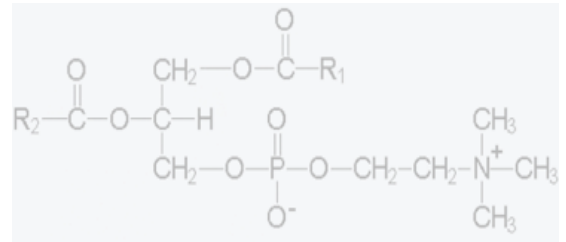




## Preparazione di liposomi attraverso l'uso di ultrasuoni

### Preparazione di liposomi attraverso l'uso di ultrasuoni per il settore farmaceutico e cosmetico

I liposomi, i transfersomi, gli etosomi e i niosomi sono delle bolle microscopiche, che possono essere preparate artificialmente, e fungere da vettori globulari per molecole attive incapsulate al loro interno. Queste bollicine con diametri compresi tra i 25 e i 5000 nm, sono spesso usate come trasportatori di farmaci per scopi d'attualità nel settore farmaceutico e cosmetico, come la somministrazione di farmaci, la terapia genica e l'immunizzazione. Gli ultrasuoni si propongono come metodo collaudato ed efficace nel processo di preparazione dei liposomi e dell'incapsulamento negli stessi di agenti attivi.



I liposomi tuttavia non svolgono soltanto la funzione di trasportatori di agenti attivi, bensì anche senza alcun agente incapsulato al loro interno sono ad esempio potenti principi attivi per la pelle, ad esempio il fosfatidilcolina incorpora due elementi essenziali, che l'organismo umano da solo non riesce a produrre: l'acido linoleico e il colina.

### I liposomi

I liposomi sono sistemi vescicolari unilamellari, oligolamellari o multilamellari e sono costituiti del medesimo materiale della membrana cellulare (doppio strato lipidico). Per quanto riguarda la loro composizione e dimensione, si esegue una distinzione tra vescicole multilamellari (MLV, 0.1-10 µm) e unilamellari, che a loro volta si distinguono in piccole (SUV, <100 nm), grandi (LUV, 100-500 nm) o giganti (GUV, ≥ 1 µm). I liposomi sono costituiti da fosfolipidi. I fosfolipidi hanno un gruppo di testa idrofilo e un gruppo di coda idrofoba, il che sfocia in una lunga catena idrocarburica. La membrana del liposoma ha una composizione molto simile a quella della barriera cutanea e



questo gli consente di essere facilmente innestato nella pelle umana. Dal momento che i liposomi si possono facilmente innestare nella pelle umana possono scaricare gli agenti attivi direttamente alla destinazione finale, permettendo così ai suddetti principi attivi, di cui sono vettori, di svolgere più efficacemente le loro funzioni. Così operando i liposomi permettono un miglioramento nella penetrazione degli agenti attivi sotto pelle e dunque una miglior efficacia del principio attivo.

I liposomi tuttavia non svolgono soltanto la funzione di trasportatori di agenti attivi, bensì anche senza alcun agente incapsulato al loro interno sono ad esempio potenti principi attivi per la pelle, ad esempio il fosfatidilcolina incorpora due elementi essenziali, che l'organismo umano da solo non riesce a produrre: l'acido linoleico e il colina.

I liposomi vengono utilizzati come vettori biocompatibili per farmaci, peptidi, proteine, DNA plasmatico, oligonucleotidi antisense o ribozimi nel settore farmaceutico o cosmetico. Grazie al diametro altamente variabile e versatile dei liposomi, questo consente di creare veicoli su misura per una vasta gamma di applicazioni. (Ulrich 2002)

### **Processo di formazione di liposomi attraverso l'utilizzo di ultrasuoni**

I liposomi possono essere formati attraverso l'utilizzo di ultrasuoni. Il materiale di base per la preparazione dei liposomi è costituito da molecole di amfifilico derivato o amfifilico basato sulla membrana biologica dei lipidi. Per la formazione di liposomi unilamellari piccoli (SUV), la dispersione dei lipidi è sonicata delicatamente – per tanto si può utilizzare un apparecchio ad ultrasuoni portatile come il modello UP50H (50W, 30kHz), il VialTweeter o il reattore ultrasonico UTR200 – in un bagno di ghiaccio. La durata di tale trattamento ad ultrasuoni dura circa dai 5 ai 15 minuti. Un altro metodo per la produzione di liposomi unilamellari piccoli consiste nella sonicazione di liposomi multilamellari. Dinu-Pirvu (et al. 2010) è riuscito ad ottenere dei transfersomi attraverso la sonicazione di liposomi multilamellari a temperatura ambiente. Hielscher Ultrasonics è in grado di offrire ai suoi clienti diversi una combinazione personalizzata di dispositivi ad ultrasuoni, sonotrodi e diversi accessori per soddisfare al meglio le loro esigenze.

### **Incapsulamento degli agenti attivi nei liposomi attraverso l'utilizzo di ultrasuoni**

I liposomi svolgono la funzione di trasportatori di agenti attivi. L'ultrasuono è uno strumento efficace ed efficiente per preparare e formare i liposomi a ricevere al loro interno gli agenti attivi di cui diventeranno vettori. Prima dell'inserimento degli agenti attivi, i liposomi tendono ad assumere una forma a grappolo a causa della superficie di interazione carica-carica delle teste polari fosfolipidi e inoltre devono essere aperti (Míckova et al. 2008). A titolo di esempio, Zhu (et al. 2003) descrive l'incapsulamento di polvere di biotina in liposomi attraverso l'utilizzo di ultrasuoni. La polvere di biotina è stata inserita nella sospensione del liposoma, tale soluzione è stata poi sonicata per circa un'ora. Al termine di questo trattamento, la polvere di biotina è risultata completamente intrappolata nei liposomi.

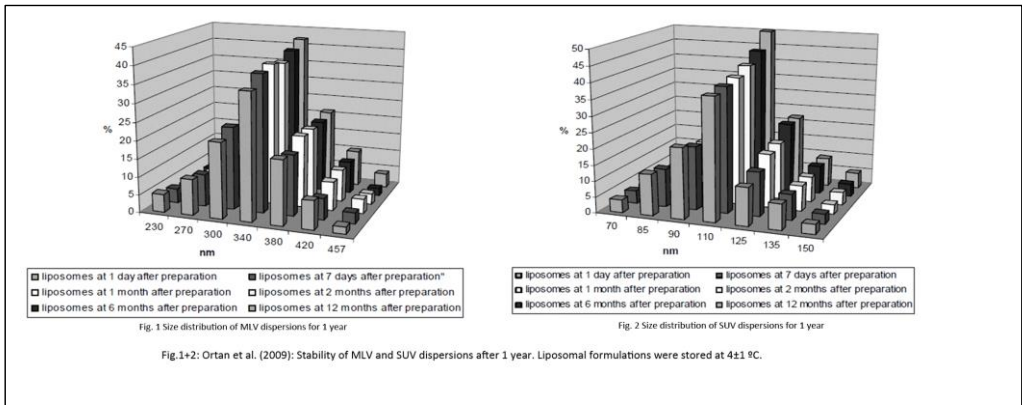
## Emulsioni liposomiali

Per migliorare l'effetto nutritivo o quello anti-invecchiamento di creme idratanti, gel o altre formulazioni cosmetiche, gli emulsionanti vengono aggiunti alle dispersioni liposomiali per stabilizzare una maggiore quantità di lipidi. Ma le indagini avevano dimostrato che la capacità dei liposomi è generalmente limitata. Con l'aggiunta di emulsionanti questo effetto comparirà prima e un'ulteriore aggiunta di emulsionanti causerà l'indebolimento dell'affinità di barriera di fosfatidilcolina. Le nanoparticelle – composti di fosfatidilcolina e lipidi – sono la risposta a questo problema. Queste nanoparticelle sono formate da una piccola goccia di olio ricoperta da un monostrato di fosfatidilcolina. L'uso delle nanoparticelle permette la creazione di formulazioni capaci di assorbire più lipidi e quindi in grado di rimanere stabili, così da non richiedere l'ulteriore aggiunta di emulsionanti. Gli ultrasuoni sono un metodo provato efficace ed efficiente per la produzione di nanoemulsioni e nanodispersioni. Gli ultrasuoni ad azione intensiva sono in grado di fornire l'energia necessaria per disperdere una soluzione liquida (fase dispersa) in piccole gocce (fase continua). Durante la fase dispersa, l'implosione delle bolle, grazie al processo di cavitazione, causa forti onde d'urto nel liquido circostante, comportando così la formazione di getti ad alta velocità di liquido. Per evitare che il processo di coalescenza delle piccole gocce di nuova formazione influenzi notevolmente la forma finale della loro distribuzione una volta terminata la cavitazione, si tende ad aggiungere emulsionanti (sostanze attive superficiali o tensioattivi) o stabilizzatori per garantire che esse mantengano esattamente la stessa forma finale della loro distribuzione raggiunta appena terminato il processo di cavitazione.

## Dispersioni liposomiali

Le dispersioni liposomiale, che sono basate su fosfatidilcolina insatura, mancano di stabilità contro l'ossidazione. La stabilizzazione di tali dispersioni può essere raggiunta grazie a antiossidanti, come ad esempio un complesso di vitamine C ed E. Ortan (et al. 2002) nel suo studio riguardante la preparazione ad ultrasuoni di olio essenziale di *Anethum graveolens* sottoforma di liposomi ha conseguito buoni risultati. Dopo il processo di sonicazione, la dimensione dei liposomi era compresa tra i 70 e i 150 nm e per le MLV tra i 230 e i 475 nm; questi valori sono rimasti approssimativamente costanti anche dopo due mesi dalla produzione, ma trascorsi dodici mesi sono aumentati, soprattutto nella dispersione SUV (vedi istogramma qui sotto).

Misurando la stabilità dell'olio essenziale si è compreso che vi è stata una perdita nella dimensione di distribuzione delle gocce, ma si è anche appreso che la dispersione liposomiale ha mantenuto volatile il contenuto di olio. Questo fenomeno suggerisce che l'incapsulamento dell'olio essenziale nei liposomi ne ha aumentato la stabilità.



I processori ad ultrasuoni Hielscher sono i dispositivi ideali per le preparazioni in campo cosmetico e farmaceutico. Hielscher grazie alla vasta gamma di prodotti di cui dispone è in grado di soddisfare al meglio le esigenze dei suoi clienti organizzando per loro sistemi composti da diversi processori fino a 16.000 watt ciascuno. Tali sistemi permettono di trasformare semplici applicazioni di laboratorio in un vero e proprio metodo produttivo efficiente, consentendo così la possibilità di ottenere emulsioni finemente disperse in flusso continuo o in lotti – tali risultati ad oggi possono essere paragonati solamente a quelli ottenuti da omogeneizzatori ad alta pressione come ad esempio la nuova valvola orificio.

Oltre all'alta efficienza dei dispositivi ad ultrasuoni Hielscher che consentono di operare emulsioni a flusso continuo, essi non necessitano di particolare manutenzione e inoltre sono molto facili da utilizzare e da pulire. La potenza degli ultrasuoni è regolabile e può quindi essere adattata per la produzione di particolari prodotti che richiedono specifici requisiti di emulsificazione.

Sono anche disponibili speciali reattori a celle di flusso dotati dei sistemi avanzati di CIP (pulizia in loco) e SIP (sterilizzazione in loco).