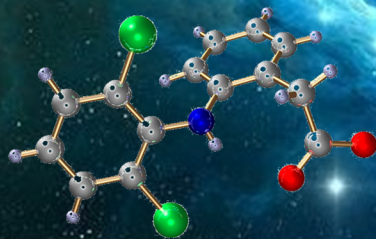
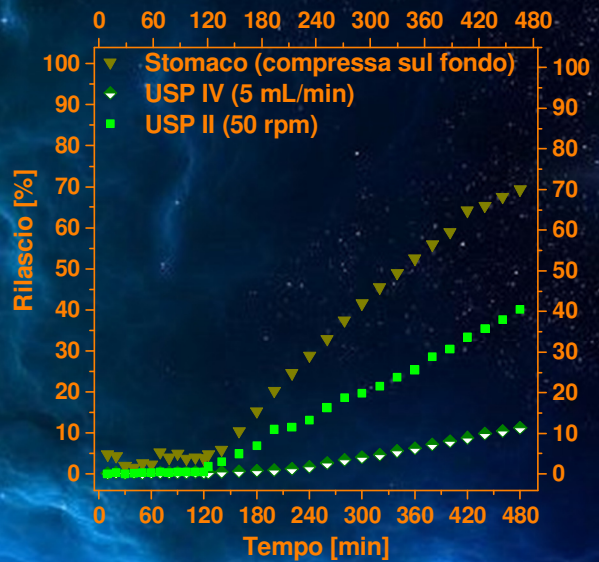


Studio del rilascio prolungato di diclofenac da compresse mediante diversi modelli *in vitro*



Matteo Armenante



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

Facoltà di Ingegneria
Dipartimento di Ingegneria Industriale
Corso di Laurea in Ingegneria Chimica

**Studio del rilascio prolungato
di diclofenac da compresse
mediante diversi modelli *in vitro***

Tesi in
Principi di Ingegneria Chimica

Relatore:

Prof. Ing. Gaetano Lamberti

Candidato:

Matteo Armenante

matricola 0612200838

Correlatrice:

Ing. Sara Cascone

Anno Accademico 2014/2015

Alla mia famiglia

Questo testo è stato stampato in proprio, in Times New Roman
La data prevista per la discussione della tesi è il 21/10/2015
Fisciano, 09/10/2015

Sommario

Sommario.....	I
Indice delle figure.....	III
Indice delle tabelle.....	VII
Abstract	IX
Introduzione	1
1.1 Generalità.....	2
1.2 Anatomia dell'apparato gastrointestinale	2
1.2.1 Stomaco	4
1.2.2 Intestino	6
1.3 Rilascio dei farmaci	7
1.3.1 Rilascio controllato	8
1.3.2 Meccanismi di rilascio	9
1.3.3 Vie di somministrazione dei farmaci	11
1.3.4 Farmacopea	12
1.4 Stato dell'arte	13
1.4.1 Sistemi USP	13
1.4.2 Apparat i in-vitro per simulare il sistema gastro-intestinale	13
1.4.2 Altri modelli che simulano il comportamento dello stomaco umano.	19
1.4.3 Profili di rilascio di diclofenac a rilascio prolungato in apparato USP IV	22

1.5 Obiettivi	23
Materiali, apparecchiature e metodi	25
2.1 Materiali	26
2.1.1 Diclofenac	26
2.1.2 Mezzi di dissoluzione	27
2.2 Apparecchiature	27
2.2.1 Dissolutore USP II	28
2.2.2 Dissolutore USP IV	29
2.2.3 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	30
2.2.4 Modello che simula lo stomaco umano	32
2.3 Metodi	35
2.3.1 Metodi di dissoluzione	35
2.3.2 Metodi analitici	36
Risultati e discussione.....	39
3.1 Dissoluzione in USP II	40
3.2 Dissoluzione in USP IV	42
3.3 Stomaco artificiale	44
3.4 Confronto dei profili di rilascio	47
Conclusioni.....	53
4.1 Conclusioni	54
Bibliografia	55

Indice delle figure

Figura 1. Apparato digerente.....	3
Figura 2. Le parti costitutive dello stomaco umano.	5
Figura 3. Contrazione: Stomaco rilassato (a sinistra) e contratto (a destra) visto in endoscopia. Le pliche gastriche sono più evidenti quando lo stomaco è contratto[2].....	5
Figura 4. Concentrazione plasmatica di farmaco risultante dalla somministrazione ripetuta di una forma farmaceutica convenzionale, rispetto a quella ottenuta dalla somministrazione di un farmaco a rilascio controllato.....	8
Figura 5. Modello di assorbimento di Sartorius [4].	14
Figura 6. Modello di dissoluzione di Sartorius: a) siringa di plastica, b) timer, c) lucchetto di sicurezza, d) connettore cavo, e) tubi di silicone, f) anelli di silicone, g) filtro di metallo, h) reattore [4].	14
Figura 7. Modello <i>in-vitro</i> sviluppato da Minekus et al. a) compartimento gastrico; b) compartimento duodenale; c) compartimento digiuno; d) compartimento ileo; e) unità base; f) camicia di vetro; g) parete flessibile; h) pompa rotatoria; i) bagno d'acqua; j) pompa-valvola peristaltica; k) pompa peristaltica; l, m) elettrodi pH; n, o) pompe a siringa; p) dispositivo a fibre cave [9].	15
Figura 8. Simulazione delle onde peristaltiche nel modello Minekus et al. 1) unità 2,3) camera di pressione; 4) pezzo intermedio; 5) parete flessibile; 6) spazio tra la parete rigida e flessibile 8, 9, 10, 11) connettori [9].	16
Figura 9. Primo stadio (il fondo) del modello di Wickham e Faulks [4].	17
Figura 10. Secondo stadio (antro) del modello di Wickman e Faulks [4].	18
Figura 11. Vista frontale dell'HGS. (1) Motore; (2) rivestimento in lattice; (3) Sacchetto a rete; (4) tubi di secrezione; (5) rullo; (6) cinghia; (7) lampadina per il controllo termico; (8) isolamento in schiuma plastica[10].	19
Figura 12. Vista laterale dell'HGS (1) Rivestimento il lattice (2) cinta (3) rulli (4) Puleggia (5) Riduttore numero di giri (6) giunto cardanico [10].	20

Figura 13. Rappresentazione schematica del DGM sviluppato da Vardakou et al. A sinistra, raffigurazione dei principali elementi del modello. A destra, illustrazione della meccanica della digestione [11].	22
Figura 14. Confronto dei profili di rilascio di una compressa commerciale di diclofenac analizzata lavorando a portate da 4 ml/min e 16 ml/min.[12].	23
Figura 15. Struttura del Diclofenac.	26
Figura 16. Dissolutore Sotax AT7 SMART.	28
Figura 17. Rappresentazione schematica del vessel di un dissolutore USP II.	28
Figura 18. Dissolutore e pompa Sotax CE7 SMART.	29
Figura 19. Cellule del dissolutore USP IV montate su telaio (sulla sinistra). Sistema di funzionamento a ciclo aperto del dissolutore USP IV (sulla destra).	29
Figura 20. Differenze tra la configurazione per il regime turbolento e quello laminare in una cellula del dissolutore USP IV[12].	30
Figura 21. Immagine dell'HPLC.	31
Figura 22. a) Particolare dell'albero a camme senza cinghie; b) particolare dell'albero a camme con cinghie montate; c) assemblaggio motoriduttore albero a camme.	33
Figura 23. A sinistra, massima occlusione dovuta alla terza contrazione; a destra posizione di completa opposizione del terzo rullo rispetto allo stomaco.	34
Figura 24. Vista laterale del dispositivo di azionamento meccanico applicato allo stomaco artificiale e misure correlate al movimento delle cinghie.	34
Figura 25. Tipico cromatogramma del Diclofenac.	37
Figura 26. Relazione tra il valore dell'area sottesa al segnale HPLC e la concentrazione di diclofenac a pH 6.8 [16].	38
Figura 27. Profilo di rilascio di una compressa di Diclofenac a rilascio prolungato analizzata mediante dissolutore USP II a 50 rpm.	40
Figura 28. Profilo di rilascio della compressa di Diclofenac in apparato dissolutore USP II con velocità delle pale a 75 rpm.	41
Figura 29. Profilo di rilascio della compressa di Diclofenac in apparato dissolutore USP II con velocità delle pale a 100 rpm.	42
Figura 30. Profilo di rilascio di una compressa di diclofenac ottenuto mediante dissolutore USP IV ad una portata di 5 ml/min.	43
Figura 31. Profilo di rilascio di una compressa di diclofenac ottenuto mediante dissolutore USP IV ad una portata di 8 ml/min.	43
Figura 32. Profilo di rilascio di Diclofenac a rilascio prolungato nel sistema stomaco <i>in-vitro</i> /dissolutore.	45
Figura 33. Posizionamento compressa ad $z=h/3$.	46
Figura 34. Compressa legata.	46

Figura 35. Profilo di rilascio con compressa legata e sospesa.	47
Figura 36. Confronto tra profili di rilascio in USP II a differenti velocità di rotazione delle pale.	48
Figura 37. Confronto USP IV a differenti portate.	49
Figura 38. Confronto stomaco con compressa sul fondo e tra la seconda e la terza cinghia.	50
Figura 39. Confronto dei profili di rilascio del Diclofenac nei primi 120 min nello stomaco artificiale.	51
Figura 40. Confronto di tutti i profili di rilascio del Diclofenac ottenuti in vari mezzi di dissoluzione.	52

Indice delle tabelle

Tabella 1. Dati chimici, fisici e farmacocinetici del diclofenac sodium.....	27
Tabella 2. Metodo HPLC per rilevare il diclofenac.....	36
Tabella 3. Valori delle costanti di taratura a determinati pH del mezzo di dissoluzione.	38

Abstract

The aim of this work was to study the release kinetics of a commercial pharmaceutical formulation. Diclofenac Doc Generici 100 mg, an extended release tablet, was tested using different dissolution apparatus. In particular, the tests were performed in three dissolution apparatuses: USP II, that uses the same dissolution medium during the test, USP IV, where the dissolution medium flows continuously and, finally, in an *in-vitro* model (artificial stomach) simulating the mechanical behavior of the human stomach. The release profiles obtained were compared.

The drug released over time was evaluated by taking samples from dissolution medium and analyzing their drug concentration by HPLC. In the artificial stomach series of samples were taken both from the upper area of the model and from the lower part, to check the mixing conditions in the device.

The USP II apparatus paddles were set at three different values: 50, 75, 100 rpm. At the end of the test (480 min) the release reached 40% in the first case, 52% in the other two cases. Also the flow-rates of USP IV apparatus were set at two different values: 5 and 8 ml/min. After 480 min 10.5% and 16% of percentage release was reached respectively.

Using *in-vitro* model, developed in the research group, the release profiles were very different: the release reached the 70% after 480 of dissolution. There was a difference between the release profiles obtained in the upper and lower parts of the artificial stomach. In the samples taken in the lower part of the model there was drug but the trend was irregular, probably due to the poor mixing in the artificial stomach. On the other hand, in the upper part of the artificial stomach the release was very low and remained constant. Finally, the tablet was placed at a different position in the stomach, in order to study the

effect on release profiles. In the samples taken in the lower part of the model the trend of the release profiles was more regular. There were no changes in the samples taken in the upper part of the model.

A future development of this work could be to analyze the effect of the position of the tablet on the release profiles. Moreover, could be interesting to analyze the effect of the pressure generated by peristaltic contractions to develop a model closer to the real physiology.

Bibliografia

1. [Apparato digerente]
<http://www.impariamoamangiare.com/alimentazione/ladigestione/apparato-digerente>
2. Giunti, *Come funziona il corpo umano?* Atlante di fisiologia del corpo umano.
3. McConnell, E., H. Fadda, and A. Basit, *Gut instincts: explorations in intestinal physiology and drug delivery*. International journal of pharmaceutics, 2008. **364**(2): p. 213-226.
4. S. Cascone, In vitro and in silico models in pharmacokinetic studies, Tesi di dottorato, 2013
5. Grassi, M., Understanding drug release and absorption mechanisms: a physical and mathematical approach, CRC (2007).
6. D.S.Roy and B.D. Rohera, Comparative evaluation of hydration and matrix erosion of HEC and HPC and study of drug release from their matrices, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **16**, 193-199(2002).
7. XXIII, U. *The United States Pharmacopeia*. 1995
8. A. Guerra, L. Etienne-Mesmin, V. Livrelli, S. Denis, S. Blanquet-Diot¹, and M. Alric, Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion, *Trends in Biotechnology*, **30**(11), 591-600 (2012).
9. M. Minekus, P.M., R. Havenaar and J. H. J. Huis in't Veld, A Multicompartmental Dynamic Computer - controlled Model Simulating the Stomach and Small Intestine. *Alternatives to Laboratory Animals*, **23**, 197-209 (1995).
10. F. Kong and R. P. Singh, A human gastric simulator (HGS) to study food digestion in human stomach, *Journal of Food Science*, **75**(9), E627-E635 (2010).

11. M. Vardakou, A. Mercuri, S. A. Barker, D. Q. M. Craig, R. M. Faulks, and M. S. J. Wickham, Achieving antral grinding forces in biorelevant *in-vitro* models: comparing the USP dissolution apparatus II and the dynamic gastric model with human *in-vivo* data, *American Association of Pharmaceutical Scientists*, **12**(2), 620-626 (2011).
 12. E. Marrone, *Confronto dei profili di rilascio di Diclofenac da formulazioni farmaceutiche utilizzando differenti apparati di dissoluzione*, Tesi in Principi di Ingegneria Chimica, 2014/2015.
 13. [Sotax (Solutions for pharmaceutical testing), USP II] <http://www.sotax.com/products/dissolution-testing/usp-1-2-5-6>
 14. [Sotax (Solutions for pharmaceutical testing), USP IV] <http://www.sotax.com/products/dissolution-testing/usp-4/>
 15. C. Govetosa, *Un modello in-vitro per la simulazione del comportamento termomeccanico dello stomaco umano*, Tesi in Principi di Ingegneria Chimica, 2012/2013.
 16. M. Iannaccone, *Simulazione del rilascio di farmaci e dello scambio di materia nel tratto gastrointestinale*, Tesi in Principi di Ingegneria Chimica, 2012/2013.
-

Ed eccomi ai ringraziamenti.

Desidero ringraziare il Prof. Gaetano Lamberti per avermi dato la possibilità di prendere parte a questo lavoro di tesi. Un ringraziamento particolare va poi all'Ing. Sara Cascone che mi ha seguito durante tutta l'attività di tesi.

Ringrazio tutti quelli che mi hanno accompagnato e supportato durante questi tre anni.

*“Ergo vivida vis animi pervicit et extra
processit longe flammantia moenia mundi
atque omne immensum peragravit mente animoque”*

Lucrezio, De rerum natura I,72-74

