trattamento di tumori localizzati e stent cardiovascolari.

7 Bibliografia

- [1] O. Zakir *et al.*, «A review on TiO₂ nanotubes: synthesis strategies, modifications, and applications», *J Solid State Electrochem*, vol. 27, fasc. 9, pp. 2289–2307, set. 2023, doi: 10.1007/s10008-023-05538-2.
- [2] B. Chen *et al.*, «Visible-light-driven TiO₂@N-Au nanorobot penetrating the vitreous», *Applied Materials Today*, vol. 27, p. 101455, giu. 2022, doi: 10.1016/j.apmt.2022.101455.
- [3] M. Landmann, E. Rauls, e W. G. Schmidt, «The electronic structure and optical response of rutile, anatase and brookite TiO₂», *J. Phys.: Condens. Matter*, vol. 24, fasc. 19, p. 195503, mag. 2012, doi: 10.1088/0953-8984/24/19/195503.
- [4] H. Ou e S. Lo, «Review of titania nanotubes synthesized via the hydrothermal treatment: Fabrication, modification, and application», *Separation and Purification Technology*, vol. 58, fasc. 1, pp. 179–191, dic. 2007, doi: 10.1016/j.seppur.2007.07.017.
- [5] M. Abdullah e S. K. Kamarudin, «Titanium dioxide nanotubes (TNT) in energy and environmental applications: An overview», *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 76, pp. 212–225, set. 2017, doi: 10.1016/j.rser.2017.01.057.
- [6] I. M. A. Mohamed, A. G. Shehata, A. Al-Anazi, M. Khairy, e E. F. Newair, «A template-assisted method for synthesizing TiO₂ nanoparticles and Ni/TiO₂ nanocomposites for urea electrooxidation», *Materials Chemistry and Physics*, vol. 316, p. 129112, apr. 2024, doi: 10.1016/j.matchemphys.2024.129112.
- [7] C. Chon Chen, C.-H. Cheng, e C.-K. Lin, «Template assisted fabrication of TiO₂ and WO₃ nanotubes», *Ceramics International*, vol. 39, fasc. 6, pp. 6631–6636, ago. 2013, doi: 10.1016/j.ceramint.2013.01.100.
- [8] S. A. Batool, M. Salman Maqbool, M. A. Javed, A. Niaz, e M. A. U. Rehman, «A Review on the Fabrication and Characterization of Titania Nanotubes Obtained via Electrochemical Anodization», *Surfaces*, vol. 5, fasc. 4, pp. 456–480, nov. 2022, doi: 10.3390/surfaces5040033.
- [9] L. Osama, H. T. Handal, S. A. M. El-Sayed, E. M. Elzayat, e M. Mabrouk, «Fabrication and Optimisation of Alumina Nanoporous Membranes for Drug Delivery Applications: A Comparative Study», *Nanomaterials*, vol. 14, fasc. 13, p. 1078, giu. 2024, doi: 10.3390/nano14131078.
- [10] A. M. Md Jani, D. Losic, e N. H. Voelcker, «Nanoporous anodic aluminium oxide: Advances in surface engineering and emerging applications», *Progress in Materials Science*, vol. 58, fasc. 5, pp. 636–704, giu. 2013, doi: 10.1016/j.pmatsci.2013.01.002.
- [11] X. Hou, F. Li, G. He, e J. Zhang, «A facile and green strategy for large-scale synthesis of silica nanotubes using ZnO nanorods as templates», *Ceramics International*, vol. 40, fasc. 4, pp. 5811–5815, mag. 2014, doi: 10.1016/j.ceramint.2013.11.021.
- [12] J.-H. Lee, I.-C. Leu, M.-C. Hsu, Y.-W. Chung, e M.-H. Hon, «Fabrication of Aligned TiO₂ One-Dimensional Nanostructured Arrays Using a One-Step Templating Solution Approach», *J. Phys. Chem. B*, vol. 109, fasc. 27, pp. 13056–13059, lug. 2005, doi: 10.1021/jp0522031.
- [13] J. Qiu *et al.*, «Branched double-shelled TiO₂ nanotube networks on transparent conducting oxide substrates for dye sensitized solar cells», *J. Mater. Chem.*, vol. 22, fasc. 44, p. 23411, 2012, doi: 10.1039/c2jm34574a.
- [14] J. H. Kim *et al.*, «Synthesis and characterization of anatase TiO₂ nanotubes with controllable crystal size by a simple MWCNT template method», *Journal of Solid State Chemistry*, vol. 196, pp. 435–440, dic. 2012, doi: 10.1016/j.jssc.2012.06.045.

- [15] E. P. Estévez Ruiz, J. L. Lago, e S. P. Thirumuruganandham, «Experimental Studies on TiO₂ NT with Metal Dopants through Co-Precipitation, Sol–Gel, Hydrothermal Scheme and Corresponding Computational Molecular Evaluations», *Materials*, vol. 16, fasc. 8, p. 3076, apr. 2023, doi: 10.3390/ma16083076.
- [16] Y. L. Pang, S. Bhatia, e A. Z. Abdullah, «Process behavior of TiO₂ nanotube-enhanced sonocatalytic degradation of Rhodamine B in aqueous solution», *Separation and Purification Technology*, vol. 77, fasc. 3, pp. 331–338, mar. 2011, doi: 10.1016/j.seppur.2010.12.023.
- [17] N. Gilani, J. V. Pasikhani, P. T. Motie, e M. Akbari, «Fabrication of quantum Cu(II) nanodot decorated TiO₂ nanotubes by the photochemical deposition-assisted hydrothermal method: study catalytic activity in hydrogen generation», *Desalination and Water Treatment*, vol. 139, pp. 145–155, gen. 2019, doi: 10.5004/dwt.2019.23133.
- [18] N. Swami, Z. Cui, e L. S. Nair, «Titania Nanotubes: Novel Nanostructures for Improved Osseointegration», *Journal of Heat Transfer*, vol. 133, fasc. 3, p. 034002, mar. 2011, doi: 10.1115/1.4002465.
- [19] Z. Eslami, F. Yazdani, e M. A. Mirzapour, «Thermal and mechanical properties of phenolic-based composites reinforced by carbon fibres and multiwall carbon nanotubes», *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, vol. 72, pp. 22–31, mag. 2015, doi: 10.1016/j.compositesa.2015.01.015.
- [20] K. Alkanad *et al.*, «One-Step Hydrothermal Synthesis of Anatase TiO₂ Nanotubes for Efficient Photocatalytic CO₂ Reduction», *ACS Omega*, vol. 7, fasc. 43, pp. 38686–38699, nov. 2022, doi: 10.1021/acsomega.2c04211.
- [21] Z. Su e W. Zhou, «Formation, morphology control and applications of anodic TiO₂ nanotube arrays», *J. Mater. Chem.*, vol. 21, fasc. 25, p. 8955, 2011, doi: 10.1039/c0jm04587j.
- [22] W. Cao, K. Chen, e D. Xue, «Highly Ordered TiO₂ Nanotube Arrays with Engineered Electrochemical Energy Storage Performances», *Materials*, vol. 14, fasc. 3, p. 510, gen. 2021, doi: 10.3390/ma14030510.
- [23] J. M. Macak, S. P. Albu, e P. Schmuki, «Towards ideal hexagonal self-ordering of TiO₂ nanotubes», *Physica Rapid Research Ltrs*, vol. 1, fasc. 5, pp. 181–183, ott. 2007, doi: 10.1002/pssr.200701148.
- [24] D. Gong *et al.*, «Titanium oxide nanotube arrays prepared by anodic oxidation», *J. Mater. Res.*, vol. 16, fasc. 12, pp. 3331–3334, dic. 2001, doi: 10.1557/JMR.2001.0457.
- [25] J. M. Macak, K. Sirotna, e P. Schmuki, «Self-organized porous titanium oxide prepared in Na₂SO₄/NaF electrolytes», *Electrochimica Acta*, vol. 50, fasc. 18, pp. 3679–3684, giu. 2005, doi: 10.1016/j.electacta.2005.01.014.
- [26] K. Yasuda e P. Schmuki, «Control of morphology and composition of self-organized zirconium titanate nanotubes formed in (NH₄)₂SO₄/NH₄F electrolytes», *Electrochimica Acta*, vol. 52, fasc. 12, pp. 4053–4061, mar. 2007, doi: 10.1016/j.electacta.2006.11.023.
- [27] M. Paulose *et al.*, «TiO₂ Nanotube Arrays of 1000 μm Length by Anodization of Titanium Foil: Phenol Red Diffusion», *J. Phys. Chem. C*, vol. 111, fasc. 41, pp. 14992–14997, ott. 2007, doi: 10.1021/jp075258r.
- [28] R. Hahn, J. M. Macak, e P. Schmuki, «Rapid anodic growth of TiO₂ and WO₃ nanotubes in fluoride free electrolytes», *Electrochemistry Communications*, vol. 9, fasc. 5, pp. 947–952, mag. 2007, doi: 10.1016/j.elecom.2006.11.037.
- [29] M. Ye, J. Gong, Y. Lai, C. Lin, e Z. Lin, «High-Efficiency Photoelectrocatalytic Hydrogen Generation Enabled by Palladium Quantum Dots-Sensitized TiO₂ Nanotube Arrays», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 134, fasc. 38, pp. 15720–15723, set. 2012, doi: 10.1021/ja307449z.

- [30] M.-Z. Ge, S.-H. Li, J.-Y. Huang, K.-Q. Zhang, S. S. Al-Deyab, e Y.-K. Lai, «TiO₂ nanotube arrays loaded with reduced graphene oxide films: facile hybridization and promising photocatalytic application», *J. Mater. Chem. A*, vol. 3, fasc. 7, pp. 3491–3499, 2015, doi: 10.1039/C4TA06354F.
- [31] K. Yasuda e P. Schmuki, «Control of morphology and composition of self-organized zirconium titanate nanotubes formed in (NH₄)₂SO₄/NH₄F electrolytes», *Electrochimica Acta*, vol. 52, fasc. 12, pp. 4053–4061, mar. 2007, doi: 10.1016/j.electacta.2006.11.023.
- [32] F. J. Q. Cortes, P. J. Arias-Monje, J. Phillips, e H. Zea, «Empirical kinetics for the growth of titania nanotube arrays by potentiostatic anodization in ethylene glycol», *Materials & Design*, vol. 96, pp. 80–89, apr. 2016, doi: 10.1016/j.matdes.2016.02.006.
- [33] T. Hoseinzadeh, Z. Ghorannevis, M. Ghoranneviss, A. H. Sari, e M. K. Salem, «Effects of various applied voltages on physical properties of TiO₂ nanotubes by anodization method», *J Theor Appl Phys*, vol. 11, fasc. 3, pp. 243–248, set. 2017, doi: 10.1007/s40094-017-0257-9.
- [34] N. A. Sapoletova, S. E. Kushnir, e K. S. Napolskii, «Anodic titanium oxide photonic crystals prepared by novel cyclic anodizing with voltage versus charge modulation», *Electrochemistry Communications*, vol. 91, pp. 5–9, giu. 2018, doi: 10.1016/j.elecom.2018.04.018.
- [35] J. M. Macak *et al.*, «TiO₂ nanotubes: Self-organized electrochemical formation, properties and applications», *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, vol. 11, fasc. 1–2, pp. 3–18, feb. 2007, doi: 10.1016/j.cossms.2007.08.004.
- [36] P. Roy, S. Berger, e P. Schmuki, «TiO₂ Nanotubes: Synthesis and Applications», *Angew Chem Int Ed*, vol. 50, fasc. 13, pp. 2904–2939, mar. 2011, doi: 10.1002/anie.201001374.
- [37] C. Ruan, M. Paulose, O. K. Varghese, G. K. Mor, e C. A. Grimes, «Fabrication of Highly Ordered TiO₂ Nanotube Arrays Using an Organic Electrolyte», *J. Phys. Chem. B*, vol. 109, fasc. 33, pp. 15754–15759, ago. 2005, doi: 10.1021/jp052736u.
- [38] Z. Jedi-soltanabadi, N. Pishkar, e M. Ghoranneviss, «Enhanced physical properties of the anodic TiO₂ nanotubes via proper anodization time», *J Theor Appl Phys*, vol. 12, fasc. 2, pp. 135–139, giu. 2018, doi: 10.1007/s40094-018-0290-3.
- [39] D. Kowalski, D. Kim, e P. Schmuki, «TiO₂ nanotubes, nanochannels and mesosponge: Self-organized formation and applications», *Nano Today*, vol. 8, fasc. 3, pp. 235–264, giu. 2013, doi: 10.1016/j.nantod.2013.04.010.
- [40] S. P. Albu, P. Roy, S. Virtanen, e P. Schmuki, «Self-organized TiO₂ Nanotube Arrays: Critical Effects on Morphology and Growth», *Israel Journal of Chemistry*, vol. 50, fasc. 4, pp. 453–467, ott. 2010, doi: 10.1002/ijch.201000059.
- [41] V. M. Prida *et al.*, «Temperature influence on the anodic growth of self-aligned Titanium dioxide nanotube arrays», *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 316, fasc. 2, pp. 110–113, set. 2007, doi: 10.1016/j.jmmm.2007.02.021.
- [42] F. Zuo *et al.*, «Titanium Dioxide Nanomaterials: Progress in Synthesis and Application in Drug Delivery», *Pharmaceutics*, vol. 16, fasc. 9, p. 1214, set. 2024, doi: 10.3390/pharmaceutics16091214.
- [43] S. Jafari, B. Mahyad, H. Hashemzadeh, S. Janfaza, T. Gholikhani, e L. Tayebi, «Biomedical Applications of TiO₂ Nanostructures: Recent Advances», *IJN*, vol. Volume 15, pp. 3447–3470, mag. 2020, doi: 10.2147/IJN.S249441.
- [44] M. I. Ishak, R. Daud, S. N. F. M. Noor, C. Y. Khor, e H. Roslan, «Assessment of stress shielding around a dental implant for variation of implant stiffness and parafunctional loading using finite element analysis», *Acta Bioeng Biomech*, vol. 24, fasc. 3, pp. 147–159, 2022.

- [45] Q. Wang *et al.*, «Recent advances on smart TiO₂ nanotube platforms for sustainable drug delivery applications», *IJN*, vol. Volume 12, pp. 151–165, dic. 2016, doi: 10.2147/IJN.S117498.
- [46] R. Saker, H. Shammout, G. Regdon, e T. Sovány, «An Overview of Hydrothermally Synthesized Titanate Nanotubes: The Factors Affecting Preparation and Their Promising Pharmaceutical Applications», *Pharmaceutics*, vol. 16, fasc. 5, p. 635, mag. 2024, doi: 10.3390/pharmaceutics16050635.
- [47] S. Miyabe, Y. Fujinaga, H. Tsuchiya, e S. Fujimoto, «TiO₂ nanotubes with customized diameters for local drug delivery systems», *J Biomed Mater Res*, vol. 112, fasc. 7, p. e35445, lug. 2024, doi: 10.1002/jbm.b.35445.
- [48] Y.-K. Lai *et al.*, «TiO₂ nanotube platforms for smart drug delivery: a review», *IJN*, vol. Volume 11, pp. 4819–4834, set. 2016, doi: 10.2147/IJN.S108847.
- [49] H. Jia e L. L. Kerr, «Kinetics of drug release from drug carrier of polymer/TiO₂ nanotubes composite—p H dependent study», *J of Applied Polymer Sci*, vol. 132, fasc. 7, p. app.41570, feb. 2015, doi: 10.1002/app.41570.
- [50] Q. Wang *et al.*, «Recent advances on smart TiO₂ nanotube platforms for sustainable drug delivery applications», *IJN*, vol. Volume 12, pp. 151–165, dic. 2016, doi: 10.2147/IJN.S117498.
- [51] H. Wen, H. Jung, e X. Li, «Drug Delivery Approaches in Addressing Clinical Pharmacology-Related Issues: Opportunities and Challenges», *AAPS J*, vol. 17, fasc. 6, pp. 1327–1340, nov. 2015, doi: 10.1208/s12248-015-9814-9.
- [52] F. Zuo *et al.*, «Titanium Dioxide Nanomaterials: Progress in Synthesis and Application in Drug Delivery», *Pharmaceutics*, vol. 16, fasc. 9, p. 1214, set. 2024, doi: 10.3390/pharmaceutics16091214.
- [53] S. Miyabe, Y. Fujinaga, H. Tsuchiya, e S. Fujimoto, «TiO₂ nanotubes with customized diameters for local drug delivery systems», *J Biomed Mater Res*, vol. 112, fasc. 7, p. e35445, lug. 2024, doi: 10.1002/jbm.b.35445.
- [54] F. Zuo *et al.*, «Titanium Dioxide Nanomaterials: Progress in Synthesis and Application in Drug Delivery», *Pharmaceutics*, vol. 16, fasc. 9, p. 1214, set. 2024, doi: 10.3390/pharmaceutics16091214.
- [55] M. Sinn Aw, M. Kurian, e D. Losic, «Non-eroding drug-releasing implants with ordered nanoporous and nanotubular structures: concepts for controlling drug release», *Biomater. Sci.*, vol. 2, fasc. 1, pp. 10–34, 2014, doi: 10.1039/C3BM60196J.
- [56] Costa, José Manuel, José Manuel «Modeling and comparison of dissolution profiles», *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 13, fasc.2, maggio 2001, doi: 10.1016/S0928-0987(01)00095-1