

# POLITECNICO DI TORINO

**Corso di Laurea Magistrale  
in INGEGNERIA CHIMICA E DEI PROCESSI SOSTENIBILI**

Tesi di Laurea Magistrale

**Solubilità del cortisone in anidride carbonica  
supercritica modificata con etanolo**



**Relatori**

prof. Mauro Banchemo

prof. Luigi Manna

**Candidato**

Luca Gaetano Pendino

Luglio 2018



*Ai miei genitori*



# Indice

Introduzione

<b>1. I fluidi supercritici</b>	1
1.1 Aspetti generali dei fluidi supercritici	1
1.2 Caratteristiche della CO <sub>2</sub> supercritica	3
1.2.1 Proprietà chimico – fisiche	3
1.2.2 Proprietà di trasporto	4
1.3 Diagrammi di fase della CO <sub>2</sub> supercritica	6
1.3.1 Diagramma di stato solvente supercritico – soluto liquido	7
1.3.2 Diagramma di stato solvente supercritico – soluto solido	10
1.4 Solubilità di composti solidi in CO <sub>2</sub> supercritica	12
1.4.1 Trattazione termodinamica	12
1.4.2 Modelli semi-empirici	14
1.4.3 Modello teorico di Chrastil	15
1.5 Solubilità di composti solidi in presenza di co-solvente	16
1.5.1 Modello teorico di González et al.	17
1.6 Modelli analizzati per la regressione dei dati	18
<b>2. Applicazioni della CO<sub>2</sub> supercritica in campo farmaceutico</b>	21
2.1 Principi attivi poco solubili in acqua	21
2.2 Processi di micronizzazione con fluidi supercritici	21
2.3 Processi di precipitazione con CO <sub>2</sub> supercritica come solvente	22
2.3.1 Espansione rapida di una soluzione supercritica (RESS)	22
2.4 Processi di precipitazione con CO <sub>2</sub> supercritica come anti-solvente	23
2.4.1 Processo GAS	24
2.4.1 Processo SAS	25
2.4.3 Processi ASES/SEDS	26
2.5 Processi di precipitazione con CO <sub>2</sub> supercritica come soluto	27
2.5.1 Processo PGSS	27
2.6 Incapsulamento di principi attivi con CO <sub>2</sub> supercritica	28
2.6.1 Inclusione molecolare con miscela supercritica CO <sub>2</sub> – co-solvente	29
2.7 Solubilità in CO <sub>2</sub> supercritica in presenza di co-solvente	29
2.7.1 Scelta delle misure effettuate in questa tesi	30

2.7.2 Metodi sperimentali di misura della solubilità	30
2.7.3 Effetto di temperatura e pressione sulla solubilità	31
2.7.4 Effetto della presenza del co-solvente sulla solubilità	32
<b>3. Materiali e metodi</b>	<b>33</b>
3.1 Materiali	33
3.1.1 Principio attivo: cortisone	33
3.1.2 Miscela supercritica: anidride carbonica ed etanolo	34
3.2 Metodo sperimentale	34
3.2.1 Descrizione del sistema di misura	34
3.2.2 Componenti e strumentazione	35
3.3 Procedura esecutiva delle prove	40
3.3.1 Operazioni preliminari	40
3.3.2 Raggiungimento delle condizioni di prova	41
3.3.3 Operazioni durante le prove	42
3.3.4 Fermata dell'apparecchiatura	43
3.4 Scelte operative e ottimizzazione dei parametri	44
3.4.1 Pompa di alimentazione della CO <sub>2</sub>	44
3.4.2 Parametri operativi	46
3.4.3 Efficienza della trappola di raccolta	47
3.5 Analisi in soluzione	48
<b>4. Risultati ottenuti nel lavoro di tesi</b>	<b>51</b>
4.1 Dati di solubilità del cortisone	51
4.1.1 Riproducibilità dei dati sperimentali	57
4.1.2 Andamento della densità misurata	58
4.2 Il ruolo delle condizioni operative sui risultati sperimentali	59
4.2.1 Effetto di temperatura e pressione	59
4.2.2 Effetto del contenuto di co-solvente	60
4.3 Regressione dei dati sperimentali	62
4.3.1 Classificazione dei modelli	64
4.3.2 Modelli di Chrastil e Chrastil modificati	65
4.3.3 Modelli di Kumar-Johnston, Bartle et al. e modelli simili	67
4.3.4 Altri modelli di letteratura	68

4.3.5 Scelta del modello	70
4.4 Analisi statica dei dati	70
4.4.1 Diagramma di parità	70
4.4.2 Distribuzione dei residui	72
4.5 Confronto cortisone – idrocortisone	76
Conclusioni	79
Appendice	81
Bibliografia	105
Ringraziamenti	109



## Introduzione

Questo lavoro di tesi si propone di misurare i valori di solubilità del cortisone in anidride carbonica supercritica in presenza di etanolo come co-solvente. La conoscenza di questi dati è interessante poiché negli ultimi decenni sono state studiate e sviluppate diverse tecnologie per il rilascio controllato di principi attivi che utilizzano come solvente fluidi supercritici in sostituzione di solventi organici liquidi.

In particolare, tra le possibili sostanze, l'anidride carbonica risulta il solvente supercritico elettivo in queste applicazioni. Essa, infatti, risulta essere economicamente conveniente per via del suo basso punto critico, non è infiammabile, né tossica ed è facile da rimuovere al termine delle operazioni in cui viene utilizzata.

Il motivo per cui è stato scelto di investigare la solubilità del cortisone, e in generale di principi attivi steroidei, è legato al fatto che questi composti presentano una scarsa solubilità in acqua, il che rende il farmaco poco biodisponibile nel caso di somministrazione orale. Tale caratteristica richiede lunghi tempi di dissoluzione del principio nel tratto gastrointestinale e quindi un ritardo nell'esplicamento dell'effetto terapeutico per l'organismo. A causa della scarsa biodisponibilità, le dosi richieste dal paziente diventano elevate, con l'insorgere di effetti collaterali anche gravi. Per questo sono state sviluppate diverse tecnologie per incrementare la velocità di dissoluzione del composto, come l'incapsulamento del principio attivo, poco solubile in acqua, in matrici idrofile. Tradizionalmente, queste tecniche prevedono l'impiego di solventi organici, che risultano poco efficaci a causa della possibile presenza di residui nel prodotto finale. L'impiego dell'anidride carbonica supercritica in sostituzione dei solventi tradizionali sta diventando quindi sempre più interessante, anche nel caso di altri processi innovativi che intervengono sulla dimensione delle particelle del principio attivo al fine di incrementare la superficie di scambio e quindi la velocità di assorbimento del composto.

Per la realizzazione di questi processi, è necessario conoscere la solubilità del principio attivo di interesse nel solvente supercritico, attraverso misure come quelle effettuate in questo lavoro sperimentale.

Per le misure di questa tesi si è scelto di operare in presenza di co-solvente poiché i dati di solubilità in CO<sub>2</sub> pura, disponibili in letteratura per altri composti della stessa classe, risultano essere estremamente bassi. Si è quindi stabilito di investigare la solubilità del cortisone a diverse composizioni della miscela supercritica, al fine di studiare la dipendenza della solubilità dal contenuto di etanolo presente, oltre a valutare l'effetto di temperatura e pressione. Per fare questo è stato messo a punto un sistema di misure che opera con metodo dinamico per permettere il contatto tra la miscela supercritica ed il principio attivo, che durante le misure è stato raccolto in trappole di campionamento contenenti etanolo. In tal modo è stato possibile stimare la quantità di cortisone raccolto mediante l'analisi della soluzione per via spettrofotometrica. Prima di ottenere i dati definitivi sono stati realizzati alcuni miglioramenti al sistema di misura ed eseguite delle prove preliminari per fissare i parametri operativi e testare la riproducibilità e l'affidabilità delle misure.

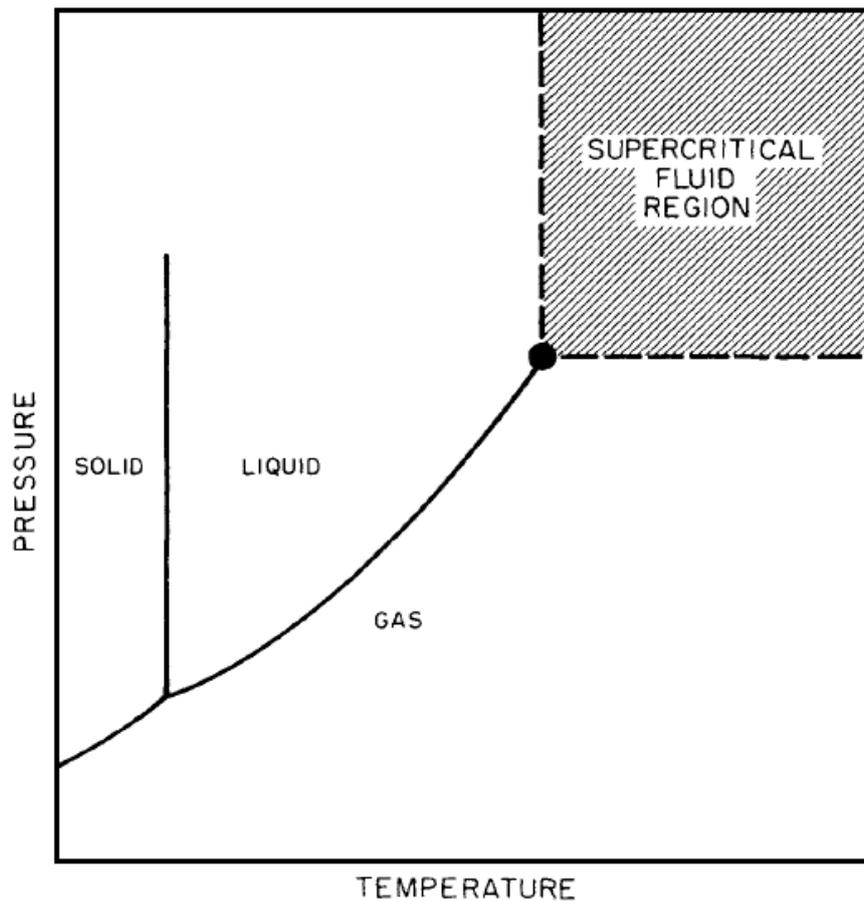
I dati sperimentali sono stati interpretati mediante correlazioni semi-empiriche disponibili in letteratura. Sono stati selezionati i modelli più accurati attraverso una regressione dei dati, confrontando le deviazioni tra i dati calcolati con i diversi modelli e i dati sperimentali ottenuti.



# 1. I fluidi supercritici

## 1.1 Aspetti generali dei fluidi supercritici

Un fluido si trova nello stato supercritico quando la sua temperatura e la sua pressione sono al di sopra dei rispettivi valori critici. Un fluido in tale stato ha proprietà intermedie tra un liquido e un gas e può essere considerato come un gas compresso oppure come un liquido espanso. Facendo riferimento al diagramma di fase (fig.1.1) di un fluido, ad esempio quello dell'anidride carbonica, si osserva, seguendo la curva liquido – vapore, che la pressione aumenta all'aumentare della temperatura, con una situazione di equilibrio bifasico che termina in corrispondenza del punto critico, oltre il quale non esiste più distinzione tra le due fasi. Conseguentemente si ha un aumento della densità della fase gas dovuto all'incremento di pressione, e simultaneamente una riduzione della densità della fase liquida, dovuta all'espansione termica data dall'aumento della temperatura.



**Figura 1.1:** Diagramma di stato di una sostanza pura

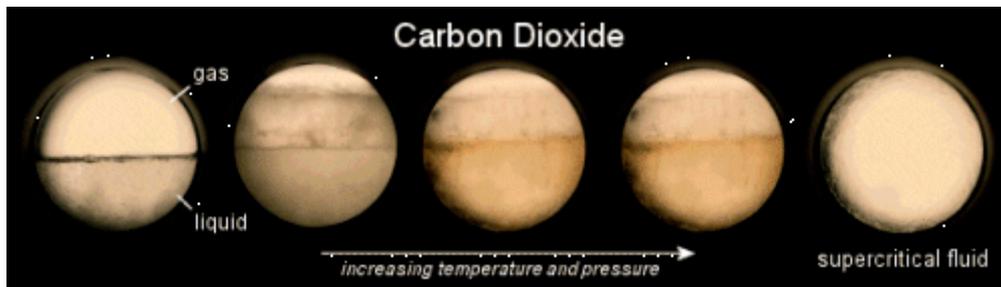
Proprio questo effetto sulla densità gioca un ruolo fondamentale nella scelta di utilizzare i fluidi supercritici come solventi, avendo in queste particolari condizioni proprietà intermedie tra lo stato liquido e lo stato gassoso.

Il comportamento di fase è stato osservato sperimentalmente attraverso dei fotogrammi realizzati all'interno di una cella ottica in pressione contenente  $\text{CO}_2$ , riportati in figura 1.2.

Osservando la situazione visivamente, si può notare che al di sotto del punto critico le fasi liquida e vapore sono separate da un menisco, che diventa via via sempre meno delineato

all'aumentare di temperatura e pressione, fino a dissolversi completamente al raggiungimento del punto critico, dove le due fasi diventano indistinguibili.

Osservando il primo fotogramma si osserva che a temperatura e pressione al di sotto del punto critico si ha la netta separazione delle due fasi liquida e gas. Incrementando entrambe le variabili si osserva (fotogrammi intermedi) che il menisco di separazione è sempre meno marcato, fino all'impossibilità di distinguere le due fasi, nell'ultimo fotogramma, poiché il fluido raggiunge condizioni al di sopra del proprio punto critico.



**Figura 1.2:** Transizione di fase della CO<sub>2</sub> al crescere di temperatura e pressione (Fonte: NASA)

Un fluido in condizioni supercritiche si presenta come una fase omogenea, con proprietà intermedie tra quelle della fase gas e della fase liquida. Le proprietà di ognuna delle due fasi partecipano alla caratterizzazione delle proprietà del fluido quando questo si trova in fase supercritica.

Diversamente da un gas, un fluido supercritico possiede un potere solvente considerevole, con proprietà di trasporto intermedie tra quelle di un liquido e un gas. In regioni in cui un fluido supercritico (SCF) è altamente comprimibile, la sua densità, e quindi il suo potere solvente, possono essere modificati su un ampio intervallo, con modeste variazioni di temperatura e pressione [1].

I fluidi supercritici vengono spesso impiegati in sostituzione di solventi organici, per le interessanti proprietà fisiche che ne caratterizzano il potere solvente.

Come si può osservare dalla tabella 1.1, la densità è simile a quella di un liquido, e questa può essere ampiamente variata cambiando la pressione e la temperatura applicate. La viscosità di un SCF è molto bassa rispetto a quella di un liquido, mentre la diffusività è intermedia tra quella di un gas e di un liquido.

**Tabella 1.1:** Proprietà fisiche tipiche di un fluido supercritico [1]

	Liquido	Fluido Supercritico	Gas
Densità (g/ml)	1	0.05 - 1	10 <sup>-3</sup>
Viscosità (Pa*s)	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup> - 10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-5</sup>
Diffusività (cm <sup>2</sup> /s)	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-1</sup>
Tensione superficiale (mN/m)	20-50	0	0

L'alta densità di questi fluidi fornisce loro elevato potere solvente, mentre l'elevato coefficiente di diffusione ed i bassi valori di viscosità permettono di applicare i fluidi supercritici come solventi per estrazione di composti organici da matrici solide [2].

## 1.2 Caratteristiche della CO<sub>2</sub> supercritica

Nelle applicazioni industriali esistono diverse sostanze che possono essere impiegate, in sostituzione di solventi organici, in condizioni supercritiche, come l'acqua, il toluene, il benzene, l'etano, l'etanolo e molti altri. L'anidride carbonica però è il solvente supercritico più usato, principalmente per il suo basso costo, ma anche per il fatto che questo composto è facilmente reperibile con altissima purezza. L'anidride carbonica, inoltre, è non tossica, non infiammabile e non esplosiva, e queste caratteristiche sono importanti in termini di sicurezza. Altro importante vantaggio della CO<sub>2</sub> è che questa sostanza è un gas a temperatura e pressione ambiente, fattore che ne rende facile la rimozione dopo il processo per cui è impiegata.

Con lo scopo di avere un confronto tra le possibili sostanze che possono essere impiegate in tecnologie con fluidi supercritici, si riporta la tabella 1.2, dove per ogni composto sono riportati i valori di temperatura e pressione critiche.

**Tabella 1.2:** Proprietà critiche di alcuni composti [2]

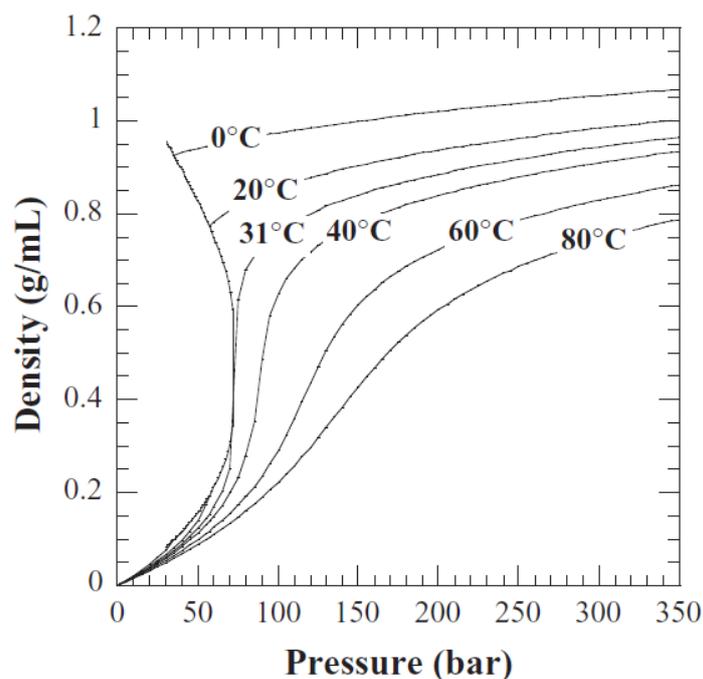
Solvente	Temperatura critica (°C)	Pressione critica (bar)
Acqua	374.2	220.5
Ammoniaca	132.5	112.8
Benzene	289.0	48.9
Cicloesano	280.3	40.7
Anidride Carbonica	31.1	73.8
Etano	32.3	48.8
Etanolo	240.8	61.4
Etilene	9.3	50.4
Propano	96.7	42.5
Propilene	91.9	46.2
Toluene	318.6	41.1

Come si può osservare, composti che in condizioni ambientali sono in fase liquida presentano un punto critico molto elevato, come ad esempio l'acqua, e per tanto tali sostanze sono difficilmente applicabili in campi in cui i materiali da trattare sono ad esempio termolabili.

Altro svantaggio che si può ricercare in composti con elevato punto critico è di tipo economico, infatti nelle applicazioni industriali risulta oneroso il raggiungimento e il mantenimento di pressioni molto elevate, non strettamente richieste con solventi come la CO<sub>2</sub>.

### 1.2.1 Proprietà chimico - fisiche

La variazione del potere solvente dell'anidride carbonica può essere descritta bene dal diagramma di figura 1.3, che mostra la variazione della densità in funzione della pressione e della temperatura. Pertanto è riportato il diagramma per la CO<sub>2</sub>, dove è possibile individuare il suo punto critico ( $T_c = 31,1^\circ\text{C}$ ;  $P_c = 73,8$  bar).



**Figura 1.3:** Densità in funzione di pressione e temperatura per la CO<sub>2</sub> [1]

Osservando l'andamento della densità, considerabile come parametro fortemente rappresentativo della solubilità, come già discusso precedentemente, si può dedurre che essa varia considerevolmente con la pressione se il fluido si trova al di sopra della temperatura critica. In particolare si vede che tale effetto di variazione della densità con la pressione è molto più marcato per pressioni non tanto superiori rispetto a quella critica, e che per pressioni elevate tale effetto è sempre meno rilevante. Questo è a sua volta legato alla temperatura, infatti a temperature significativamente maggiori rispetto a quella critica, l'andamento crescente della densità con la pressione è distribuito uniformemente, ad esempio tra 50 e 300 bar, per l'isoterma a 80°C. In prossimità delle condizioni critiche invece l'andamento si esaurisce in un intervallo di pressioni ridotto, ad esempio a 40°C, dove l'andamento si sviluppa fino a circa 200 bar. Ciò è legato al fatto che a temperature basse la comprimibilità del fluido è sempre più prossima a quella dei liquidi, che come è noto possono essere considerati approssimativamente incomprimibili.

### 1.2.2 Proprietà di trasporto

Oltre al vantaggio di avere una densità confrontabile con quella di un liquido, ed agevolmente monitorabile in funzione di temperatura e pressione, come osservato nel paragrafo precedente, un fluido supercritico possiede l'ulteriore vantaggio di avere proprietà di trasporto dell'ordine di grandezza dei gas, in particolare diffusività e viscosità, come si può osservare per la CO<sub>2</sub>. Inoltre la bassa tensione superficiale dei fluidi supercritici (vedi tabella 1.1) permette la facile penetrazione in materiali microporosi [3].

Osservando la figura 1.4, dove viene fatto un confronto tra diffusività in CO<sub>2</sub> supercritica e in solventi organici (mediamente attorno a 10<sup>-5</sup> cm<sup>2</sup>/s), si può vedere che in condizioni supercritiche il valore del coefficiente di diffusività è circa uno o due ordini di grandezza più alto rispetto al caso di liquidi organici, quindi l'impiego di fluidi supercritici in sostituzione di solventi organici liquidi diventa interessante perché è favorito il trasporto di materia.

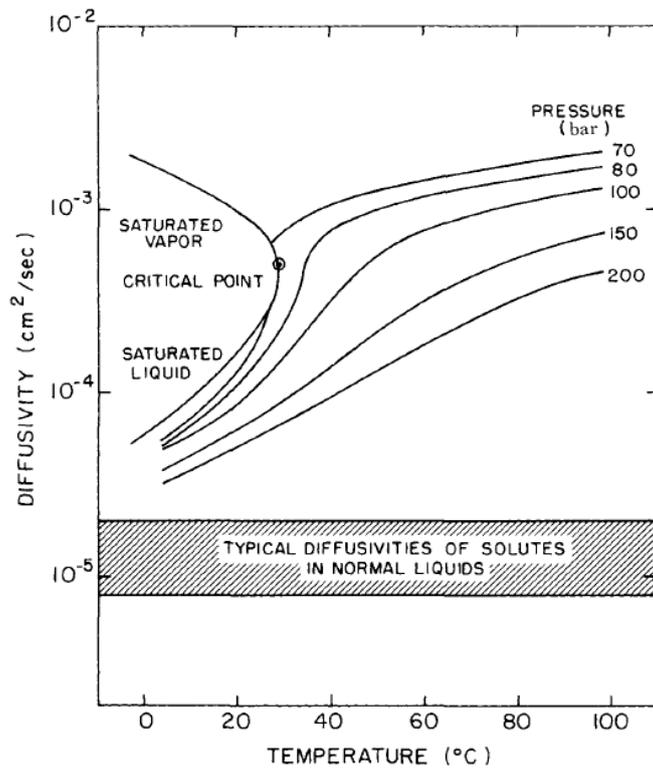


Figura 1.4: Andamento della diffusività dell'anidride carbonica [3]

Per quanto riguarda la viscosità, si riporta l'andamento per la CO<sub>2</sub> in funzione di temperatura e pressione (figura 1.5). Si osserva che in corrispondenza del punto critico si ha un incremento repentino della viscosità (al superamento della pressione critica), ma i valori rimangono anche per pressioni piuttosto elevate (300-400 bar) dello stesso ordine di grandezza di quella dei gas e circa un ordine di grandezza inferiore rispetto a quella dei liquidi organici.

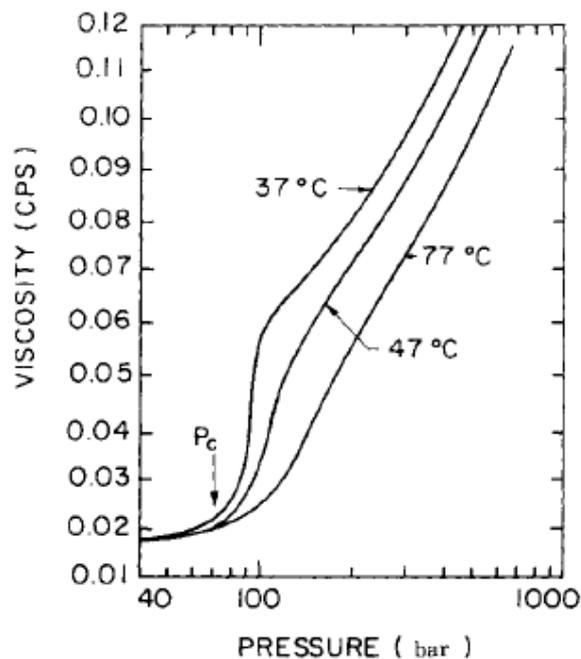


Figura 1.5: Andamento della viscosità dell'anidride carbonica [3]

### 1.3 Diagrammi di fase della CO<sub>2</sub> supercritica

Nell'ambito dell'estrazione con fluidi supercritici è importante valutare se per un dato soluto è possibile raggiungere certi livelli di solubilità in condizioni di temperatura e pressione giustificabili in termini di applicazione in campo industriale.

Diventa importante allora restringere l'intervallo di variabili da investigare, al fine di ridurre la mole di lavoro sperimentale, e questo è possibile attraverso la conoscenza dei diagrammi di fase tra il solvente supercritico e il soluto solido.

È necessario in questo contesto far presente che per molti composti organici ad alto peso molecolare la solubilità in CO<sub>2</sub> pura risulta essere troppo bassa e tale da richiedere temperature e pressioni molto elevate al fine di ottenere risultati significativi nelle applicazioni industriali. Questo comportamento è legato alla bassa affinità tra la CO<sub>2</sub> (non polare) e i composti organici non volatili, che risultano essere polari. Allora una soluzione adottata è quella di impiegare un co-solvente organico polare al fine di ottenere una miscela supercritica modificata con l'obiettivo di incrementare la polarità rispetto alla CO<sub>2</sub> pura e quindi il potere solvente.

In termini di equilibrio tali sistemi devono essere studiati considerando il co-solvente come soluto liquido e il composto da trattare come soluto solido.

In particolare, quando si opera con CO<sub>2</sub> pura o con CO<sub>2</sub> modificata, come nel caso di questa tesi, sarebbe prudente evitare di lavorare in regioni multifasiche dello spazio pressione – temperatura – composizione.

Per le condizioni operative adottate nell'industria e nella sperimentazione di laboratorio, sono state classificate 5 classi principali di diagramma di fase soluto-SCF, riportati sul piano P-T. Tale rappresentazione bidimensionale è giustificata dal fatto che nelle applicazioni ad alta pressione la concentrazione del soluto risulta essere piccola rispetto a quella del solvente, pertanto le variabili P e T risultano essere molto più influenti rispetto alla composizione [3].

In figura 1.6 sono rappresentate le cinque classi di diagramma di stato per sistemi SCF – soluto.

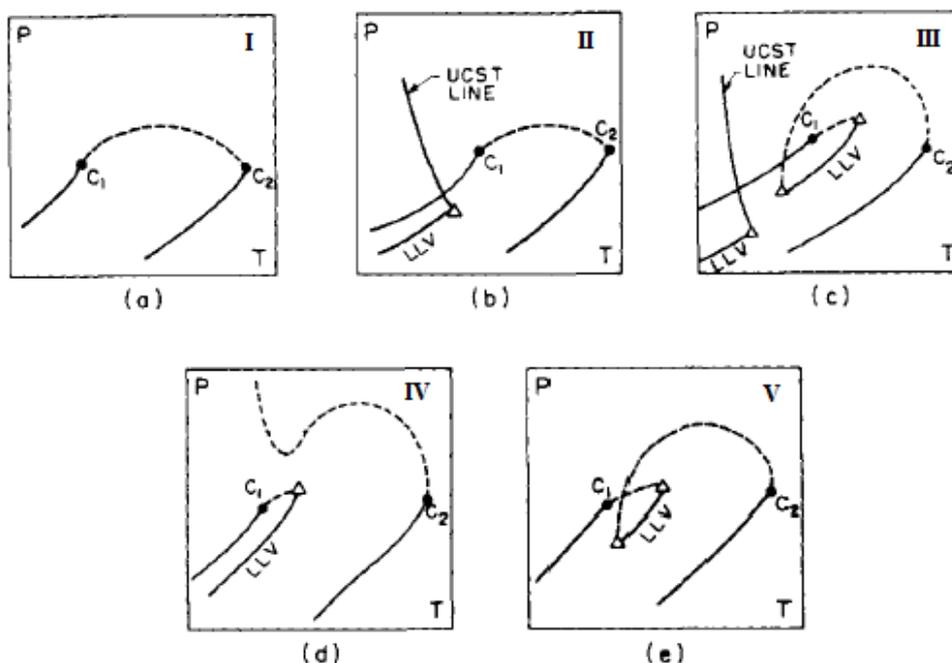


Figura 1.6: Classi di diagramma di fase per miscela binaria SCF – soluto [3]

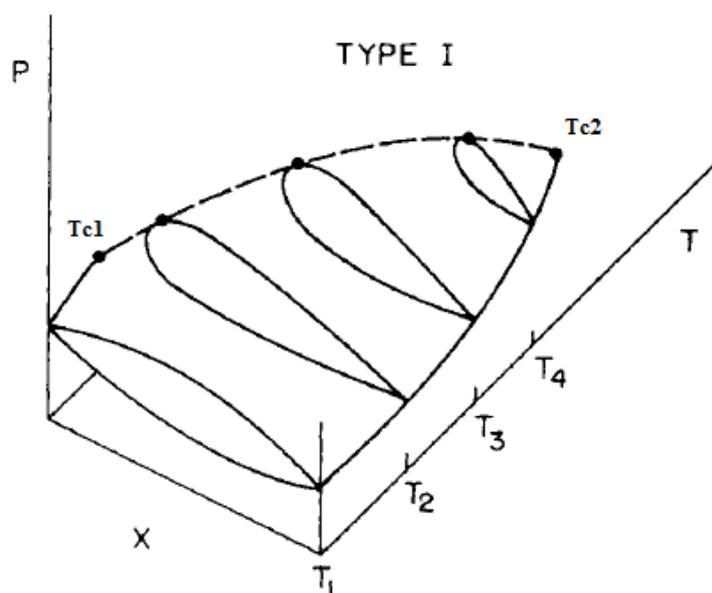
Le tipologie di diagramma di stato P-T riportate sopra sono state determinate come soluzioni dell'equazione di stato di van der Waals. Con  $C_1$  e  $C_2$  sono indicati rispettivamente il punto critico del componente 1 e del componente 2. La curva tratteggiata rappresenta la curva dei punti critici per la miscela binaria. Delle cinque classi presentate, quelle di maggiore interesse pratico risultano essere la I e la III. La classe I rappresenta il caso di solvente supercritico e un soluto liquido (di particolare interesse per interpretare le proprietà di un fluido supercritico modificato con presenza di un co-solvente), mentre la classe III è rappresentativa della miscela solvente supercritico e soluto solido, come nel caso delle misure di solubilità di principi attivi effettuate in questo lavoro di tesi.

### 1.3.1 Diagramma di stato solvente supercritico – soluto liquido

La conoscenza dell'equilibrio di fase per sistemi ad alta pressione che impiegano anidride carbonica modificata da un co-solvente è di grande interesse, a causa dell'applicazione di tali sistemi nel trattamento di composti termolabili. Gli alcoli a basso peso molecolare sono tra i più importanti composti usati in processi di separazione perché hanno il ruolo di agire come modulatori della polarità del solvente supercritico o come modificatori nella cromatografia con fluidi supercritici [4].

Nel caso di miscela binaria in cui il soluto è un liquido, come il caso della miscela  $CO_2$  supercritica ed etanolo, l'andamento del diagramma di fase è rappresentabile con la tipologia I (figura 1.6.a). Il diagramma I presenta una curva di miscela critica continua, che lega il punto critico del componente più volatile con il punto critico del componente meno volatile. Tale caratteristica si verifica quando i componenti della miscela hanno diametri molecolari e forza di interazione simili, e presentano punti critici comparabili.

Per approfondire meglio il comportamento della miscela, è possibile osservare il diagramma di stato nello spazio tridimensionale P-T-x (figura 1.7), dove x indica la composizione del componente più pesante della miscela.



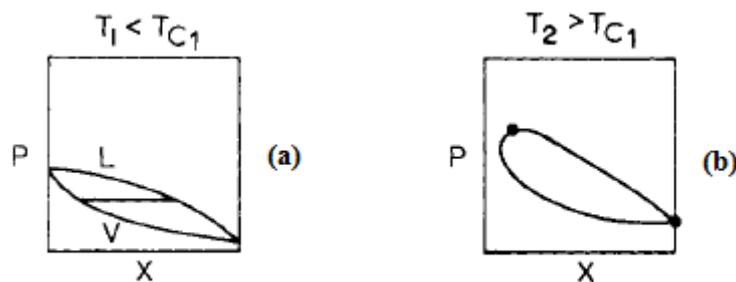
**Figura 1.7:** Diagramma di stato P-T-x per miscela binaria SCF – soluto liquido [3]

La concentrazione del componente modificante la miscela, osservando il diagramma tridimensionale, gioca un importante effetto sull'equilibrio delle fasi, in particolare sulla lacuna di miscibilità, effetto importante per le misure che si sono svolte in questo lavoro di tesi.

Come si è già detto in precedenza, è importante assicurarsi che il sistema non sia bifasico, e questo dipende essenzialmente, ad una fissata coppia di valori pressione – temperatura, dal contenuto di co-solvente presente nella miscela.

Il diagramma tridimensionale è stato costruito in questa rappresentazione come sovrapposizione di più isoterme pressione – composizione, e questo ci aiuta a studiare il comportamento del sistema. Note  $T_{c1}$  e  $T_{c2}$  (temperature critiche rispettivamente del solvente supercritico e del liquido organico) si può osservare che per  $T_1 < T_{c1}$  (figura 1.8.a) la lacuna di miscibilità è estesa lungo tutto l'asse x, e questo implica che, anche per tenori di co-solvente molto bassi, esiste sempre una zona bifasica del sistema, come si può osservare appunto dall'isoterma  $T_1$ .

Nel caso in cui  $T_2 > T_{c1}$  (figura 1.8.b), si osserva invece che la lacuna di miscibilità si distacca dal piano contenente l'asse della pressione: esistono valori di composizione del modificante per i quali non esiste equilibrio bifasico.



**Figura 1.8:** Diagrammi di stato P-x a due diverse temperature fissate [3]

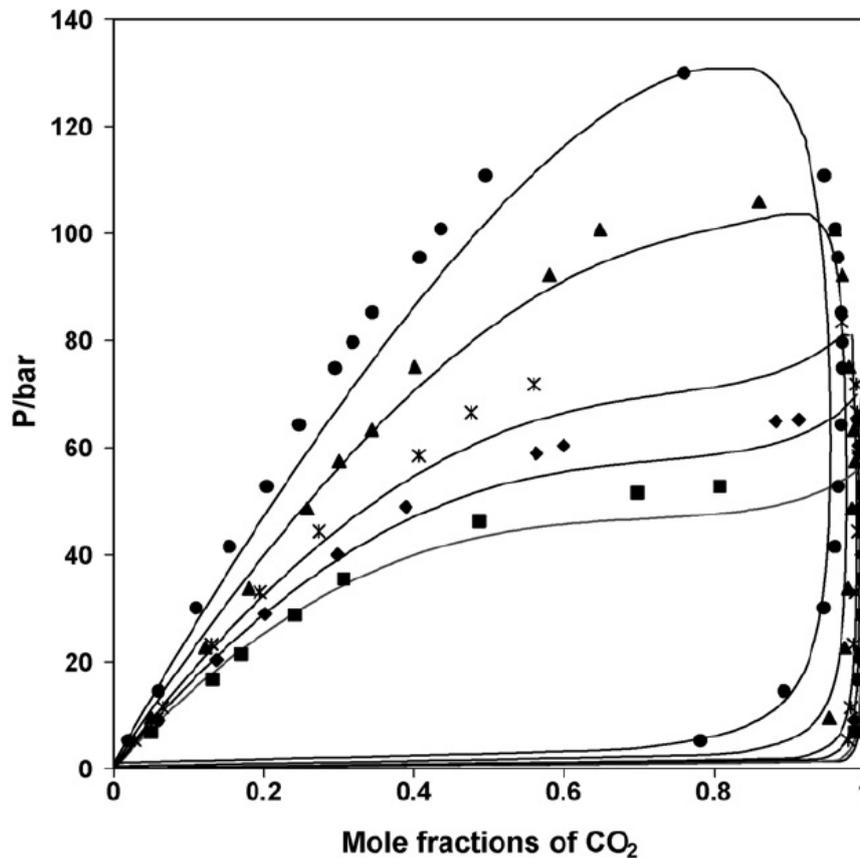
Questo comportamento si spiega semplicemente partendo dalla definizione di punto critico: se ci troviamo al di sopra della  $T_{c1}$  (temperatura critica del componente più leggero), esisterà un intervallo di composizione del componente 2 per cui non si può avere condensazione per compressione della fase gassosa in equilibrio. Ovviamente, all'aumentare della temperatura del sistema, ci spostiamo maggiormente verso la  $T_{c2}$ , temperatura critica massima del sistema, e quindi l'estensione della lacuna di miscibilità risulterà sempre più ridotta, ottenendo un intervallo sempre più ampio di composizione operativa. Al limite, per  $T = T_{c2}$ , le curve di equilibrio vanno a collidere in un punto, essendo ora tutto il sistema alla temperatura critica del componente più pesante, e quindi non sarà possibile, per qualunque composizione, avere formazione di fase liquida per compressione.

Volendo entrare nel merito di questo lavoro di tesi, si può fare riferimento ad uno studio del 2008, condotto presso il *Department of Applied Physical Chemistry and Electrochemistry* della "Politehnica" University di Bucharest, nel quale sono stati ricavati sperimentalmente dati di equilibrio per il sistema anidride carbonica – etanolo in un intervallo di temperatura compreso tra 293,15 e 353,15 K, a pressioni fino a 110,8 bar.

I dati sperimentali sono stati regrediti con una equazione cubica di stato generale (GEOS) usando classici parametri di miscela di van der Waals, potendo calcolare l'andamento di

equilibrio per la miscela bifasica anidride carbonica – etanolo per un ampio intervallo di temperatura.

In figura 1.9 si riporta il diagramma pressione – composizione per le diverse temperature, riportando sia i punti sperimentali che la predizione data dalla GEOS.



**Figura 1.9:** Diagramma pressione – composizione per la miscela CO<sub>2</sub> – etanolo [4]

Osservando l'andamento dei punti a 353,15 K (●) si osserva che la lacuna di miscibilità si estende fino a circa il 95% di CO<sub>2</sub>, quindi a questa temperatura è possibile operare con una frazione molare di co-solvente inferiore al 5% al fine di non avere sistema bifasico,

Tutte le altre curve presenti nel diagramma di figura 1.9 sono state ricavate per temperatura inferiori agli 80°C, presentando una lacuna di miscibilità sempre più estesa, che riduce l'intervallo operativo per cui si può ottenere flusso monofasico.

In figura 1.10 invece si riporta il diagramma pressione – temperatura, calcolato fino alla temperatura critica dell'etanolo (513,9 K), dove si può osservare che il comportamento è classificabile come diagramma di fase del tipo I (figura 1.6.a).

La linea critica di miscela del diagramma P-T è stata calcolata con l'equazione GEOS impiegata nell'intero lavoro a cui si sta facendo riferimento.

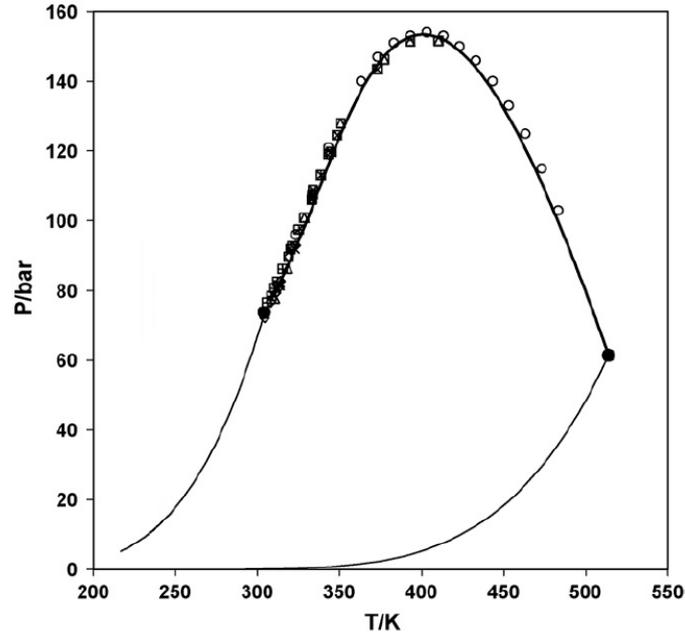


Figura 1.10: Diagramma di equilibrio pressione – temperatura per il sistema CO<sub>2</sub> – etanolo [4]

### 1.3.2 Diagramma di stato solvente supercritico – soluto solido

Essendo l'obiettivo di questo lavoro sperimentale la stima della solubilità di soluti solidi organici in anidride carbonica supercritica, è importante conoscere e capire il diagramma di stato binario per una miscela SCF – soluto solido, per osservare come la presenza di un fluido supercritico ne permetta l'applicazione nel trattamento di composti solidi in campo industriale. Il diagramma di fase che può rappresentare bene il comportamento di una miscela solvente supercritico – soluto solido è riportato in figura 1.11.

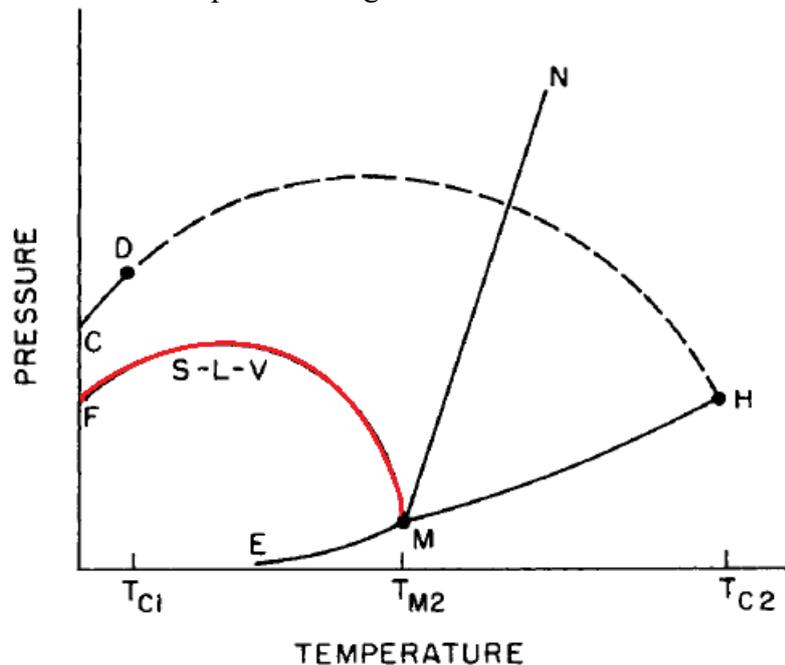


Figura 1.11: Diagramma di stato per miscela binaria SCF – soluto solido [3]

Nel diagramma sopra riportato, sono rappresentate le curve liquido vapore sia per il componente più leggero (CD) che per quello più pesante (MH), che terminano rispettivamente in corrispondenza dei punti critici delle due sostanze.

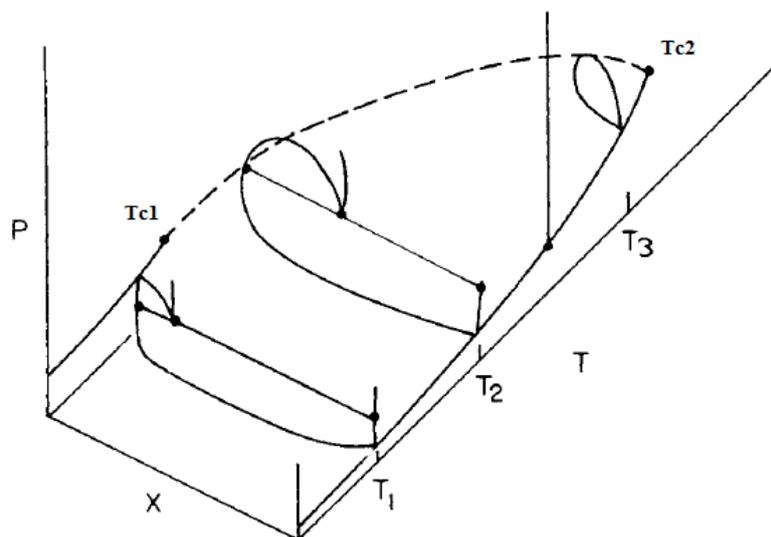
Come per il diagramma di stato in presenza di soluto liquido, la linea tratteggiata identifica il luogo dei punti critici della miscela, che si estende in un campo di temperatura che va da  $T_{c1}$  (temperatura critica del solvente) fino a  $T_{c2}$  (temperatura critica del soluto).

Trattandosi di soluto solido, è presente anche la curva di equilibrio solido – liquido (luogo dei punti di fusione) rappresentata dalla linea MN e quella di sublimazione (linea EM).

Partendo proprio dal punto M, punto triplo del soluto, si può spiegare l'effetto della presenza di un fluido supercritico sull'equilibrio di fase di un solido organico, osservando la curva continua S-L-V, che inizia nel punto M e termina, ovviamente, in un punto localizzato prima del punto critico del solvente.

Normalmente, aumentando la pressione del sistema, il punto di fusione del solido puro aumenta, come si osserva dalla pendenza della linea MN. Invece, se il solido viene compresso con un fluido in condizioni supercritiche, come è possibile osservare seguendo la curva di equilibrio S-L-V (evidenziata in rosso), si ha un abbassamento del punto di fusione (o punto di congelamento) del solido.

Tale fenomeno, noto come decremento del punto di fusione, è spiegabile fisicamente con il fatto che, quando si aumenta la pressione, la quantità di gas che dissolve nella fase liquida pesante aumenta. Aumentando il gas disciolto nel liquido, la temperatura richiesta per la solidificazione del solido diminuisce significativamente, a causa di un complesso processo chimico-fisico, in cui interagiscono forze di repulsione elettrostatica, per le quali è necessaria una temperatura più bassa per la solidificazione del soluto [5].



**Figura 1.12:** Diagramma P-T-x per una miscela binaria SCF – soluto solido [3]

Prendendo in considerazione il diagramma di stato nello spazio tridimensionale (figura 1.12) per il sistema binario in questione (dove x è la frazione molare del soluto) si può capire il ruolo cardine della temperatura sul comportamento di equilibrio del sistema.

Considerando l'isoterma per  $T_1 < T_{c1}$ , si osserva un'ampia zona bifasica solido – gas per basse pressioni. Incrementando la pressione si possono avere due effetti in funzione della composizione complessiva del sistema: se questa si trova a sinistra della composizione del liquido si ottiene la scomparsa della fase solida, se si trova a destra quella della fase gassosa.

Fissando la temperatura per un valore  $T_2 > T_{c1}$  si ottiene, come nel caso di soluti liquidi, che la curva di equilibrio si stacca dal piano contenente l'asse delle pressioni, cioè esisterà un intervallo di composizione tale per cui, ad ogni pressione, il sistema sarà monofasico. In particolare si osserva che la zona G-S si riduce, con aumento della zona G-L, semplicemente perché essendo aumentata la temperatura aumenta la concentrazione del soluto in fase liquida. In questo caso, per pressioni superiori al valore di equilibrio trifasico, con miscele molto concentrate in soluto, si instaura l'equilibrio solido – liquido.

Infine, per  $T_3$  maggiore della temperatura di fusione del solido, esiste soltanto la zona di equilibrio liquido – vapore (avente massimo sulla curva dei punti critici di miscela) quindi si ha la scomparsa in condizioni di equilibrio del soluto in fase solida, appunto perché il sistema si trova a temperatura tale da avere soltanto il soluto liquido.

## 1.4 Solubilità di composti solidi in CO<sub>2</sub> supercritica

La conoscenza della solubilità di soluti solidi in fluidi supercritici, come i principi attivi in CO<sub>2</sub> supercritica, è essenziale per la progettazione dei metodi impiegati negli ultimi decenni per la produzione di prodotti farmaceutici, come l'estrazione e la purificazione in anidride carbonica supercritica, in sostituzione di solventi organici.

La determinazione della solubilità sulla base della sola conoscenza della struttura del solido risulta difficile, perché sono coinvolti due fattori principali: le interazioni soluto – soluto e quelle soluto – solvente. Le interazioni soluto – solvente sono difficilmente determinabili perché sono influenzate da diversi parametri quali pressione, densità, temperatura e polarità [6]. I modelli termodinamici per il calcolo della solubilità risultano complessi, perché richiedono la risoluzione di una equazione di stato (EOS). L'uso di una equazione di stato richiede la conoscenza di parametri difficili da reperire per soluti solidi, come le proprietà critiche, il fattore acentrico e la pressione di sublimazione [7].

L'alternativa più semplice ai metodi termodinamici è rappresentata dai modelli semi-empirici, nei quali la solubilità è funzione di densità, temperatura e pressione del fluido supercritico.

Tali modelli sono limitati dalla quantità di dati sperimentali che vengono regrediti, ma hanno il vantaggio di essere ricavati semplicemente attraverso la minimizzazione dell'errore, applicando ad esempio il metodo dei minimi quadrati per la determinazione dei parametri.

### 1.4.1 Trattazione termodinamica

Per determinare l'espressione della solubilità di un solido non volatile puro (2) in un fluido supercritico (1), si impiegano relazioni della termodinamica classica, quindi si eguagliano le fugacità nella fase solida e nella fase supercritica per ogni componente. Tale principio di equilibrio, per un sistema binario soluto – solvente, si riduce alla sola equazione per il soluto, se si fa l'ipotesi di assumere il solvente insolubile nella fase solida:

$$f_2^S = f_2^{SCF} \quad (1.1)$$

dove a primo membro compare la fugacità del soluto nella fase solida, mentre a secondo la fugacità del componente della fase supercritica. Per esprimere la fugacità del soluto nel fluido supercritico, si considera questo come un gas compresso, secondo l'espressione seguente:

$$f_2^{SCF} = y_2 \Phi_2^{SCF} P \quad (1.2)$$

in cui si è indicato con  $\Phi_2^{SCF}$  il coefficiente di fugacità del soluto solido nella fase supercritica. Per la fugacità della fase solida invece vale la seguente espressione:

$$f_2^S = P_2^{sub} \Phi_2^{sat} \exp \left[ \frac{V_2^S}{RT} (P - P_2^{sub}) \right] \quad (1.3)$$

Sostituendo le espressioni (1.2) e (1.3) nell'equazione (1.1) si ottiene la solubilità del soluto nella fase supercritica, espressa come frazione molare:

$$y_2 = \frac{P_2^{sub}}{P} \cdot \frac{\Phi_2^{sat}}{\Phi_2^{SCF}} \exp \left[ \frac{V_2^S}{RT} (P - P_2^{sub}) \right] \quad (1.4)$$

Osservando la (1.4) si nota come la solubilità sia data dal prodotto tra solubilità ideale ( $P_2^{sat}/P$ ) e un termine correttivo, conosciuto come *enhancement factor* [7], che tiene conto della non-idealità del fluido supercritico attraverso il rapporto ( $\Phi_2^{sat}/\Phi_2^{SCF}$ ). L'espressione presenta un terzo fattore, esponenziale, che tiene conto dell'effetto della pressione sulla fugacità del solido, termine noto come *Poynting factor*.

Se si considerano solidi poco volatili, come nel caso di diversi principi attivi solidi (è il caso di questo lavoro di tesi), la pressione di sublimazione risulta essere bassa, e quindi il valore del coefficiente di fugacità a saturazione del solido ( $\Phi_2^{sat}$ ) si può considerare unitario. Pertanto l'espressione (1.4) diventa la seguente:

$$y_2 = \frac{P_2^{sub}}{P} \cdot \frac{1}{\Phi_2^{SCF}} \exp \left[ \frac{V_2^S}{RT} (P - P_2^{sub}) \right] \quad (1.5)$$

Tale equazione risulta essere implicita, poiché la solubilità è funzione del coefficiente di fugacità del fluido supercritico, che, a sua volta, è funzione di  $y_2$ , T, P e  $Z^{SCF}$ . Con  $Z^{SCF}$  si indica il coefficiente di comprimibilità della fase supercritica, che risulta essere ancora funzione di  $y_2$ , T, P.

Il coefficiente di fugacità per il fluido supercritico e il fattore di comprimibilità possono essere calcolati mediante la risoluzione di una equazione di stato (EOS).

### 1.4.2 Modelli semi-empirici

Come detto nel paragrafo precedente, impiegando modelli termodinamici, sono necessarie diverse informazioni chimico-fisiche, che non sono facilmente disponibili per i solidi di interesse in questo lavoro, per tanto i modelli maggiormente impiegati per lo studio della solubilità di solidi organici non volatili sono quelli semi-empirici, ricavabili partendo dalle seguenti considerazioni teoriche.

Facendo il logaritmo dell'equazione (1.5) si ottiene la seguente espressione:

$$\ln y_2 = \ln P_2^{sub} - \ln P - \ln P \Phi_2^{SCF} + \frac{V_2^s}{R} \cdot \frac{P}{T} - \frac{V_2^s P_2^{sub}}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad (1.6)$$

Note temperatura e pressione, sono ricavate le proprietà volumetriche del solvente, ovvero la sua densità e il suo fattore di comprimibilità (ricordando che si sta considerando il fluido supercritico come un gas compresso) dalla seguente relazione:

$$P = ZRT\rho_1 \quad (1.7)$$

Combinando le equazioni (1.6) e (1.7) si ottiene l'espressione (1.8), dalla quale è possibile osservare la dipendenza diretta tra la solubilità del soluto e la densità del solvente.

$$\ln y_2 = \ln P_2^{sub} - \ln PZRT\rho_1 - \ln P \Phi_2^{SCF} + V_2^s Z \rho_1 - \frac{V_2^s P_2^{sub}}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad (1.8)$$

I modelli semi-empirici, noti come “density-based models” [8], risultano essere una approssimazione empirica della relazione (1.8), offrendo correlazioni che legano la solubilità del solido alla densità del fluido supercritico, senza richiedere nessun parametro del solido, come invece sarebbe necessario impiegando modelli basati sulla risoluzione di EOS.

In letteratura è pratica comune correlare empiricamente la solubilità del soluto in funzione della densità del SCF, comparando i dati stimati con il modello con quelli ottenuti sperimentalmente in termini di AARD% (average absolute relative deviation) [9].

I modelli semi-empirici sviluppati variano da un minimo di 3 ad un massimo di 10 parametri, che sono ottenuti per minimizzazione dell'errore sulla base dei dati sperimentali a disposizione. La maggior parte delle correlazioni presentano una relazione lineare tra il logaritmo della solubilità del solido ed il logaritmo della densità del fluido supercritico, ma esistono anche modelli per i quali il logaritmo della solubilità è funzione della densità. Le variabili presenti nel modello possono essere in generale anche pressione e temperatura. Le tre variabili non sempre compaiono esplicitamente nel modello, poiché queste non sono tra loro indipendenti, infatti fissate ad esempio T e P si può ricavare la densità del solvente supercritico (vedi fig. 1.3).

Un aspetto importante da notare ai fini di questo lavoro è che non esiste un modello che offre la migliore correlazione tra tutti i dati sperimentali di tutti i soluti [7], quindi sarà necessario selezionare alcuni modelli ed identificare quello che risulta fornire la migliore regressione con i dati sperimentali, per il soluto oggetto della sperimentazione.

Tra i più comuni modelli semi-empirici impiegati nella ricerca, tre importanti correlazioni sono state sviluppate da Chrastil, Méndez-Santiago and Teja, e Bartle et al. [10].

### 1.4.3 Modello teorico di Chrastil

Il modello di Chrastil, uno dei primi sviluppati nel campo della determinazione della solubilità di solidi e liquidi in un fluido supercritico, parte dall'ipotesi termodinamica per la quale tra le molecole del soluto e le molecole del fluido supercritico si abbia la formazione di un complesso di solvatazione, in equilibrio con il SCF [11].

Tale fenomeno all'equilibrio può essere espresso con la legge di azione di massa e nel caso ideale in cui una molecola di soluto A è associata a  $k$  molecole di solvente B per formare un complesso solvatato  $AB_k$  in equilibrio con il sistema, si può scrivere:



$$K = \frac{[AB_k]}{[A][B]^k} \quad (1.10)$$

dove la (1.10) è l'espressione della costante di equilibrio del processo di solvatazione e in cui  $[A]$  è la concentrazione molare del soluto nella fase fluida,  $[B]$  è la concentrazione molare del solvente e  $[AB_k]$  è la concentrazione molare del soluto nel solvente supercritico. Partendo da questa ultima espressione, passando ai logaritmi, si ottiene:

$$\ln K + \ln [A] + k \ln [B] = \ln [AB_k] \quad (1.11)$$

Esprimendo la  $K$  di equilibrio in funzione del calore di solvatazione e la concentrazione  $[A]$  secondo l'equazione di Clausius-Clapeyron si ottiene l'equazione (1.12), dove  $q$  è una costante e  $\Delta H = \Delta H_{vap} + \Delta H_{sol}$ .

$$\Delta H/RT + q + k \ln [B] = \ln [AB_k] \quad (1.12)$$

Volendo esprimere la concentrazione del soluto  $s$  e la densità del solvente  $\rho$  entrambe in g/L, partendo dalle concentrazioni molari presenti dell'equazione (1.12), otteniamo le espressioni (1.13 a,b):

$$[AB_k] = s/(M_A + kM_B) \quad (1.13 a)$$

$$[B] = \rho/M_B \quad (1.13 \text{ b})$$

dove  $M_A$  ed  $M_B$  sono i pesi molecolari del soluto e del solvente rispettivamente. Sostituendo le (1.13) nella (1.12) otteniamo l'espressione finale che porta alla correlazione di Chrastil [11]:

$$\frac{\Delta H}{RT} + q + k \ln \rho - k \ln M_B = \ln s - \ln(M_A + kM_B) \quad (1.14)$$

Riscrivendo il modello in una forma più compatta, che è anche quella più nota, si ottiene una espressione del  $\ln s$  a tre parametri, che chiameremo  $a$ ,  $b$  e  $k$ , ottenendo la seguente:

$$\ln s = k \ln \rho + \frac{a}{T} + b \quad (1.15)$$

Le espressioni delle costanti, secondo cui  $b = \ln(M_A + kM_B) + q - k \ln M_B$  e  $a = \Delta H/R$ , mostrano che  $b$  è una funzione del numero di associazione e dei pesi molecolari del soluto e del fluido supercritico, mentre  $a$  dipende dall'entalpia globale, somma delle entalpie di vaporizzazione e di solvatazione. Osservando che il logaritmo della solubilità è una funzione lineare del logaritmo della densità, il parametro  $k$  (numero di associazione) rappresenta la pendenza dell'isoterma di solubilità ed è quindi una misura della dipendenza della solubilità dalla densità. Analogamente, il parametro  $a$ , essendo il coefficiente angolare della relazione tra  $\ln s$  e  $1/T$ , fornisce una misura della dipendenza della solubilità dalla temperatura a densità costante [12].

## 1.5 Solubilità di composti solidi in presenza di co-solvente

La  $\text{CO}_2$  supercritica è stata impiegata nello studio e nelle applicazioni con fluidi supercritici per il suo basso punto critico, come già visto, ma anche perché è facile da stoccare, non è infiammabile, non è tossica ed è poco costosa. Essa, però, presenta limitazioni per la sua mancanza di polarità, il cui risultato è la mancanza di interazioni specifiche soluto – solvente nel caso di solidi organici polari [13]. Per molti composti organici ad elevato peso molecolare, come il cortisone o altri principi appartenenti alla stessa classe, la solubilità in  $\text{CO}_2$  supercritica pura risulta essere molto bassa, e sono necessarie elevate temperature e pressioni al fine di ottenerne dei valori significativi.

Per questo si rende necessario intervenire sulle interazioni specifiche del solvente, con l'aggiunta di un modificante, o co-solvente, in piccole quantità, limitate dal comportamento termodinamico di fase dei due composti, argomento trattato nel paragrafo 1.3.1.

Il modello di Chrastil [11], presentato nel paragrafo precedente, risulta essere idoneo solo nel caso di solubilità di composti organici in  $\text{CO}_2$  pura, per tanto sono state implementate delle sue modifiche, per tener conto della presenza di modificanti nel solvente supercritico.

Si può osservare che, da un punto di vista termodinamico, il sistema soluto –  $\text{CO}_2$  – co-solvente è un sistema ternario, quindi diventano importanti anche le interazioni del modificante con il soluto nel calcolo della solubilità.

### 1.5.1 Modello teorico di González et al.

Il modello di Chrastil (1982), implementato a partire dalla legge di azione di massa, è stato adattato al caso in cui è presente un modificante secondo uno studio proposto da González et al. [14].

L'ipotesi di partenza è sempre quella della formazione del complesso solvatato, questa volta considerando l'associazione di ogni molecola di soluto con  $k$  molecole di anidride carbonica e  $\gamma$  molecole di modificante, esprimibile con la legge di azione di massa:



$$K = \frac{[AB_kC_\gamma]}{[A][B]^k[C]^\gamma} \quad (1.17)$$

avendo chiamato A il soluto, B l'anidride carbonica e C il co-solvente e avendo indicato in parentesi quadre la concentrazione molare dei componenti. Esprimendo in logaritmi la (1.17) si ottiene la seguente equazione:

$$\ln K + \ln [A] + k \ln [B] + \gamma \ln [C] = \ln [AB_kC_\gamma] \quad (1.18)$$

dove K è la costante di equilibrio e dove tra parentesi quadre sono espresse rispettivamente le concentrazioni molari dei componenti puri e la concentrazione del complesso solvatato.

Essendo un processo di solvatazione, è possibile esprimere la sua costante di equilibrio in funzione della variazione di energia libera di Gibbs per tale processo. Ammettendo l'ipotesi di operare a temperature non elevate, ed assumendo una variazione di entropia costante, è possibile esprimere il calore di solvatazione in funzione della variazione di entalpia del sistema:

$$\ln K \cong -\frac{\Delta H_{solv}}{RT} + q_s \quad (1.19)$$

dove  $R$  è la costante universale dei gas,  $T$  la temperatura e  $q_s$  è una costante.

Considerando valida anche in questa trattazione l'equazione di Clausius-Clapeyron per l'equilibrio solido-gas, avendo assunto un valore costante del calore di vaporizzazione (assunzione valida in un limitato intervallo di temperatura), la concentrazione molare del soluto [A] si può approssimare secondo la seguente espressione:

$$\ln [A] \cong -\frac{\Delta H_{evap}}{RT} + q_v \quad (1.20)$$

dove anche in questo caso  $q_v$  risulta essere una costante.

Sostituendo le espressioni (1.19) e (1.20) nell'equazione (1.18), e considerando la variazione di calore totale, ottenuta come somma dei due contributi di solvatazione e vaporizzazione, si ottiene:

$$\frac{\Delta H_{tot}}{RT} + q + k \ln[B] + \gamma \ln[C] = \ln[AB_k C_\gamma] \quad (1.21)$$

Se si convertono tutte le concentrazioni in g/l, isolando il termine di concentrazione del soluto:

$$\ln s = -\frac{\Delta H_{tot}}{RT} + q + k \ln \rho - k \ln M_B - k \ln \gamma - k \ln M_C + \gamma \ln m + \ln(M_A + kM_B + \gamma M_C) \quad (1.22)$$

dove con  $M_i$  sono indicati i pesi molecolari delle tre specie presenti, con  $s$  la concentrazione del soluto e con  $m$  la concentrazione del co-solvente.

Riscrivendo i termini in forma più compatta, si ottiene la correlazione di González a quattro parametri [14], riportata qui in forma logaritmica:

$$\ln s = k \ln \rho + \gamma \ln m + \frac{a}{T} + b \quad (1.24)$$

dove  $a = \Delta H_{tot}/R$  e  $b = q - k \ln M_B - k \ln \gamma - k \ln M_C + \ln(M_A + kM_B + \gamma M_C)$ .

Osservando la correlazione, si può osservare la chiara analogia con il modello di Chrastil (1982), rispetto al quale compare il termine aggiuntivo relativo alla presenza del modificante.

## 1.6 Modelli impiegati per la regressione dei dati

Per la regressione dei dati del cortisone sono stati impiegati i modelli presenti in tabella 1.3.

**Tabella 1.3:** Modelli semi-empirici utilizzati

Modello	Variabili	N. parametri	Riferimento
Crastil (1982)	$\rho, T$	3	[11]
Adachi and lu (1983)	$\rho, T$	5	[15]
del Valle and Aguilera (1988)	$\rho, T$	4	[16]
Sparks et al. (2008) (a)	$\rho, T$	5	[10]

Sparks et al. (2008) (b)	$\rho, T$	6	[10]
Sung and Shim (1999)	$\rho, T$	4	[17]
Bian et al. (2011)	$\rho, T$	5	[18]
Kumar and Johnston (1988)	$\rho, T$	3	[19]
Garlapati and Madras (2009)	$\rho, T$	3	[20]
Ci-Mussa (2017)	$\rho, T$	6	[7]
Bartle et al. (1991)	$\rho, T, P$	3	[21]
Ch and Madras	$\rho, T, P$	4	[22]
Hezave and Lashkarbolooki (2013)	$\rho, T, P$	4	[23]
Méndez-Santiago and Teja (1999)	$\rho, T, P$	3	[24]
Hozahabr et al. (2014)	$\rho, T, P$	4	[8]
Khansary et al. (2015)	$\rho, T, P$	5	[25]
Keshmiri et al. (2014)	$\rho, T, P$	5	[26]
Jouyban et al. (2002)	$\rho, T, P$	6	[27]
Yu et al. (1994)	$T, P$	6	[28]
Gordillo et al. (1999)	$T, P$	6	[29]
Haghbakhsh et al. (2013)	$\rho, P$	10	[30]



## **2. Applicazioni della CO<sub>2</sub> supercritica in campo farmaceutico**

### **2.1 Principi attivi poco solubili in acqua**

Molti composti farmaceutici presentano scarsa solubilità in acqua, per cui il loro assorbimento nel tratto gastrointestinale è limitato dalla loro velocità di dissoluzione. Tale comportamento ha come conseguenza una limitata biodisponibilità del farmaco, che richiede dosaggi più elevati in fase di somministrazione orale. Al fine di aumentare la velocità di dissoluzione del principio attivo, diventa importante intervenire sulle dimensioni delle particelle, al fine di aumentare la superficie di scambio tra le particelle del composto e l'acqua, e quindi ridurre le dosi in fase di somministrazione [31].

La biodisponibilità dei composti farmaceutici con formulazione solida risulta dipendere fortemente dalle dimensioni delle particelle, ma anche dalla morfologia e dalla distribuzione delle dimensioni, per questo i diversi processi che sono stati sviluppati negli ultimi decenni sono stati ottimizzati al fine di ottenere una riduzione del diametro delle particelle solide, controllando il loro intervallo di distribuzione delle dimensioni al fine di avere l'omogeneità morfologica del principio attivo [32].

### **2.2 Processi di micronizzazione con fluidi supercritici**

Come già osservato nel capitolo precedente, le tecnologie con fluidi supercritici sono state sviluppate in sostituzione di tecnologie tradizionali che impiegano solventi organici. Anche nel caso della riduzione delle dimensioni delle particelle di composti organici, sono state sviluppate diverse tecnologie con solventi liquidi, come l'essiccamento spray, la liofilizzazione e la ricristallizzazione di soluzioni. Tali tecniche permettono di aumentare notevolmente la superficie del solido trattato, ma spesso non risultano efficienti per la produzione di composti farmaceutici, poiché le particelle ottenute con solventi organici risultano avere una distribuzione dimensionale troppo ampia ed il prodotto può essere degradato a causa di sollecitazioni meccaniche e di stress termici, come ad esempio nell'essiccamento spray, dove sono richieste temperature operative molto elevate [33].

Al fine di ottenere risultati più efficaci in campo farmaceutico, sono stati studiati e sviluppati diversi processi di precipitazione che impiegano SCF per la produzione di principi attivi solidi. Attraverso l'impiego di queste tecnologie si ottengono risultati favorevoli grazie al controllo dei parametri di processo, principalmente pressione e temperatura, attraverso cui si raggiungono condizioni di sovrasaturazione omogenee ottimali per la precipitazione di particelle fini, con un intervallo di distribuzione delle dimensioni particellari ristretto [34].

Per il basso punto critico e tutte le altre proprietà di cui si è discusso nel capitolo precedente, il solvente elettivo risulta essere l'anidride carbonica, per la quale è possibile operare a temperature relativamente basse che consentono di evitare la degradazione termica del composto da trattare.

Le diverse tecniche di produzione di particelle solide fini possono essere classificate sulla base del ruolo assunto dalla CO<sub>2</sub> supercritica nel processo. Essa può essere impiegata come solvente, ad esempio nel processo di espansione rapida di soluzioni supercritiche (RESS), come anti-solvente, nei processi batch (GAS) e semicontinuo (SAS) e infine come soluto, nel caso del processo di produzione di particelle da soluzione gassosa satura (PGSS) [32].

Obiettivo comune di tutte queste ed altre tecnologie di micronizzazione di principi attivi è il controllo delle dimensioni del prodotto desiderato, con il fine di minimizzare il diametro particellare, avere omogeneità nella morfologia del solido e ottenere una distribuzione dimensionale ristretta. Tali standard sono necessari al fine di massimizzare l'efficienza del farmaco, con la possibilità di minimizzare il dosaggio e ridurre così gli effetti collaterali, mantenendo inalterato l'effetto terapeutico del principio attivo [35].

## 2.3 Processi di precipitazione con CO<sub>2</sub> supercritica come solvente

Impiegare anidride carbonica supercritica come solvente, al fine di ottenere una riduzione delle dimensioni delle particelle di un principio attivo, richiede che la sostanza di interesse abbia una solubilità relativamente elevata nel solvente supercritico, con una frazione molare del soluto in soluzione dell'ordine di  $10^{-4}$  [31].

Conoscere la solubilità in CO<sub>2</sub> supercritica, pura o modificata con un co-solvente (come in questa tesi), risulta quindi necessario per capire l'applicabilità di una determinata tecnica di precipitazione, o in generale di produzione di particelle, per il farmaco di interesse.

### 2.3.1 Espansione rapida di una soluzione supercritica (RESS)

Nel processo RESS il soluto di interesse viene disciolto in anidride carbonica supercritica ad alta pressione. La soluzione supercritica viene successivamente depressurizzata per ottenere la precipitazione del soluto, con facile rimozione della CO<sub>2</sub> che passa allo stato gas con l'espansione. La tecnica risulta di grande interesse perché consente di escludere la presenza di solventi organici, con la limitazione che la sua applicazione è riservata, come già detto, solo per principi attivi significativamente solubili in CO<sub>2</sub> supercritica.

Lo schema di processo (figura 2.1) mostra che il processo è suddiviso in due sezioni principali. Nella prima parte avviene l'estrazione del principio attivo fino al raggiungimento della saturazione, mentre nella seconda parte si ha la depressurizzazione della soluzione attraverso un ugello, dove a causa del repentino abbassamento della pressione (variabile controllante il potere solvente) si ha la precipitazione del prodotto. Ovviamente, attraverso l'espansione rapida, si ha anche un significativo abbassamento della temperatura del fluido, il che contribuisce alla precipitazione del farmaco [34].

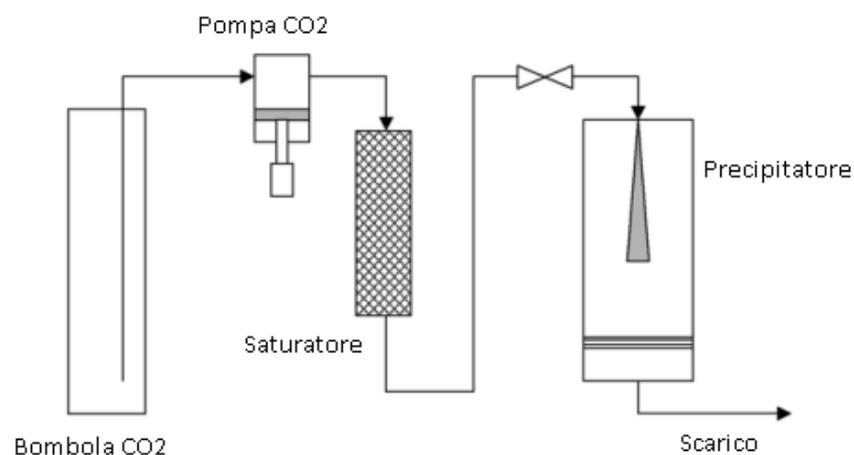
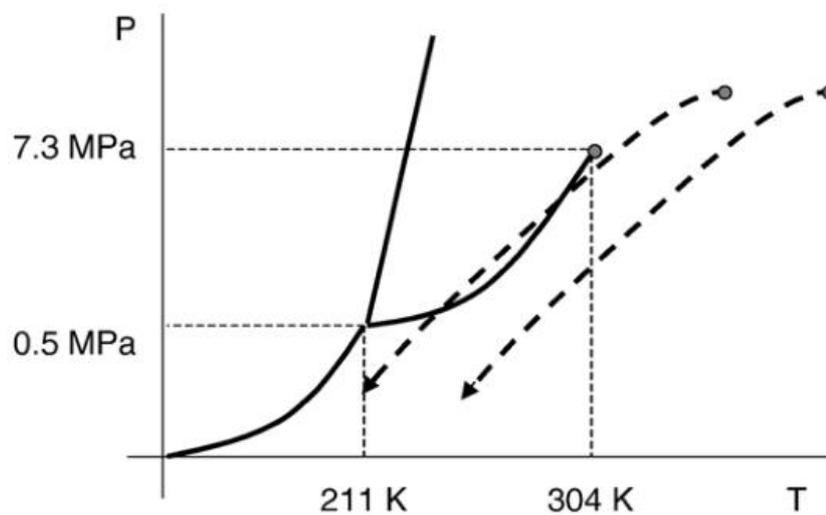


Figura 2.1: Schema del processo RESS [32]

La caduta di potere solvente a causa della depressurizzazione è di alcuni ordini di grandezza, con valori di sovrasaturazione molto elevati (rapporto tra la concentrazione effettiva e quella di saturazione dell'ordine di  $10^5 - 10^6$ ). Vantaggio importante risulta essere quindi la forte dipendenza del potere solvente della  $CO_2$  supercritica da pressione e temperatura, che diventano, assieme alla concentrazione della soluzione, variabili controllanti l'efficienza del processo. Essendo un processo in cui la depressurizzazione avviene molto rapidamente attraverso l'ugello (tipicamente nell'ordine di  $10^{-5}$  secondi), la sovrasaturazione si trasmette molto rapidamente, garantendo condizioni in fase di precipitazione omogenee nel fluido, con formazione di particelle molto piccole e con ristretta distribuzione delle dimensioni [37].

Oltre alle condizioni del fluido durante la fase di saturazione, altro parametro controllante il processo è la pressione di espansione, cioè la pressione finale a cui si porta il fluido dopo l'attraversamento dell'ugello e alla quale si ha la precipitazione del soluto.

Seguendo la trasformazione del fluido sul diagramma P-T (fig. 2.2), è possibile osservare come l'efficienza del processo sia fortemente dipendente dalla scelta delle condizioni di pre-espansione del fluido.



**Figura 2.2:** Depressurizzazione della  $CO_2$  sul diagramma pressione – temperatura [32]

Infatti, a parità di pressione iniziale e pressione finale, se la saturazione della soluzione avviene a temperatura non sufficientemente elevata, la trasformazione può intersecare la curva di equilibrio liquido – vapore della  $CO_2$ , causando la formazione di gocce di anidride carbonica liquida, situazione che provoca cambi nella morfologia delle particelle prodotte e riduzione della qualità del prodotto. Il problema diventa maggiormente importante nel caso di operazione condotta in presenza di co-solvente organico, come nel caso delle misure di questo lavoro di tesi. In questo caso la curva di trasformazione P-T deve mantenersi al di sotto della curva liquido – vapore per il sistema  $CO_2$  – modificante, al fine di evitare la ridissoluzione delle particelle per opera del solvente organico.

## 2.4 Processi di precipitazione con $CO_2$ supercritica come anti-solvente

La produzione di micro-particelle per espansione rapida risultata, come già discusso, essere molto efficiente in termini di omogeneità del prodotto e controllo del processo, ma la sua applicazione può essere realizzabile solo nel caso di composti sufficientemente solubili in  $CO_2$

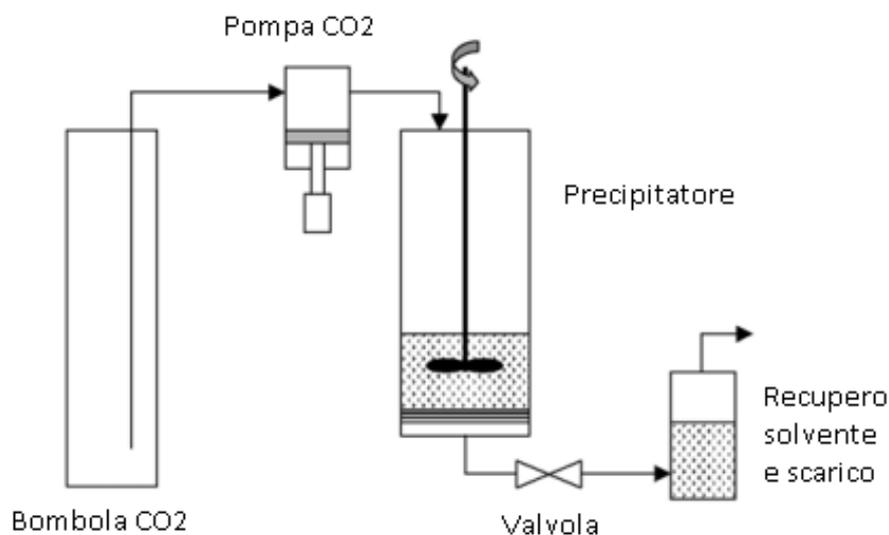
supercritica. Nel caso di composti farmaceutici che presentano bassi valori di solubilità, l'anidride carbonica viene ampiamente impiegata per la precipitazione, ma con il ruolo di anti-solvente. Il principio di processo si basa sulla dissoluzione dell'anidride carbonica all'interno di una soluzione del principio attivo di interesse in un solvente liquido organico. Entrando in soluzione, la CO<sub>2</sub> provoca una significativa caduta del potere solvente del liquido organico impiegato e la conseguente precipitazione del farmaco causata dal raggiungimento della sovrasaturazione della soluzione [37].

In particolare, sono stati sviluppati due processi che impiegano anidride carbonica supercritica come anti-solvente, il processo "gas antisolvent" (GAS) e il processo "supercritical antisolvent" (SAS), che si differenziano per la modalità di alimentazione della soluzione organica.

### 2.4.1 Processo GAS

Se da un lato i processi anti-solvente sono stati sviluppati nel caso di principi attivi scarsamente solubili in CO<sub>2</sub>, è necessario che quest'ultima sia sufficientemente solubile nel solvente organico, al fine di esplicare la sua azione anti-solvente sul soluto.

In particolare, nel processo GAS (fig. 2.3), la soluzione organica è caricata in modalità batch all'interno del precipitatore, dove la pressione operativa raggiunta è ottimizzata al fine di avere la massima solubilità dell'anti-solvente nel solvente organico.



**Figura 2.3:** Schema di processo GAS [32]

La CO<sub>2</sub> è pompata all'interno del vessel parzialmente riempito con la soluzione di interesse fino al raggiungimento della pressione operativa. Dopo la pressurizzazione, la soluzione viene drenata, mentre la CO<sub>2</sub> viene mantenuta in condizioni isobare per un intervallo di tempo necessario ad ottenere la completa rimozione del solvente organico, e la precipitazione del principio attivo [37]. Nel processo di precipitazione con anti-solvente il ruolo chiave è termodinamicamente associato all'espansione volumetrica del solvente liquido, fenomeno dovuto alla dissoluzione di anti-solvente supercritico all'interno della fase liquida [38].

Dalla definizione di espansione volumetrica (2.1), si possono ricavare i parametri che influenzano termodinamicamente il processo.

$$[39] \quad \frac{\Delta v}{v} = \frac{v(T, P) - v_0(T, P_0)}{v_0(T, P_0)} \quad (2.1)$$

Tale definizione consente di ricavare la migliore combinazione pressione – temperatura – solvente per l’ottimizzazione del processo. Altro parametro da tenere presente è la velocità di addizione dell’anti-solvente, che gioca un ruolo chiave nelle dimensioni delle particelle. In particolare è stato osservato che un aumento della velocità della CO<sub>2</sub> provoca una riduzione della dimensione media delle particelle, poiché ad elevate velocità prevale la nucleazione del precipitato rispetto al suo accrescimento [40].

#### 2.4.2 Processo SAS

Il processo semicontinuo con anti-solvente supercritico è stato sviluppato per far fronte alla principale limitazione del processo GAS, legata alla bassa capacità di produzione limitata dal volume di soluzione presente nel precipitatore.

Nel processo SAS invece la soluzione contenente il principio attivo, appena raggiunta la saturazione, viene iniettata e alimentata parallelamente alla CO<sub>2</sub> supercritica all’interno del vessel di precipitazione. Il principio di processo si basa sulla miscelazione della soluzione contenente il principio attivo con la CO<sub>2</sub> supercritica, al fine di ottenere la sovrasaturazione del soluto e la conseguente precipitazione.

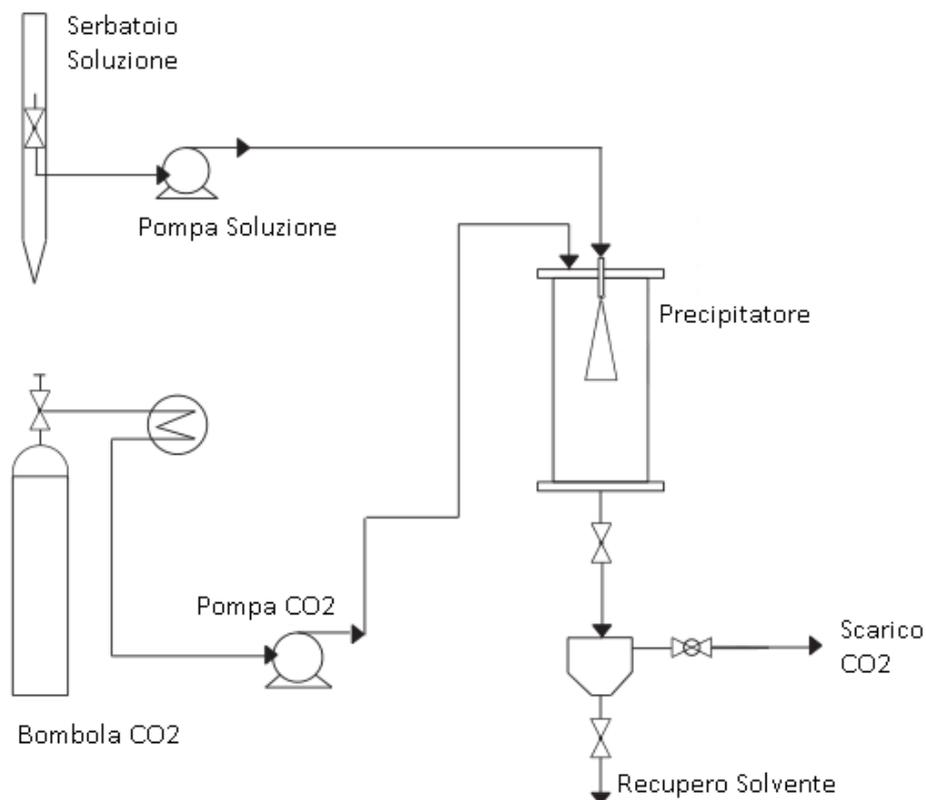
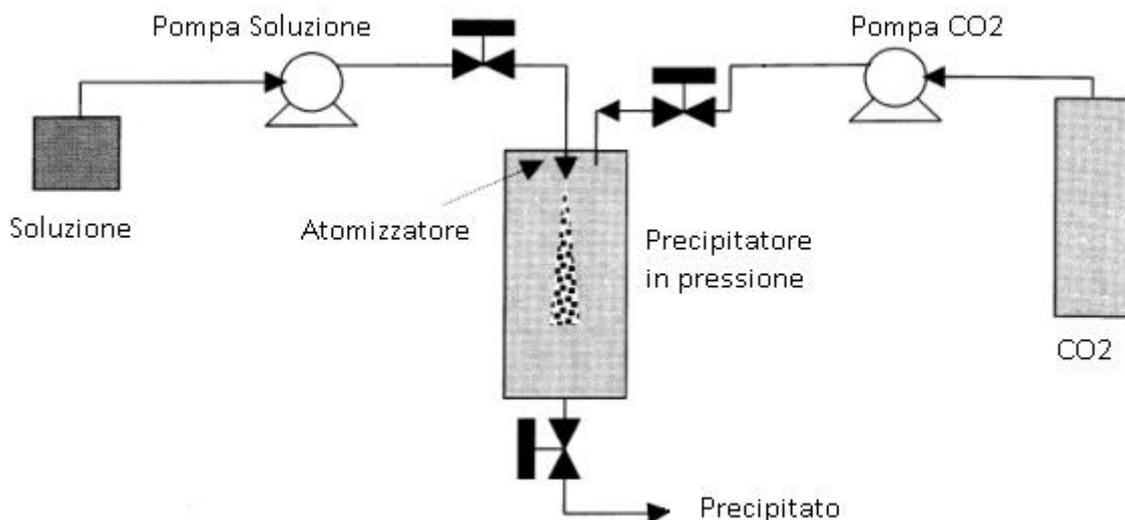


Figura 2.4: Schema di processo SAS [41]

In figura 2.4 viene riportato uno schema semplificato di tale processo, dove a differenza del processo batch (GAS), è presente la linea di alimentazione in continuo della soluzione da trattare. Al fine di ottenere la precipitazione del soluto, è necessario che si realizzi la completa miscelazione tra l'anti-solvente e la soluzione; quindi il processo risulterà fortemente influenzato dalla bontà di miscelazione tra le due correnti. A tal proposito, il parametro controllante diventa la pressione, che deve essere sufficientemente elevata al fine di ottenere la completa miscelazione tra la CO<sub>2</sub> e il solvente organico impiegato nell'operazione. In particolare, se la pressione operativa supera il punto critico della miscela CO<sub>2</sub> – solvente, la miscelazione tra le due correnti sarà più veloce rispetto alla precipitazione, con produzione di particelle con dimensioni piccole e omogenee. Se si opera a pressione al di sotto del punto critico di miscela, invece, si hanno effetti negativi sulla precipitazione, con formazione di aggregati e modifiche nella morfologia delle particelle [32].

### 2.4.3 Processi ASES/SEDS

Un altro metodo di precipitazione in cui la CO<sub>2</sub> supercritica è impiegata come anti-solvente è conosciuto come “aerosol solvent extraction system” (ASES). Tale processo è una ottimizzazione del processo SAS, in cui le correnti anti-solvente e soluzione sono alimentate separatamente alla camera di precipitazione. Nel processo ASES, invece, viene impiegato un ugello, attraverso il quale si ottiene l'atomizzazione della soluzione contenente il principio attivo nel precipitatore. L'anidride carbonica viene disciolta all'interno delle goccioline di soluzione, dove si ha, come nel caso del processo GAS, l'espansione volumetrica della soluzione e la conseguente perdita di potere solvente del liquido. Questo provoca la sovrasaturazione della soluzione e la formazione di particelle del principio attivo uniformi.



**Figura 2.5:** Schema di processo ASES [34]

Come è possibile osservare nello schema di figura 2.5, la CO<sub>2</sub> viene pompata in testa al precipitatore, fino al raggiungimento della pressione e della temperatura di esercizio. Una volta raggiunto lo stazionario, la soluzione viene pompata ad alta pressione ed introdotta attraverso l'ugello nel precipitatore. Al fine di ottenere goccioline di liquido piccole, la soluzione viene pompata ad una pressione più alta rispetto a quella del precipitatore [34].

Allo scopo di ottenere dimensioni delle goccioline di soluzione più piccole, ed aumentare l'efficienza di miscelamento con l'anti-solvente, è stato sviluppato il metodo "solution enhanced dispersion by supercritical process" (SEDS), nel quale la soluzione e la CO<sub>2</sub> vengono alimentate alla camera di precipitazione attraverso un ugello coassiale, nel quale la CO<sub>2</sub>, oltre al ruolo di anti-solvente, esplica un'azione di atomizzazione della soluzione. Alimentando nella sezione interna la soluzione ed in quella anulare l'anidride carbonica, si ottengono goccioline molto piccole nel precipitatore, grazie alla elevata velocità della CO<sub>2</sub> per opera dell'ugello, che va a rompere la soluzione, incrementando notevolmente la velocità di scambio tra solvente e anti-solvente [31].

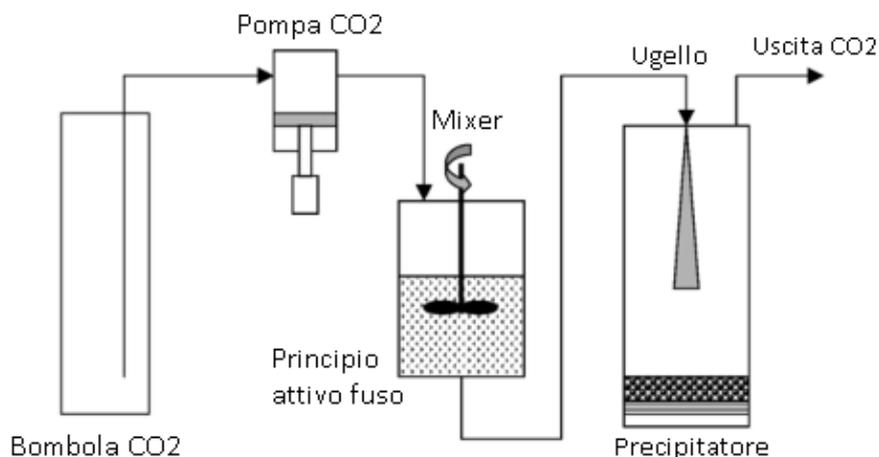
Per tale metodo di precipitazione, oltre a temperatura, pressione e concentrazione della soluzione, i parametri controllanti le dimensioni delle particelle sono le portate di alimentazione della soluzione e dell'anidride carbonica. In particolare all'aumentare della portata di CO<sub>2</sub>, a parità di portata di alimentazione della soluzione, la dimensione media delle particelle si riduce, poiché aumenta l'effetto meccanico di rottura della soluzione all'uscita dell'atomizzatore [42].

## 2.5 Processi di precipitazione con CO<sub>2</sub> supercritica come soluto

Nel caso di composti nei quali la CO<sub>2</sub> risulta essere significativamente solubile, è possibile ottenere particelle con tecniche in cui l'anidride carbonica agisce come soluto. Questa viene disciolta nel principio attivo di interesse allo stato liquido, per cui è necessario operare a temperature sopra il punto di fusione del componente. Ottenuta la miscela fusa, questa viene fatta espandere, permettendo la precipitazione delle particelle e la rapida rimozione della CO<sub>2</sub>.

### 2.5.1 Processo PGSS

Il metodo che viene presentato in questo paragrafo è il processo di produzione di particelle da una soluzione satura in fase gas (PGSS), dove la CO<sub>2</sub> è pompata fino alla pressione di esercizio e riscaldata fino alla temperatura di fusione del composto da trattare (figura 2.6). Una volta che la CO<sub>2</sub> supercritica viene disciolta nel principio attivo fuso, la miscela viene fatta espandere fino a pressione ambiente attraverso un ugello, ottenendo un facile recupero delle particelle di principio attivo precipitate.



**Figura 2.6:** Schema di processo GAS [32]

Il funzionamento di tale processo si basa sul fenomeno di depressione del punto di fusione, già visto nel capitolo 1. In particolare durante la dissoluzione della CO<sub>2</sub> nel componente fuso, si ha l'abbassamento del punto di fusione di quest'ultimo, per cui è sufficiente una temperatura più bassa per ottenere la miscela liquida. Durante l'espansione attraverso l'ugello, inoltre, si ha un forte effetto di raffreddamento dovuto all'evaporazione della CO<sub>2</sub>, che provoca l'abbassamento rapido della temperatura della miscela e la conseguente precipitazione delle particelle. In particolare, per sostanze in cui l'effetto di abbassamento del punto di fusione è importante, si ha una precipitazione ancora più veloce, poiché il rilascio della CO<sub>2</sub> durante l'espansione provoca l'innalzamento della temperatura di fusione del principio attivo, migliorando l'effetto legato all'evaporazione dell'anidride carbonica durante l'espansione.

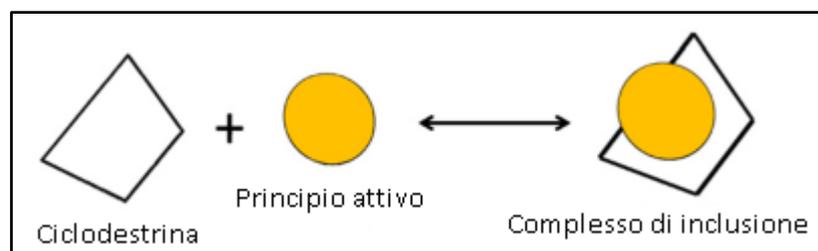
I parametri controllanti l'efficienza del processo sono essenzialmente la temperatura operativa e la pressione di pre-espansione. Infatti, si è osservato che operando a temperature di poco inferiori alla temperatura di fusione del principio attivo non si osserva micronizzazione delle particelle rispetto alle dimensioni iniziali, invece a temperature di poco più alte si ha produzione di particelle sempre più piccole sia all'aumentare della temperatura che della pressione di pre-espansione [43].

La tecnica PGSS risulta essere vantaggiosa per i bassi volumi di CO<sub>2</sub> richiesti per la dissoluzione, ma non è estendibile a composti termolabili per via delle elevate temperature richieste.

## 2.6 Incapsulamento di principi attivi con CO<sub>2</sub> supercritica

Al fine di incrementare la velocità di dissoluzione di farmaci poco solubili in acqua, per i quali, come già visto, l'assorbimento nel tratto gastrointestinale diventa lo stadio limitante nel caso di assunzione orale, è possibile inglobare il principio attivo in molecole altamente solubili in acqua, invece di intervenire sulle dimensioni particellari come nelle tecniche di precipitazione. Anche in questo caso, le tecniche tradizionali impiegano solventi organici come solvente, e questo rende spesso l'inclusione poco efficiente, richiedendo elevati volumi di solventi organici tossici. Le tecniche di incapsulamento che impiegano CO<sub>2</sub> supercritica come fluido di processo per l'inclusione di farmaci in matrici idrofile risultano interessanti, come nei processi di precipitazione, perché riducono l'uso di solventi organici migliorando l'efficienza dell'operazione.

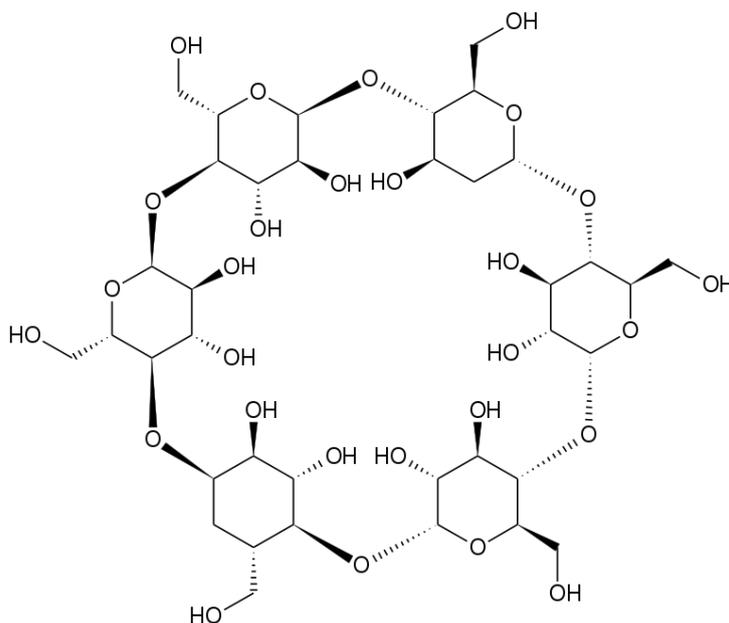
Un esempio di matrici di inclusione molecolare sono le ciclodestrine, che per la loro forma e le loro caratteristiche risultano essere idonee ad ospitare molecole idrofobiche (figura 2.7).



**Figura 2.7:** Processo di formazione del complesso di inclusione [33]

Le ciclodestrine sono oligosaccaridi ciclici naturali, formati da 6, 7 o 8 monomeri chiusi ad anello, la cui formula di struttura è riportata in figura 2.8. Le ciclodestrine presentano una forma

toroidale con carattere idrofobico nella cavità interna, dove è ospitata la molecola di principio attivo, mentre il complesso di inclusione presenta carattere idrofilo sulla superficie esterna, migliorando l'assorbimento del principio attivo [43].



**Figura 2.8:** Formula di struttura di una ciclodestrina

### 2.6.1 Inclusione molecolare con miscela supercritica $CO_2$ – co-solvente

Risulta necessario al fine di impiegare l'anidride carbonica come solvente in tecniche di inclusione che il principio attivo da incapsulare sia sufficientemente solubile in  $CO_2$  supercritica, ma spesso questa caratteristica non è soddisfatta da molti composti farmaceutici, e questo limita enormemente l'efficacia del processo. Per questo, al fine di incrementare la solubilità di principi attivi poco solubili in  $CO_2$  pura, risulta interessante operare con miscela supercritica modificata da un co-solvente, costituito da un solvente organico. La presenza in miscela supercritica di un modificante promuove la solubilità del principio attivo in  $CO_2$ , sia perché spesso si scelgono solventi organici con carattere polare, che aumenta l'affinità della miscela supercritica nei confronti di principi attivi [13], sia perché è stato osservato che la presenza in miscela di un co-solvente amplifica l'effetto di abbassamento del punto di fusione del soluto all'aumentare della pressione rispetto all'utilizzo di  $CO_2$  pura [44]. L'ulteriore abbassamento della temperatura di fusione ad alte pressioni rende il soluto più volatile, e quindi più solubile nella miscela modificata.

### 2.7 Solubilità in $CO_2$ supercritica in presenza di co-solvente

Come è stato discusso nei paragrafi precedenti di questo capitolo, è possibile osservare che la conoscenza dei dati di solubilità tra il principio attivo e la miscela supercritica è essenziale per implementare una certa tecnologia, sia nel caso di tecniche di precipitazione, sia nel caso di processi di inclusione, dove queste informazioni sono importanti poiché il solvente supercritico svolge una funzione di trasporto, giocando un ruolo fondamentale nell'efficienza del processo.

### 2.7.1 Scelta delle misure effettuate in questa tesi

In questo lavoro di tesi si è scelto quindi di effettuare delle misure sperimentali per la stima della solubilità di cortisone in CO<sub>2</sub> supercritica modificata con etanolo. La scelta di operare le misure in presenza di un co-solvente è legata alla presenza di dati di letteratura sulla solubilità di altri composti cortisonici, come prednisone, prednisolone ed idrocortisone, che presentano basse solubilità in CO<sub>2</sub> pura. Dato che questi composti presentano formule di struttura molto simili, e differiscono solo per pochi gruppi funzionali, nonostante l'assenza di dati di letteratura per il cortisone, si è considerato anche questo poco solubile in CO<sub>2</sub> pura, rendendosi necessario lavorare in presenza di un co-solvente organico per incrementare il potere solvente del fluido supercritico.

Tali composti appartengono a quella categoria di farmaci che hanno lunghi tempi di assorbimento se somministrati per via orale, e per i quali è interessante ottenere una stima della solubilità nella miscela supercritica CO<sub>2</sub> – etanolo al fine di fornire dati di letteratura utili all'implementazione di tecniche per l'incremento della velocità di dissoluzione del composto, come quelle accennate in questo capitolo.

### 2.7.2 Metodi sperimentali di misura della solubilità

Per determinare la solubilità di un soluto in CO<sub>2</sub> supercritica, nel caso di composti ad elevato peso molecolare, sia solidi che liquidi, è possibile impiegare essenzialmente due diversi schemi sperimentali: metodo statico e metodo dinamico.

Il metodo statico consiste nell'operare con una cella ad alta pressione a volume variabile, che viene caricata con il soluto di interesse in quantità nota e pressurizzata con il fluido usato come solvente. Tale metodo è impiegato per ottenere la determinazione visiva delle fasi presenti all'equilibrio, infatti la cella è dotata di videocamera collegata ad uno schermo per il monitoraggio della prova. La cella è posta all'interno di una stufa per consentire di raggiungere e mantenere la temperatura desiderata nella cella, il cui schema è mostrato in figura 2.9.

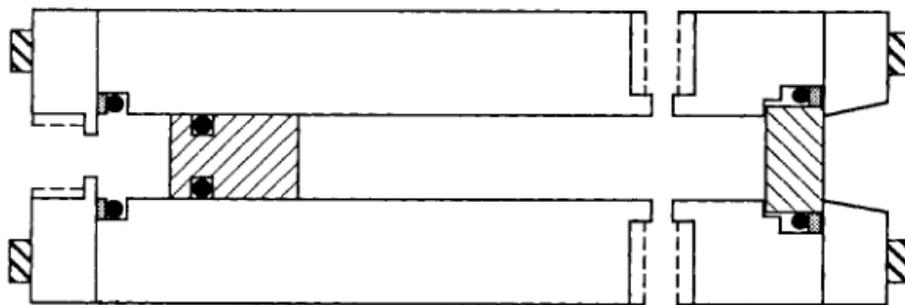


Figura 2.9: Schema di una cella ottica ad alta pressione [3]

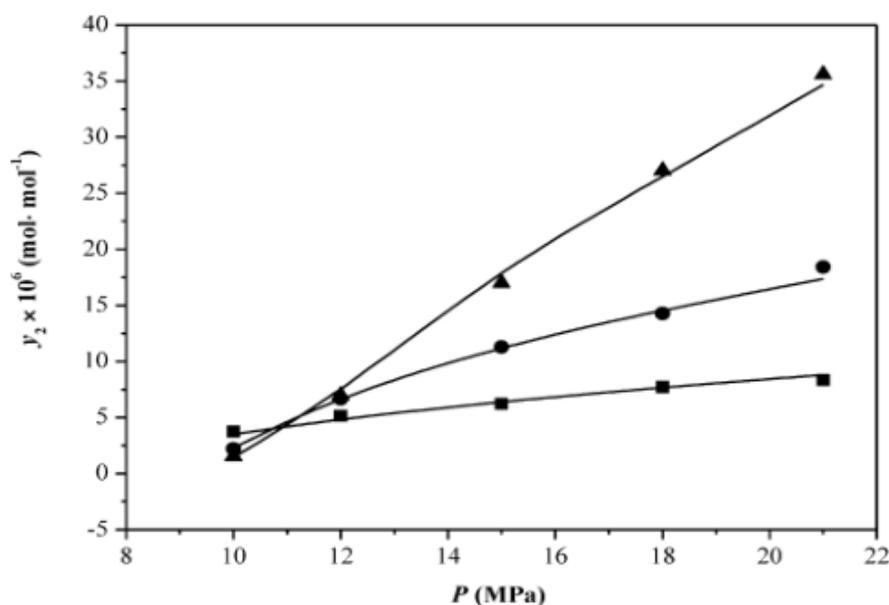
Per le misure di questo lavoro sperimentale è stato impiegato il metodo dinamico. In tale metodo la cella di equilibrio, a volume fisso, viene attraversata dal solvente supercritico in continuo. La miscela supercritica solubilizza il principio attivo all'interno della cella, trasportandolo fino ad una trappola di raccolta, tramite la quale si può stimare la quantità di farmaco solubilizzato.

Per i dettagli del metodo adottato in questo lavoro sperimentale, lo schema completo dell'apparato di misura e la descrizione della procedura operativa si rimanda al capitolo 3.

### 2.7.3 Effetto di temperatura e pressione sulla solubilità

Come già accennato nel capitolo precedente, il potere solvente per un fluido è strettamente legato alla sua densità. In particolare, impiegando CO<sub>2</sub> supercritica, è possibile variare il suo potere solvente variando temperatura e pressione del fluido, al fine di modificarne la densità e quindi ottenere differenti valori di solubilità per il composto studiato. In generale, in condizioni isoterme, la densità aumenta all'aumentare della pressione operativa, con coerente aumento della solubilità. La temperatura, invece, provoca due effetti competitivi sulla solubilità: da un lato, l'aumento di tale variabile fa abbassare la densità, riducendo il potere solvente; dall'altro, aumentando la temperatura si ha un aumento della tensione di sublimazione del soluto, con un effetto di incremento della solubilità che si oppone all'abbassamento della densità [9].

I due effetti concorrenti sono visualizzabili diagrammando la solubilità in funzione della pressione per diverse isoterme. Un esempio presente in letteratura è riportato in figura 2.10, in cui è rappresentato l'andamento della solubilità dell'acido *o*-nitrobenzoico in CO<sub>2</sub> supercritica. Ciò che si osserva è la presenza di una zona di incrocio delle isoterme nell'intorno di una certa pressione P\*, nota come "crossover pressure". Operando a pressioni inferiori alla pressione P\*, a diverse temperature, prevale l'effetto di riduzione del potere solvente a causa dell'abbassamento di densità, mentre a pressioni superiori rispetto a quella di crossover prevale l'effetto di aumento della tensione di sublimazione, ottenendo un aumento della solubilità sia aumentando la pressione che la temperatura.



**Figura 2.10:** Solubilità dell'acido *o*-nitrobenzoico in funzione della pressione a diverse temperature: (■) T = 308 K; (●) T = 318 K; (▲) T = 328 K [9]

La presenza del crossover può essere spiegata osservando che a basse pressioni la dipendenza della densità dalla temperatura è più importante, mentre a pressioni più elevate la densità è meno dipendente dalla temperatura, così che l'altro effetto diventi dominante [45].

#### *2.7.4 Effetto della presenza del co-solvente sulla solubilità*

Le misure di solubilità condotte in questa tesi sono state effettuate in CO<sub>2</sub> supercritica modificata con etanolo, poiché si è visto, da dati presenti in letteratura, che la presenza di un co-solvente ha come risultato l'incremento della solubilità per composti organici, a parità di temperatura e pressione, rispetto all'utilizzo di CO<sub>2</sub> pura. L'incremento di solubilità può essere legato a tre possibili effetti: incremento della densità della miscela supercritica, modifiche nell'equilibrio di fase e l'instaurarsi di interazioni specifiche tra soluto e co-solvente.

Da uno studio di condotto sull'eflucimibe, investigando sull'effetto di due co-solventi, tra cui l'etanolo, è stato osservato che l'effetto sulla densità della miscela supercritica non può essere l'unica spiegazione dell'incremento di solubilità del principio attivo, poiché l'aumento della densità risulta essere poco significativo se confrontato con l'incremento di solubilità [13].

Questo dato porta alla conclusione che l'effetto del co-solvente sia più chimico che fisico, ed è legato ad interazioni specifiche tra le molecole di soluto e di co-solvente. Tali interazioni sono legate alla natura chimica del co-solvente, come l'etanolo, che mostra elevata capacità nel formare ponti – idrogeno, essendo polare e anfiprotico (può sia donare che accettare protoni). Il risultato dell'instaurarsi di tali interazioni è l'accumulo di molecole di co-solvente nella regione attorno alla molecola di soluto, quindi un aumento della composizione locale della miscela supercritica. Questo provoca localmente un aumento del potere solvente della miscela.

## 3. Materiali e metodi

### 3.1 Materiali

#### 3.1.1 Principio attivo: Cortisone

Il cortisone è un corticosteroide, appartenente alla famiglia dei glucorticoidi, della quale fa parte anche l'idrocortisone (cortisolo), ormone surrenale ottenuto come prodotto di idrossilazione del cortisone. Da un punto di vista terapeutico, in realtà, il cortisone è il precursore inattivo dell'ormone attivo cortisolo, sintetizzato nel fegato partendo dal cortisone. Farmacologicamente è definito come un corticosteroide con potente attività glucorticoidi, usato come agente antinfiammatorio. Infatti il cortisolo prodotto a partire dal cortisone aumenta la pressione sanguigna e i livelli di zucchero nel sangue e sopprime il sistema immunitario<sup>1</sup>.

L'interesse di questo lavoro di tesi per i principi attivi cortisonici è legato al fatto che questi composti, nel caso di somministrazione orale, richiedono elevati tempi per la dissoluzione, perché poco solubili in acqua. Come già accennato, la scarsa solubilità richiede dosaggi più elevati, e questo è dannoso poiché questi antinfiammatori possono provocare diversi effetti collaterali, quali iperglicemia e osteoporosi.

#### Caratteristiche chimico-fisiche

La molecola del cortisone presenta, come tutti gli ormoni steroidei, una struttura a quattro anelli, tre a sei atomi di carbonio e uno a cinque atomi. In particolare, questo corticosteroide, presenta tre gruppi chetonici, due gruppi ossidrilici e un doppio legame (figura 3.1).

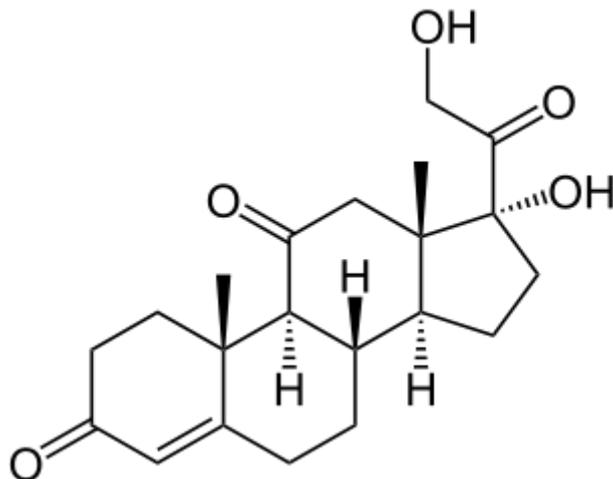


Figura 3.1: Formula di struttura del cortisone<sup>2</sup>

<sup>1</sup> <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/cortisone#section=Top>

<sup>2</sup> <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/64/Cortison.svg>

Oltre alla struttura della molecola, si riportano in tabella 3.1 alcune proprietà chimiche e fisiche del cortisone. In particolare è interessante osservare il basso valore di solubilità in acqua, dato che conferma la scarsa biodisponibilità dei farmaci cortisonici.

**Tabella 3.1:** Proprietà del cortisone

<b>Formula molecolare</b>	<b>C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub></b>
Peso molecolare	360.44 g/mol
T di fusione (1 bar)	222°C
Solubilità in acqua (25°C)	0.28 mg/ml

Per le misure di questo lavoro è stato utilizzato cortisone in polvere (98%) della Alfa Aesar®.

### *3.1.2 Miscela supercritica: anidride carbonica ed etanolo*

La CO<sub>2</sub> impiegata in laboratorio è stata fornita dalla SIAD, in bombole da 30 kg (peso netto) dotate di tubo pescante, tale da consentire di prelevare la CO<sub>2</sub> dal battente liquido. La pressione di bombola è di circa 60 bar, corrispondente alla tensione di vapore alla temperatura ambiente.

L'etanolo (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) usato come co-solvente in queste misure è etanolo assoluto anidro per analisi (purezza 99.9%), fornito dall'azienda CARLO ERBA reagenti in flaconi da 2.5 litri.

## **3.2 Metodo sperimentale**

Al fine di ottenere una stima della solubilità del cortisone in CO<sub>2</sub> modificata è stato realizzato un sistema sperimentale (schema pag. 39) per effettuare le misure secondo il metodo dinamico.

### *3.2.1 Descrizione del sistema di misura*

La CO<sub>2</sub> viene prelevata dalla bombola ed alimentata in linea a portata costante tramite due differenti pompe volumetriche: una pompa a stantuffo P1, impiegata per la fase di pressurizzazione dell'apparecchiatura e una pompa a siringa P2, più precisa, in funzione durante le misure vere e proprie. La presenza di entrambe le pompe, ognuna collegata ad una diversa bombola, si è resa necessaria, poiché la pompa a siringa assicura condizioni di portata molto più stabili rispetto a quella a stantuffo, ma quest'ultima viene impiegata all'inizio di ogni nuovo cambio delle condizioni operative poiché la siringa ha un volume limitato, sufficiente alle sole misure. Proprio al fine di aumentare la quantità di CO<sub>2</sub> liquida all'interno del volume della siringa, e mantenere condizioni di temperatura costante, questa presenta una camicia di raffreddamento, collegata ad un bagno ricircolante.

Il co-solvente viene alimentato dal serbatoio di stoccaggio alla linea con pompa a siringa P3, analoga a quella impiegata per la CO<sub>2</sub>. Tutte le pompe del sistema operano in controllo di portata, essendo importante, specialmente con misure in presenza di co-solvente, mantenere il più possibile portate costanti al fine di assicurare la composizione della miscela desiderata.

Le correnti dei due componenti si incontrano e si miscelano alla pressione di esercizio, ma a temperatura ambiente, quindi in fase liquida, grazie alla presenza di due miscelatori statici. La miscela attraversa i due misuratori di portata FI1, posto esternamente alla stufa, e FI2, situato all'interno della stufa, dove viene impostata e mantenuta la temperatura operativa richiesta.

All'interno della stufa viene situata l'autoclave, o vessel, contenente il principio attivo depositato su sferette di vetro, che hanno l'obiettivo di ottimizzare lo scambio fluido – solido. La miscela supercritica, dopo aver attraversato un serpentino di circa 10 m all'interno della stufa, raggiunte le condizioni di temperatura, entra nel vessel dall'estremità superiore, ed esce dal basso, attraversando così il letto fino alla saturazione del flusso in uscita. La corrente satura del principio attivo esce dal sistema attraverso una valvola micrometrica automatizzata, nota come *back pressure regulator* (BPR), dove viene controllata la pressione del sistema regolando l'apertura dell'otturatore in retroazione, misurando la pressione subito a monte della valvola. Prima di raggiungere il BPR, la linea principale viene intersecata subito dopo l'uscita dalla stufa dalla linea di diluizione, tramite la quale si manda etanolo con la pompa a stantuffo P4 per diluire l'ultimo tratto, al fine di evitare la precipitazione del soluto e l'intasamento del BPR. Il tubo in uscita dalla linea è inserito in una trappola, riempita con un certo battente di etanolo, che ha lo scopo di raccogliere il principio attivo solubilizzato dal fluido supercritico, mentre la CO<sub>2</sub>, essendo all'uscita del tubo a pressione ambiente, viene liberata agevolmente in forma gassosa. Durante le misure sono presenti due trappole, una per lo scarico durante le fasi di pressurizzazione e di transitorio, l'altra impiegata per la fase di campionamento vero e proprio.

### 3.2.2 Componenti e strumentazione

#### Tubazioni e valvole

La linea è connessa tramite tubazioni in acciaio inossidabile di diametro nominale 1/16" e diametro interno di 0.5 mm. Lungo la tubazione sono montate una serie di valvole di intercettazione e valvole a 3 vie, che consentono di sezionare tutte le parti funzionali della linea.

#### Pompe a siringa

Sono impiegate per alimentare solvente e co-solvente della miscela, al fine di operare a portata volumetrica costante, anche per portate molto basse, con elevata precisione (0.3% del valore impostato). In figura 3.2 (a) è riportato il modello DM100 (capacità 103 ml), prodotto dalla Teledyne ISCO, progettato per lavorare fino alla pressione massima di 690 bar (10000 psi), e in un range di portata da 0.00001 a 30 ml/min.

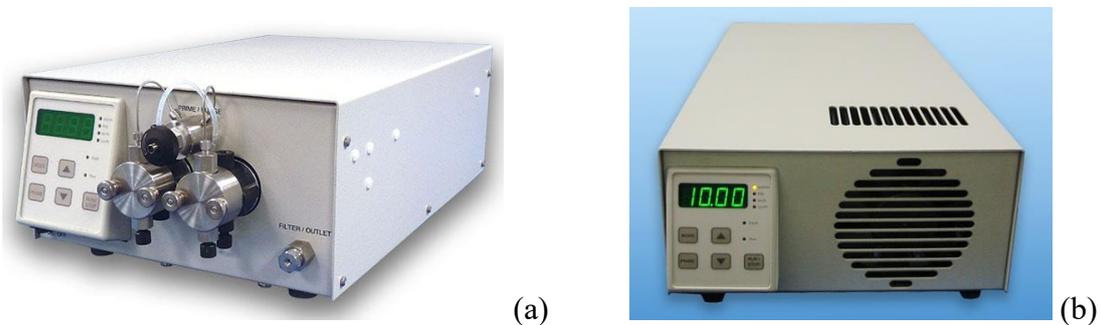


**Figura 3.2:** (a) Teledyne Isco DM100, (b) camicia di raffreddamento

Dato che la CO<sub>2</sub> alle condizioni di pompaggio risulta essere un gas liquefatto, è stato necessario installare un sistema di raffreddamento della siringa, tramite una camicia collegata ad un bagno termostatico. In figura 3.2 (b) è riportata nel dettaglio la camicia di raffreddamento installata.

### Pompe a stantuffo

Anche esse operano in controllo di portata, ma non assicurano la precisione ottenibile con le pompe a siringa, essendo pompe volumetriche a pulsazione. Per inviare l'etanolo di diluizione nell'ultimo tratto della linea viene impiegata la SERIES 1500 per liquidi (figura 3.3 (a)). Quella della CO<sub>2</sub> è la SFT - 10 e viene usata nelle fasi di pressurizzazione e depressurizzazione del sistema e ogni volta in cui è richiesto cambiare la pressione operativa per effettuare nuove misure. La pompa a stantuffo della CO<sub>2</sub> (figura 3.3 (b)) è raffreddata tramite una ventola, al fine di controllare l'effetto di aumento della temperatura dovuto alla compressione ed evitare fenomeni di cavitazione in mandata.



**Figura 3.3:** (a) Alliance Lab SERIES 1500, (b) Supercritical Fluid Technologies - 10

### Stufa

È necessaria per mantenere condizioni operative isoterme durante le prove. Si impiega la stufa MEMMERT – UFE 600, che opera la termostatazione ad aria forzata, in maniera precisa. All'interno della stufa è posizionato l'autoclave, in modo da realizzare all'interno della cella di equilibrio le condizioni supercritiche desiderate, con un ottimo controllo della temperatura.



**Figura 3.4:** Stufa termostatica da laboratorio MEMMERT modello UFE 600

### Back Pressure Regulator

La pressione all'interno del sistema è mantenuta e controllata a valle della linea tramite una valvola micrometrica automatizzata della Thar Technologies (figura 3.5), il cui controllo di pressione è ottenuto agendo sul grado di apertura dell'otturatore, costituito da un ago in acciaio inossidabile. La valvola è inoltre riscaldata, tramite un sistema di controllo della temperatura regolabile, al fine di compensare l'effetto di raffreddamento dovuto all'espansione rapida, che può causare la formazione di ghiaccio secco, e quindi l'ostruzione della valvola.

È possibile ottenere il controllo su un ampio intervallo di pressione, con oscillazioni molto ridotte rispetto al valore di set ( $\pm 1$  bar). La pressione viene impostata agevolmente tramite il telecomando, dove, oltre alla pressione di set, è indicata la pressione agente sulla valvola, la sua temperatura e il grado di apertura.



**Figura 3.5:** Modello Super Pure Discovery Series – THAR technologies

### Flussimetri

La portata e le condizioni fisiche della miscela vengono monitorate attraverso due misuratori di portata, temperatura e densità, che per il loro funzionamento sfruttano l'effetto di Coriolis. Il misuratore FI1 (Danfoss) è posto immediatamente a valle delle pompe di alimentazione, in modo da risentire delle oscillazioni di portata dovute al pompaggio (soprattutto durante l'alimentazione con pompa a stantuffo). Questo misuratore è posto all'esterno della stufa, quindi viene utilizzato principalmente per la misura della massa erogata durante i campionamenti. Il misuratore FI2 (Micro Motion) è posto all'interno della stufa, dopo il serpentino di riscaldamento della miscela, e quindi viene usato per misurare le proprietà del fluido alle condizioni di prova, in particolare temperatura e densità.

### Autoclave

Essenzialmente è costituita da un tubo spesso di acciaio inossidabile chiuso alle estremità con tappi filettati nei quali sono posizionate guarnizioni polimeriche che assicurano la tenuta fino ad alte pressioni (circa 500 bar). Ha una lunghezza totale di 35,4 cm, effettiva di 29 cm, con un diametro interno di 14,4 mm e un diametro esterno di 25,4 mm. La cella di equilibrio viene riempita nella parte centrale, per circa 3 parti del volume del vessel, con un letto di sferette di

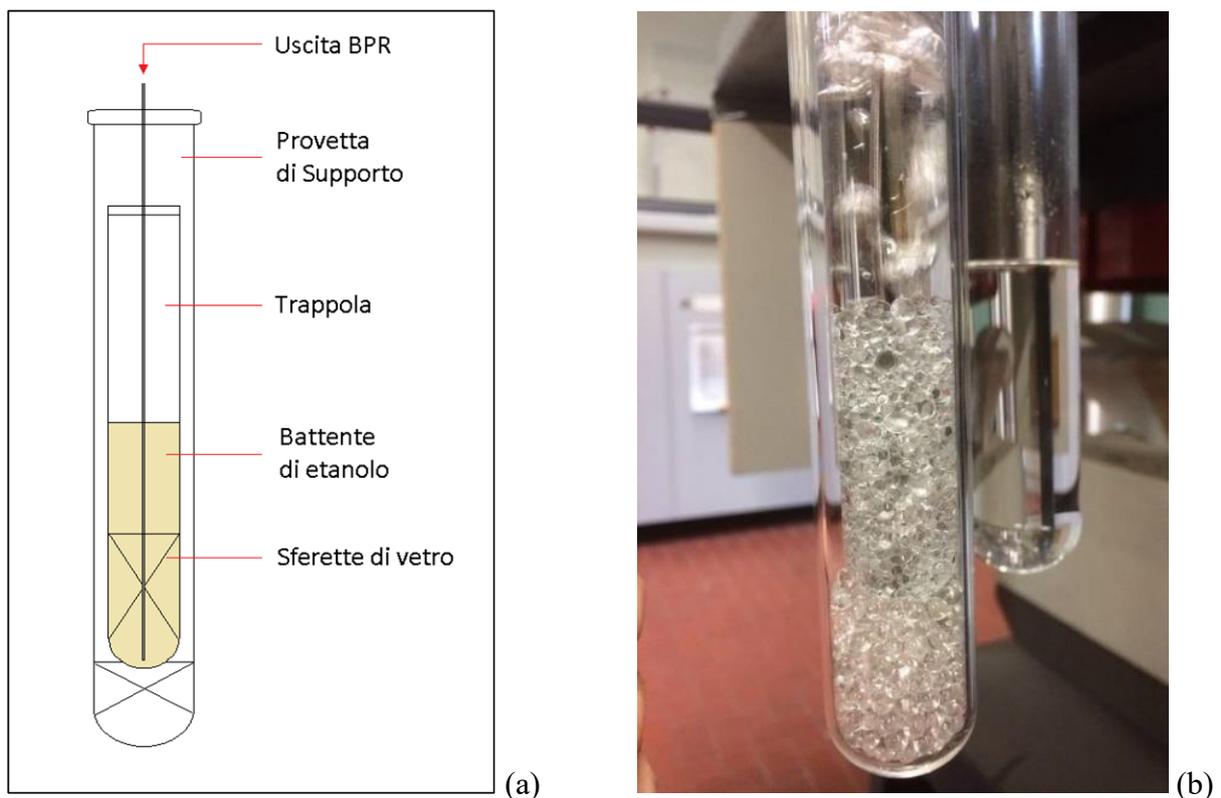
vetro di due diverse dimensioni (circa 1 e 3 mm), sulle quali viene depositato il principio attivo. Gli estremi sono riempiti con due strati di lana di vetro, che hanno lo scopo di fissare le sfere e di evitare trascinalenti di farmaco durante le misure.

### Trappola di campionamento

È una provetta di vetro, riempita con un certo volume di etanolo, che viene usata per raccogliere il principio attivo estratto durante un campionamento. Nel volume presente nella trappola avviene lo scambio tra la fase gas che si forma dopo l'espansione a pressione ambiente, e il liquido contenuto nella trappola. È importante che il battente sia sufficientemente alto per ottenere una buona efficienza di scambio tra le due fasi durante il campionamento, e ottenere una misura del soluto raccolto più affidabile possibile. Allora si è reso utile modificare la trappola utilizzata precedentemente per altri lavori di tesi cercando di aumentarne l'efficienza.

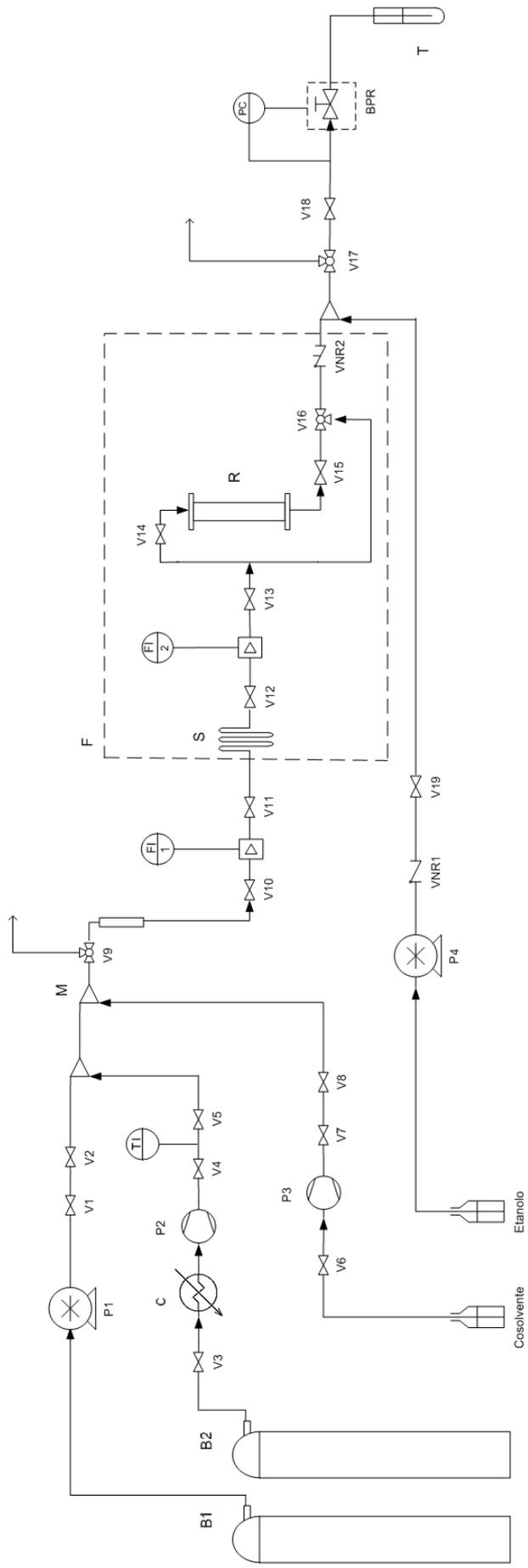
In particolare, a parità di massa di volume di etanolo, è stata sostituita la vecchia provetta di diametro pari a 30 mm con una di diametro inferiore (20 mm) al fine di aumentare l'altezza del battente. Inoltre è stato inserito un riempimento di sfere di vetro al fondo della provetta, al fine di aumentare ulteriormente l'altezza di liquido ed ottenere un maggiore tempo di permanenza e un migliore controllo delle dimensioni delle bolle di CO<sub>2</sub> in trappola.

In figura 3.4. sono riportati uno schema semplificato (a) ed una foto (b) della trappola impiegata.



**Figura 3.6:** Schema della trappola (a), foto durante un campionamento (b)

Per il montaggio al sistema, come è illustrato in figura 3.6 (a), è stato necessario posizionare la trappola di campionamento all'interno di una provetta di supporto più grande.



<p><b>B:</b> bombole CO2  <b>P1:</b> pompa CO2 stantuffo  <b>P2:</b> pompa CO2 siringa  <b>P3:</b> pompa cosolvente  <b>P4:</b> pompa EtOH diluizione  <b>C:</b> camicia di raffreddamento della CO2 in siringa  <b>R:</b> cella di equilibrio  <b>M:</b> miscelatore statico  <b>TI:</b> misuratore di temperatura</p>	<p><b>V:</b> valvole on/off  <b>V9, V16, V17:</b> valvole a tre vie  <b>VNR:</b> valvole di non ritorno  <b>S:</b> serpentino di riscaldamento  <b>F:</b> stufa  <b>BPR:</b> regolatore/misuratore di pressione  <b>T:</b> trappola di raccolta  <b>FI:</b> misuratori di portata  <b>PC:</b> controllore di pressione</p>
---	--

### 3.3 Procedura esecutiva delle prove

Le prove sono state condotte per diversi valori di temperatura (45, 55, 75, 100°C), pressione (130, 150, 190, 230, 270 bar) e composizione della miscela supercritica, espressa in termini di frazione molare di co-solvente (2%, 3%, 4%). Le prove per una giornata operativa sono state organizzate fissando temperatura e composizione, variando la pressione, poiché la pressurizzazione del sistema risulta più rapida rispetto al raggiungimento della temperatura operativa. Per la descrizione delle fasi operative si è fatto riferimento allo schema di pag. 39.

#### 3.3.1 Operazioni preliminari

##### Caricamento cella di equilibrio

Come già accennato, l'autoclave viene riempito con sferette di vetro sulle quali viene depositato circa 1 g di cortisone, assicurandosi che questo aderisca in maniera omogenea su tutta la superficie disponibile del riempimento. Dopo il caricamento, l'autoclave viene chiusa con cautela per non rovinare il filetto e far aderire la guarnizione per assicurare la tenuta. Quindi si pone dentro la stufa, dove viene messa in collegamento con la linea mediante le valvole V14 e V15.

##### Preparazione delle trappole di raccolta

Vengono preparate e pesate le trappole con circa 20 g di sferette e riempite con 10 – 15 g di etanolo. Si preparano almeno tre trappole poiché si è stabilito di effettuare tre campionamenti successivi per ogni condizione operativa.

##### Refill pompe a siringa

Queste pompe operano mantenendo costante la corsa del pistone all'interno della siringa, che ha un volume finito e che quindi deve essere riempita all'inizio di ogni prova. Tale operazione si effettua aprendo la valvola di aspirazione (V3 per la pompa P2 e V6 per la P3) e utilizzando il comando "refill" presente sul pannello di controllo di ciascuna pompa. Nel caso dell'etanolo l'operazione è veloce, mentre per la CO<sub>2</sub>, dopo il riempimento, bisogna aspettare il raggiungimento dell'equilibrio termico, poiché, come già visto, la siringa è incamiciata e raffreddata mediante un bagno a circolazione, impostato alla temperatura di 14°C.

Per le basse portate di co-solvente impiegate, l'operazione per la pompa P3 viene effettuata una sola volta per l'intera giornata di laboratorio, invece per la P2 l'operazione deve essere ripetuta all'inizio di ogni nuova condizione operativa (cambio di pressione) poiché, per le portate di CO<sub>2</sub> richieste, il volume della siringa è sufficiente alle sole misure della stessa condizione.

##### Avviamento pompa a stantuffo

La pompa P1, impiegata per la pressurizzazione del sistema, deve essere accesa almeno 15 minuti prima del pompaggio, al fine di avviare correttamente la ventola di raffreddamento.

Nel caso in cui la pompa P1 sia vuota è consigliabile effettuare lo spurgo della stessa al fine di rimuovere l'eventuale umidità presente. Dopo avere aperto la bombola B1 e riempito la camera della pompa, si apre la valvola a tre vie V9, assicurandosi che V10 sia chiusa. L'operazione si effettua a pressione di bombola e pompa ferma, aprendo gradualmente la valvola di spurgo per evitare la formazione di ghiaccio a causa della rapida espansione della CO<sub>2</sub>.

### *3.3.2 Raggiungimento delle condizioni di prova*

#### Riscaldamento stufa

Inizialmente viene accesa e impostata la temperatura della stufa per il raggiungimento di condizioni isoterme lungo il serpentino di riscaldamento e all'interno della cella di equilibrio. La fase di riscaldamento può richiedere tempi non brevi, solitamente circa 2 ore. Una volta raggiunte condizioni stabili, la temperatura viene mantenuta praticamente costante rispetto al valore impostato, con oscillazioni sulla misura del flussimetro interno di circa 0.2 – 0.3°C. È importante, una volta concluse le operazioni di avvio, tenere la stufa chiusa durante la prova, al fine di assicurare condizioni praticamente isoterme.

#### Pressurizzazione linea

Dopo avere avviato la pompa P1, ed essersi assicurati che l'otturatore del BPR a valle del sistema sia chiuso e con controllo disattivato, si aprono le valvole V1, V2, V10, V11, V12, V13, V16 e V18 e si verifica che la pressione misurata al BPR sia pari a quella di bombola. In questa prima fase si pressurizza la linea con sola CO<sub>2</sub>, assicurandosi di isolare la linea di alimentazione del co-solvente, dell'etanolo di diluzione e la pompa a siringa della CO<sub>2</sub>. È importante isolare anche la cella di equilibrio, chiudendo le valvole V14 e V15.

Una volta verificata la pressione di bombola, si attiva il controllo di pressione a valle, impostando la pressione stabilita per la prima misura e si avvia la pompa P1 impostando una portata relativamente elevata, per velocizzare l'operazione. Una volta raggiunta la pressione di linea, misurata a monte dall'indicatore della pompa a stantuffo e a valle dal BPR, si abbassa la portata volumetrica di CO<sub>2</sub> ad un valore tale da ottenere sul misuratore FI1 una portata massica prossima a quella scelta per le misure, che è di 0.6 g/min.

Si attende nel frattempo il raggiungimento della temperatura operativa, che è possibile monitorare grazie al misuratore FI2, interno alla stufa.

#### Inserimento in linea del co-solvente

Come noto dallo schema, il co-solvente viene alimentato in linea tramite la pompa a siringa P3. Essendo la linea già in pressione, si avvia la pompa del co-solvente inizialmente in controllo di pressione, portando la siringa ad un valore di pressione poco superiore a quella di linea, assicurandosi che le valvole V6 e V7 (aspirazione e mandata della P3) siano chiuse. Appena viene raggiunta la pressione in siringa, si aprono in sequenza le valvole V7 e V8 (valvola di miscelazione) e si imposta subito dopo la pompa P3 in controllo di portata, modalità che viene mantenuta per tutto il corso della prova. La portata volumetrica impostata viene calcolata in funzione della frazione molare di co-solvente desiderata, tenendo conto della densità dell'etanolo alla temperatura ambiente e alla pressione operativa.

#### Taratura misuratori di portata

Una volta ottenuta la miscela supercritica a condizioni prossime a quelle desiderate, si opera una taratura dei flussimetri FI1 (esterno) e FI2 (interno). Questa operazione consente di ottenere una misura della portata nulla alle condizioni di flusso realizzate in linea, al fine di rendere più affidabile possibile la lettura degli indicatori di portata interno ed esterno. I flussimetri devono essere ritarati pieni e a flusso fermo, quindi vengono fermate le pompe P1 e P3 e vengono chiuse le valvole V10, V11 (intercettazione di FI1) e V12, V13 (intercettazione di FI2). Dopo

avere seguito una procedura guidata, disponibile sul manuale operativo dei due misuratori, si riavviano le pompe e si riaprono le valvole da V10 a V13, ristabilendo il flusso in linea.

#### Inserimento etanolo di diluizione

Come si può osservare dallo schema, è presente una linea di etanolo che interseca la corrente principale all'uscita della stufa, in corrispondenza del tratto finale. L'etanolo viene alimentato tramite la pompa a stantuffo P4, la cui mandata è intercettata dalla valvola V19. La diluizione dell'ultimo tratto è necessaria prima dell'inserimento della cella di equilibrio, e quindi del contatto del fluido con il principio attivo. Per l'inserimento in linea, si avvia la pompa P4 impostando una portata intorno a 0.1 ml/min, tenendo chiusa la valvola V19 al fine di pressurizzare la linea di diluizione almeno fino alla pressione della linea principale. Una volta raggiunta la pressione di linea, seguendo l'indicazione fornita dalla P4, si apre V19 e si avvia la miscelazione con la corrente principale nell'ultimo tratto.

#### Pressurizzazione della cella di equilibrio

L'autoclave viene isolata durante le fasi di avvio e pressurizzazione, chiudendo le valvole V14 e V15. La scelta di non pressurizzare direttamente assieme alla linea permette di ottenere le condizioni di miscelazione del flusso prima di entrare in autoclave. La pressurizzazione viene inoltre condotta dal basso, cioè aprendo la V15, al fine di ottenere una redistribuzione del principio attivo nel letto di sfere a seguito delle prove precedentemente eseguite, durante le quali il flusso attraversa la cella dall'alto verso il basso, entrando da V14 e uscendo da V15.

La pressurizzazione viene monitorata seguendo l'indicazione del BPR, e può richiedere tempi non brevi (da 10 a 30 min). Quando il sistema è nuovamente alla pressione richiesta, si stabilisce la direzione del flusso lungo l'autoclave, chiudendo V16 (valvola di bypass) e aprendo V14.

#### Switch stantuffo – siringa

Come anticipato nella descrizione delle apparecchiature, la pompa P1 viene impiegata per le fasi di pressurizzazione e variazione delle condizioni di prova, mentre per eseguire le misure effettive si è scelto di adottare per la CO<sub>2</sub> la pompa P2 (siringa). Durante le prove allora risulta necessario sostituire l'alimentazione della P1 con quella della P2, eseguendo uno "switch" tra le due linee della CO<sub>2</sub>. Inizialmente, in maniera analoga all'inserimento del co-solvente, si pressurizza la siringa ad un valore maggiore o uguale alla pressione di linea, chiudendo V3 e V4. Raggiunta la pressione in siringa, si apre la valvola V5 per consentire la miscelazione con la corrente di alimentazione della P1 e quindi anche la valvola di mandata V4, impostando subito dopo la P2 in controllo di portata, che viene regolata manualmente in funzione della temperatura indicata dalla termocoppia TI. Inserita la mandata della P2, si ferma la pompa P1, e se ne isola la mandata chiudendo le valvole V1 e V2.

### *3.3.3. Operazioni durante le prove*

#### Campionamento

Impiegando la tipologia di trappola descritta nel paragrafo precedente, si raccoglie il principio attivo solubilizzato in un certo intervallo di tempo, al fine di ottenere una misura della massa raccolta attraverso l'analisi spettrofotometrica della soluzione. Il tempo di campionamento scelto varia tra 10 e 20 minuti, durante i quali si monitorano diversi parametri operativi, quali la densità e la temperatura del flusso, attraverso i misuratori FI1 e FI2 e le eventuali perdite di

carico della linea, confrontando gli indicatori delle pompe P2 e P3 a monte e della pompa P4 a valle. Per la stima della solubilità, inoltre, è necessario prendere nota della massa di miscela erogata durante il campionamento, confrontando l'indicazione fornita da entrambi i misuratori. Il tempo di campionamento presenta un piccolo errore legato al tempo necessario per inserire il tubo da una trappola all'altra, di circa 5 secondi, che risulta comunque inferiore all'1%.

### Cambio delle condizioni di prova

Per eseguire nuove misure, a parità di temperatura e di frazione di co-solvente, ad un livello di pressione maggiore, è necessario fermare la pompa a siringa P2 e tornare ad alimentare la linea con la pompa P1, al fine di portare il sistema ad una pressione superiore rispetto a quella precedente. Allora si esegue lo switch, avviando la pompa P1 e aprendo le valvole V1 e V2 di immissione in linea, mentre le valvole V4 e V5 vengono chiuse. A questo punto si opera esattamente come per la prima condizione operativa, eseguendo nuovamente il refill della P2 durante il raggiungimento della stabilità per la nuova pressione. Si impostano le portate volumetriche delle pompe a siringa in funzione della nuova pressione e si aumenta la portata di diluizione della pompa P4, poiché all'aumentare della pressione si ha un incremento del potere solvente del fluido, e quindi un maggiore rischio di sporcamento della valvola micrometrica.

### *3.3.4 Fermata dell'apparecchiatura*

Terminata l'esecuzione delle misure all'interno di una giornata operativa, deve essere seguita una procedura di fermata che consente di lasciare il sistema pronto per le giornate successive.

### Depressurizzazione della linea

Conclusi gli ultimi campionamenti, si interrompe l'alimentazione della P2 e si ritorna sulla P1. La siringa della P2 viene depressurizzata fino alla pressione di bombola e quindi viene spenta. Utilizzando il telecomando del BPR, si inizia a depressurizzare il sistema gradualmente, riducendo la pressione ad intervalli di 5 bar, attraverso il comando "decrease". Depressurizzare sotto controllo di pressione e a piccoli intervalli aiuta ad evitare la formazione di ghiaccio secco, fenomeno che in questa fase è molto più probabile per via dell'espansione del fluido su tutta la linea. Durante la depressurizzazione si continua ad alimentare la miscela supercritica e a diluire l'ultimo tratto della linea per evitare la possibilità di flusso all'indietro e quindi trascinalenti di farmaco a monte della cella di equilibrio.

Sulla base delle prossime misure da effettuare, si può scegliere di depressurizzare parzialmente il sistema, cioè fino al valore di pressione minimo investigato (solitamente 130 bar), se si devono effettuare ulteriori misure nella giornata successiva. Può essere invece necessario depressurizzare completamente la linea e la cella di equilibrio, fino a pressione ambiente, se non devono essere svolte ulteriori misure oppure se deve essere rinnovata o sostituita l'autoclave. In quest'ultimo caso, si continua ad alimentare la CO<sub>2</sub> fino alla pressione di bombola (60 bar), poi si completa la depressurizzazione a pompe spente fino a pressione atmosferica.

### Flussaggio della linea

A termine delle prove è consigliabile, dopo la depressurizzazione parziale, isolare l'autoclave chiudendo V14 e V15 e continuare ad alimentare la miscela supercritica, bypassando il vessel, quindi aprendo la valvola a tre vie V16, al fine di rimuovere eventuali tracce di principio attivo presenti nella tubazione, per circa 30 minuti. Una volta terminata questa fase, si spengono le

pompe, si chiudono le bombole e si spegne la stufa e gli altri strumenti, lasciando accesi solo la pompa P4 e il BPR. La linea viene intercettata, chiudendo tutte le valvole fino alla V16, lasciando aperte solo le valvole dell'ultimo tratto in uscita dalla stufa e la linea di diluizione.

### Lavaggio dell'ultimo tratto

L'ultimo tratto della linea risulta essere il più critico per la precipitazione del principio attivo, a causa di due fattori. In primo luogo, essendo in uscita dalla stufa, la temperatura del fluido si abbassa bruscamente, causando una riduzione del potere solvente. Altro aspetto, forse più importante, è la rapida espansione del fluido attraverso la valvola micrometrica, che per questo diventa soggetta a possibili residui di farmaco sull'otturatore. È buona norma quindi effettuare un lavaggio dell'ultimo tratto con etanolo, pompato tramite P4, così da pulire la valvola di regolazione della pressione, o soltanto verificare che non ci sia stato sporco. Infatti, se è stata correttamente scelta la portata di diluizione durante le prove, l'ultimo tratto risulta pulito. Per il lavaggio si opera disattivando il controllo di pressione del BPR e alimentando l'etanolo a portate basse, per le quali si conosce il valore di pressione, ad apertura dell'otturatore nota, nel caso di valvola pulita. Inizialmente, si chiude la valvola e si pressurizza l'ultimo tratto con etanolo ad una portata di circa 2 ml/min. Pressurizzato il tratto, si apre la valvola e si imposta una portata di 0.1 ml/min, aprendo e chiudendo l'otturatore in modo che eventuali tracce di soluto vengano rimosse. Infine, si verifica che il BPR sia pulito, a portata ed apertura fissate.

## **3.4 Scelte operative e ottimizzazione dei parametri**

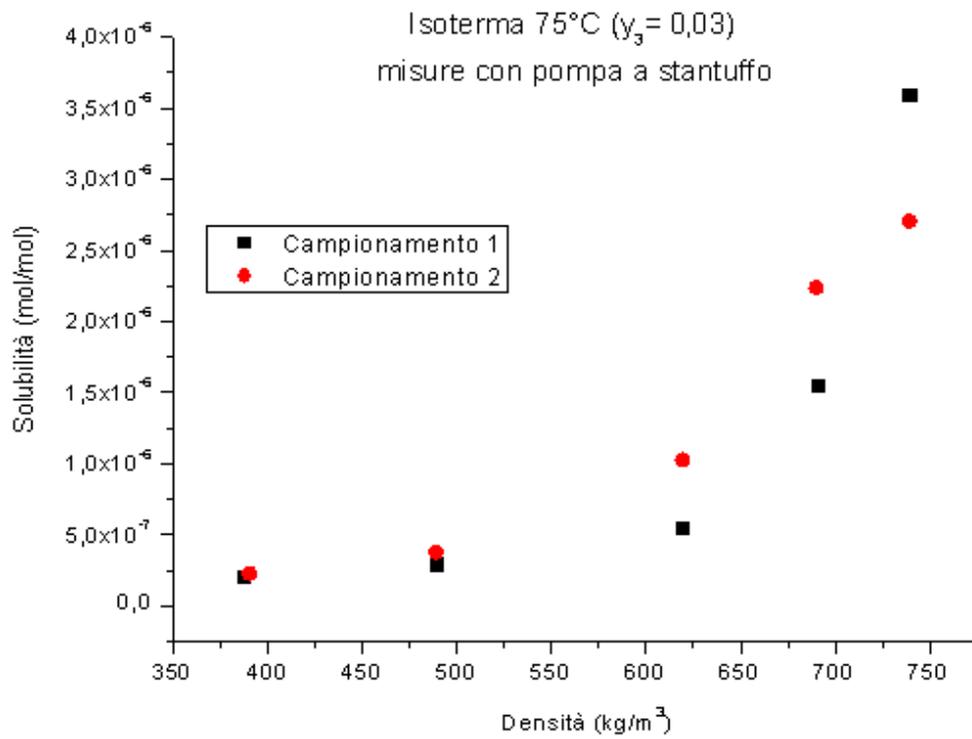
Il sistema di misura è stato impiegato precedentemente per le misure di solubilità di altri principi attivi in CO<sub>2</sub> pura, in assenza quindi di co-solvente. La grande differenza tra operare con un fluido supercritico puro rispetto ad una miscela è il parametro composizione, che nelle misure di questa tesi entra, assieme a temperatura e pressione, nella definizione della densità e del potere solvente della miscela supercritica. Impiegando invece CO<sub>2</sub> pura, gli unici parametri da controllare sono temperatura e pressione, e questo rende le misure molto più agevoli e riproducibili, attraverso il controllo delle sole due variabili termodinamiche.

### *3.4.1 Pompa di alimentazione della CO<sub>2</sub>*

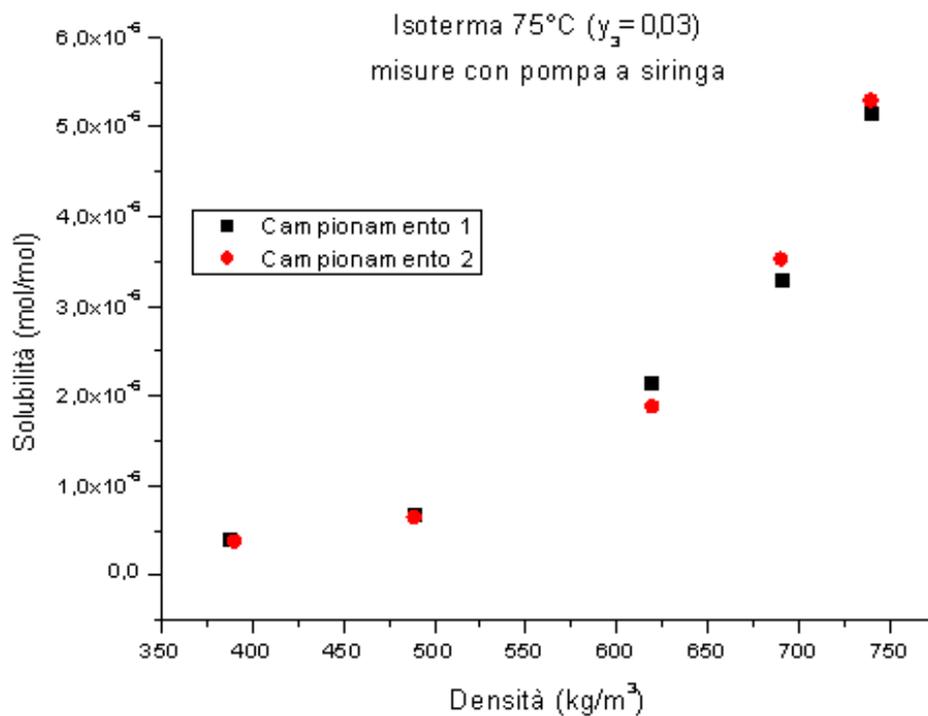
Al fine di ottenere la composizione desiderata della miscela è necessario definire, con la maggiore accuratezza possibile, il valore di portata delle due correnti di alimentazione, anidride carbonica ed etanolo, in funzione della portata massica complessiva scelta e della frazione molare di co-solvente desiderata. Inizialmente, solo per il co-solvente era stata installata una pompa a siringa, mentre la CO<sub>2</sub> era alimentata con la pompa a stantuffo anche durante le misure. Operando con una macchina a pulsazione, le oscillazioni sulla portata di alimentazione diventano importanti, specie se la portata totale scelta è bassa. Essendo la portata di CO<sub>2</sub> quella maggioritaria, le ampie oscillazioni legate all'alimentazione tramite stantuffo hanno un effetto rilevante sulla composizione, e quindi sulla ripetibilità delle misure.

Sperimentalmente, sono state condotte alcune prove impiegando la pompa a stantuffo per le misure di solubilità, che sono state confrontate con quelle ottenute alimentando la CO<sub>2</sub> in siringa, scelta che è stata confermata per tutte le diverse misure di solubilità di questo lavoro. In particolare, si riporta l'isoterma a 75°C e al 3% molare di co-solvente, ricavata operando con

pompa a stantuffo (figura 3.7) e successivamente con pompa a siringa (figura 3.8), dove sono stati confrontati due campionamenti successivi al fine di valutare la riproducibilità della misura.



**Figura 3.7:** Riproducibilità delle misure – alimentazione CO<sub>2</sub> in stantuffo



**Figura 3.8:** Riproducibilità delle misure – alimentazione CO<sub>2</sub> in siringa

Confrontando i due grafici si osserva subito che la riproducibilità dei punti sperimentali, in termini di scostamento tra i due campionamenti successivi, è significativamente migliore operando con pompa a siringa, rispetto che a stantuffo. Avendo calcolato lo scostamento tra i valori ottenuti con il secondo campionamento rispetto al primo, per entrambi le modalità operative, si ottiene con la pompa a stantuffo uno scostamento medio del 28%, mentre con quella a siringa del 7%, dato che conferma il netto miglioramento nell'affidabilità delle misure.

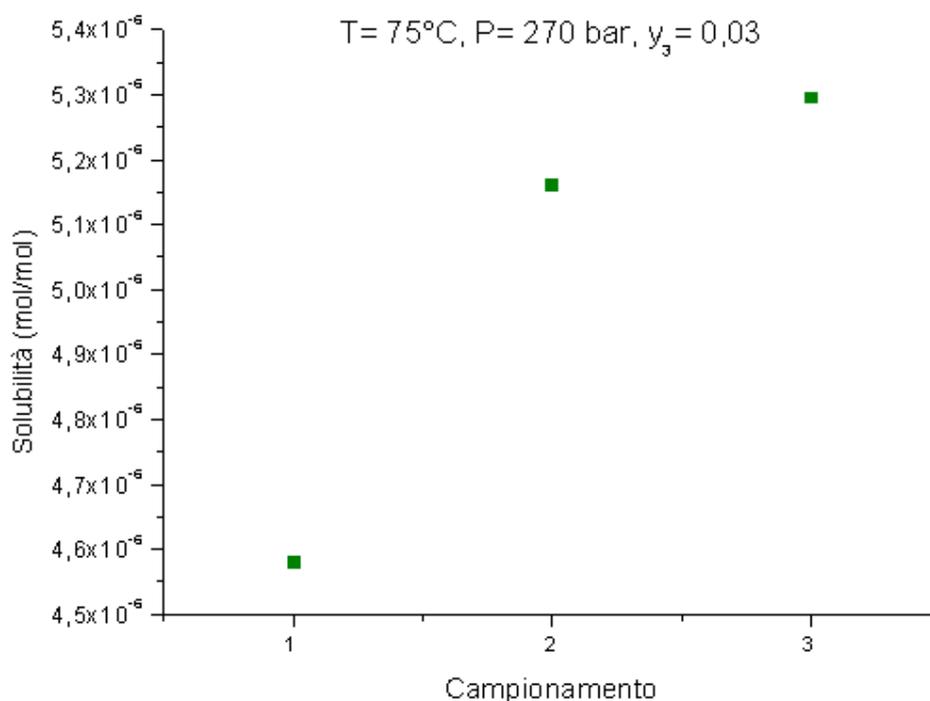
### 3.4.2 Parametri operativi

#### Portata massica totale

Trattandosi di misure di solubilità, è importante scegliere una portata sufficientemente bassa, tale da permettere un buon tempo di contatto tra il fluido e il solido all'interno della cella di equilibrio. Operare con portate basse, però, deprime il coefficiente di scambio fluido – solido, ma con una dipendenza più debole rispetto all'aumento del tempo di contatto. Si è scelto di operare ad una portata di 0.6 g/min, valore limite legato all'affidabilità del misuratore di portata FI1. Infatti, l'errore sulla portata misurata per valori più bassi di 0.6 g/min risulta inaccettabile.

#### Stima del transitorio

L'intervallo di tempo stimato deve essere sufficiente al raggiungimento della stabilità delle variabili e delle condizioni di flusso (portata, densità). Importante è il tempo necessario alla saturazione della quantità di miscela supercritica che attraversa la cella di equilibrio in un passaggio, stimato come il tempo di permanenza nell'autoclave. Considerando il volume della cella e la portata di alimentazione, si può stimare un tempo di permanenza di circa 25 minuti. Considerando le oscillazioni iniziali del sistema e gli scostamenti su tre campionamenti successivi (figura 3.9), mediamente è stato considerato per le misure un transitorio di 60 minuti.



**Figura 3.9:** Variazione della solubilità su tre campionamenti successivi

Il primo campionamento è stato ottenuto dopo 40 minuti dall'avvio dell'alimentazione in siringa, ed ogni campionamento è stato condotto per una durata di 20 minuti. Lo scostamento sul dato di solubilità tra i primi due campionamenti è pari all'11%, mentre tra il secondo ed il terzo si riduce al 3%, dato che indica condizioni prossime alla saturazione della corrente in uscita dalla cella di equilibrio.

### Portata di diluizione

La portata di etanolo di diluizione è necessaria per evitare accumuli di farmaco residuo sulla valvola micrometrica, ma contemporaneamente risulta essere un elemento di disturbo dell'anello di controllo che agisce in retroazione sull'apertura della valvola di regolazione della pressione. Per questo motivo, va aumentata gradualmente durante il suo inserimento in linea, monitorando le oscillazioni sulla pressione misurata dall'indicatore del BPR. Sulla base dell'incremento di potere solvente stimato all'aumentare della densità della miscela, la portata di diluizione è stata aumentata all'aumentare della pressione, durante l'esecuzione delle prove. Complessivamente, la portata di diluizione è stata variata tra 0.1 e 0.3 ml/min.

### 3.4.3 Efficienza della trappola di raccolta

Come già descritto, la trappola impiegata per i campionamenti di questo lavoro sperimentale è stata modificata rispetto a quella precedentemente impiegata nel sistema di misura, al fine di ottimizzare l'efficienza di raccolta del principio attivo. Tale miglioramento è stato visto sperimentalmente, confrontando i valori di solubilità ottenuti attraverso una trappola con altezza del battente di etanolo non sufficiente e la trappola scelta per tutte le misure di solubilità. In figura 3.10 sono riportate due isoterme di solubilità ottenute alle stesse condizioni operative, ma campionando il principio attivo con le due diverse tipologie di trappola.

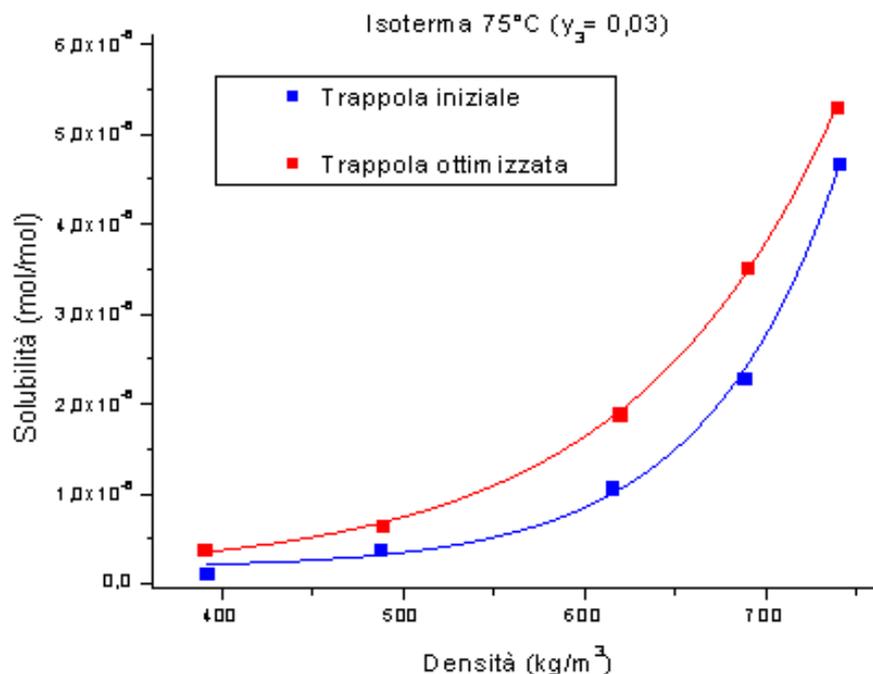


Figura 3.10: Confronto tra due isoterme ottenute con due differenti trappole di raccolta

Si osserva un incremento di solubilità, a parità di condizioni e di massa di miscela solvente fluita, quindi una maggiore quantità di principio attivo analizzata in soluzione. Questo conferma che la nuova trappola raccoglie più soluto, perché lo scambio tra il gas e il volume di liquido è più efficiente rispetto alla prima trappola, con un incremento medio sulla stima di solubilità ai diversi punti di pressione di circa il 40%.

### 3.5 Analisi in soluzione

Durante il campionamento, il principio attivo viene raccolto in soluzione nella trappola. Questo permette di analizzare la soluzione al fine di stimare la concentrazione del soluto in etanolo e calcolare la massa di cortisone solubilizzato nel tempo di campionamento con la 3.1:

$$m_{CORT} = C_{CORT}m_{SOL} \quad (3.1)$$

Parallelamente, viene misurata la massa di miscela supercritica erogata con il misuratore FII e si ottiene il valore di solubilità (massica) come rapporto tra la massa di farmaco e la massa erogata secondo la 3.2:

$$\omega_{CORT} = \frac{m_{CORT}}{m_{CO_2} + m_{EtOH}} \quad (3.2)$$

Si noti che al denominatore la massa del principio attivo è molto più piccola rispetto alla massa della miscela supercritica (circa 5 ordini di grandezza) e per questo può essere trascurata.

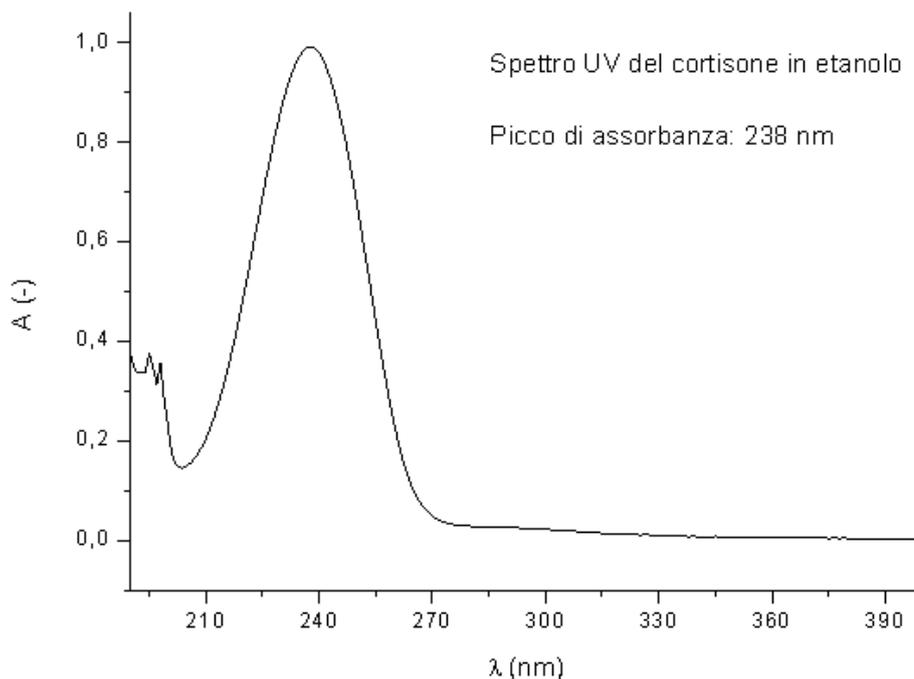
Conoscendo il peso molecolare delle tre specie, si può esprimere la solubilità come frazione molare, secondo la 3.3:

$$y_{CORT} = \frac{\frac{m_{CORT}}{M_{CORT}}}{\frac{m_{CO_2}}{M_{CO_2}} + \frac{m_{EtOH}}{M_{EtOH}}} \quad (3.3)$$

### Spettrometria UV

La concentrazione della soluzione viene ricavata mediante analisi spettrofotometrica UV. Questo tipo di analisi si basa sull'interazione tra le onde elettromagnetiche e la materia. Quando una molecola viene attraversata da una radiazione, come la luce, parte dell'energia trasportata dalla radiazione viene assorbita. In particolare, i composti cortisonici assorbono nel campo delle radiazioni ultraviolette, nell'intervallo di lunghezza d'onda tra 100 e 400 nm. Per ogni lunghezza d'onda si ottiene un certo valore di assorbanza (rapporto tra la radiazione assorbita e la radiazione incidente), quindi per una determinata sostanza è possibile ricavare lo spettro di assorbimento, caratterizzato da un massimo, detto picco di assorbimento, localizzato ad una

specifica lunghezza d'onda ( $\lambda$ ). Per il cortisone in etanolo, è stato ottenuto lo spettro di assorbimento con picco di assorbanza localizzato a 238 nm (figura 3.11)



**Figura 3.11:** Spettro di assorbimento del cortisone in etanolo

### Analisi quantitativa

Il picco, caratteristico del composto, consente di individuare qualitativamente la presenza della specie in soluzione, mentre l'analisi quantitativa si basa sul fatto che l'assorbanza aumenta all'aumentare della concentrazione. Teoricamente, tale dipendenza è descritta dalla legge di Lambert Beer, secondo cui l'assorbanza, sotto certe ipotesi, varia linearmente con la concentrazione. Due delle ipotesi prevedono che la radiazione incidente sia monocromatica e che l'assorbimento del solvente sia trascurabile.

### Spettrofotometro

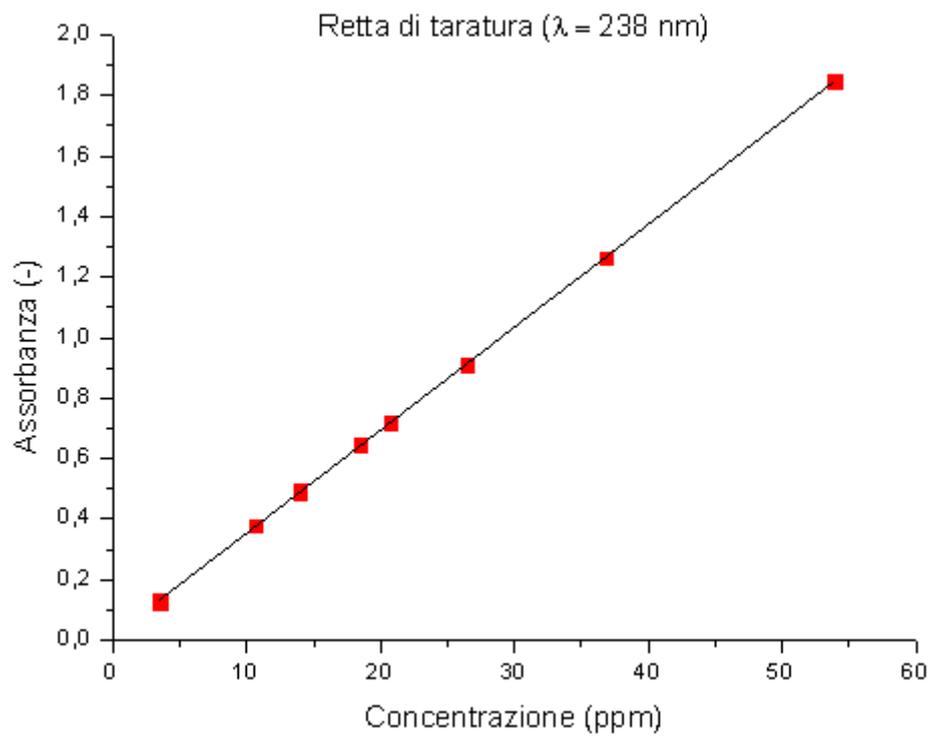
Per misurare l'assorbanza di una soluzione si impiega lo spettrofotometro, il cui funzionamento si basa sulla radiazione assorbita da un piccolo volume di soluzione. La radiazione è prodotta da una lampada ed attraversa un monocromatore, attraverso il quale si seleziona la banda di lunghezza d'onda di interesse (in questo caso UV). La soluzione è posta in una cella trasparente alla radiazione per tutte le lunghezze della banda, chiamata cuvetta.

Per le analisi di questo lavoro sono state impiegate cuvette in quarzo (trasparente agli UV) e lo spettrofotometro Perkin Elmer LAMBDA 25.

### Retta di taratura

Sfruttando la relazione lineare tra assorbanza e concentrazione, è stata costruita una retta di taratura per il cortisone in etanolo (figura 3.12), misurando l'assorbanza di diverse soluzioni a concentrazione nota, ottenute per diluizioni indipendenti della soluzione madre di partenza. Partendo dall'equazione della retta di regressione dei punti ottenuti sperimentalmente, si ricava

la relazione impiegata per stimare la concentrazione della soluzione contenuta in trappola dopo il campionamento a partire dall'assorbanza misurata.



**Figura 3.12:** Retta di taratura del cortisone

## 4. Risultati ottenuti nel lavoro di tesi

In questo capitolo verranno presentati i risultati delle misure sperimentali e i grafici degli andamenti della solubilità in funzione delle variabili investigate. In seguito saranno presentati i risultati della regressione dei dati sperimentali attraverso i modelli semi-empirici più utilizzati in letteratura, al fine di scegliere la correlazione più accurata per interpretare i dati sperimentali.

### 4.1 Dati di solubilità del cortisone

In tabella 4.1 sono riportati i dati di solubilità misurati durante il lavoro sperimentale, considerando la massa fluita di CO<sub>2</sub> modificata indicata dal misuratore FI1 e la densità indicata dal misuratore interno FI2. La massa di cortisone è stata stimata dall'analisi della soluzione ottenuta nella trappola di raccolta del soluto, posta all'uscita del sistema di misura (cfr. cap. 3).

I dati sono ordinati per contenuto di co-solvente, temperatura e pressione crescenti. Per ogni condizione operativa sono riportate tre misure, relative ai tre campionamenti effettuati.

**Tabella 4.1:** Solubilità del cortisone

<b>Contenuto di co-solvente</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Pressione</b>	<b>Densità</b>	<b>Solubilità</b>
<b>(mol/mol)</b>	<b>(°C)</b>	<b>(bar)</b>	<b>(kg/m<sup>3</sup>)</b>	<b>(mol/mol)</b>
0,02	45	130	703	6,22E-07
0,02	45	130	703	6,34E-07
0,02	45	150	744	6,69E-07
0,02	45	150	744	7,47E-07
0,02	45	150	744	7,88E-07
0,02	45	190	800	1,06E-06
0,02	45	190	799	1,08E-06
0,02	45	190	799	1,14E-06
0,02	45	230	838	1,71E-06
0,02	45	230	838	1,97E-06
0,02	45	230	838	1,88E-06
0,02	45	270	867	1,97E-06
0,02	45	270	868	2,04E-06
0,02	45	270	867	2,34E-06
0,02	55	130	597	3,92E-07

0,02	55	130	596	4,48E-07
0,02	55	150	663	5,20E-07
0,02	55	150	663	6,76E-07
0,02	55	150	664	7,91E-07
0,02	55	190	740	1,00E-06
0,02	55	190	740	1,09E-06
0,02	55	190	741	1,12E-06
0,02	55	230	790	1,89E-06
0,02	55	230	789	1,91E-06
0,02	55	230	790	2,18E-06
0,02	55	270	825	2,02E-06
0,02	55	270	825	2,21E-06
0,02	55	270	826	2,70E-06
0,02	75	130	377	1,45E-07
0,02	75	130	378	1,37E-07
0,02	75	150	477	2,55E-07
0,02	75	150	478	2,83E-07
0,02	75	150	478	3,02E-07
0,02	75	190	610	8,71E-07
0,02	75	190	609	9,20E-07
0,02	75	190	610	9,54E-07
0,02	75	230	685	1,96E-06
0,02	75	230	685	2,10E-06
0,02	75	230	685	1,85E-06
0,02	75	270	736	2,42E-06
0,02	75	270	736	2,95E-06
0,02	75	270	736	3,02E-06
0,02	100	130	266	1,52E-07
0,02	100	130	266	1,95E-07

0,02	100	150	331	2,86E-07
0,02	100	150	330	3,66E-07
0,02	100	150	330	3,35E-07
0,02	100	190	456	9,07E-07
0,02	100	190	456	7,85E-07
0,02	100	190	457	8,14E-07
0,02	100	230	551	2,15E-06
0,02	100	230	552	1,85E-06
0,02	100	230	552	1,77E-06
0,02	100	270	621	2,50E-06
0,02	100	270	621	2,81E-06
0,02	100	270	622	2,92E-06
0,03	45	130	716	1,63E-06
0,03	45	130	714	1,85E-06
0,03	45	130	714	1,68E-06
0,03	45	150	753	1,84E-06
0,03	45	150	752	2,19E-06
0,03	45	150	754	2,32E-06
0,03	45	190	804	2,35E-06
0,03	45	190	805	3,17E-06
0,03	45	190	805	3,23E-06
0,03	45	230	841	3,98E-06
0,03	45	230	841	4,59E-06
0,03	45	230	840	4,95E-06
0,03	45	270	869	4,51E-06
0,03	45	270	869	5,71E-06
0,03	45	270	869	6,25E-06
0,03	55	130	617	1,04E-06
0,03	55	130	616	1,02E-06

0,03	55	130	617	1,00E-06
0,03	55	150	678	1,38E-06
0,03	55	150	677	1,48E-06
0,03	55	150	678	1,65E-06
0,03	55	190	748	2,31E-06
0,03	55	190	748	2,46E-06
0,03	55	190	748	2,60E-06
0,03	55	230	794	3,84E-06
0,03	55	230	794	3,56E-06
0,03	55	230	794	3,87E-06
0,03	55	270	828	4,91E-06
0,03	55	270	828	4,59E-06
0,03	55	270	828	5,24E-06
0,03	75	130	386	4,49E-07
0,03	75	130	387	4,15E-07
0,03	75	130	390	3,77E-07
0,03	75	150	488	5,93E-07
0,03	75	150	489	6,78E-07
0,03	75	150	489	6,53E-07
0,03	75	190	620	1,94E-06
0,03	75	190	619	2,16E-06
0,03	75	190	619	1,89E-06
0,03	75	230	690	3,26E-06
0,03	75	230	690	3,32E-06
0,03	75	230	690	3,52E-06
0,03	75	270	739	4,58E-06
0,03	75	270	739	5,16E-06
0,03	75	270	739	5,30E-06
0,03	100	130	271	4,03E-07

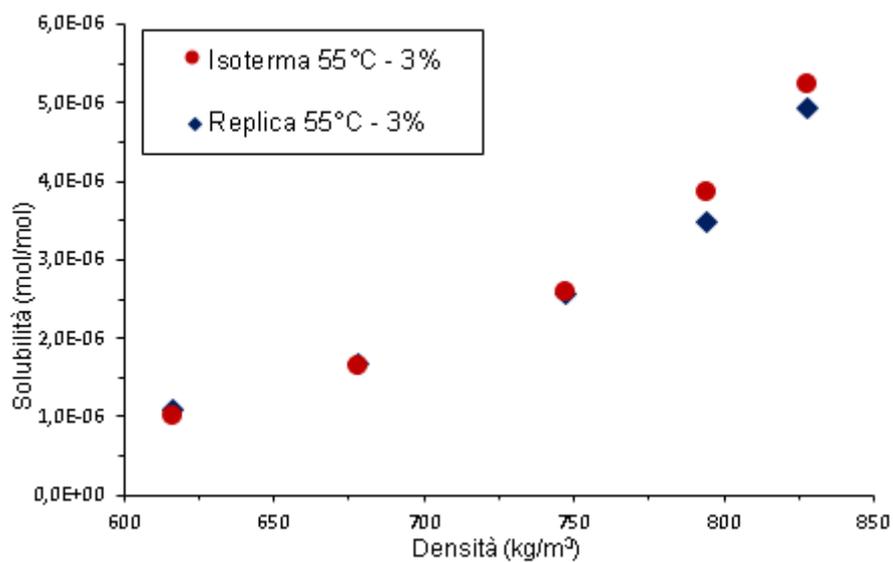
0,03	100	130	271	4,07E-07
0,03	100	130	270	4,05E-07
0,03	100	150	337	6,67E-07
0,03	100	150	336	7,13E-07
0,03	100	150	337	6,96E-07
0,03	100	190	464	1,47E-06
0,03	100	190	464	1,31E-06
0,03	100	190	463	1,31E-06
0,03	100	230	561	3,74E-06
0,03	100	230	560	3,70E-06
0,03	100	230	561	3,56E-06
0,03	100	270	627	5,08E-06
0,03	100	270	626	5,67E-06
0,03	100	270	626	5,55E-06
0,04	45	130	722	3,55E-06
0,04	45	130	721	3,58E-06
0,04	45	130	721	3,30E-06
0,04	45	150	758	3,99E-06
0,04	45	150	758	3,95E-06
0,04	45	150	758	4,09E-06
0,04	45	190	807	5,90E-06
0,04	45	190	807	6,33E-06
0,04	45	190	808	6,25E-06
0,04	45	230	842	7,94E-06
0,04	45	230	842	8,64E-06
0,04	45	230	842	8,68E-06
0,04	45	270	869	8,91E-06
0,04	45	270	870	9,69E-06
0,04	45	270	870	1,05E-05

0,04	55	130	618	1,89E-06
0,04	55	130	620	1,66E-06
0,04	55	130	621	1,68E-06
0,04	55	150	681	2,70E-06
0,04	55	150	680	2,63E-06
0,04	55	150	681	2,39E-06
0,04	55	190	751	5,03E-06
0,04	55	190	751	4,71E-06
0,04	55	190	750	4,81E-06
0,04	55	230	796	6,32E-06
0,04	55	230	796	6,31E-06
0,04	55	230	796	6,86E-06
0,04	55	270	829	8,08E-06
0,04	55	270	829	9,53E-06
0,04	55	270	828	9,47E-06
0,04	75	130	400	5,68E-07
0,04	75	130	401	4,47E-07
0,04	75	130	401	4,52E-07
0,04	75	150	502	1,26E-06
0,04	75	150	502	8,62E-07
0,04	75	150	501	9,31E-07
0,04	75	190	626	3,22E-06
0,04	75	190	626	3,11E-06
0,04	75	190	626	2,71E-06
0,04	75	230	695	5,90E-06
0,04	75	230	695	5,73E-06
0,04	75	230	695	5,54E-06
0,04	75	270	742	8,34E-06
0,04	75	270	742	9,05E-06

0,04	75	270	742	8,34E-06
0,04	100	130	271	3,80E-07
0,04	100	130	272	4,28E-07
0,04	100	130	272	4,17E-07
0,04	100	150	341	7,49E-07
0,04	100	150	340	6,93E-07
0,04	100	150	341	7,06E-07
0,04	100	190	470	2,25E-06
0,04	100	190	470	1,74E-06
0,04	100	190	470	1,70E-06
0,04	100	230	567	4,49E-06
0,04	100	230	566	4,37E-06
0,04	100	230	566	4,24E-06
0,04	100	270	633	7,50E-06
0,04	100	270	633	8,43E-06
0,04	100	270	633	7,94E-06

#### 4.1.1 Riproducibilità dei dati sperimentali

Per l'isoterma a 55°C al 3% di co-solvente è stata realizzata una replica (figura 4.1).

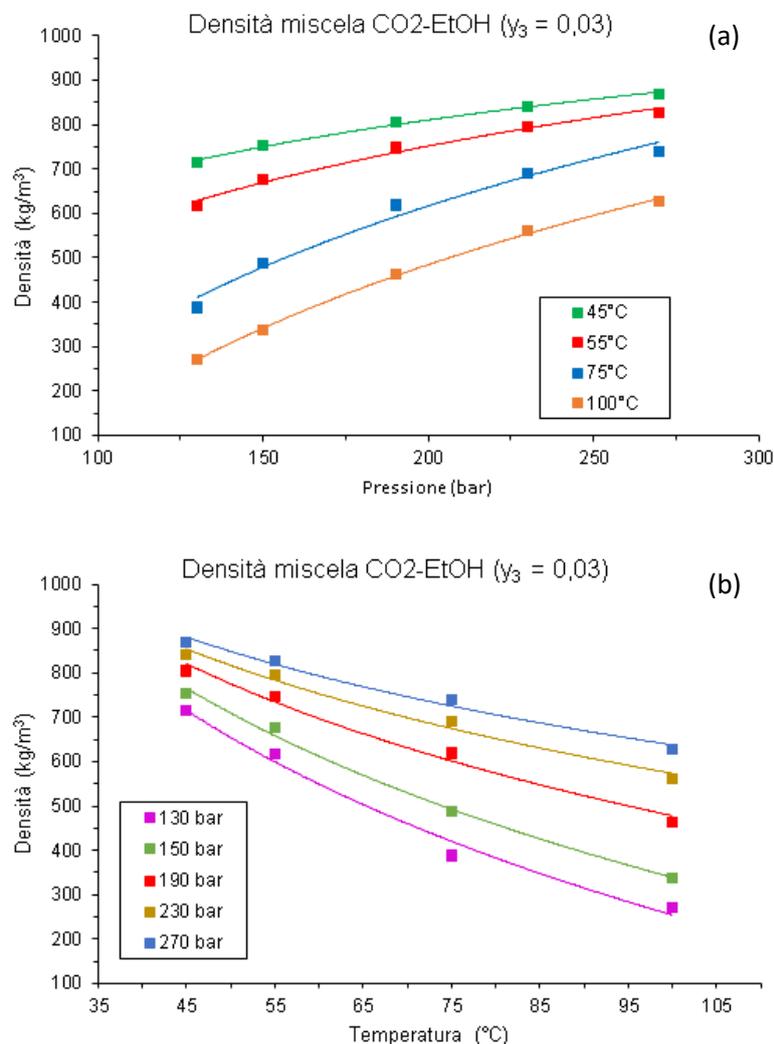


**Figura 4.1:** replica dell'isoterma a 55°C ottenuta al 3% molare di co-solvente

Come descritto nel capitolo 3, prima di effettuare le misure sono stati apportati dei miglioramenti al sistema di misura, come l'installazione della pompa a siringa per la CO<sub>2</sub> e l'incremento dell'efficienza della trappola di raccolta. Alla luce delle modifiche realizzate e definita la procedura sperimentale, è stata realizzata una replica per valutare la riproducibilità delle misure. Osservando le due repliche, le misure possono essere considerate riproducibili, con uno scostamento medio tra i punti misurati a parità di condizioni di circa il 5%.

#### 4.1.2 Andamento della densità misurata

La densità riportata nelle misure di tabella 4.1 è quella indicata dal misuratore FI2 (vedi schema a pag. 39, cap. 3). In figura 4.2 si riportano gli andamenti della densità misurata in funzione di temperatura e pressione, con lo scopo di visualizzare come varia il potere solvente della miscela. Come esempio sono riportate le misure per la miscela al 3% di co-solvente.



**Figura 4.2:** Densità misurata della miscela supercritica in funzione pressione (a) e temperatura (b)

Sulla base degli andamenti si osserva che la densità aumenta con la pressione e diminuisce con la temperatura, a conferma di quanto visto già nel capitolo introduttivo. In particolare, si può vedere che la densità varia in maniera più significativa con la pressione a temperature elevate.

Analogamente, la sua dipendenza dalla temperatura è più importante a basse pressioni, questo perché a bassa pressione e alta temperatura il fluido è maggiormente comprimibile, quindi più vicino alle condizioni di un gas compresso. Al contrario, l'intervallo di variazione della densità a pressioni elevate e temperature basse si riduce molto, essendo in un campo di minore comprimibilità del fluido supercritico. Questo comportamento viene confermato anche in termini di intervallo di variazione della solubilità: operando a basse temperature, la pendenza dell'isoterma è meno importante rispetto alle isoterme ricavate a temperature più elevate. Per quanto riguarda il contenuto di co-solvente, questo contribuisce ad aumentare la densità, ma in misura poco significativa, se si confronta con l'effetto di temperatura e pressione.

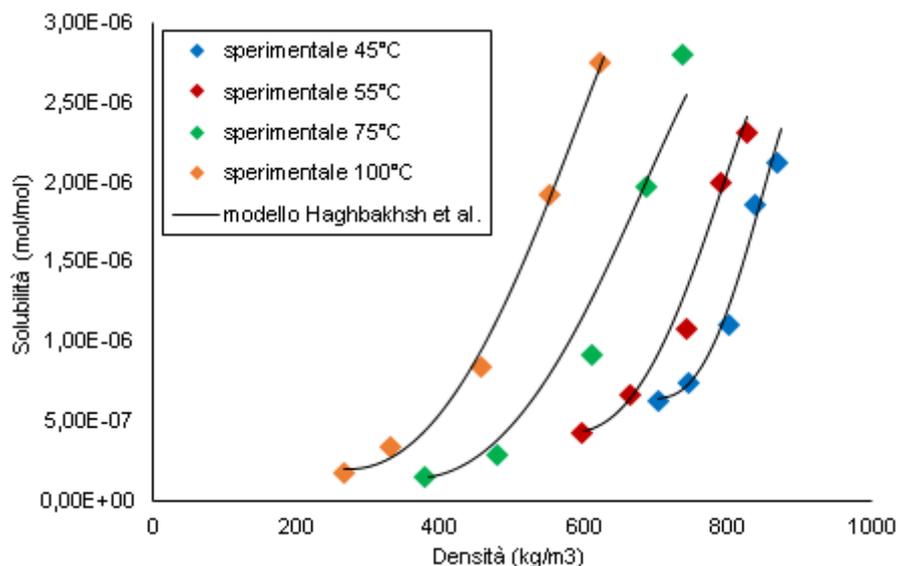
## 4.2 Il ruolo delle condizioni operative sui risultati sperimentali

In questa sezione sono riportati gli andamenti della solubilità del cortisone, espressa come frazione molare, riportati come isoterme in funzione di densità e pressione. Per ogni grafico sono presenti i punti sperimentali (come media tra i valori ottenuti su tre campionamenti successivi) e l'andamento teorico calcolato con il modello più accurato, quello di Haghbakhsh et al. (2013) a 10 parametri (come si vedrà nel paragrafo 4.3).

Dalle misure ottenute, si osserva che l'ordine di grandezza della solubilità del cortisone nella miscela CO<sub>2</sub> – etanolo, in termini di frazione molare, varia nel range tra 10<sup>-7</sup> e 10<sup>-5</sup>.

### 4.2.1 Effetto di temperatura e pressione

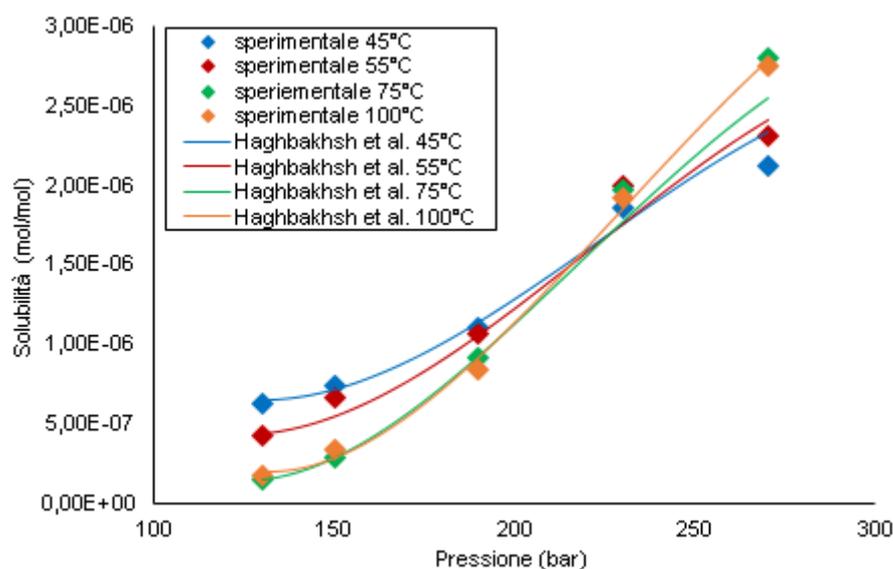
La solubilità aumenta all'aumentare della pressione perché aumenta la densità, e quindi il potere solvente della miscela supercritica, a parità di temperatura e frazione molare di co-solvente. A tal proposito, in figura 4.3 si riportano gli andamenti al 2% di co-solvente.



**Figura 4.3:** Isoterme di solubilità del cortisone in funzione della densità per  $y_3 = 0.02$

L'effetto della temperatura, invece, dipende dalla pressione di esercizio, poiché la temperatura ha due effetti concorrenti sulla solubilità: riduzione della densità del fluido supercritico e aumento della tensione di sublimazione del soluto (cfr. cap. 2).

Al fine di osservare come la temperatura influenza la solubilità, è interessante diagrammare i dati in funzione della pressione, poiché solo in questa rappresentazione si può visualizzare la zona di incrocio delle isoterme e quindi individuare la pressione di “crossover”.

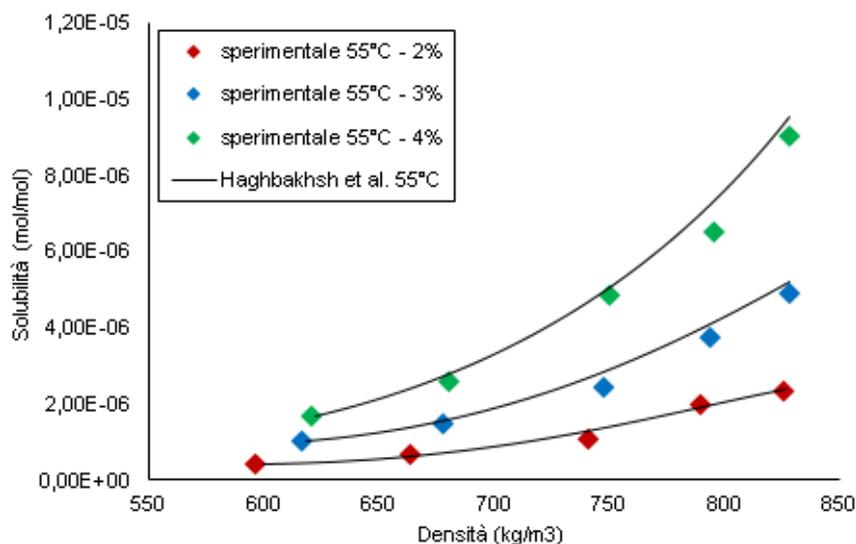


**Figura 4.4:** Isoterme di solubilità del cortisone in funzione della pressione per  $y_3 = 0.02$

Dal grafico di figura 4.4 si osserva che le isoterme si incrociano intorno ai 220 – 230 bar. Questo indica che prima della zona di “crossover” prevale l’effetto di riduzione del potere solvente dovuto alla diminuzione della densità, mentre per pressioni superiori la solubilità aumenta con la temperatura, poiché prevale l’aumento della tensione di sublimazione.

#### 4.2.2 Effetto del contenuto di co-solvente

Per osservare l’effetto della presenza dell’etanolo nella miscela supercritica si riporta il grafico di figura 4.5, nel quale si diagramma la solubilità del cortisone lungo tre isoterme alla stessa temperatura (si è scelto di riportare i punti a 55°C) ricavate alle tre diverse frazioni molari di co-solvente investigate in questo lavoro.



**Figura 4.5:** Solubilità del cortisone al variare della frazione molare di co-solvente

Come già descritto in altri lavori sperimentali [13], la presenza del co-solvente incrementa significativamente il potere solvente della miscela, a pressione e temperatura fissate.

La solubilità, in termini di frazione molare, aumenta di quasi un ordine di grandezza passando dal 2% al 4% molare di etanolo in miscela. Osservando il grafico di figura 4.5 si può vedere anche l'effetto del co-solvente sulla densità misurata, infatti anch'essa tende a crescere. Il blando aumento della densità, come già discusso precedentemente, non può essere l'unico fattore di incremento del potere solvente, che si può spiegare meglio come effetto chimico, legato all'instaurarsi di interazioni specifiche tra le molecole di co-solvente e di principio attivo.

Da un confronto tra le tre diverse composizioni della miscela investigate, si osserva un altro effetto legato alla presenza del co-solvente, relativo alla zona di incrocio delle isoterme in funzione della pressione. Infatti, confrontando i grafici al 3% e 4% molare di co-solvente (figura 4.6) con il grafico relativo al 2% (figura 4.4) si osserva che la zona di "crossover" si sposta verso valori di pressione più alti all'aumentare della frazione di etanolo.

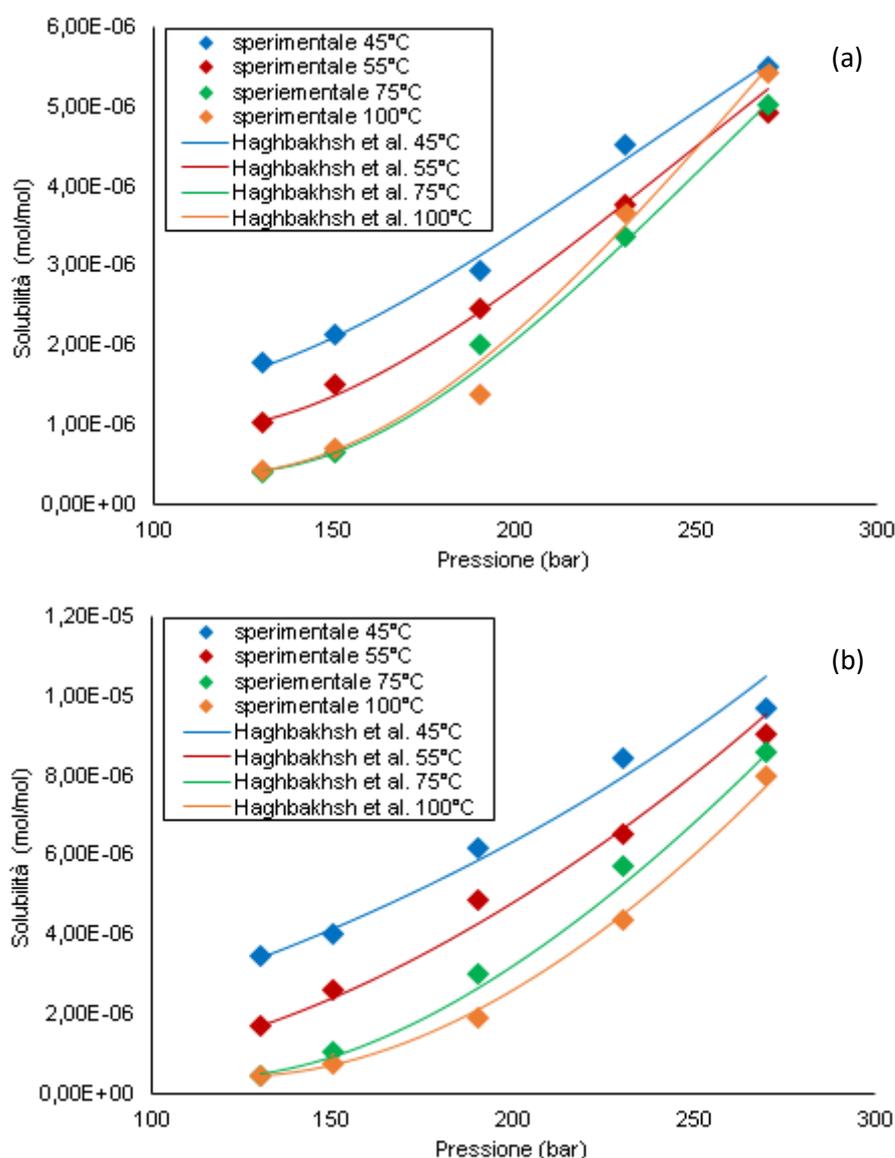


Figura 4.6: Isotherme di solubilità in funzione della pressione per  $y_3 = 0.03$  (a) e  $y_3 = 0.04$  (b)

Il “crossover”, infatti, si localizza intorno ai 220 – 230 bar al 2%, mentre al 3% si localizza a 260 – 270 bar. Operando al 4%, invece, tale zona non è più individuabile in quanto si sposta ragionevolmente a pressioni superiori all'intervallo operativo investigato.

### 4.3 Regressione dei dati sperimentali

I dati sperimentali sono stati modellati utilizzando delle correlazioni semi-empiriche basate su modelli dipendenti dalla densità del solvente supercritico. In particolare, sono stati analizzati diversi modelli presenti in letteratura per la solubilità in CO<sub>2</sub> supercritica, ognuno dei quali presenta un certo numero di parametri, che vengono stimati mediante la regressione dei dati sperimentali per le diverse composizioni della miscela. La regressione dei dati viene effettuata ricercando il minimo di una funzione obiettivo (deviazione assoluta relativa media percentuale) definita secondo la formula 4.1:

$$AADR \% = \frac{100}{N - Z} \sum_{i=1}^{N_i} \frac{|y_2^{calc} - y_2^{exp}|}{y_2^{exp}} \quad (4.1)$$

dove  $y_2$  è la solubilità del soluto espressa come frazione molare,  $N$  è il numero di punti sperimentali,  $Z$  il numero di parametri del modello e gli apici *calc* ed *exp* indicano rispettivamente il dato calcolato con il modello e il dato ottenuto sperimentalmente.

Per la scelta del modello più accurato si confrontano i valori di AADR% ottenuti per i diversi modelli di regressione analizzati e si considerano i modelli che danno le più basse deviazioni dai dati sperimentali.

In ogni espressione riportata in tabella 4.2 la solubilità del soluto ( $y_2$ ) è espressa come frazione molare ( $y_2$  (mol/mol)). Le variabili sono densità del solvente  $\rho$  (kg/m<sup>3</sup>), temperatura  $T$  (K) e pressione  $P$  (bar), mentre i coefficienti dei modelli sono indicati come  $b_i$  ( $i = 1, 2, \dots, n$ ).

**Tabella 4.2:** Espressione dei modelli semi-empirici utilizzati nella regressione

Rif.	Modello	Espressione
[11]	1. Chrastil (1982)	$y_2 = \rho^{b1} * \exp\left(b2 + \frac{b3}{T}\right)$
[15]	2. Adachi and Lu (1983)	$y_2 = \rho^{(b1+b2*\rho+b3*\rho^2)} * \exp\left(b4 + \frac{b5}{T}\right)$
[16]	3. del Valle and Aguilera (1983)	$y_2 = \rho^{b1} * \exp\left(b2 + \frac{b3}{T} + \frac{b4}{T^2}\right)$
[10]	4a. Sparks et al. (2008)	$y_2 = \rho^{(b1+b2*\rho)} * \exp\left(b3 + \frac{b4}{T} + \frac{b5}{T^2}\right)$
[10]	4b. Sparks et al. (2008)	$y_2 = \rho^{(b1+b2*\rho+b3*\rho^2)} * \exp\left(b3 + \frac{b4}{T} + \frac{b5}{T^2}\right)$
[17]	5. Sung and Shim (1999)	$y_2 = \rho^{(b1+\frac{b2}{T})} * \exp\left(b3 + \frac{b4}{T}\right)$

[18]	6. Bian et al. (2011)	$y_2 = \rho^{(b1+b2*\rho)} * \exp\left(b3 + \frac{b4 + b5 * \rho}{T}\right)$
[19]	7. Kumar and Johnston (1988)	$y_2 = \exp\left(b1 * \rho + b2 + \frac{b3}{T}\right)$
[20]	8. Garlapati and Madras (2009)	$y_2 = (\rho * T)^{b1} * \exp\left(b2 + \frac{b3}{T}\right)$
[7]	9. Si-Moussa (2017)	$y_2 = \rho^{b1} * \exp\left(b2 + b3 * \rho + b4 * \rho^2 + b5 * \rho * T + b6 * \frac{T}{\rho}\right)$
[21]	10. Bartle et al. (1991)	$y_2 = \frac{\exp\left(b1 * \rho + b2 + \frac{b3}{T}\right)}{P}$
[22]	11. Ch and Madras (2010)	$y_2 = \frac{\exp\left(b1 * \rho + b2 + \frac{b3}{T}\right)}{P^{(b4-1)}}$
[23]	12. Hezave and Lashkarbolooki (2013)	$y_2 = \frac{\exp\left(b1 * \rho + b2 + \frac{b3}{T}\right)}{P} + b4 * T$
[24]	13. Méndez-Santiago and Teja (1999)	$y_2 = \frac{\exp\left(b1 + \frac{b2 + b3 * \rho}{T}\right)}{P}$
[8]	14. Hozahabr et al. (2014)	$y_2 = \frac{\exp\left(b1 + \frac{b2 + b3 * \rho}{T}\right)}{P^{(b4-1)}}$
[25]	15. Khansary et al. (2015)	$y_2 = \rho^{(b1+b2*P)} * \exp\left(\frac{b3 + b4 * P^2}{T} + b5 * P\right)$
[26]	16. Keshmiri et al. (2014)	$y_2 = \rho^{b1+\frac{b2}{T}} * \exp\left(b3 + \frac{b4}{T} + b5 * P^2\right)$
[27]	17. Jouyban et al. (2002)	$y_2 = \rho^{b1} * \exp\left(b2 + b3 * P + b4 * P^2 + b5 * T * P + b6 * \frac{T}{P}\right)$
[28]	18. Yu et al. (1994)	$y_2 = \frac{b1 + b2 * T + b3 * T^2 + b4 * P + b5 * P^2 + b6 * T * P}{1 + b6 * T * P}$
[29]	19. Gordillo et al. (1999)	$y_2 = \exp(b1 + b2 * T + b3 * T^2 + b4 * P + b5 * P^2 + b6 * T * P)$
[30]	20. Haghbakhsh et al. (2013)	$y_2 = b1 + b2 * \rho + b3 * \rho^2 + b4 * \rho^3 + b5 * P + b6 * P^2 + b7 * P^3 + b8 * \rho * P + b9 * \rho^2 * P + b10 * \rho * P^2$

Risolvendo il problema di minimizzazione della somma delle deviazioni relative, si calcola per ogni modello impiegato nella regressione la deviazione relativa assoluta media percentuale (AADR%) per ogni valore di composizione della miscela investigato (tabella 4.3) come criterio di selezione delle correlazioni che meglio modellano i dati sperimentali.

Nella stessa tabella sono indicate anche le variabili presenti nell'espressione del modello e il numero di parametri, mentre in appendice sono riportati per ogni correlazione i coefficienti stimati attraverso la regressione dei dati sperimentali e gli andamenti solubilità – densità.

**Tabella 4.3:** AADR% ottenuti per i modelli utilizzati nella regressione

Modello	Variabili	Parametri	AADR%		
			y3 = 0,020	y3 = 0,030	y3 = 0,040
1. Chrastil (1982)	$\rho, T$	3	19,03	22,10	17,99
2. Adachi and Lu (1983)	$\rho, T$	5	11,88	11,11	9,82
3. Del Valle and Aguilera (1983)	$\rho, T$	4	18,44	16,94	16,20
4.a Sparks et al. (2008)	$\rho, T$	5	11,34	8,67	7,35
4.b Sparks et al. (2008)	$\rho, T$	6	12,12	11,31	10,00
5. Sung and Shim (1999)	$\rho, T$	4	13,16	12,18	10,61
6. Bian et al. (2016)	$\rho, T$	5	11,30	10,79	8,84
7. Kumar and Johnston (1988)	$\rho, T$	3	11,41	11,91	10,12
8. Garlapati and Madras (2009)	$\rho, T$	3	18,38	22,00	17,62
9. Si-Moussa (2017)	$\rho, T$	6	11,65	10,76	8,23
10. Bartle et al. (1991)	$\rho, T, P$	3	13,14	14,59	11,73
11. Ch and Madras (2010)	$\rho, T, P$	4	11,58	11,76	10,35
12. Hezave and Lashkarbolooki (2013)	$\rho, T, P$	4	12,75	11,15	9,72
13. Mendez-Santiago and Teja (1999)	$\rho, T, P$	3	11,37	10,87	8,21
14. Hozahabr et al. (2014)	$\rho, T, P$	4	11,07	10,38	7,67
15. Khansary et al. (2015)	$\rho, T, P$	5	17,58	17,69	18,99
16. Keshmiri et al. (2014)	$\rho, T, P$	5	11,57	10,72	9,39
17. Jouyban et al. (2002)	$\rho, T, P$	6	13,16	15,65	14,33
18. Yu et al. (1994)	$T, P$	6	12,57	10,33	10,32
19. Gordillo et al. (1999)	$T, P$	6	15,97	12,48	12,26
20. Haghbakhsh et al. (2013)	$\rho, P$	10	10,35	8,57	7,32

#### 4.3.1 Classificazione dei modelli

Al fine di scegliere il modello più accurato per la predizione dei dati di solubilità del cortisone, è interessante riconoscere e confrontare le principali famiglie di modelli. Il primo gruppo è costituito dal modello di Chrastil e sue modifiche (modelli 1 – 6, 8, 15 e 16 in tab. 4.2), dove il  $\ln y_2$  ha dipendenza lineare dal  $\ln p$ . Il secondo gruppo, invece, mette insieme i modelli in cui il  $\ln y_2$  è funzione lineare di  $\rho$ , come quello di Bartle et al., Kurman-Johnston ed altre correlazioni simili (modelli 7 e 10-14 in tab 4.2). Nella maggior parte di questi modelli, la solubilità è funzione esplicita anche della pressione, oltre che di densità e temperatura.

Infine si possono considerare i rimanenti modelli (9 e 17 – 20 in tab 4.2) presenti in letteratura che non rientrano nelle categorie precedenti, dove la solubilità è funzione della pressione, della temperatura e in alcuni casi della densità oppure è funzione esplicita solo di temperatura e pressione come nel caso delle correlazioni empiriche di Yu et al. e Gordillo et al., oppure solo di densità e pressione secondo Haghbakhsh et al.

### 4.3.2 Modelli di Chrastil e di Chrastil modificati

Per questa prima famiglia di modelli vengono confrontati i valori di AADR% (fig. 4.7 – 4.9) ottenuti con la regressione dei dati sperimentali al fine di osservare l'effetto delle differenze tra i modelli analizzati e l'adattabilità dei modelli in funzione del numero di parametri.

Il modello più semplice è quello di Chrastil, il quale parte dall'ipotesi per cui tra le molecole del soluto e le molecole del fluido supercritico si ha la formazione di un complesso di solvatazione, con l'ipotesi che l'entalpia del processo si mantenga costante (cfr. cap. 1). Adachi and Lu propongono una modifica al modello di Chrastil, esprimendo il numero di associazione  $k$  (indicato nella correlazione di tab. 4.2 come  $b_1$ ) come un polinomio di secondo grado della densità, mentre nella correlazione di del Valle-Aguilera, gli autori aggiungono un parametro di tipo empirico alla equazione di Chrastil, per tenere conto della dipendenza dell'entalpia di sublimazione dalla temperatura [16].

Il modello di Sparks et al. unisce le modifiche proposte da Adachi-Lu e del Valle-Aguilera. Sono riportate due espressioni del modello, a 5 parametri (a) e 6 parametri (b) che differiscono per il tipo di relazione con cui viene espresso il numero di associazione in funzione della densità (lineare (a) e quadratica (b)). Sung-Shim modificano il modello di Chrastil aggiungendo un parametro di dipendenza dalla temperatura per esprimere il numero di associazione, mentre Bian et al. ripropongono una relazione lineare in funzione della densità per il numero di associazione e inseriscono un parametro per la dipendenza dalla densità anche dentro il termine esponenziale.

Nella correlazione di Garlapati-Madras gli autori propongono una relazione lineare tra  $\ln y_2$  e  $\ln(\rho T)$  anziché quella tra  $\ln y_2$  e  $\ln p$ . Altri due modelli empirici più recenti che sono stati proposti da Khansary et al. e Keshmiri et al. Nel primo modello gli autori inseriscono la dipendenza dalla pressione sia nell'espressione del numero di associazione sia all'interno del termine esponenziale. Il secondo modello invece presenta la stessa espressione per il numero di associazione proposta da Sung-Shim e presenta ancora la pressione nel termine esponenziale.

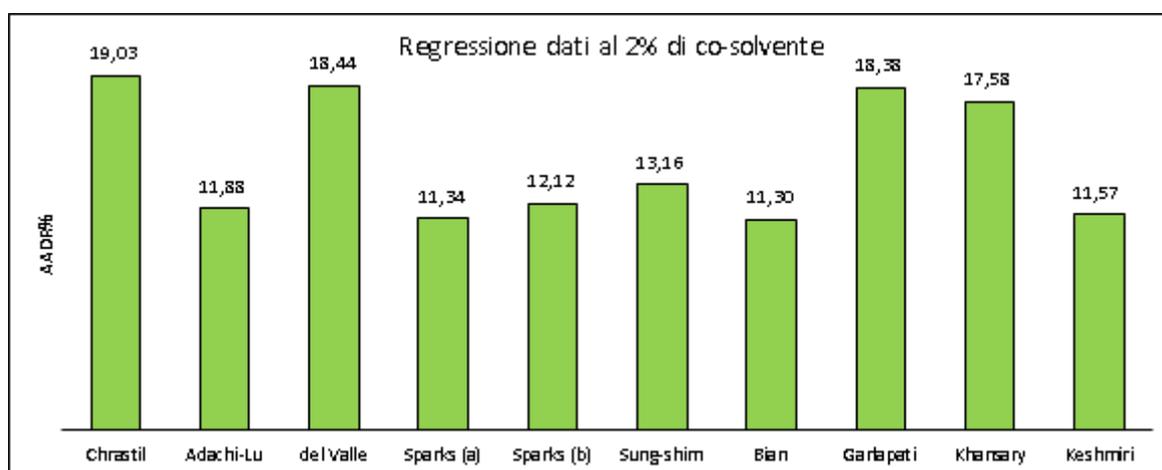
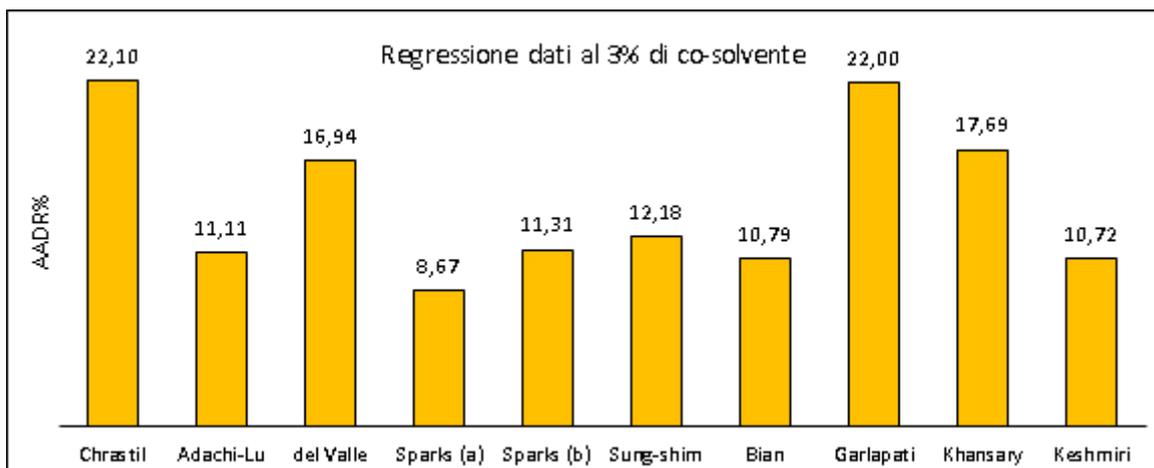
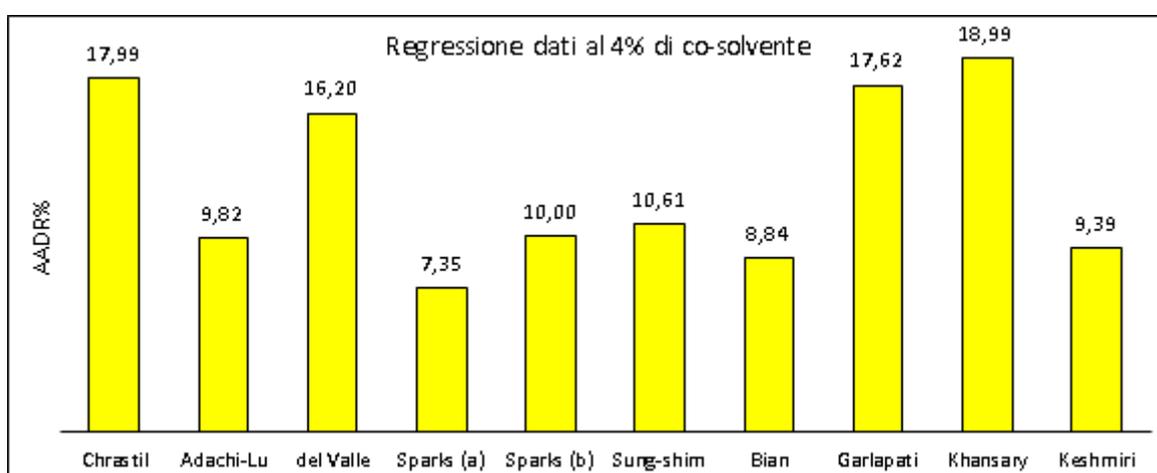


Figura 4.7: Istogrammi AADR% per la famiglia di modelli derivati da Chrastil ( $y_3 = 0.020$ )



**Figura 4.8:** Istogrammi AADR% per la famiglia di modelli derivati da Chrastil ( $y_3 = 0.030$ )



**Figura 4.9:** Istogrammi AADR% per la famiglia di modelli derivati da Chrastil ( $y_3 = 0.040$ )

Dai valori di AADR% ottenuti, si osserva che la correlazione di Chrastil a 3 parametri è la meno accurata (AADR% = 17,99 – 22,10%), il che ha senso considerando le ipotesi semplificative di questo modello teorico. Il modello di del Valle-Aguilera, nonostante la presenza di un parametro aggiuntivo dipendente da  $1/T^2$ , non offre un guadagno significativo in termini di accuratezza, così come Garlapati-Madras, dove la presenza del prodotto densità-temperatura al posto della densità non tende a migliorare la regressione dei dati. Anche con il modello di Khansary et al. si ottiene un AADR% elevato, dovuto probabilmente ad una scarsa efficacia della presenza della pressione nell'espressione del numero di associazione.

Un buon risultato si ottiene invece con modelli a 5 parametri, come Adachi-Lu e Bian et al. Osservando i risultati per le due correlazioni proposte da Sparks e collaboratori, risulta più accurata l'espressione a 5 parametri rispetto a quella a 6 parametri. Questo conferma che teoricamente la relazione lineare rispetto alla densità per il numero di associazione funziona meglio, in questo modello, rispetto a quella quadratica, nonostante il minor numero di parametri. In conclusione, il modello di Sparks et al. a 5 parametri risulta essere il più accurato tra questi modelli, con un AADR% tra 7,35 e 11,34%.

### 4.3.3. Modelli di Kumar-Johnston, Bartle et al. e modelli simili

Nelle figure 4.10 – 4.12 vengono riportati gli istogrammi degli AADR% ottenuti per questo gruppo di modelli. Il modello a 3 parametri di Kumar and Johnston è stato proposto osservando che può esistere una relazione lineare tra  $\ln y_2$  e  $\ln p$  ma anche tra  $\ln y_2$  e  $\rho$ , a seconda del tipo di sistema considerato [19]. Tale correlazione può essere considerata la prima in cui compare la dipendenza lineare tra il logaritmo naturale della solubilità e la densità, e la sua forma risulta simile a quella di Chrastil. Bartle et al. proposero un modello sempre a 3 parametri in cui il logaritmo della solubilità è ancora funzione della densità, introducendo però anche la dipendenza dalla pressione. L'ipotesi del modello è che la solubilità del soluto sia legata alla tensione di sublimazione del soluto e alla temperatura, oltre che alle interazioni con il solvente, che vengono espresse tramite la densità [21].

Tutti gli altri modelli classificati in questo gruppo (correlazioni 11-14) hanno forma simile al modello di Bartle et al. e sono tutti accomunati dalla presenza della pressione nella correlazione, oltre a temperatura e densità.

Un modello largamente impiegato in letteratura è quello di di Méndez-Santiago and Teja a 3 parametri, che gli autori hanno ricavato partendo dalla teoria delle soluzioni diluite e introducendo una equazione tipo Clausius-Clapeyron per la stima della tensione di sublimazione [24]. Gli altri modelli sono modifiche più recenti e presentano rispetto ai tre modelli prima citati tutti 4 parametri. Il modello di Ch-Madras presenta un parametro aggiuntivo rispetto alla correlazione di Bartle et al. sulla dipendenza dalla pressione, mentre Hezave-Lashkarbolooki mostra un termine aggiuntivo rispetto a Bartle et al. relativo alla dipendenza dalla temperatura. Il modello di Hozahabr et al. fu ricavato aggiungendo un quarto parametro alla correlazione di Méndez-Santiago and Teja, modificando la dipendenza dalla pressione [8].

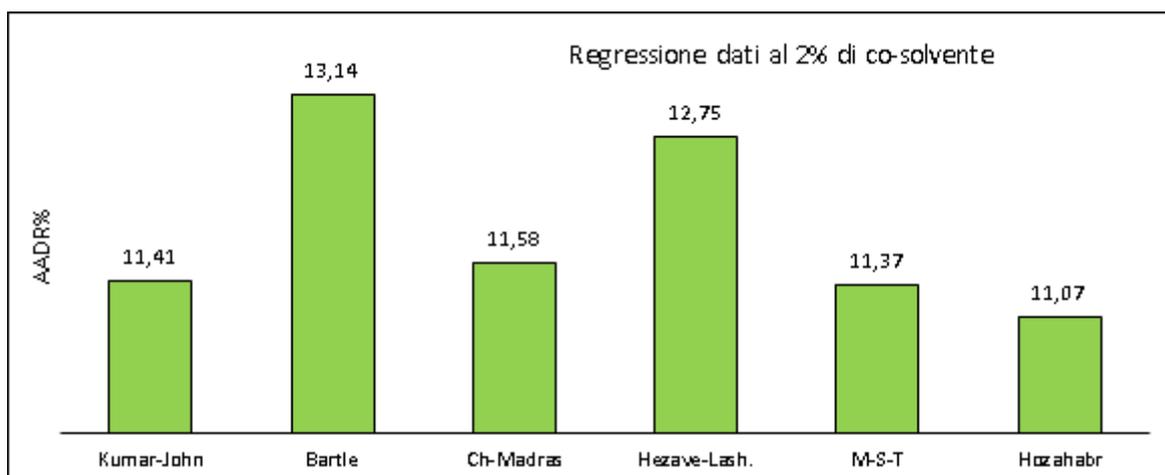
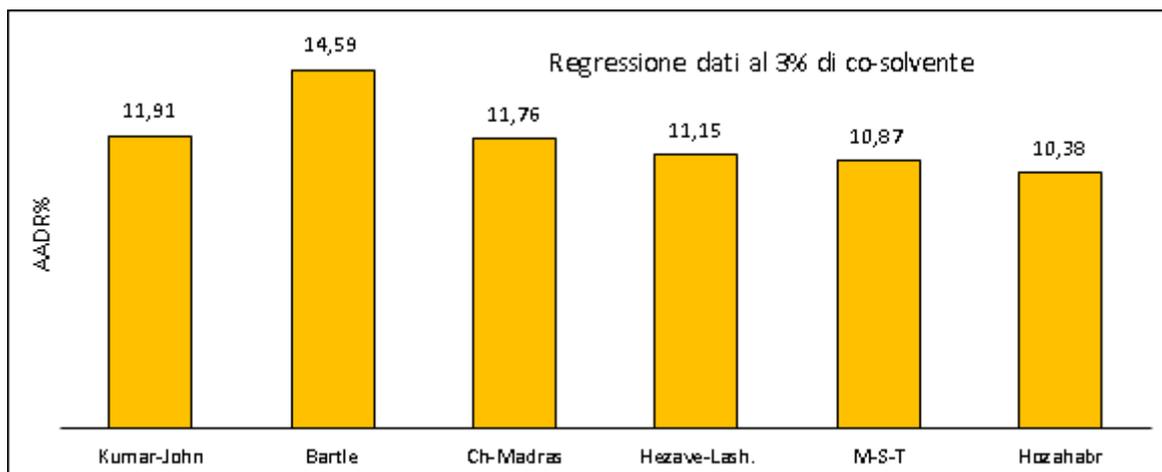
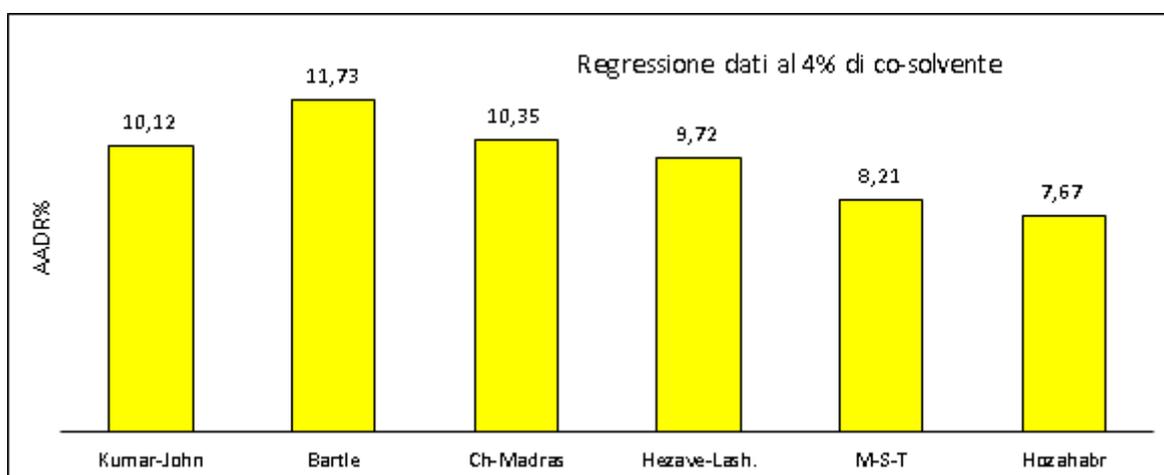


Figura 4.10: Istogrammi AADR% per Kumar-Johnston, Bartle et al. e simili ( $y_3 = 0.020$ )



**Figura 4.11:** Istogrammi AADR% per Kumar-Johnston, Bartle et al. e simili ( $y_3 = 0.030$ )



**Figura 4.12:** Istogrammi AADR% per Kumar-Johnston, Bartle et al. e simili ( $y_3 = 0.040$ )

Dai valori di AADR% si osserva che questi modelli sono mediamente più adatti per la regressione dei dati rispetto al gruppo precedente. Quindi la relazione lineare tra il logaritmo della solubilità e la densità sembra funzionare meglio rispetto alla relazione con il logaritmo della densità. Il meno accurato risulta essere quello di Bartle et al. con un AADR% tra 11,73 e 14,59%. Il migliore a 3 parametri è quello di Méndez-Santiago and Teja, mentre a 4 parametri quello di Hozahabr et al. Tale modello risulta il più accurato di questa famiglia, con un AADR% tra 7,67 e 11,07%.

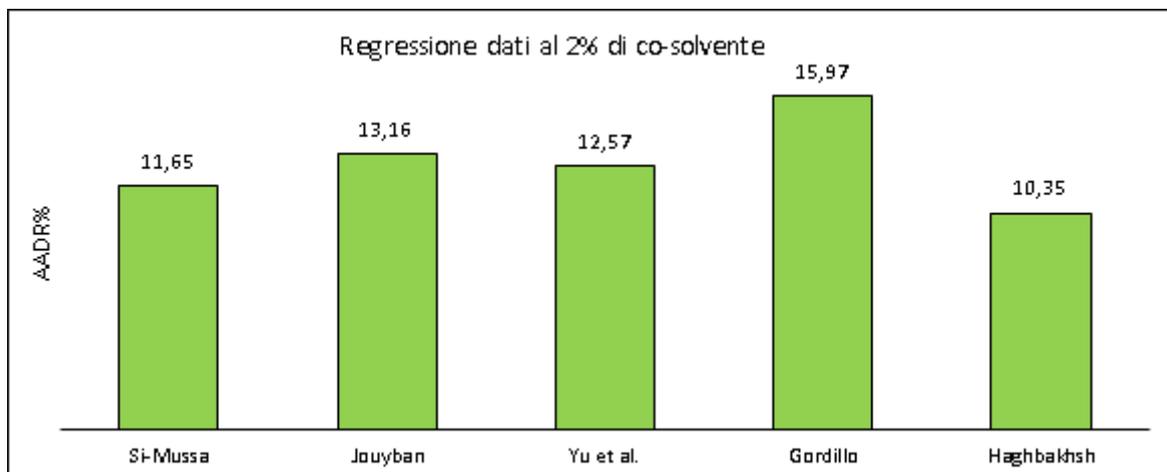
#### 4.3.4 Altri modelli di letteratura

Gli istogrammi degli AADR% per questi ultimi modelli sono riportati nelle figure 4.13 – 4.15. I modelli di questo ultimo gruppo sono più recenti, in quasi tutti è presente la dipendenza con la pressione e presentano un numero di parametri che va da 6 a 10. Il meno recente tra quelli proposti è il modello empirico di Jouyban et al. a 6 parametri. Tale modello fu proposto dagli autori al fine di introdurre la dipendenza del logaritmo della solubilità dalla pressione. Il primo parametro è legato alla dipendenza tra logaritmo della solubilità e logaritmo della densità, mentre gli altri parametri sono legati a pressione e temperatura. Il termine esponenziale presenta

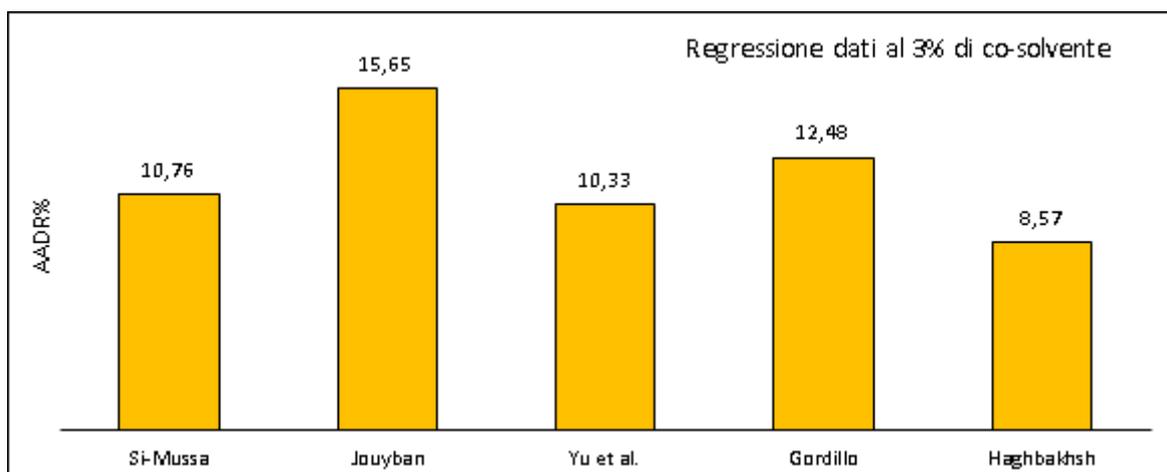
diversi parametri che correlano la pressione, il quadrato della pressione, il prodotto ed il rapporto tra temperatura e pressione. Da una semplice modifica della correlazione di Jouyban et al., Si-Moussa e collaboratori hanno proposto un modello del tutto analogo, in cui la pressione viene sostituita con la densità, basandosi sul fatto che dato che le proprietà volumetriche della CO<sub>2</sub> supercritica sono governate dal comportamento di fase, sono sufficienti solo due variabili per fissarle [7].

Una coppia di correlazioni tra loro molto simili sono quelle di Yu et al. e Gordillo et al., che a differenza di tutti gli altri modelli non presentano la dipendenza esplicita tra solubilità del soluto e densità del solvente. Il primo modello fu proposto da Yu et al., mentre Gordillo e collaboratori modificarono il precedente per correlare con successo i dati della penicillina G [29].

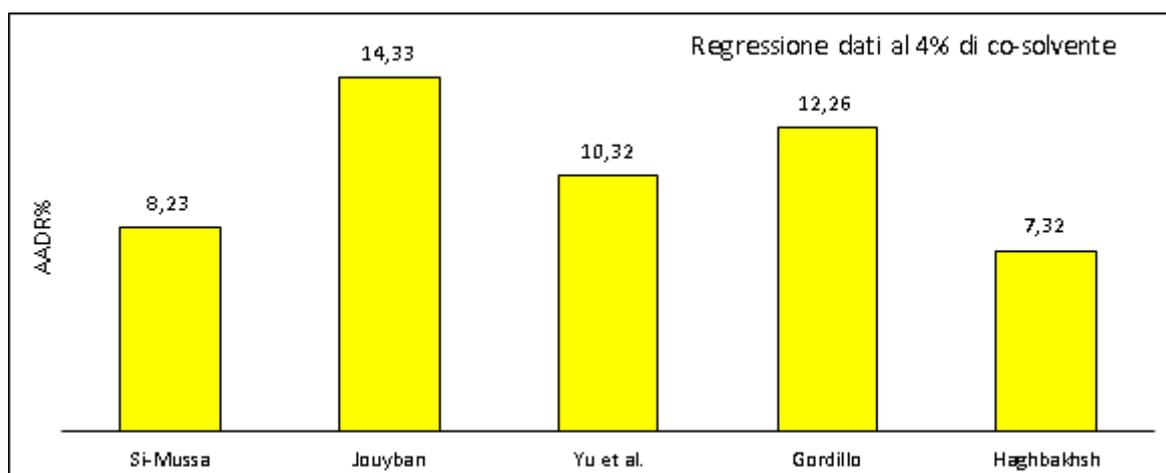
Nel modello proposto da Haghbakhsh et al. non è presente esplicitamente la temperatura. È un modello a 10 parametri ottenuto tramite analisi di sensitività, utilizzato per la regressione di 1012 dati di solubilità di 31 composti solidi per ampi intervalli di temperatura e pressione [30].



**Figura 4.13:** Istogrammi AADR% per l'ultimo gruppo di modelli di letteratura ( $\gamma_3 = 0.020$ )



**Figura 4.14:** Istogrammi AADR% per l'ultimo gruppo di modelli di letteratura ( $\gamma_3 = 0.030$ )



**Figura 4.15:** Istogrammi AADR% per l'ultimo gruppo di modelli di letteratura ( $y_3 = 0.040$ )

Dal confronto tra i modelli di questo ultimo gruppo, si osserva che il modello peggiore per la regressione è quello di Jouyban et al., con AADR% tra 13,16 e 15,65%. Questo confermerebbe quanto visto con gli altri gruppi, e cioè che per questo sistema sembra funzionare meglio la relazione lineare tra il logaritmo della solubilità e la densità, mentre il modello di Jouyban et al. presenta ancora una relazione lineare tra  $\ln y_2$  e  $\ln \rho$ . Il modello migliore risulta essere quello di Haghbakhsh et al., con AADR% tra 7,32 e 10,35. È da notare che il numero di parametri del modello ha un effetto non meno importante rispetto alla sua efficacia nel predire teoricamente i dati. Infatti, all'aumentare del numero di parametri, cresce la capacità del modello di adattarsi ai dati sperimentali.

#### 4.3.5 Scelta del modello

Dal confronto tra i tre gruppi di modelli analizzati, i più accurati per la regressione dei dati sperimentali risultano quelli di Sparks et al. a 5 parametri per la prima famiglia di modelli, Hozahabr et al. a 4 parametri per la seconda e Haghbakhsh et al. a 10 parametri per la terza. Questi tre modelli vengono utilizzati per un'analisi statistica dei dati sperimentali.

I dati di solubilità del cortisone, alla luce dell'analisi dei diversi modelli, sono stati modellati con la correlazione a 10 parametri di Haghbakhsh et al. per l'interpretazione degli andamenti del paragrafo 4.2, relativo all'effetto dei parametri operativi sui dati sperimentali.

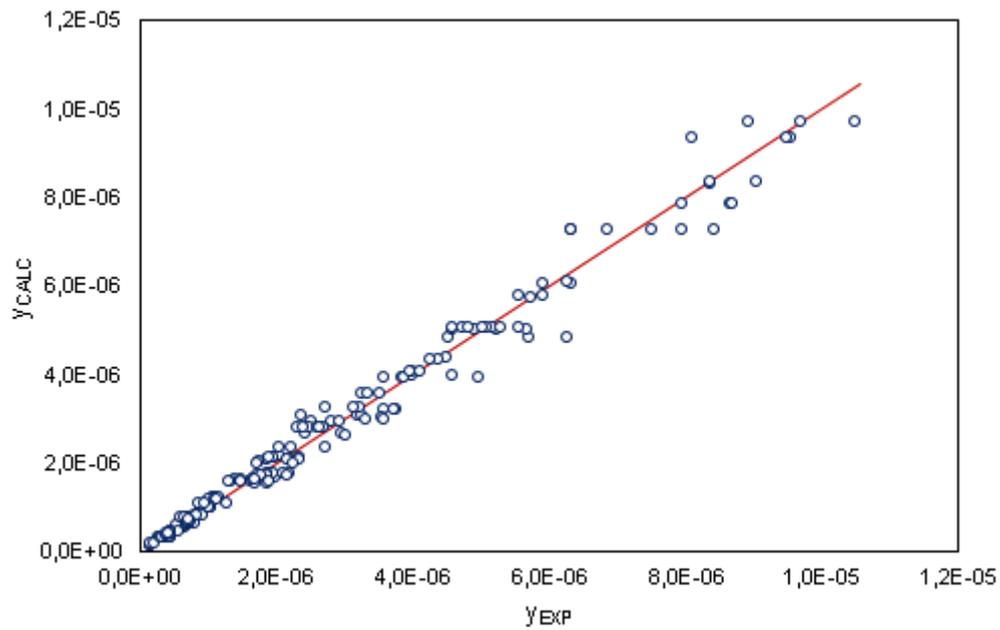
### 4.4 Analisi statistica dei dati

Al fine di verificare le prestazioni della regressione e assicurarsi che i modelli che danno deviazioni contenute siano idonei alla predizione dei dati sperimentali, è interessante utilizzare due strumenti statistici che permettono di confrontare i dati misurati con quelli calcolati con il modello. Tali strumenti sono il diagramma di parità ed il diagramma residui.

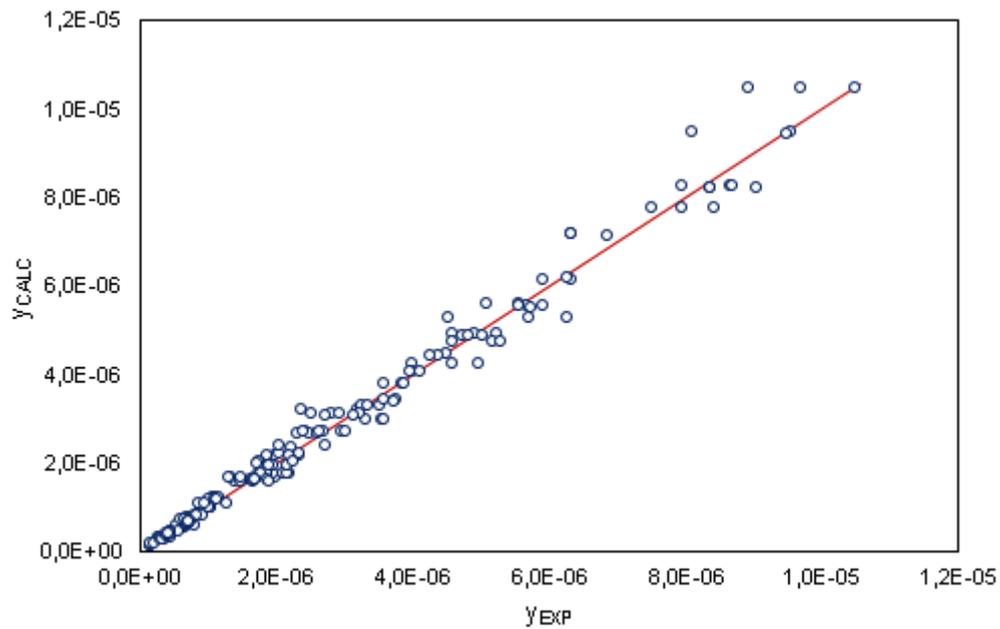
#### 4.4.1 Diagramma di parità

Diagrammando sulle ascisse i dati sperimentali e sulle ordinate quelli calcolati con il modello si può avere un parametro di qualità della adeguatezza della correlazione. Vengono riportati i

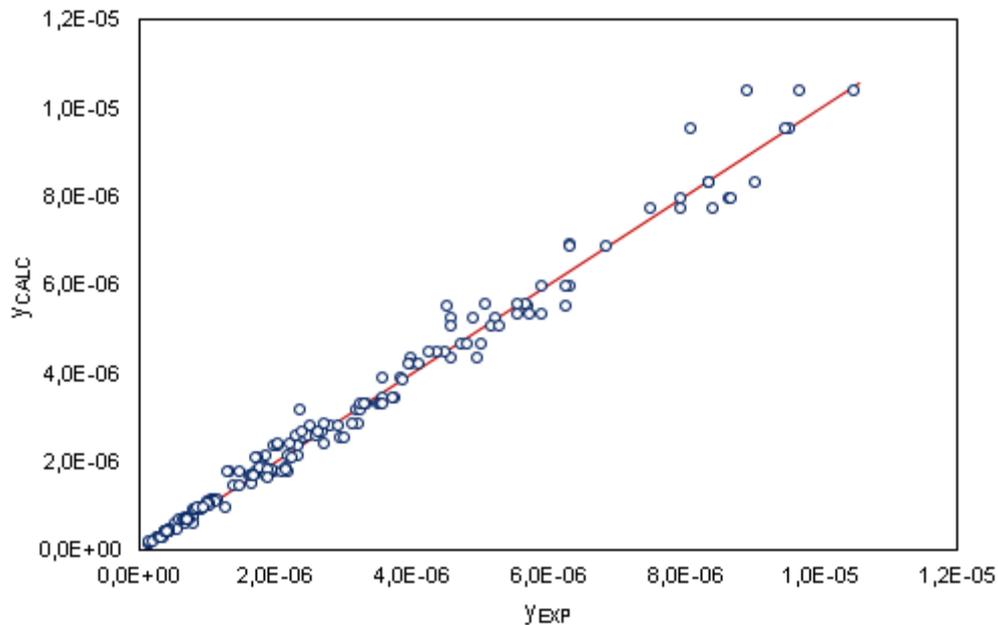
diagrammi di parità per i tre modelli che forniscono gli AADR% più bassi (figure 4.16, 4.17 e 4.18). La regressione sarà tanto migliore quanto più i punti cadono sulla diagonale.



**Figura 4.16:** Diagramma di parità per la correlazione di Hozahabr et al. (2014) a 4 parametri



**Figura 4.17:** Diagramma di parità per la correlazione di Sparks et al. (2008) a 5 parametri



**Figura 4.18:** Diagramma di parità per la correlazione di Haghbaghsh et al. (2013) a 10 parametri

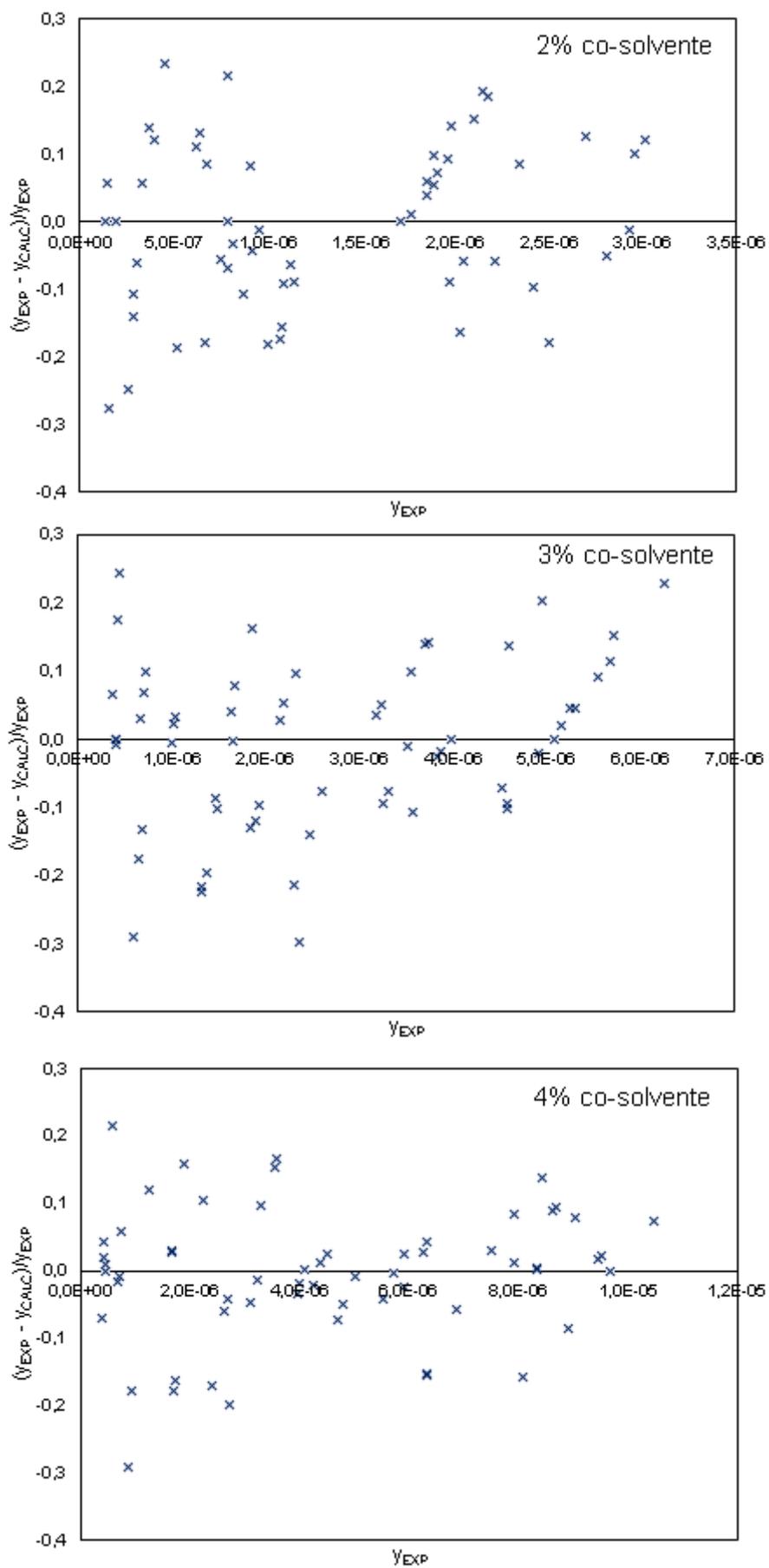
I diagrammi di parità confermano che il modello a 10 parametri si adatta meglio ai dati sperimentali. Considerando il minore numero di parametri, anche quello a 5 parametri risulta dare una buona regressione, mentre si evince bene che il meno accurato dei tre modelli presi in considerazione è quello a 4 parametri, dove si può osservare che il numero di punti che si allontana dalla diagonale è maggiore rispetto gli altri due modelli

#### 4.4.2 Distribuzione dei residui

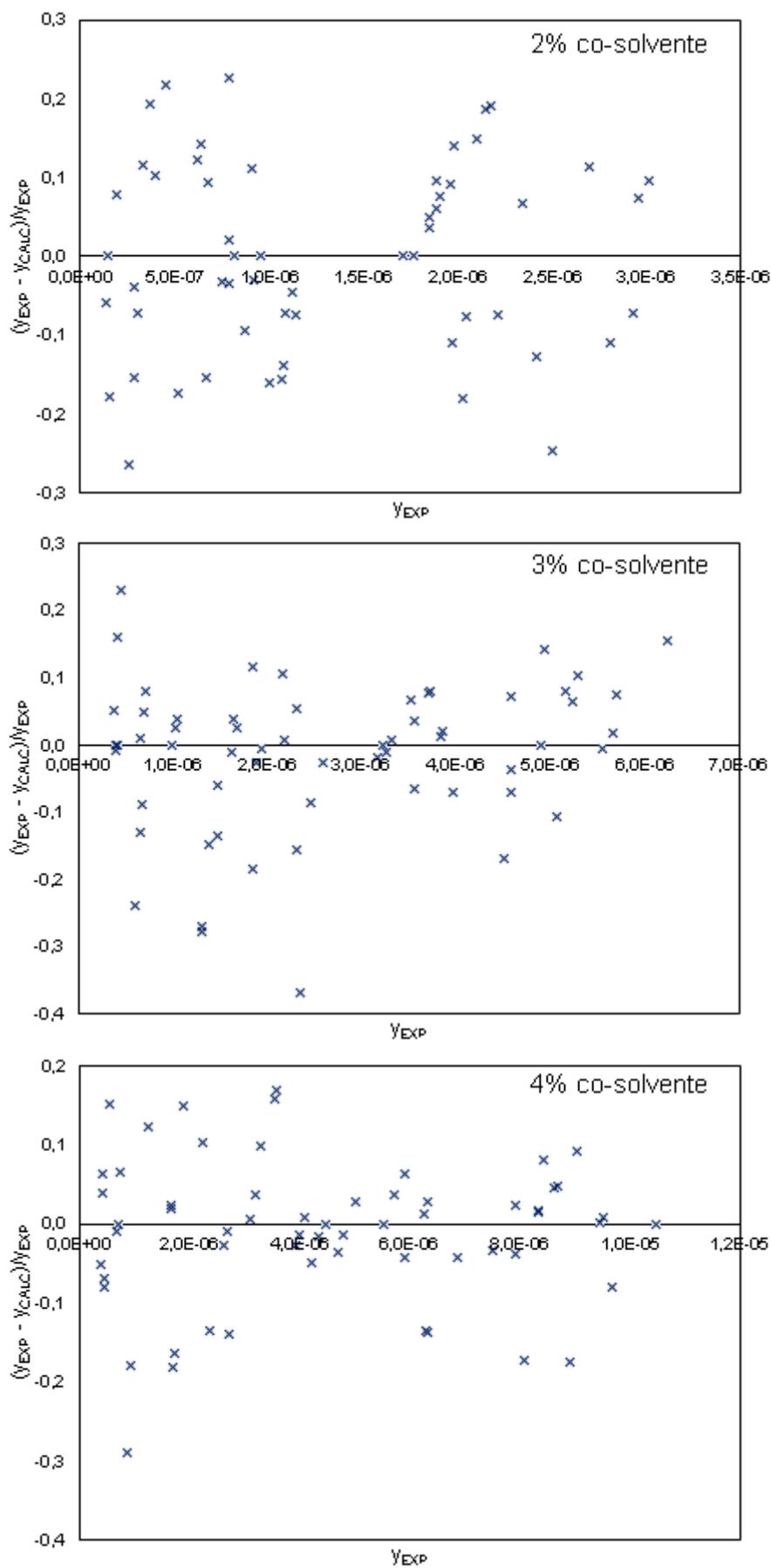
Un altro parametro di prestazione della regressione è il diagramma dei residui, dove si ottengono dei punti riportando in ascissa i dati misurati e in ordinata lo scostamento tra il dato misurato e il valore stimato dal modello. Tale strumento permette di osservare se ci sono errori sistematici nelle misure o se gli scostamenti con il modello sono casuali. Se i punti del diagramma si presentano come una nube sparsa e non ci sono andamenti individuabili allora i residui indicano che gli scostamenti non sono correlati. È importante anche che vi sia alternanza tra i segni dei residui: avere valori tutti negativi o tutti positivi indicherebbe una sottostima o una sovrastima dei valori di solubilità misurati.

Per l'analisi sono stati riportati in ordinata gli scarti relativi, per ottenere un'analisi dei residui normalizzati. Si riportano i diagrammi dei residui normalizzati per i tre modelli più accurati, ottenuti per le tre composizioni investigate (figure 4.19, 4.20 e 4.21).

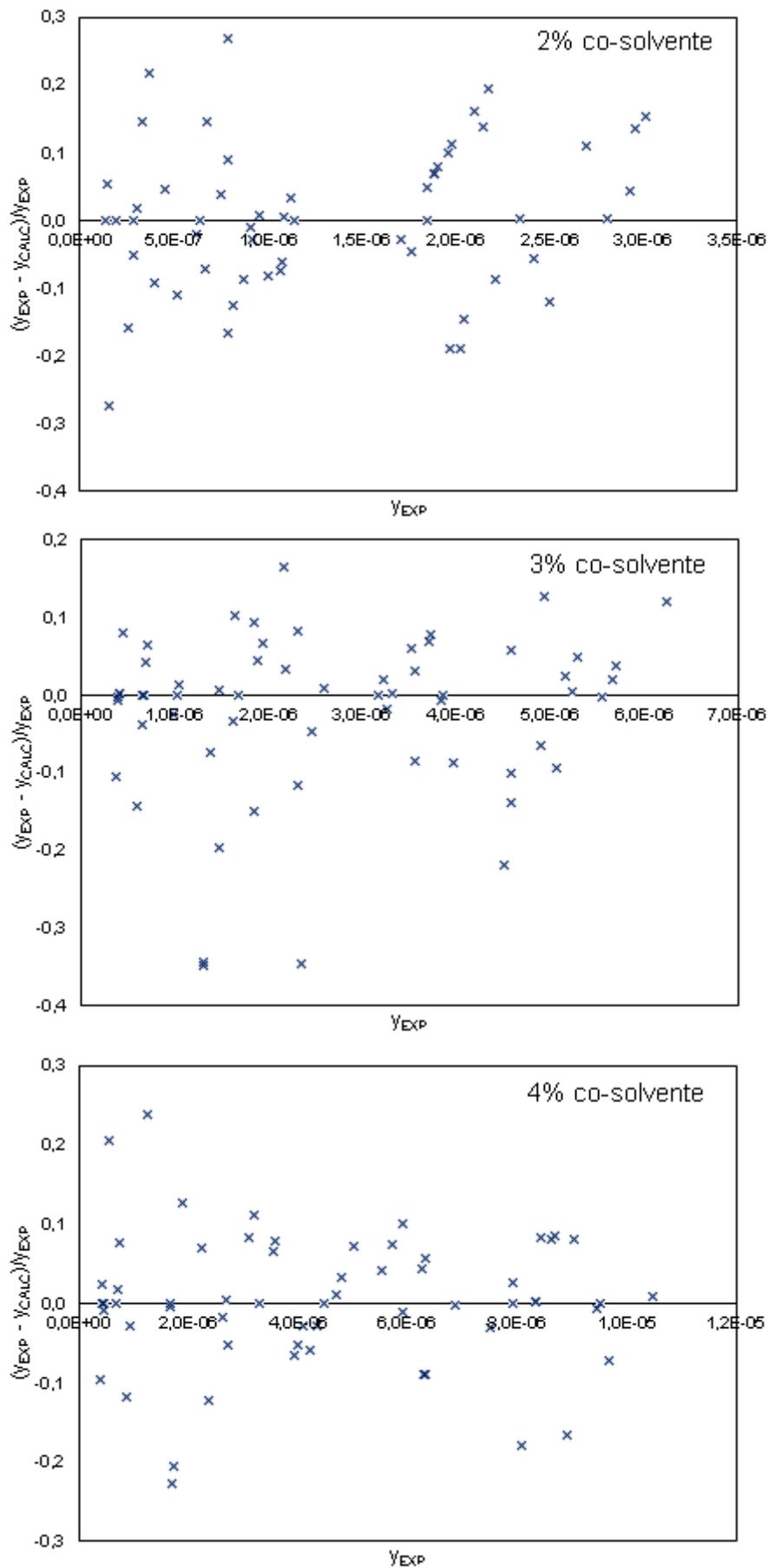
Tutti i modelli analizzati mostrano un andamento casuale dei residui e una buona alternanza di segno, quindi per i punti sperimentali non si evincono in generale errori sistematici. Analizzando i tre modelli si può osservare che all'aumentare del numero parametri della correlazione la quantità di punti distaccati dall'asse delle ascisse (luogo dei residui nulli) diminuisce, confermando che anche secondo questo criterio il modello che fornisce prestazioni migliori nella regressione dei dati è quello di Haghbakshsh et al.



**Figura 4.19:** Residui normalizzati per la correlazione di Hozahabr et al. (2014) a 4 parametri



**Figura 4.20:** Residui normalizzati per la correlazione di Sparks et al. (2008) a 5 parametri

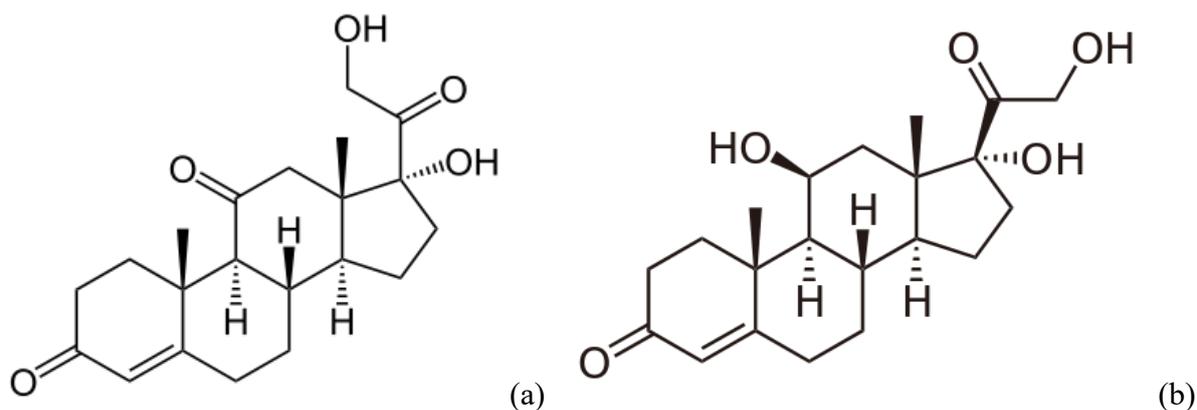


**Figura 4.21:** Residui normalizzati per la correlazione di Haghbaghsh et al. (2013) a 10 parametri

## 4.5 Confronto cortisone – idrocortisone

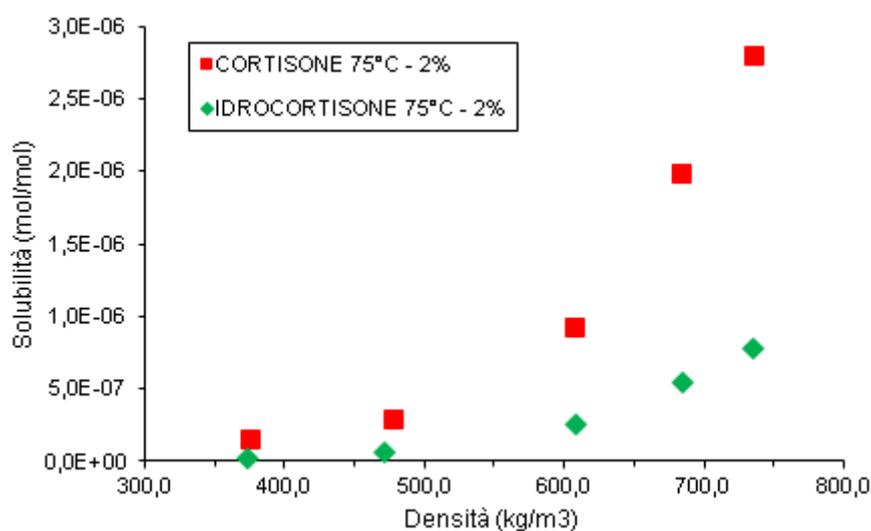
Parallelamente al lavoro sperimentale sul cortisone descritto in questa tesi, sono state svolte misure analoghe per la solubilità in CO<sub>2</sub> modificata per l'idrocortisone.

Entrambi appartengono al gruppo dei principi attivi cortisonici (cfr. cap. 3), e hanno una struttura molto simile, che differisce per un solo gruppo funzionale (figura 4.22 (a,b)).



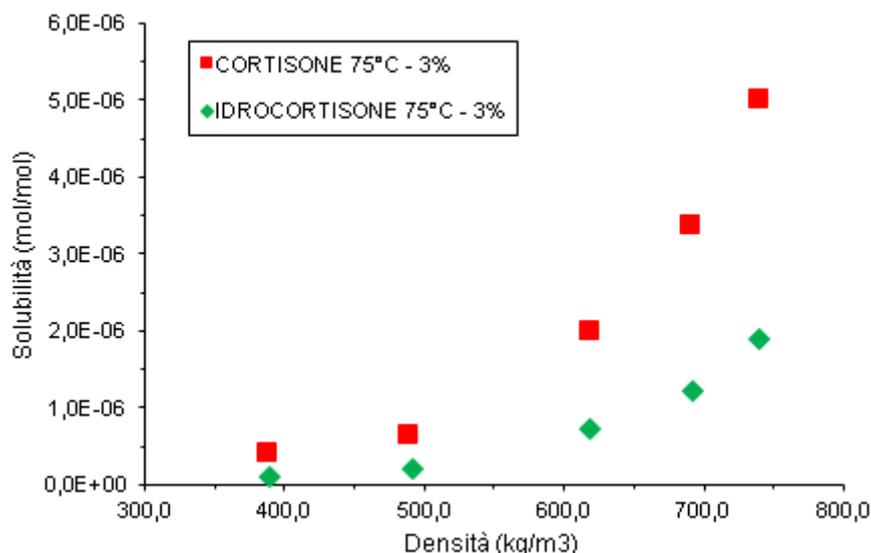
**Figura 4.22:** Formule di struttura del cortisone (a) e dell'idrocortisone (b)

Confrontando i dati misurati alle stesse condizioni di temperatura, pressione e composizione della miscela supercritica (figura 4.23) si osserva che la solubilità del cortisone in CO<sub>2</sub> modificata è più alta rispetto a quella ottenuta per l'idrocortisone.



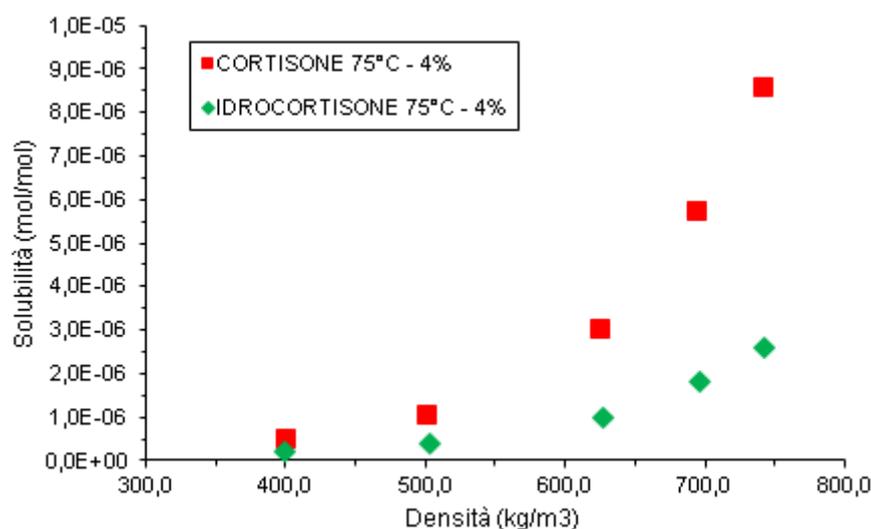
**Figura 4.23:** Confronto tra le misure di solubilità per cortisone ed idrocortisone ( $y_3=0.02$ )

Per la miscela supercritica al 2% di co-solvente, il rapporto medio tra la solubilità del cortisone rispetto all'idrocortisone è pari a 5. Al fine di avere una spiegazione di questa differenza, è interessante osservare il confronto per i due composti per le altre due composizioni della miscela investigate, alle stesse condizioni di temperatura e pressione (figura 4.24 e 4.25).



**Figura 4.24:** Confronto tra le misure di solubilità per cortisone ed idrocortisone ( $y_3=0.03$ )

Osservando il grafico per le misure al 3% si osserva che la distanza tra cortisone e idrocortisone è minore rispetto a quanto visto con il 2% di co-solvente, con un rapporto medio tra i valori di solubilità pari a 3,1. Osservando ancora le misure al 4%, il rapporto è poco inferiore a quello ottenuto per le misure al 3%, e pari a 2,9.



**Figura 4.25:** Confronto tra le misure di solubilità per cortisone ed idrocortisone ( $y_3=0.04$ )

Da questo confronto si può dedurre che la maggiore solubilità del cortisone rispetto all'idrocortisone nella miscela supercritica CO<sub>2</sub> – etanolo è associabile alla maggiore affinità del cortisone con l'anidride carbonica, poiché all'aumentare del contenuto di etanolo l'incremento di solubilità del cortisone rispetto all'idrocortisone si riduce. Altra osservazione che può essere fatta è che la presenza di quantità crescenti di co-solvente sembra incrementare maggiormente la solubilità dell'idrocortisone, con il quale, probabilmente, ha maggiore affinità.



## Conclusioni

In questo lavoro di tesi sono state svolte misure di solubilità del cortisone in anidride carbonica supercritica in presenza di etanolo come co-solvente. Le misure sono state condotte attraverso una apparecchiatura di laboratorio che opera in flusso, in cui si realizza il contatto in continuo tra il principio attivo e la miscela supercritica all'interno di una cella di equilibrio, dove sono mantenute le condizioni operative desiderate.

Prima di effettuare le misure sono stati apportati alcuni miglioramenti al sistema al fine di migliorare la riproducibilità delle misure, come l'introduzione di una pompa a siringa per l'alimentazione della CO<sub>2</sub> in sostituzione della pompa a stantuffo. Infatti, operando con una macchina a pulsazione (come la pompa a stantuffo) le oscillazioni sulla portata alimentata sono significative, e questo causa notevoli difficoltà nel mantenere condizioni di composizione della miscela supercritica il più possibile costanti, con il risultato di dati sperimentali poco riproducibili. Con l'introduzione della pompa a siringa, invece, è possibile assicurare una portata praticamente costante, ottenendo un netto miglioramento nella riproducibilità dei dati. Un'altra modifica realizzata riguarda la trappola di campionamento, che inizialmente presentava un battente di etanolo troppo basso, per cui l'efficienza di scambio tra la corrente satura in uscita dal sistema e il liquido contenuto in trappola non era sufficiente a fornire una stima affidabile della quantità di principio attivo solubilizzato, andando a sottostimare il dato di solubilità. Per questo è stata ottimizzata la trappola al fine di aumentare l'altezza del battente e migliorarne l'efficienza. Confrontando le misure per una stessa isoterma di solubilità, ottenute con le due diverse tipologie di trappola, si è osservato un netto miglioramento dell'efficienza.

Le misure sono state condotte variando temperatura, pressione e composizione della miscela supercritica. La temperatura è stata variata nell'intervallo 45 – 100°C, mentre la pressione nell'intervallo 130 – 270 bar. Per fissare la composizione sono state effettuate le misure a tre diverse frazioni molari di co-solvente (2%, 3% e 4%).

È stata effettuata anche una regressione dei dati sperimentali con diversi modelli semi-empirici presenti in letteratura, al fine di trovare il modello più adeguato a descrivere la solubilità del cortisone al variare delle condizioni operative. La regressione per ogni modello utilizzato viene effettuata minimizzando la funzione obiettivo AADR% (deviazione media relativa assoluta %), stimando i coefficienti dei parametri del modello. I modelli analizzati sono stati suddivisi per classi in base al tipo di dipendenza tra la solubilità del soluto e la densità del solvente supercritico. In particolare, esistono correlazioni derivate dal modello di Chrastil, secondo cui esiste una relazione lineare tra il logaritmo della solubilità ed il logaritmo della densità, mentre altre derivate dal modello di Bartle et al., per cui esiste una relazione lineare tra il logaritmo della solubilità e la densità. Infine è stato identificato un terzo gruppo di correlazioni che non rientrano nelle due categorie precedenti. Sono stati selezionati tre modelli, uno per ogni gruppo, che presentano diverso numero di parametri. I modelli più accurati risultano quelli di Hozahabr et al. a 4 parametri, Sparks et al. a 5 parametri e Haghbakhsh et al. a 10 parametri. Il più accurato in termini di deviazione risulta quello a 10 parametri, con un AADR% medio per le tre diverse composizioni della miscela investigate pari all'8,75%. Alla luce del minore numero di parametri, però, gli altri due modelli sopracitati risultano essere altrettanto accurati, con un AADR% del 9,70% per il modello a 4 parametri e del 9,12% per quello a 5 parametri. Questo conferma che all'aumentare del numero di parametri aumenta la capacità del modello di

adattarsi ai dati sperimentali, ma il modello di Sparks et al. a 5 parametri coniuga bene l'esigenza di un basso errore con la semplicità del modello rispetto ad Haghbakhsh et al.

I risultati ottenuti confermano che la scelta di operare in presenza di co-solvente incrementa il potere solvente dell'anidride carbonica, infatti l'andamento della solubilità del cortisone all'aumentare del contenuto di co-solvente è crescente. La solubilità aumenta anche con la pressione, a parità di temperatura operativa, perché aumenta la densità e quindi cresce il potere solvente della miscela, mentre il comportamento al variare della temperatura è più complesso, poiché essa provoca due effetti concorrenti sulla solubilità. Fissata la pressione, infatti, all'aumentare della temperatura diminuisce la densità della miscela, ma aumenta anche la tensione di sublimazione del principio attivo. I due effetti della temperatura sono regolati dalla pressione di esercizio, in particolare dall'esistenza di una zona di "crossover", dove si ha l'inversione sull'andamento della solubilità con la temperatura.

I risultati ricavati per il cortisone sono stati confrontati con quelli ottenuti in un altro lavoro di tesi, relativi ad un altro principio attivo cortisonico, l'idrocortisone. Alla luce di questo, è stato proposto un breve confronto tra i due principi attivi, dal quale si osserva che a parità di condizioni (temperatura, pressione e contenuto di co-solvente) il cortisone risulta essere più solubile in anidride carbonica modificata rispetto all'idrocortisone. Osservando lo scostamento tra le solubilità dei due composti al variare del contenuto di co-solvente, si osserva che questa differenza è dovuta alla maggiore affinità del cortisone con la CO<sub>2</sub>, restando sempre valida l'osservazione che per entrambi i composti il co-solvente ha un effetto positivo sulla solubilità.

## Appendice

**Tabella A.1:** Coefficienti stimati con la regressione dei dati sperimentali al 2% di co-solvente

	<b>Chrastil</b>	<b>Adachi-Lu</b>	<b>del Valle- Aguilera</b>	<b>Sparks (a)</b>	<b>Sparks (b)</b>	<b>Sung- Shim</b>	<b>Bian et al.</b>
b1	4,364	-0,6022	4,301	0,2067	-0,6022	-10,22	0,1791
b2	-28,483	0,00142	-10,785	0,00107	0,00142	5097,90	0,0001
b3	-4578,60	-1,28E-07	-16623,27	9,178	-1,28E-07	65,90	-0,3321
b4		0,107	2,09E+06	-14519,72	0,107	-37612,4	-6752,81
b5		-5330,88		1595724,9	-5330,88		2,3771
b6					1,00E-07		
	<b>Kumar- Johnston</b>	<b>Garlapati- Madras</b>	<b>Si-Mussa</b>	<b>Bartle</b>	<b>Ch-Madras</b>	<b>Hezave- Lash.</b>	<b>M-S-T</b>
b1	0,0083	4,3818	27,3175	0,0106	0,0085	0,0114	11,693
b2	-3,7189	-58,646	-172,7879	5,1576	-2,9867	5,5022	-9313,46
b3	-5263,77	-3064,38	-0,06190	-7011,42	-5427,98	-7317,001	3,6864
b4			1,86E-05		1,0775	1,22E-10	
b5			3,76E-05				
b6			11,5650				
	<b>Hozahabr</b>	<b>Khansary</b>	<b>Keshmiri</b>	<b>Jouyban</b>	<b>Yu et al.</b>	<b>Gordillo</b>	<b>Haghbakhsh</b>
b1	5,0619	-0,1108	-8,039	3,7913	4,3E-05	8,0008	6,0E-06
b2	-7847,43	0,0278	4102,05	-64,444	-2,3E-07	-0,1201	-4,7E-09
b3	3,1278	-4920,99	49,035	0,1192	3,0E-10	0,0001	1,1E-11
b4	1,3525	-0,0153	-30349,75	-0,0002	-3,9E-08	-0,0149	-8,5E-15
b5		-0,1638	7,59E-06	0,00004	7,3E-11	-0,0001	-9,4E-08
b6				4,7486	7,7E-11	0,0002	5,2E-10
b7							-5,0E-13
b8							-2,7E-12
b9							3,6E-14
b10							-1,9E-13

**Tabella A.2:** Coefficienti stimati con la regressione dei dati sperimentali al 3% di co-solvente

	<b>Chrastil</b>	<b>Adachi-Lu</b>	<b>del Valle- Aguilera</b>	<b>Sparks (a)</b>	<b>Sparks (b)</b>	<b>Sung- Shim</b>	<b>Bian et al.</b>
b1	3,895	1,1679	4,662	0,3297	1,1679	-12,84	0,3284
b2	-27,547	0,00021	17,760	0,00093	0,00021	5960,80	-0,0005
b3	-3604,34	4,51E-07	-38030,45	28,878	4,51E-07	81,63	-1,3791
b4		-10,902	5,86E+06	-28917,50	-10,902	-42554,5	-6363,79
b5		-4051,87		4,27E+06	-4051,87		3,574
b6					1,00E-07		
	<b>Kumar- Johnston</b>	<b>Garlapati- Madras</b>	<b>Si-Mussa</b>	<b>Bartle</b>	<b>Ch-Madras</b>	<b>Hezave- Lash.</b>	<b>M-S-T</b>
b1	0,0072	3,8975	31,6405	0,0101	0,0067	0,0117	10,2717
b2	-5,9035	-54,275	-192,395	3,4433	-7,5905	3,8047	-8461,27
b3	-4032,86	-2247,40	-0,0739	-6078,50	-3715,72	-6614,95	3,5117
b4			2,56E-05		0,7900	6,51E-10	
b5			2,45E-05				
b6			11,6969				
	<b>Hozahabr</b>	<b>Khansary</b>	<b>Keshmiri</b>	<b>Jouyban</b>	<b>Yu et al.</b>	<b>Gordillo</b>	<b>Haghbakhsh</b>
b1	3,4763	-0,7027	-9,345	2,0223	1,06E-04	36,2410	7,51E-06
b2	-6833,06	0,0266	4398,75	-33,31	-5,75E-07	-0,2652	3,64E-09
b3	2,9635	-3401,72	55,092	0,0282	7,92E-10	0,0003	-2,08E-11
b4	1,4171	-0,0129	-31213,75	-5,39E-05	-4,21E-08	-0,0292	1,06E-14
b5		-0,1574	8,48E-06	2,97E-05	1,61E-10	-4,19E-05	-1,40E-07
b6				1,0173	3,34E-11	0,0002	6,36E-10
b7							1,84E-13
b8							8,01E-11
b9							1,14E-13
b10							-7,99E-13

**Tabella A.3:** Coefficienti stimati con la regressione dei dati sperimentali al 4% di co-solvente

	<b>Chrastil</b>	<b>Adachi-Lu</b>	<b>del Valle- Aguilera</b>	<b>Sparks (a)</b>	<b>Sparks (b)</b>	<b>Sung- Shim</b>	<b>Bian et al.</b>
b1	4,757	0,0277	4,460	0,3154	0,0277	-11,85	0,8999
b2	-34,127	0,00107	18,358	0,00105	0,0011	5731,58	-0,0007
b3	-3132,87	2,96E-08	-38098,763	16,567	2,96E-08	73,60	-5,0420
b4		-6,739	6,03E+06	-20835,59	-6,7392	-40367,1	-6225,42
b5		-3637,94		2,95E+06	-3637,94		4,029
b6					1,00E-07		
	<b>Kumar- Johnston</b>	<b>Garlapati- Madras</b>	<b>Si-Mussa</b>	<b>Bartle</b>	<b>Ch-Madras</b>	<b>Hezave- Lash.</b>	<b>M-S-T</b>
b1	0,0082	4,741	27,031	0,0105	0,008	0,0123	8,961
b2	-7,1915	-66,486	-171,071	1,5290	-6,682	2,0936	-8046,86
b3	-3661,24	-1495,29	-0,052	-5353,93	-3731,42	-6012,49	3,770
b4			1,67E-05		1,074	6,65E-10	
b5			1,88E-05				
b6			11,631				
	<b>Hozahabr</b>	<b>Khansary</b>	<b>Keshmiri</b>	<b>Jouyban</b>	<b>Yu et al.</b>	<b>Gordillo</b>	<b>Haghbakhsh</b>
b1	4,196	-1,117	-10,2549	2,3541	2,16E-04	34,5129	6,23E-06
b2	-6977,34	0,032	5028,761	-23,679	-1,21E-06	-0,2347	-1,36E-09
b3	3,391	-2640,60	61,688	-0,0334	1,70E-09	0,0002	-2,92E-11
b4	1,550	-0,022	-35331,780	3,07E-05	2,09E-08	-0,0466	3,93E-14
b5		-0,182	4,78E-06	5,19E-05	2,62E-10	-5,69E-05	-9,74E-08
b6				-1,2455	-2,02E-10	0,0002	2,79E-10
b7							4,84E-13
b8							1,47E-10
b9							-4,93E-14
b10							-4,18E-13

## Modello di Chrastil a 3 parametri

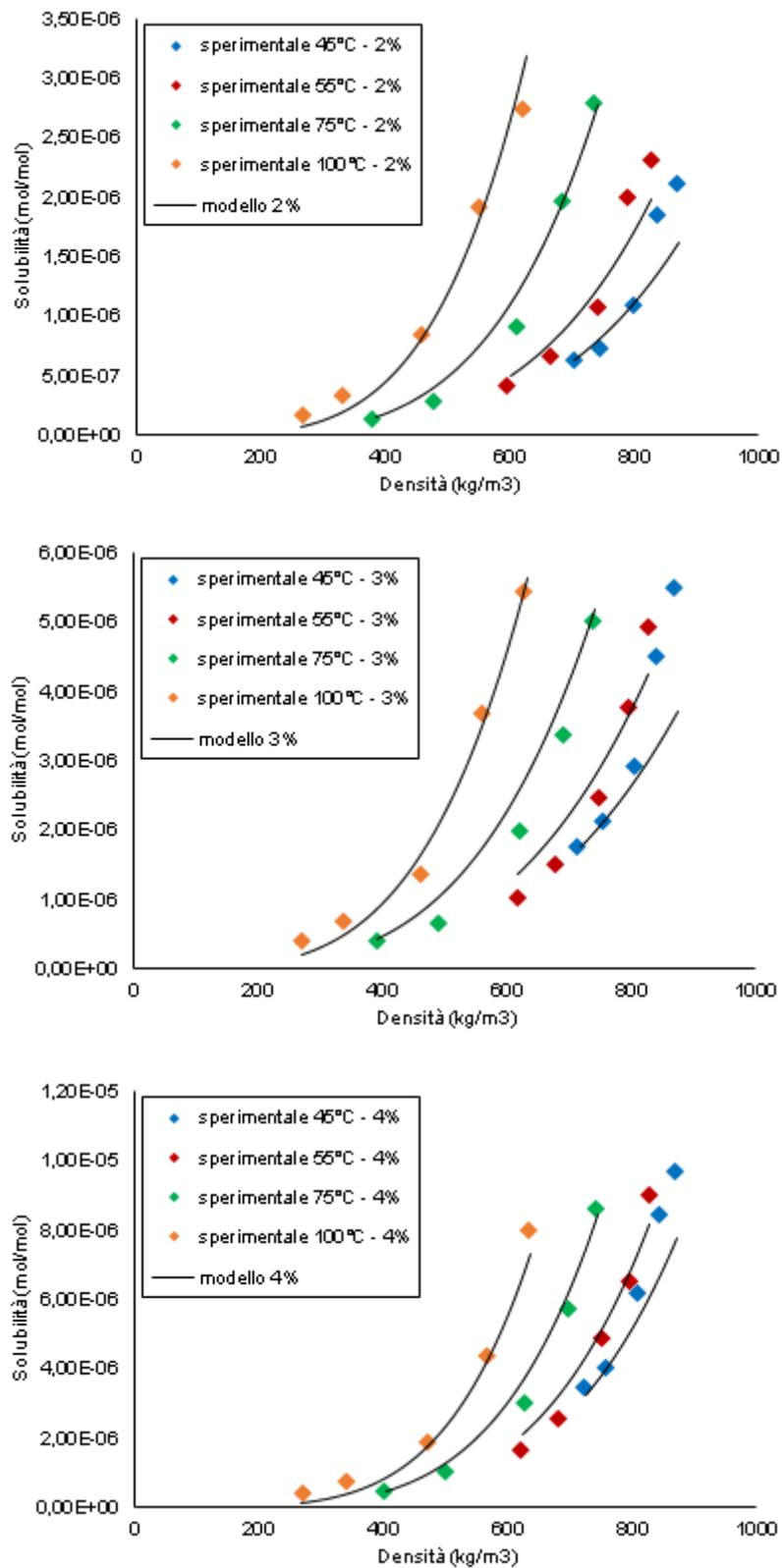


Figura A.1: Modello di Chrastil per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Adachi and Lu a 5 parametri

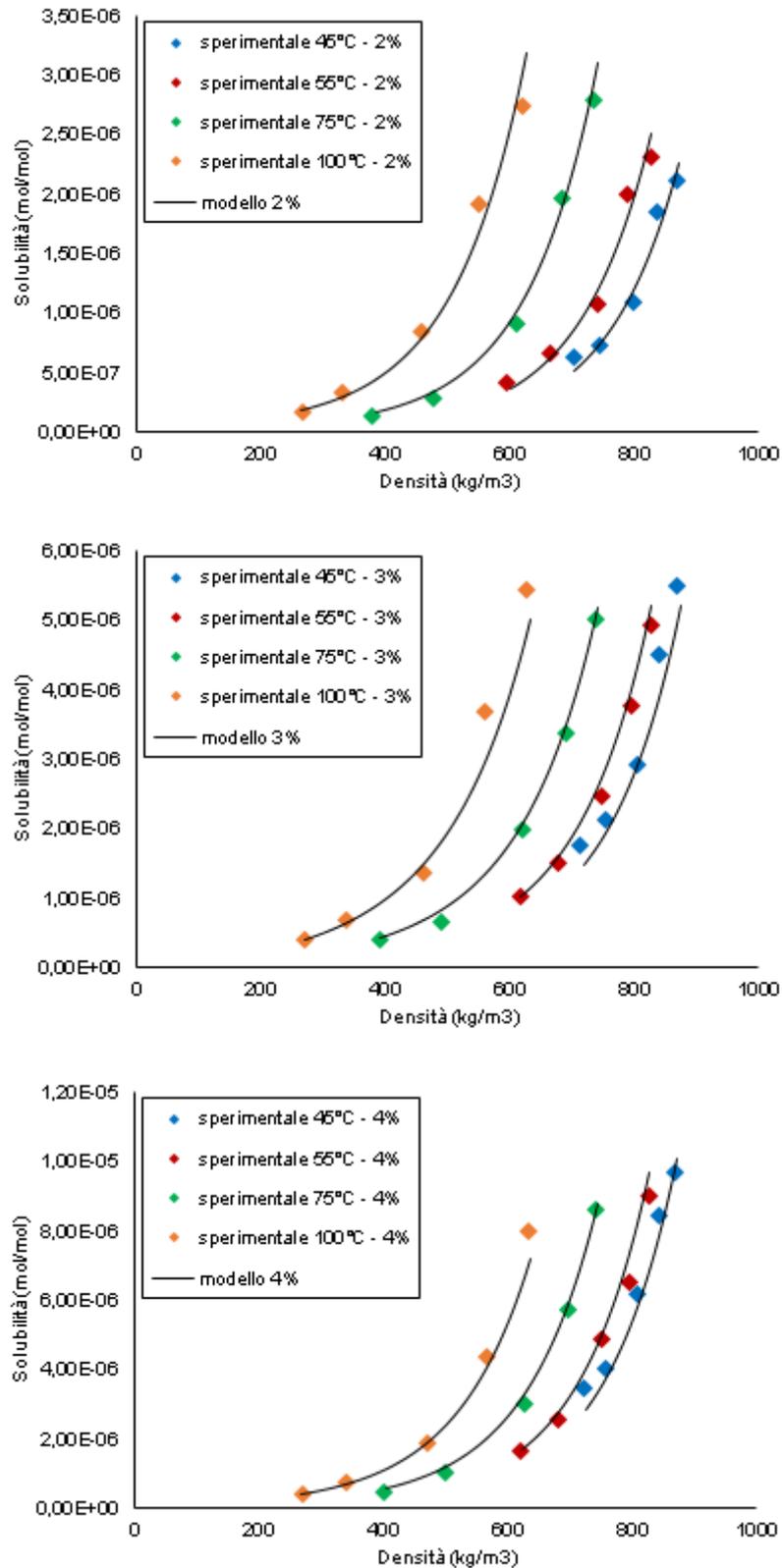


Figura A.2: Modello di Adachi-Lu per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di del Valle-Aguilera a 4 parametri

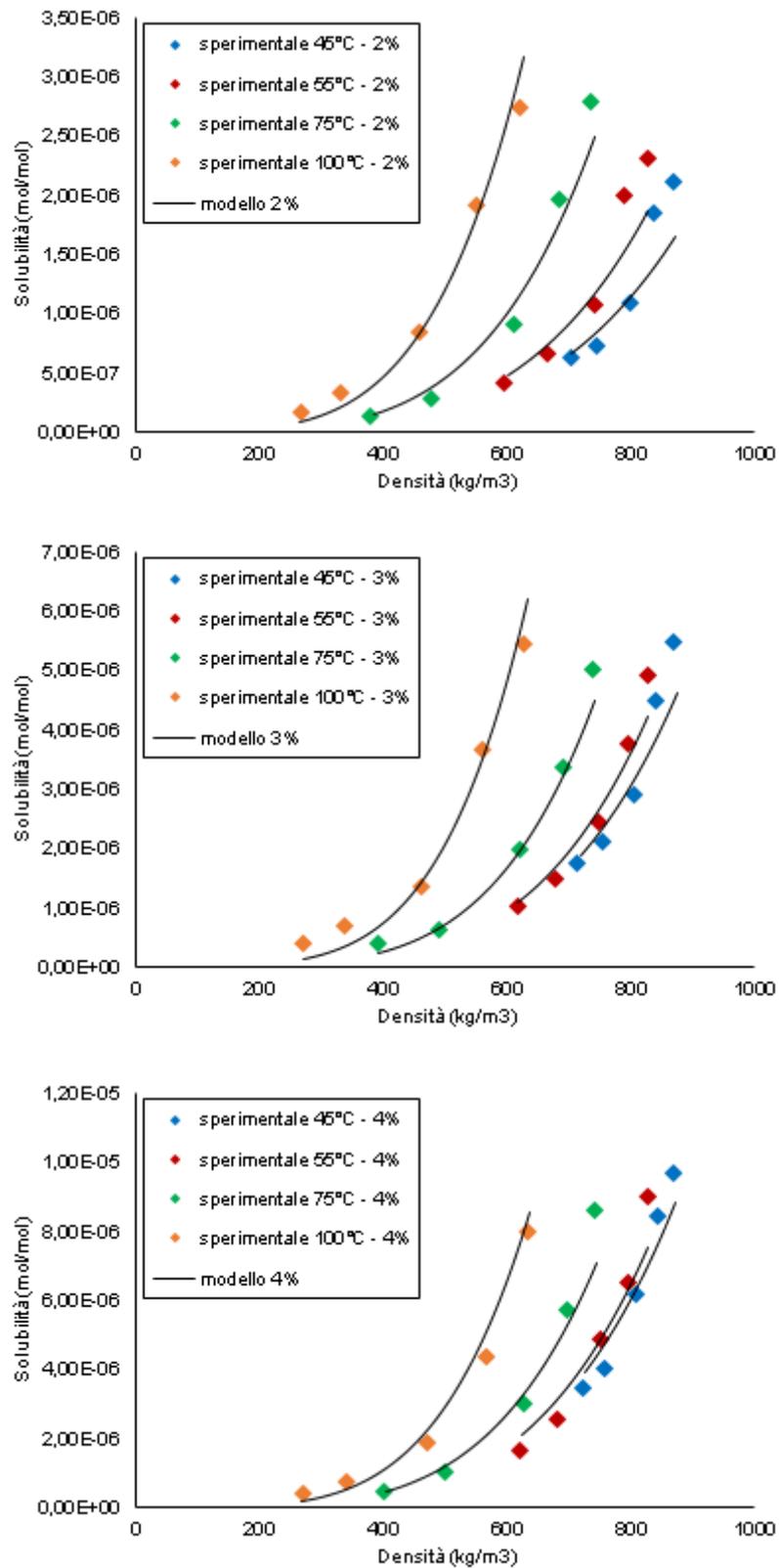


Figura A.3: Modello di del Valle-Aguilera per gli andamenti solubilità – densità

Modello di Sparks et al. (a) a 5 parametri

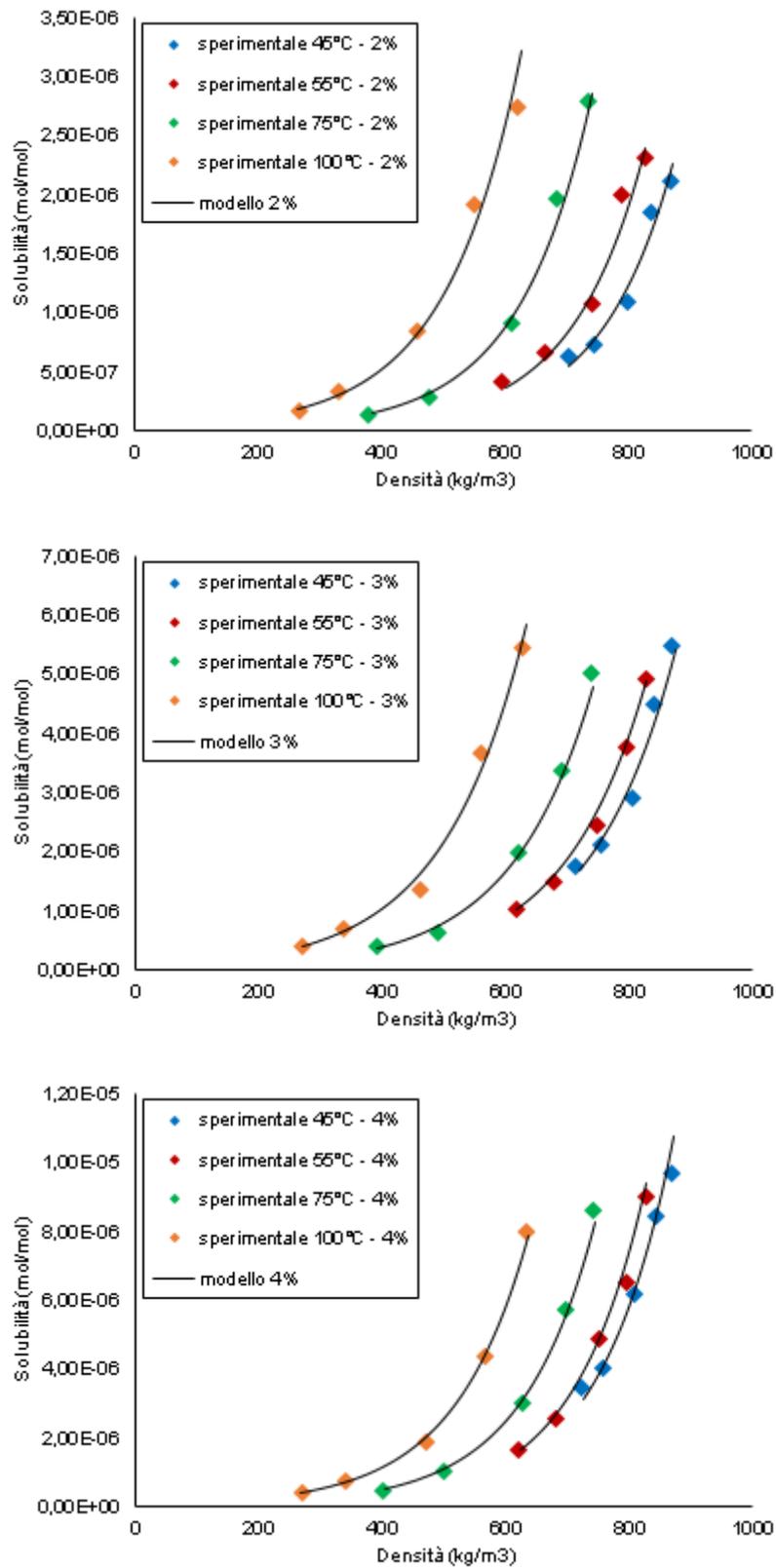


Figura A.4: Modello di Sparks et al. (a) per gli andamenti solubilità – densità

Modello di Sparks et al. (b) a 6 parametri

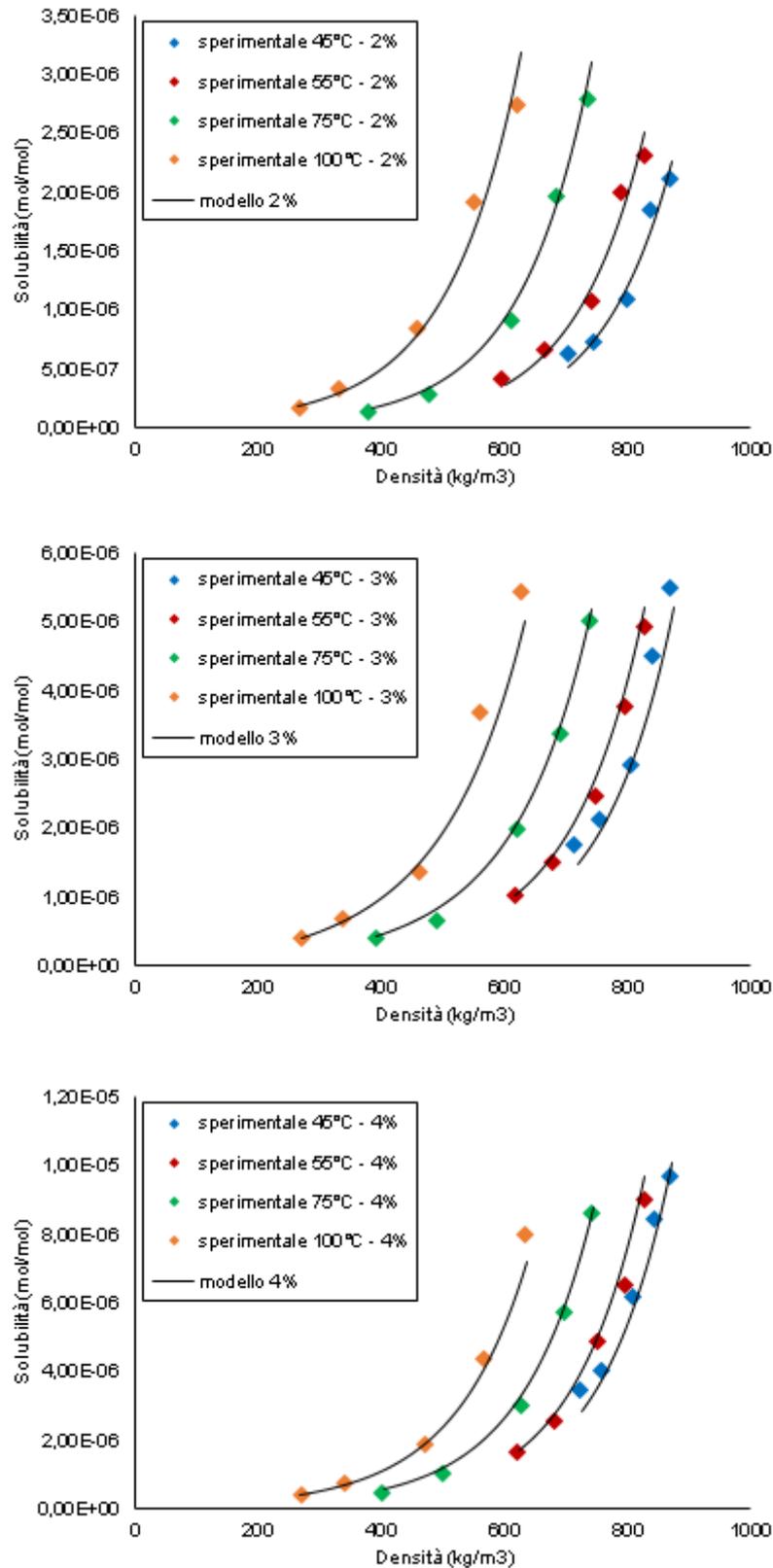


Figura A.5: Modello di Sparks et al. (b) per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Sung-Shim a 4 parametri

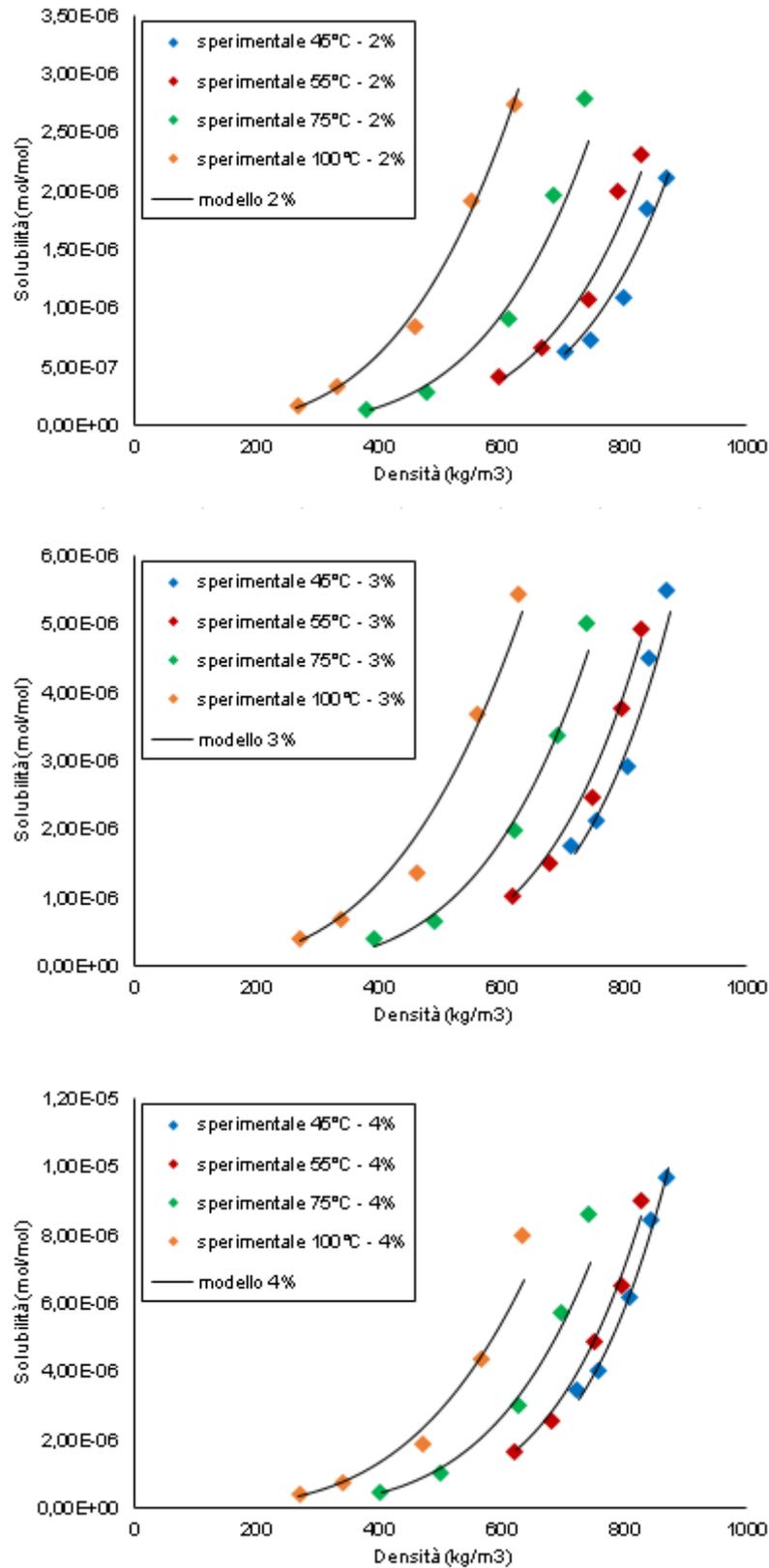


Figura A.6: Modello di Sung-Shim per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Bian et al. a 5 parametri

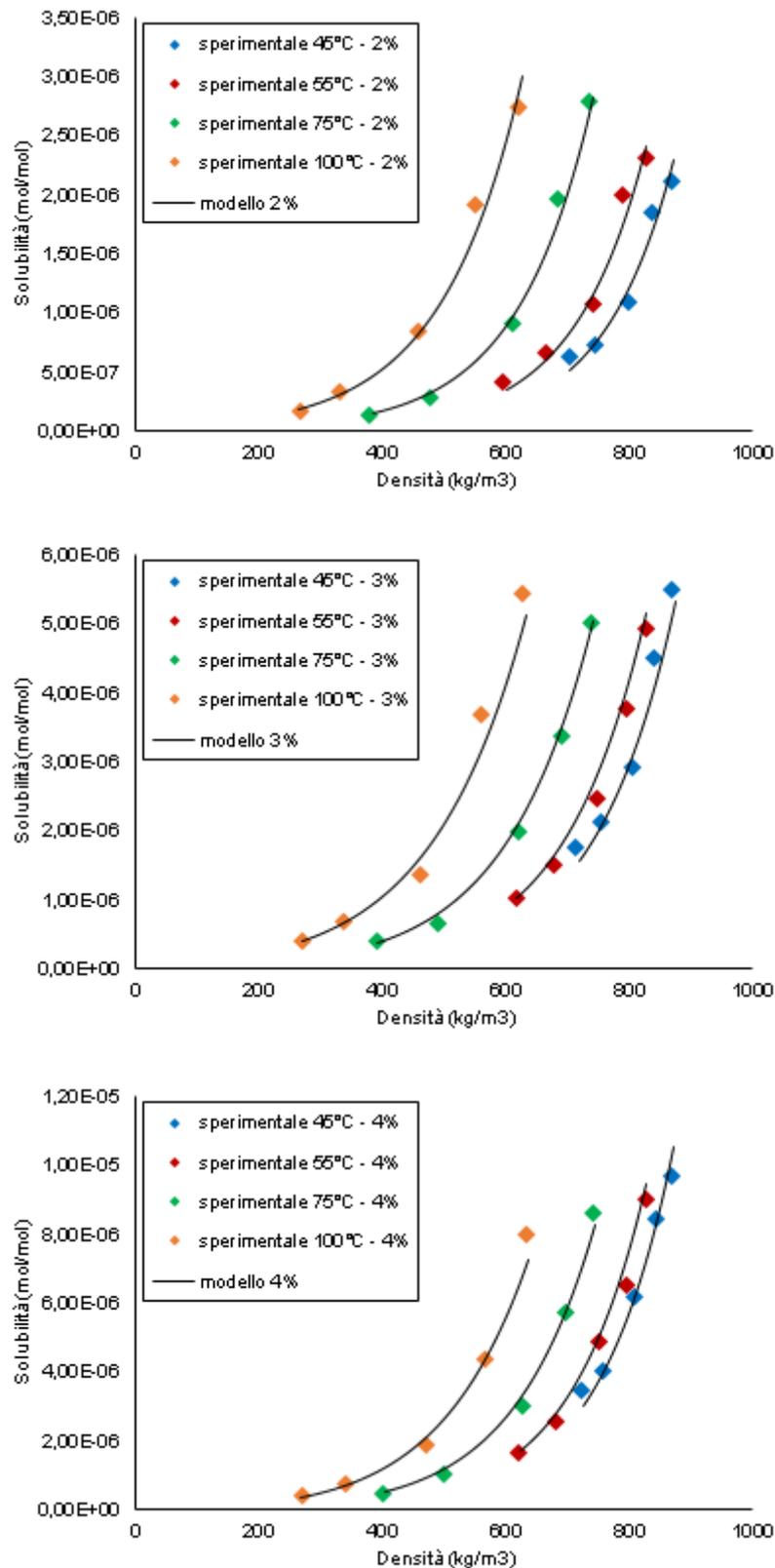


Figura A.7: Modello di Bian et al. per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Kumar-Johnston a 3 parametri

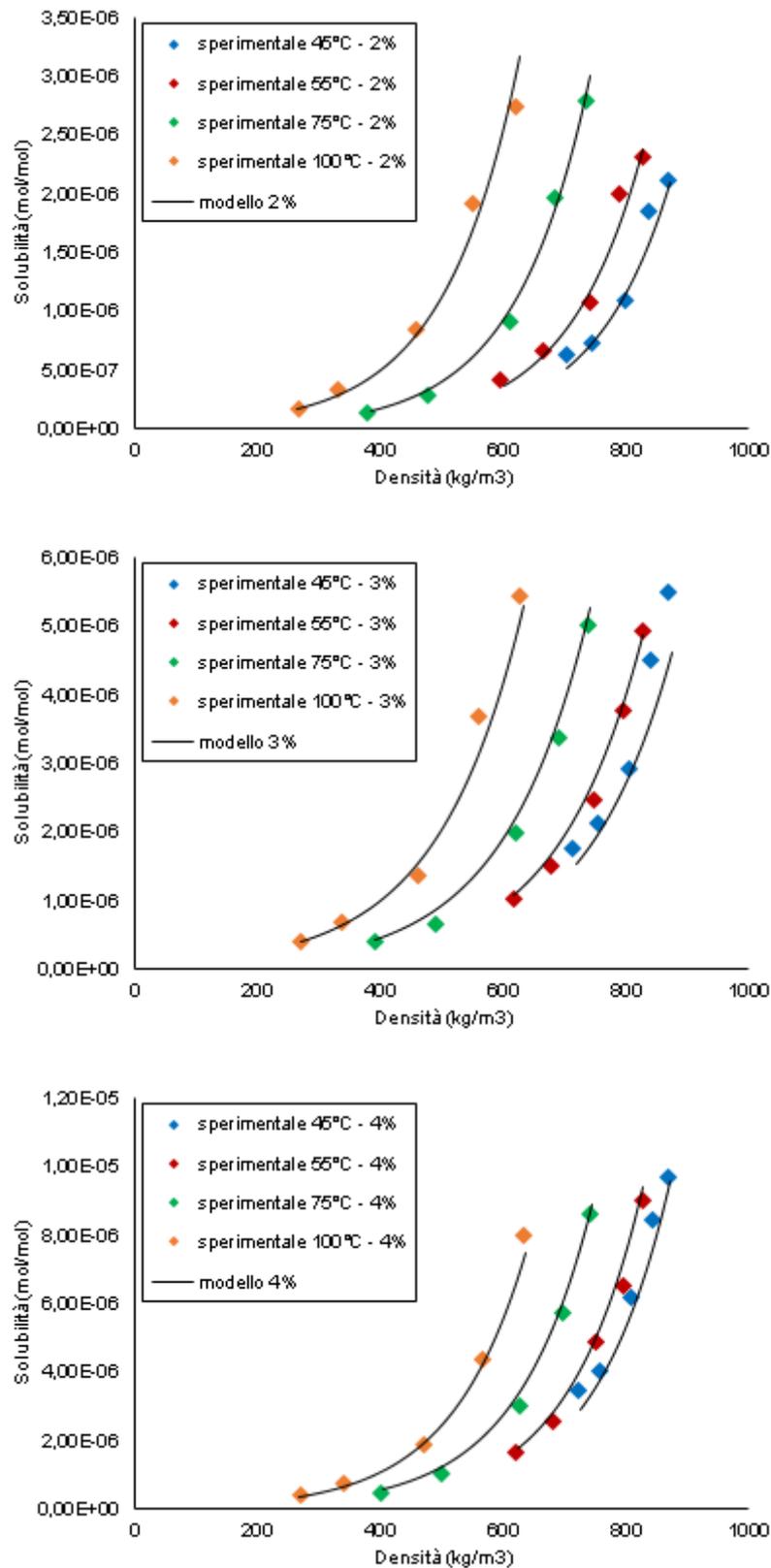


Figura A.7: Modello di Kumar-Johnston per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Garlapati-Madras a 3 parametri

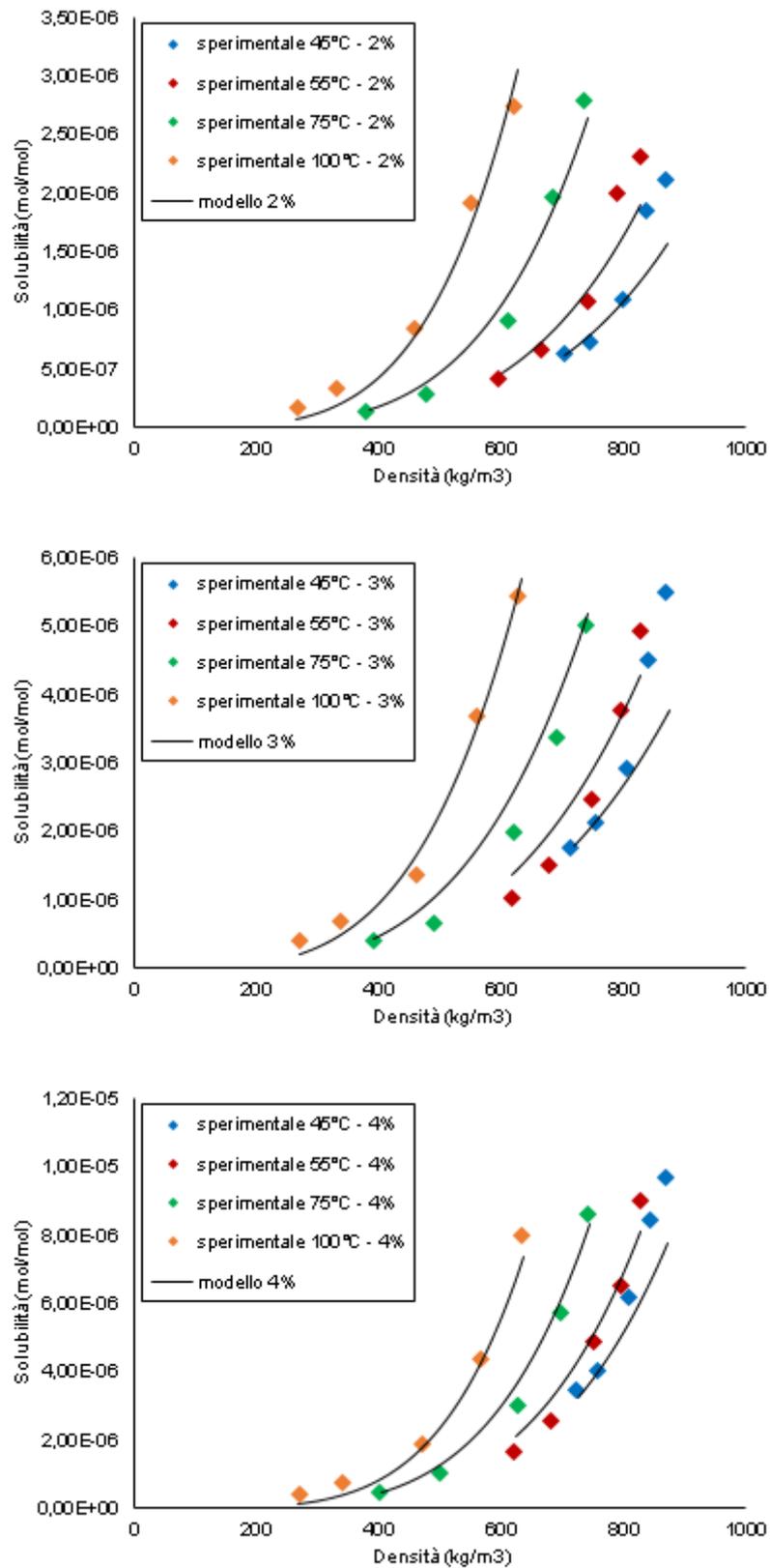


Figura A.9: Modello di Garlapati-Madras per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Si-Moussa et al. a 6 parametri

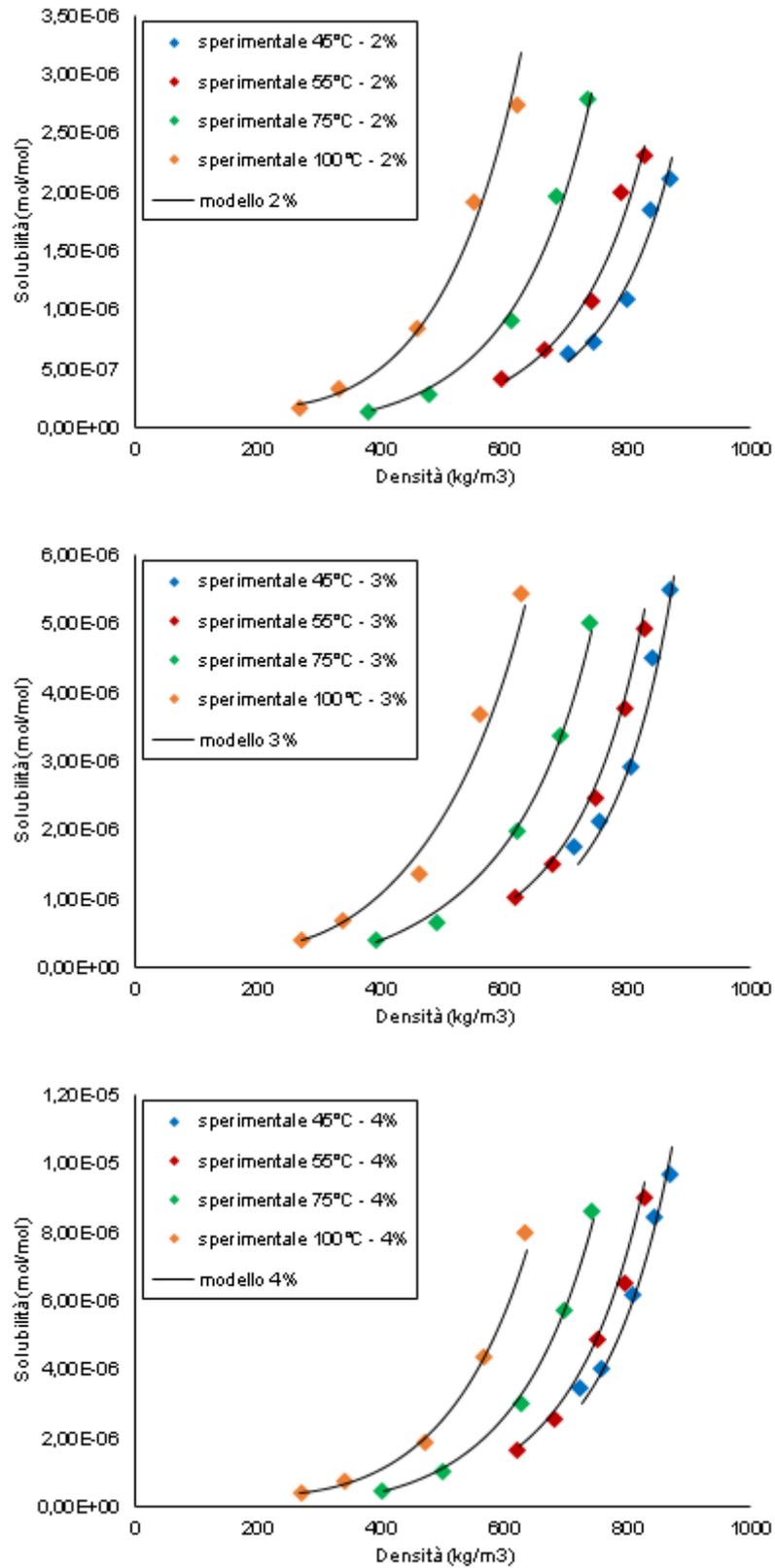


Figura A.10: Modello di Si-Moussa et al. per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Bartle et al. a 3 parametri

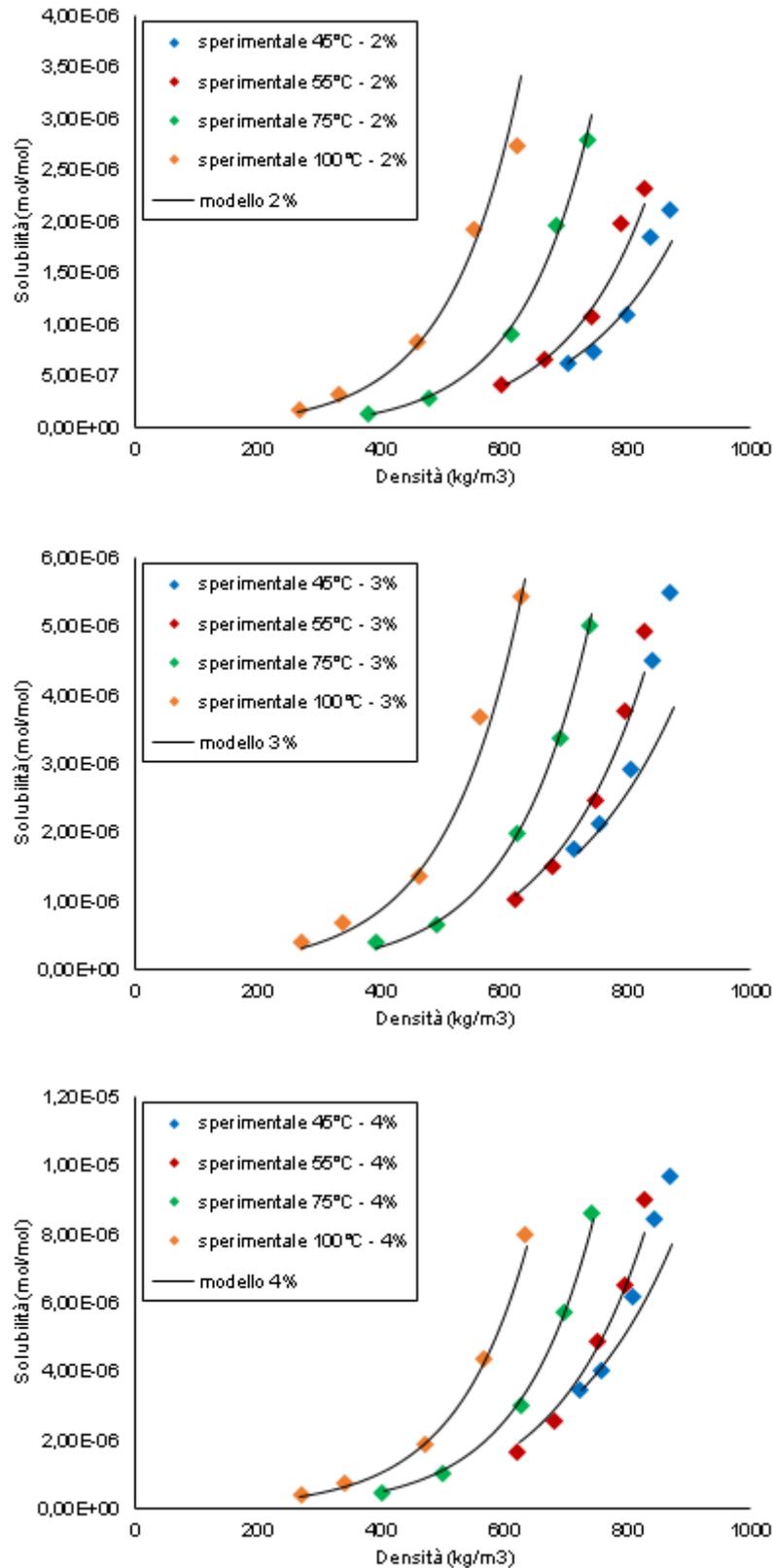


Figura A.11: Modello di Bartle et al. per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Ch-Madras a 4 parametri

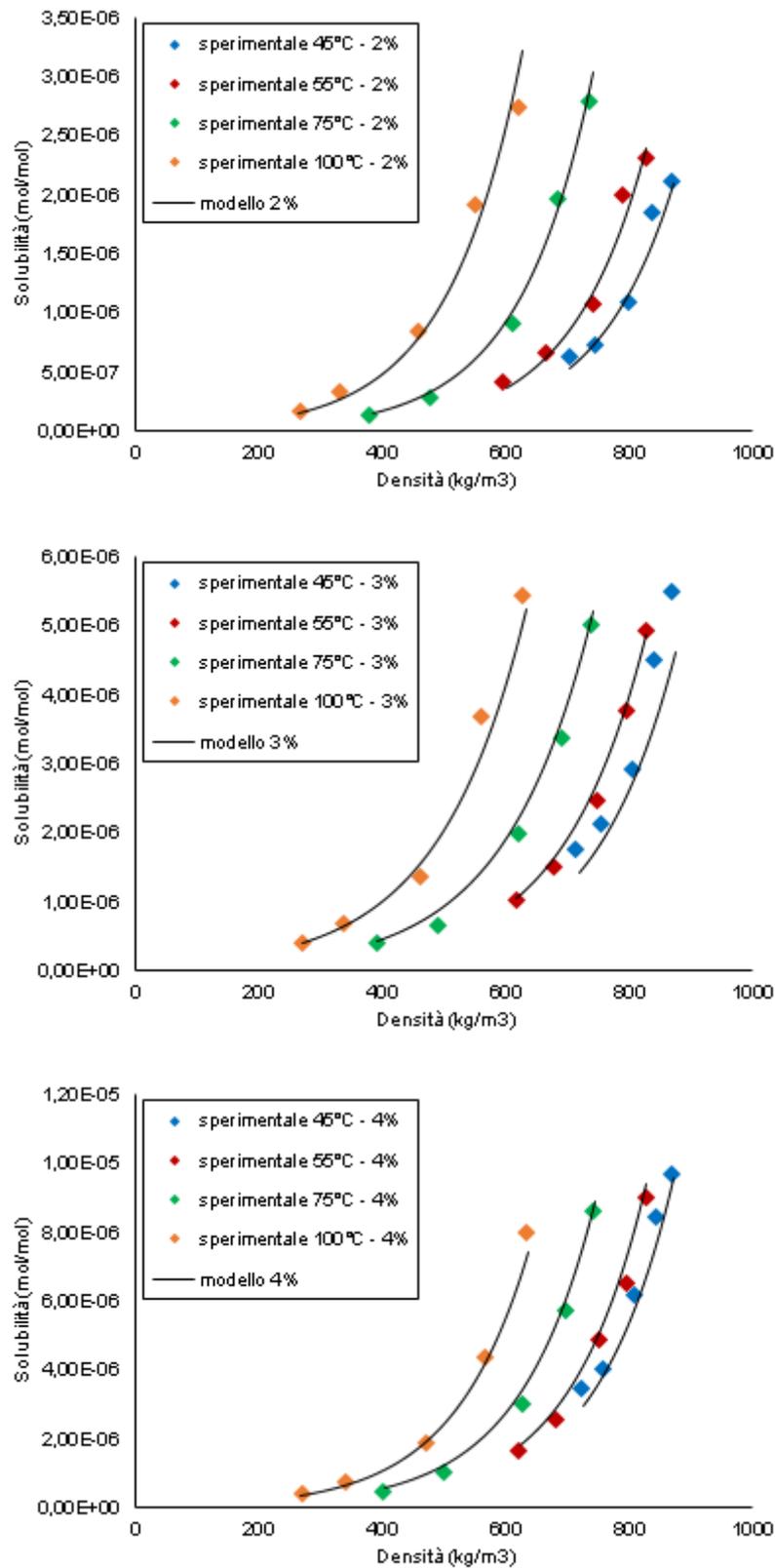


Figura A.12: Modello di Ch-Madras per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Hezave-Lashkarbolooki a 4 parametri

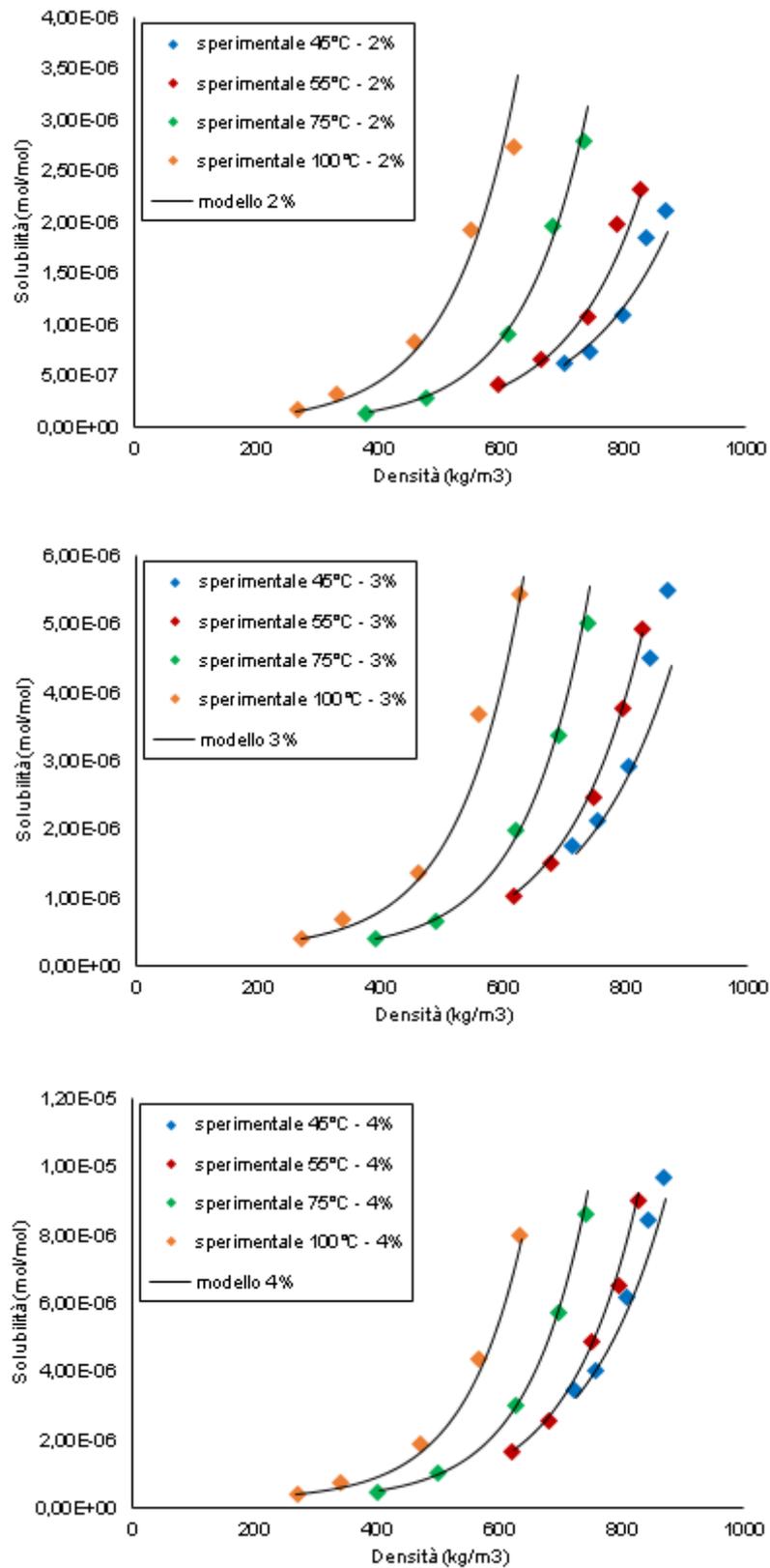


Figura A.13: Modello di Hezave-Lashkarbolooki per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Mendéz-Santiago-Teja a 3 parametri

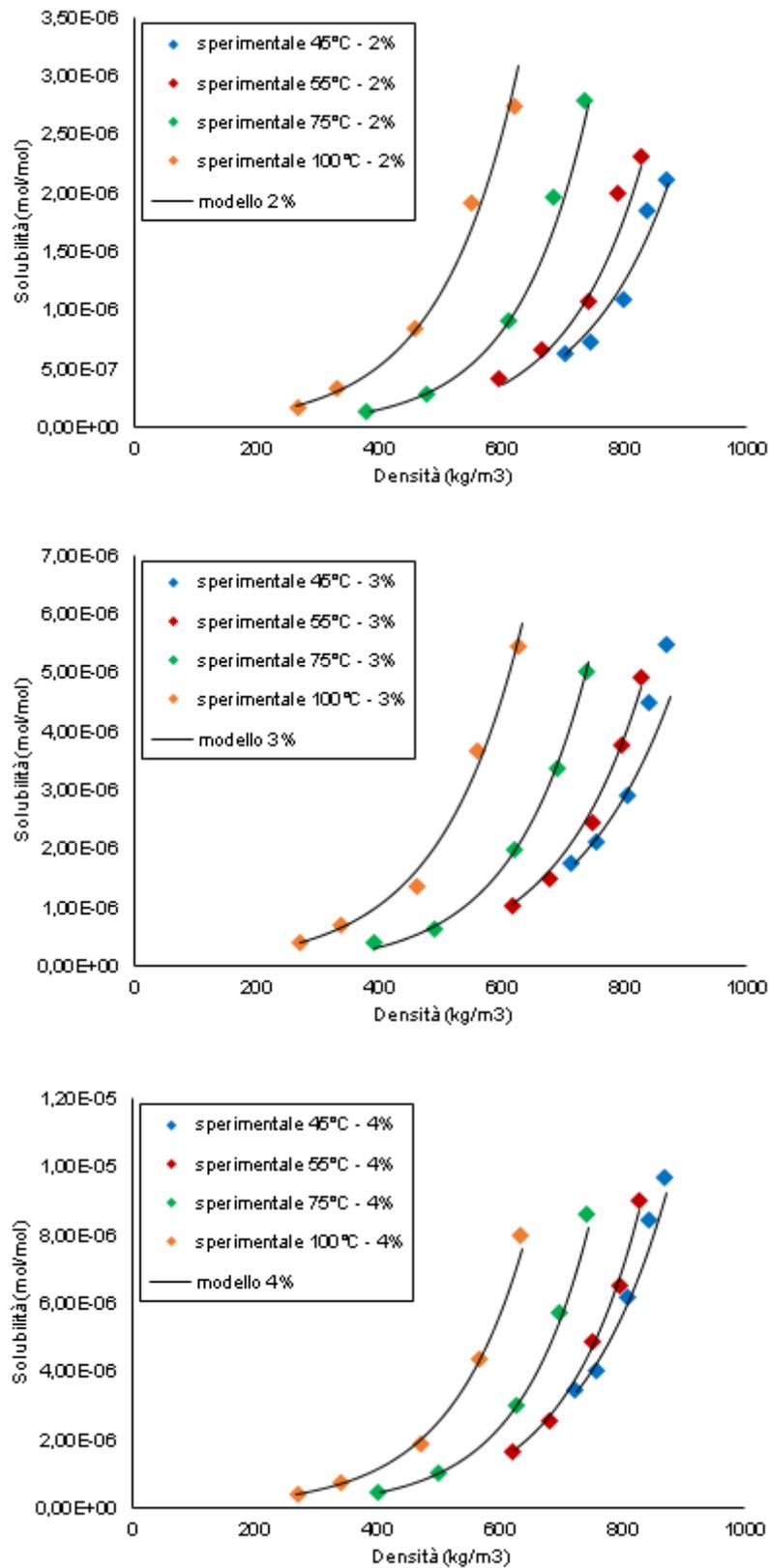


Figura A.14: Modello di Mendéz-Santiago-Teja per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Hozahabr et al. a 4 parametri

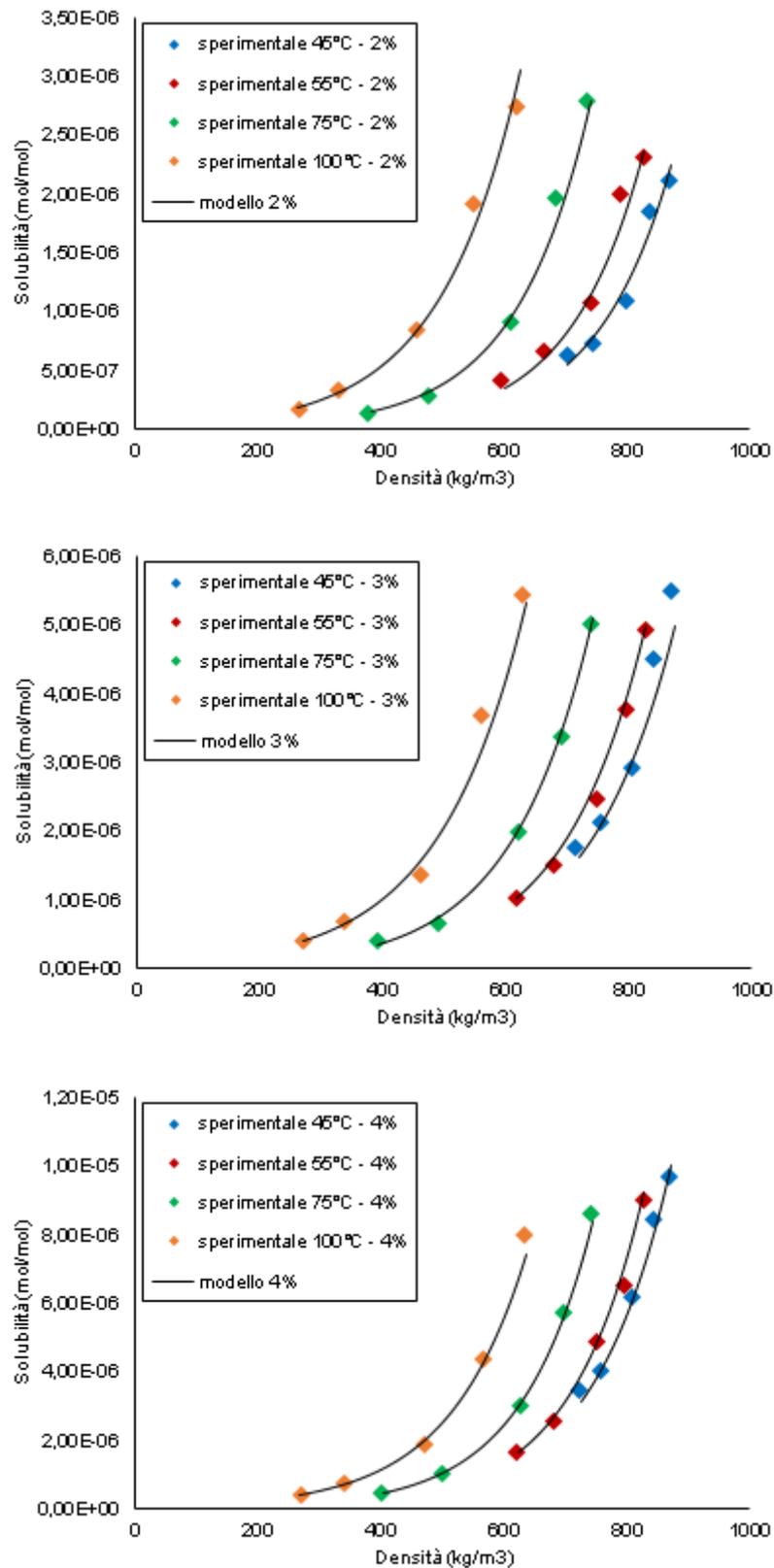


Figura A.15: Modello di Hozahabr et al. per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Khansary et al. a 5 parametri

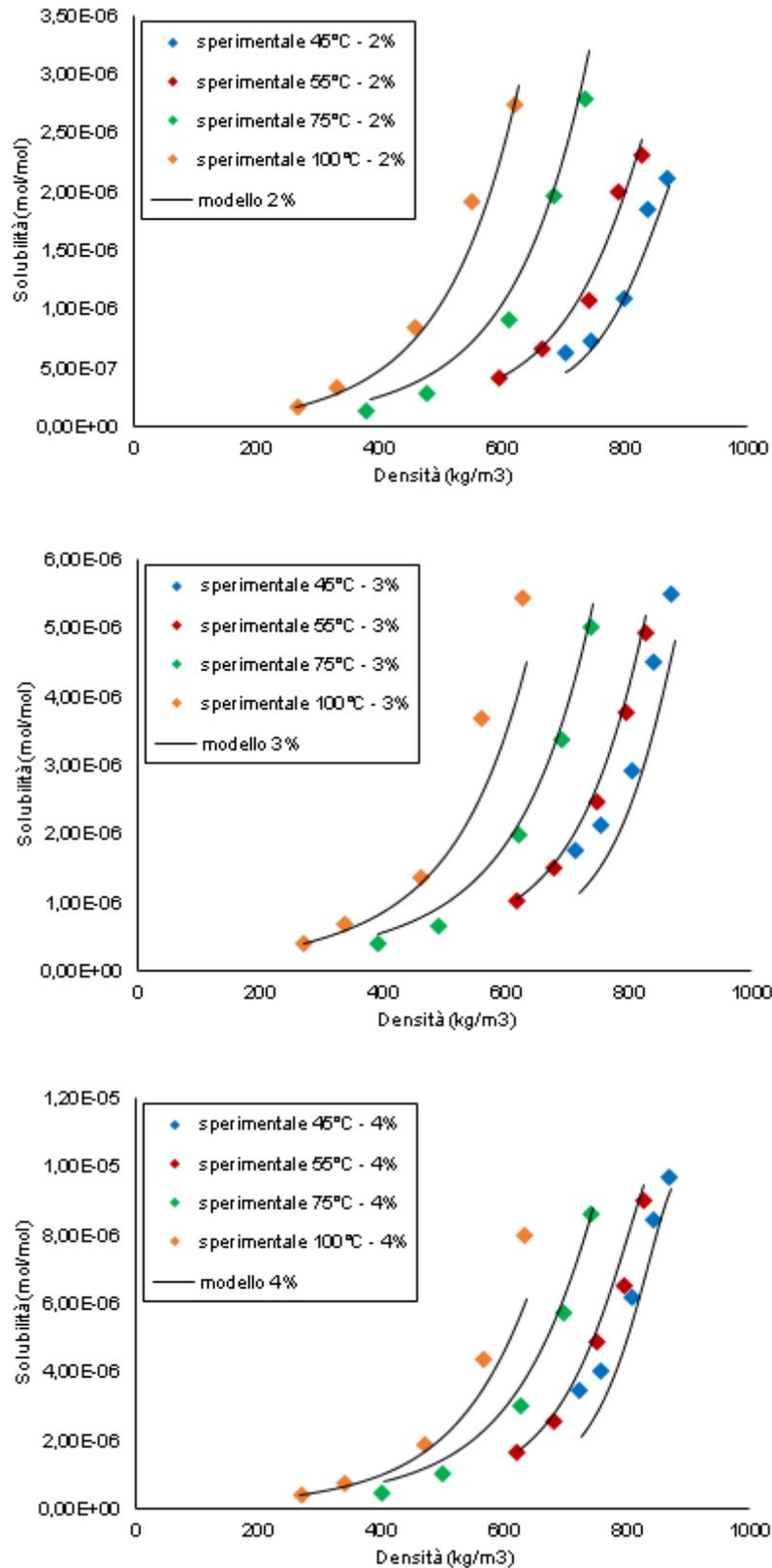


Figura A.16: Modello di Khansary et al. per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Keshmiri et al. a 5 parametri

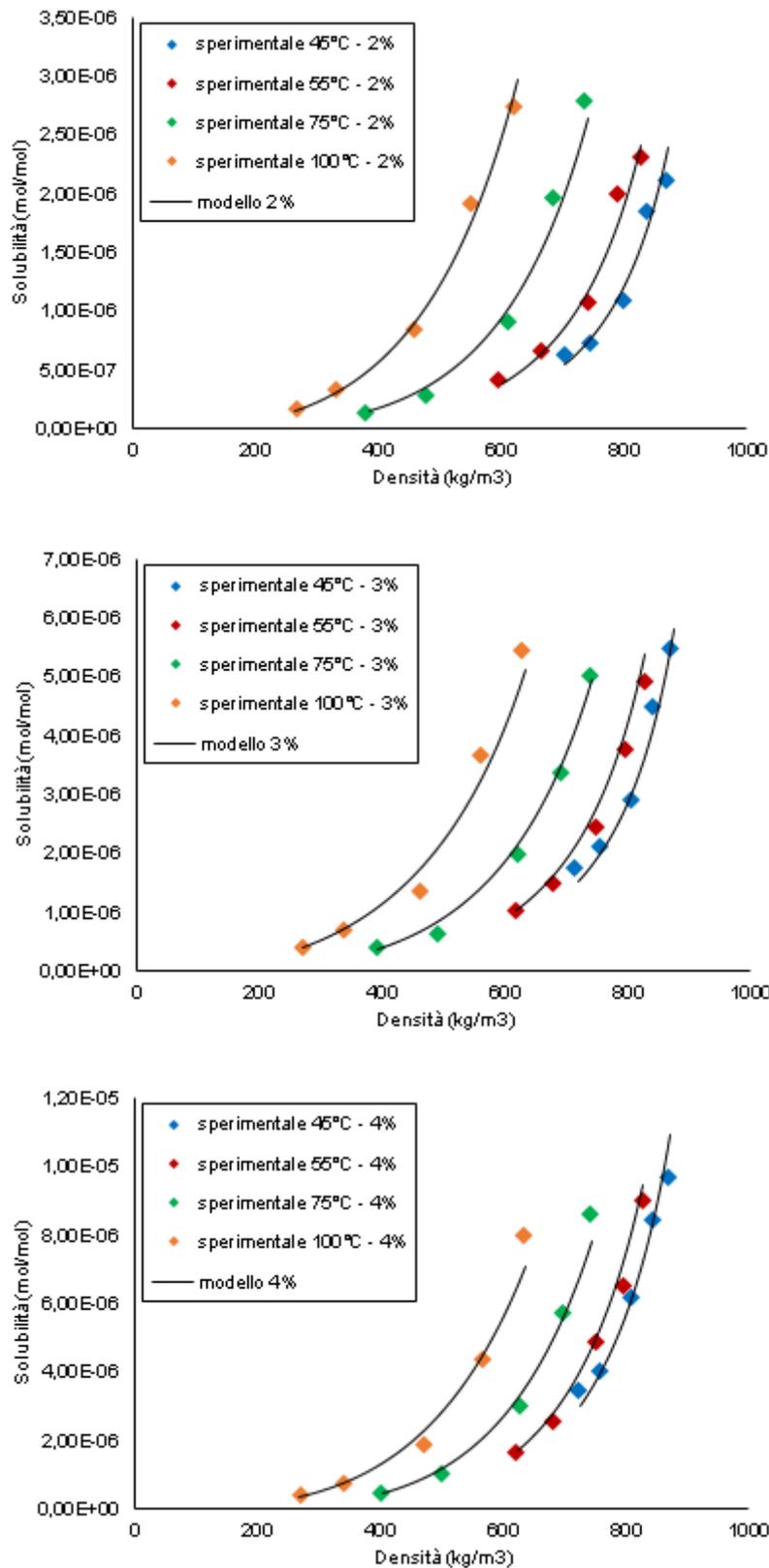


Figura A.17: Modello di Keshmiri et al. per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Jouyban et al. a 6 parametri

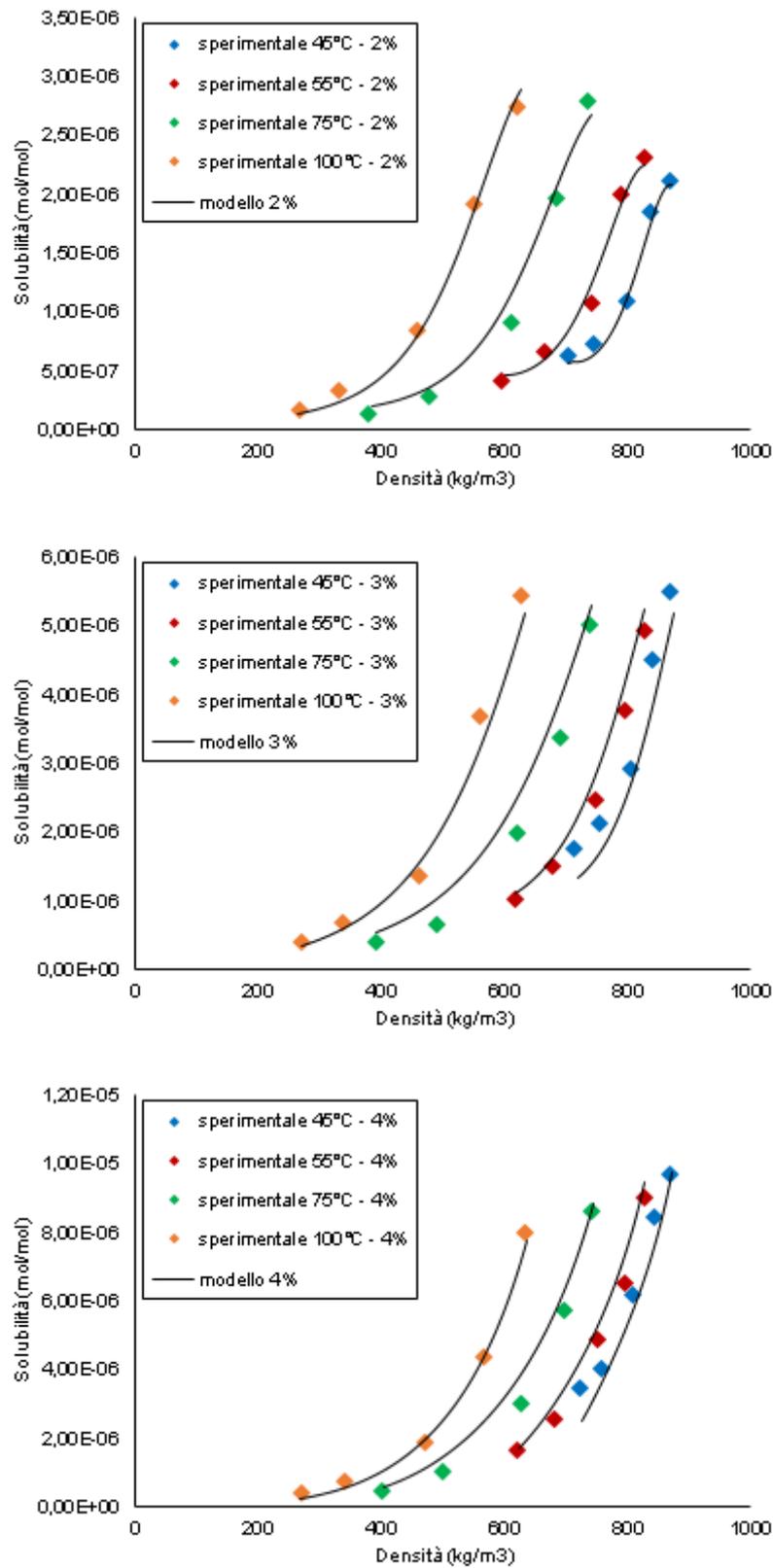


Figura A.18: Modello di Jouyban et al. per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Yu et al. a 6 parametri

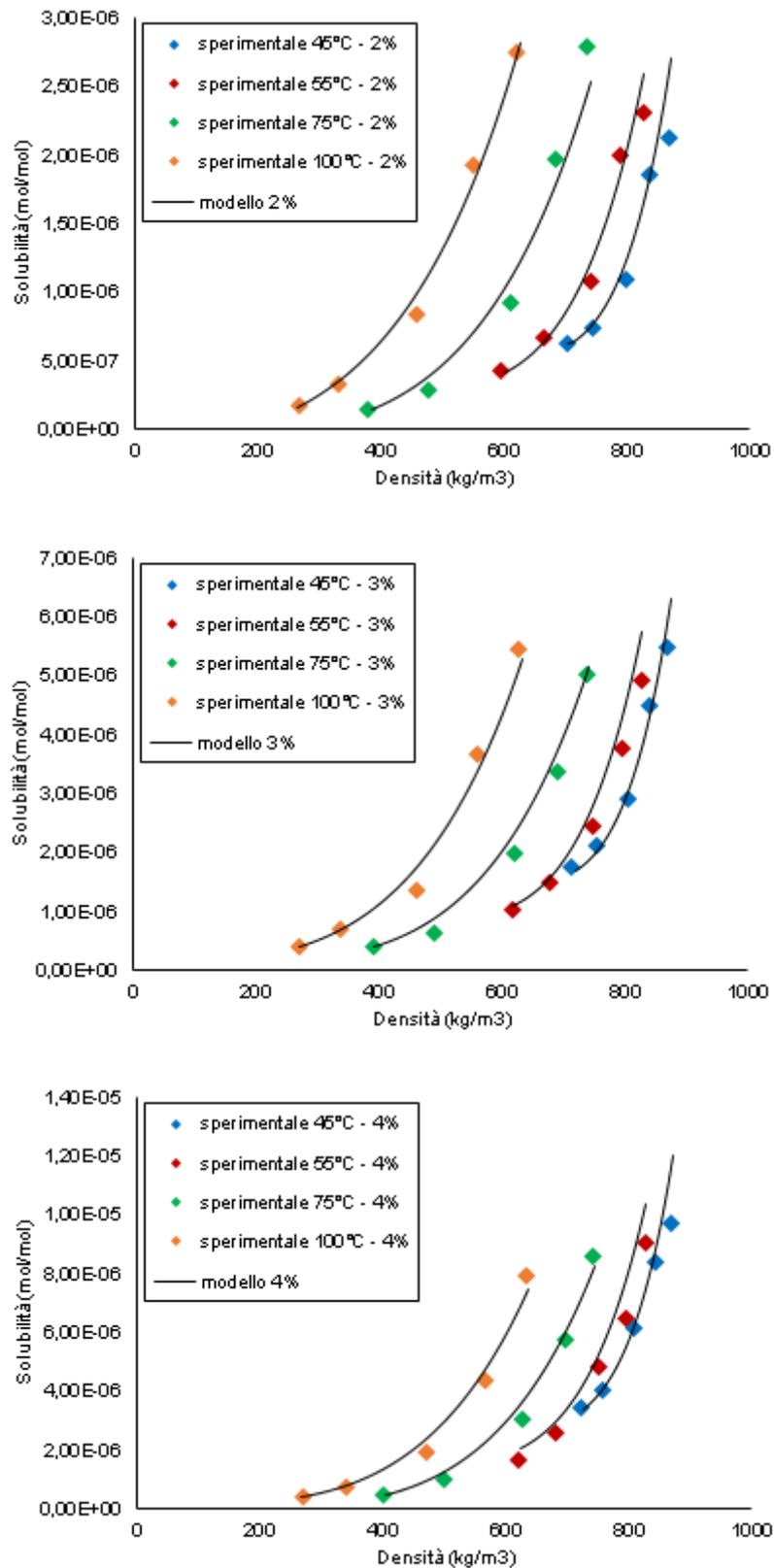


Figura A.19: Modello di Yu et al. per gli andamenti solubilità – densità

## Modello di Gordillo et al. a 6 parametri

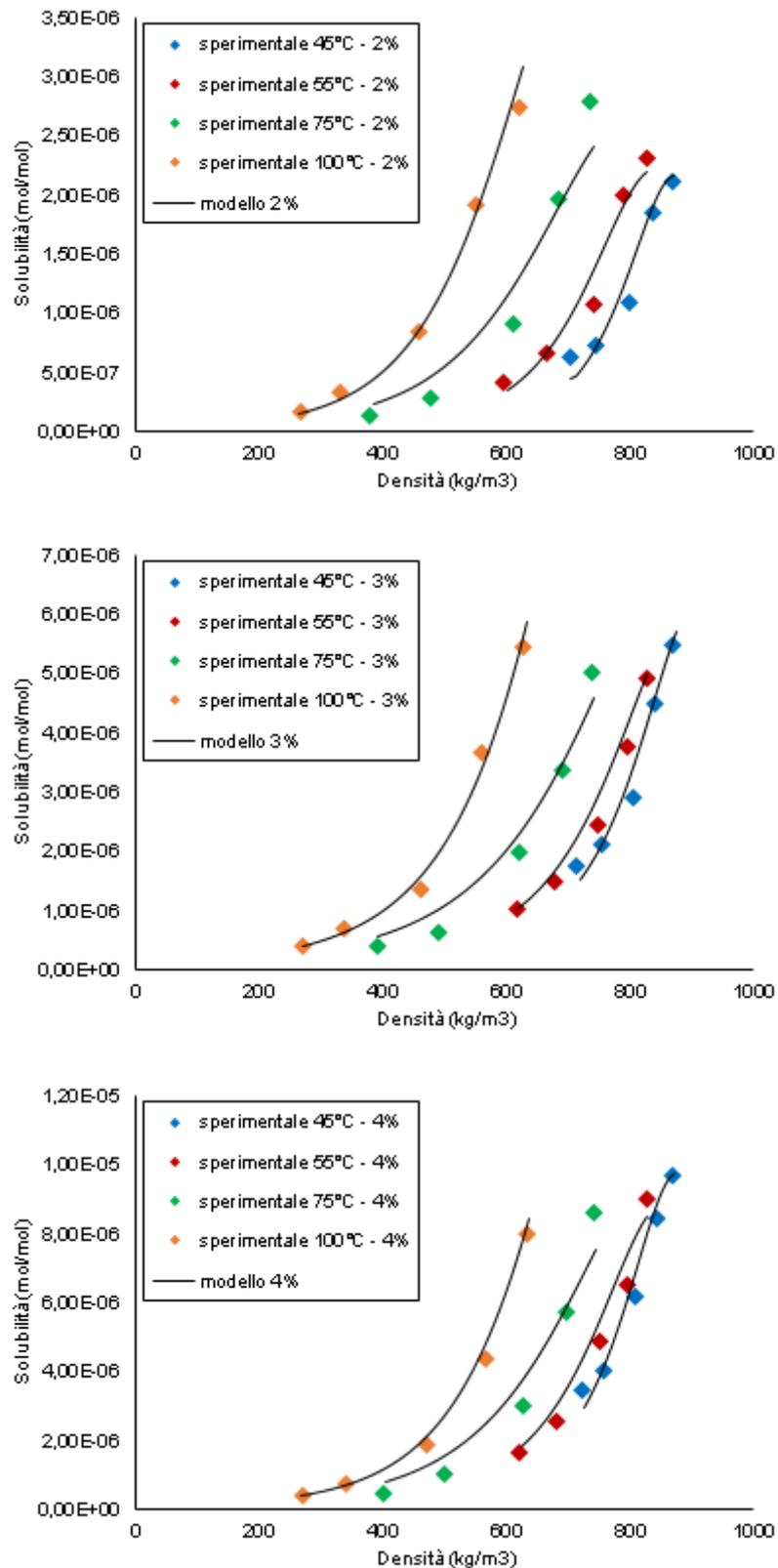


Figura A.20: Modello di Gordillo et al. per gli andamenti solubilità – densità

Modello di Haghbakhsh et al. a 10 parametri

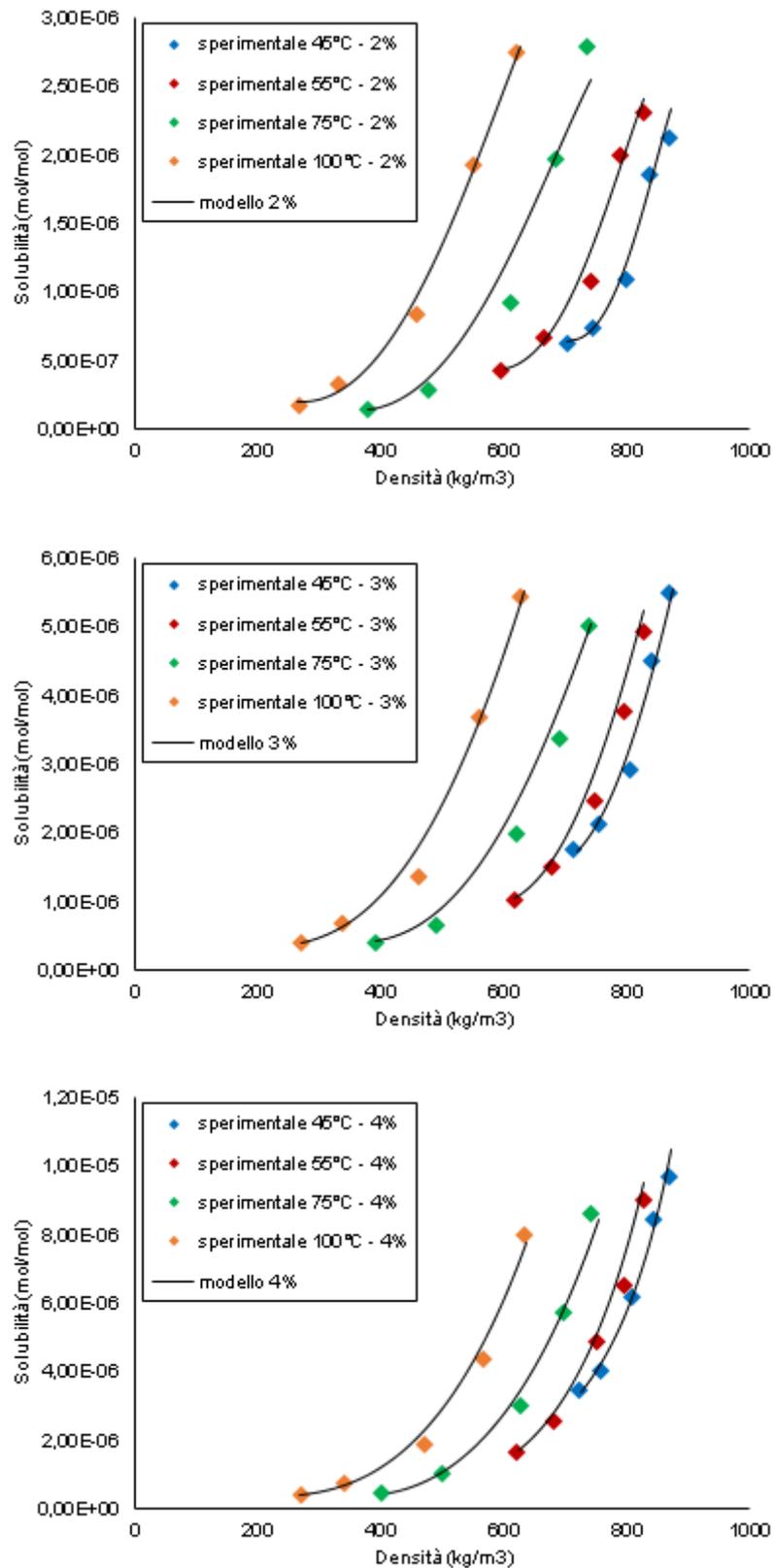


Figura A.21: Modello di Haghbakhsh et al. per gli andamenti solubilità – densità

## Bibliografia

- [1] Perry R.H. and Green D.W. (2008) Supercritical Fluid Separation Processes in *Perry's Chemical Engineers Handbook*, Alternative Separation Processes, Chap. 20. p. 14
- [2] Machado B.A.S.; Pereira C.G.; Nunes S.B.; Padilha F.F. and Umsza-Guez M.A. (2013) Supercritical Fluid Extraction Using CO<sub>2</sub>: Main Applications and Future Perspectives, *Separation Science and Technology*, 48, 2743-2744
- [3] Mchugh M.A. and Krukoniš V.J. (1994) *Supercritical fluid extraction*, Butterworth-Heinemann inc., Newton MA, USA.
- [4] Catinca S., Viorel F. and Dan G. (2008) Phase behavior for carbon dioxide + ethanol system: Experimental measurements and modeling with a cubic equation of state, *The Journal of Supercritical fluids*, 47, 109-116
- [5] Valderrama J.O., Arce P.F. (2013) Melting temperature depression caused by high pressure gases. Effect of the gas on organic substances and on ionic liquids, *The Journal of Supercritical fluids*, 82, 151-157
- [6] De Zordi N., Kikic I., Moneghini M. and Solinas D. (2012) Solubility of pharmaceutical compounds in supercritical carbon dioxide, *The Journal of Supercritical fluids*, 66, 16-22.
- [7] Si-Moussa C., Belghait A., Khaouane L., Hanini S. and Halilali A. (2017) Novel density-based model for the correlation of solid drugs solubility in supercritical carbon dioxide, *Comptes Rendus Chimie*, 20, 559-572
- [8] Hozahabr S.B., Mazloui S.H., Sargolzaei J. (2014) Correlation of solute solubility in supercritical carbon dioxide using a new empirical equation, *Chemical Engineering Research and Design*, 92, 2734-2739
- [9] Tang Z., Jin J., Zhang Z. and Liu H. (2012) New Experimental Data and Modeling of the Solubility of Compounds in Supercritical Carbon Dioxide, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51, 5515-5526
- [10] Sparks D.L., Hernandez R. and Estévez L.A. (2008) Evaluation of density-based models for the solubility of solids in supercritical carbon dioxide and formulation of a new model, *Chemical Engineering Science*, 63, 4292-4301
- [11] Chrastil J. (1982) Solubility of Solids and Liquids in Supercritical Gases, *The Journal of Physical Chemistry*, 86, 3016-3021
- [12] Üstündağ Ö.G. and Temelli F. (2000) Correlating the Solubility Behavior of Fatty Acids, Mono, Di, and Triglycerides, and Fatty Acid Esters in Supercritical Carbon Dioxide, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 39, 4756-4766
- [13] Sauceau M., Letourneau J.J., Freiss B., Richon D. and Fages J. (2004) Solubility of eflucimibe in supercritical carbon dioxide with or without a co-solvent, *The Journal of Supercritical Fluids*, 31, 133-140
- [14] González J.C. (2001) Modified mass action law-based model to correlate the solubility of solids and liquids in entrained supercritical carbon dioxide, *Journal of Chromatography A*, 910, 119-125

- [15] Adachi Y. and Lu B.C.Y. (1983) Supercritical fluid extraction with carbon dioxide and ethylene, *Fluid Phase Equilibria*, 14, 147-156
- [16] del Valle J.M. and Aguilera J.M. (1988) An Improved Equation for Predicting the Solubility of Vegetable Oils in Supercritical CO<sub>2</sub>, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 27, 1551-1554
- [17] Sung H.D. and Shim J.J. (1999) Solubility of C. I. disperse red 60 and C. I. disperse blue 60 in supercritical carbon dioxide, *Journal of Chemical Engineering data*, 44, 985-989.
- [18] Bian X., Du Z. and Tang Y. (2011) An improved density-based model for the solubility of some compounds in supercritical carbon dioxide, *Thermochimica Acta*, 519, 16-21
- [19] Kumar S.K. and Johnston K.P (1988) Modelling solubility of solids in supercritical fluids with density as the independent variable, *Journal of Supercritical Fluids*, 1, 15-22.
- [20] Garlapati C. and Madras G. (2009) Solubilities of solids in supercritical fluids using dimensionally consistent modified solvate complex models, *Fluid Phase Equilibria*, 283, 97-101
- [21] Bartle K.D., Clifford A.A., Jafar S.A. and Shilstone G.F. (1991) Solubilities of Solids and Liquids of Low Volatility in Supercritical Carbon Dioxide, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 20, 713
- [22] Ch R. and Madras G. (2017) An association model for the solubilities of pharmaceuticals in supercritical carbon dioxide, *Thermochimica Acta*, 507, 99-105
- [23] Hezave Z. and Lashkarbolooki A. (2013) A new simple correlation for calculating solubility of drugs in supercritical carbon dioxide, *Journal of Theoretical and Computational Chemistry*, 12
- [24] Méndez-Santiago J. and Teja A.S. (1999) The solubility of solids in supercritical fluids, *Fluid Phase Equilibria*, 158, 501-510
- [25] Kansary M.A., Farshad A., Hosseini A., Sani A.H. and Shahbeig H. (2015) Representing solute solubility in supercritical carbon dioxide: A novel empirical model, *Chemical Engineering Research and Design*, 93, 355-365
- [26] Keshmiri (2014) Development and evaluation of a new semi-empirical model for correlation of drug solubility in supercritical CO<sub>2</sub>, *Fluid Phase Equilibria*, 363, 18-26
- [27] Jouyban A., Chan H.K. and Foster N.R. (2002) Mathematical representation of solute solubility in supercritical carbon dioxide using empirical expressions, *Journal of Supercritical Fluids*, 24, 19-35
- [28] Yu Z.R., Bhaimohan S. and Rizvi S.S.H. (1994) Solubilities of fatty acids, fatty acid esters, triglycerides, and fats and oils in supercritical carbon dioxide, *Journal of Supercritical Fluids*, 7, 51-59
- [29] Gordillo M.D., Blanco M.A., Molero A. and Martinez de la Ossa E. (1999) Solubility of the antibiotic Penicillin G in supercritical carbon dioxide, *Journal of Supercritical Fluids*, 15, 183-190
- [30] Haghbakhsh R., Hayer H., Saidi M., Keshtkari S., Esmailzadeh F. (2013) Density estimation of pure carbon dioxide at supercritical region and estimation solubility of solid compounds in supercritical carbon dioxide: Correlation approach based on sensitivity analysis, *Fluid Phase Equilibria*, 342, 31-41

- [31] Esfandiari N. (2015) Production of micro and nano particles of pharmaceutical by supercritical carbon dioxide, *Journal of Supercritical Fluids*, 100, 129-141
- [32] Martín A., Cocero M.J. (2008) Micronization processes with supercritical fluids: Fundamentals and mechanisms, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, 339-350
- [33] Shariati A., Peters C.J. (2003) Recent developments in particle design using supercritical fluids, *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 7, 371-383
- [34] Jung J., Perrut M. (2001) Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey, *Journal of Supercritical Fluids*, 20, 179-219
- [35] Müller R.H., Jacobs C., Kayser O. (2001) Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy Rationale for development and what we can expect for the future, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47, 3-19
- [36] Debenedetti P.G., Tom J.W., Kwauk X., Yeo S.D. (1993) Rapid Expansion of Supercritical Solutions (RESS): fundamentals and applications, *Fluid Phase Equilibria*, 82, 311-321
- [37] Reverchon E. (1999) Supercritical antisolvent precipitation of micro- and nano-particles, *Journal of Supercritical Fluids*, 15, 1-12
- [38] Müller M., Meier U. (2000) Experimental Study of the Effect of Process Parameters in the Recrystallization of an Organic Compound Using Compressed Carbon Dioxide as Antisolvent, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 39, 2260-2268
- [39] de la Fuente J.C., Peters C.J., de Swaan J. (2004) Volume expansion in relation to the gas-antisolvent process, *Journal of Supercritical Fluids*, 17, 13-23
- [40] Esfandiari N., Ghoreisci S.M. (2013) Synthesis of 5-Fluorouracil nanoparticles via supercritical gas antisolvent process, *Journal of Supercritical Fluids*, 84, 205-210
- [41] De Marco I., Rossmann M., Prosapio V., Reverchon E., Braeuer A. (2015) Control of particle size, at micrometric and nanometric range, using supercritical antisolvent precipitation from solvent mixtures: Application to PVP, *Chemical Engineering Journal*, 273, 344-352
- [42] He W.Z., Suo Q.L., Jiang Z.H., Hong H.H. (2004) Precipitation of ephedrine by SEDS process using a specially designed prefilming atomizer, *Journal of Supercritical Fluids*, 31, 101-110.
- [43] Van Hees T., Barillaro V., Piel G., Bertholet P., De Hassonville S.H, Evrard B., Delattre L. (2002) Application of supercritical carbon dioxide for the preparation of drug-cyclodextrin inclusion compounds, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 44, 271-274
- [44] Grandelli H.E., Hassler J.C., Whittington A., Kiran E. (2012) Melting point depression of Piroxicam in carbon dioxide + co-solvent mixtures and inclusion complex formation with  $\beta$ -cyclodextrin, *Journal of Supercritical Fluids*, 71, 19-25
- [45] Shinoda T., Tamura K. (2003) Solubilities of C.I. Disperse Red 1 and C.I. Disperse Red 13 in supercritical carbon dioxide, *Fluid Phase Equilibria*, 213, 115-123



## Ringraziamenti

Al termine di questo interessante ed impegnativo percorso accademico, che si conclude con la stesura di questa tesi, sono opportuni alcuni ringraziamenti.

Volevo ringraziare i professori Mauro Banchemo e Luigi Manna per la loro attenzione e la loro presenza durante il lavoro sperimentale e la scrittura di questo elaborato.

Un ringraziamento particolare va alla mia compagna di laboratorio e di avventure Jessica, con la quale abbiamo condiviso momenti di difficoltà legati al lavoro sperimentale, ma anche attimi di brio e di soddisfazione, durante questi ultimi mesi trascorsi assieme.

Voglio ringraziare ancora tutti gli amici ed i colleghi che sono stati presenti in questi anni e soprattutto durante questo ultimo periodo, senza i quali molto probabilmente sarei giunto al termine del mio percorso con maggiore difficoltà. In modo particolare, il mio ringraziamento più sentito tra tutti i colleghi va a Domenico, che è principalmente un grande amico, con il quale abbiamo affrontato insieme tutto il nostro percorso di studi, dal liceo alla laurea magistrale.

Infine, volevo abbracciare e ringraziare di cuore la mia famiglia, a partire dai miei genitori e i miei fratelli, assieme a tutti gli altri componenti, che sempre hanno creduto fortemente in me.

Ma il grazie più grande lo rivolgo a Flaminia, che sempre mi ha dato il giusto apporto di fiducia e sempre mi ha supportato e sopportato durante questi anni insieme.