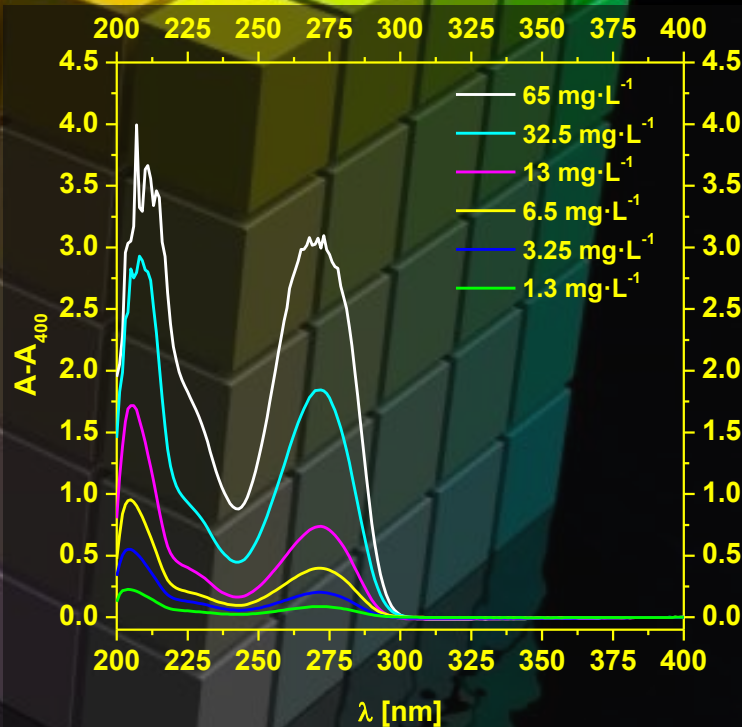


Analisi della permeabilità di principi attivi in membrane sintetiche mediante cella di Franz



Valentina Pacia



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

Dipartimento di Ingegneria Industriale

Corso di Laurea in Ingegneria Chimica

Analisi della permeabilità di principi attivi in membrane sintetiche mediante cella di Franz

Tesi in

Principi di Ingegneria Chimica

Relatori:

Prof. Ing. Giuseppe Titomanlio

Prof. Ing. Gaetano Lamberti

Correlatore:

Ing. Sara Cascone

Candidato:

Valentina Pacia

matricola 0612200039

Anno Accademico 2012/2013

A me.

Questo testo è stato stampato in proprio, in Times New Roman
La data prevista per la discussione della tesi è il 24 Luglio 2013
Fisciano, 18/07/13

Sommario

Sommario	I
Indice delle figure	III
Indice delle tabelle.....	VII
Abstract	IX
Introduzione.....	1
1.1 Somministrazione per via orale _____	2
1.2 Assorbimento dei farmaci _____	3
1.2.1 Fisiologia del tratto gastrointestinale	4
1.2.2 Permeabilità attraverso le membrane	5
1.3 Stato dell' arte _____	5
1.3.1 Parallel Artificial Membrane Permeability Assay (PAMPA)	5
1.3.2 Caco-2 monolayer	7
1.3.4 Gruppo di ricerca dell'università di Salerno[5].	9
1.4 Obiettivi _____	10
Materiali e metodi	11
2.1 Materiali _____	12
2.1.1 Diclofenac sodium	12
2.1.2 Teofillina	12
2.1.2 Propranololo	13
2.1.3 Mezzi di dissoluzione	14

Pag.II	Analisi della permeabilità	Valentina Pacia
2.1.4	Membrana	14
2.2	Apparecchiature	15
2.2.1	Cella di Franz	15
2.2.2	Spettrofotometro UV-Visibile	15
2.2.3	HPLC	16
2.3	Metodi	17
2.3.1	Sistema di scambio	17
2.3.2	Metodo analitico basato su spettrofotometria UV	17
2.3.3	Metodo analitico basato su HPLC	19
Modellazione matematica		23
Risultati e discussione		29
4.1	Analisi con spettrofotometro UV	30
4.1.1	Diclofenac sodium	30
4.1.2	Teofillina	36
4.1.3	Propranololo	41
4.1.4	Valutazione sulla permeabilità	47
4.2	Analisi con HPLC	47
4.2.1	Diclofenac sodium	47
4.2.2	Teofillina	54
4.2.3	Propranololo	61
4.2.4	Valutazioni sulla permeabilità	68
Conclusioni		69
4.1	Conclusioni	70
4.2	Sviluppi futuri	71
Bibliografia		73

Indice delle figure

Figura 1 Sistema di classificazione biofarmaceutico definito dalla FDA dopo Amidon et al.	2
Figura 2. Sezione trasversale del sistema PAMPA	6
Figura 3. Assorbimento negli umani contro il flusso PAMPA a pH 6.5 (A) e 7.4 (B)	6
Figura 4. Caco-2 monolayer coltivate in filtro di policarbonato	8
Figura 5. Rapporto di permeabilità di più sostanze attraverso Caco-2 monolayer e il tessuto dell'intestino crasso umano	9
Figura 6. Struttura del Diclofenac sodium.....	12
Figura 7.Struttura della teofillina.....	13
Figura 8. Struttura del propranololo	14
Figura 9. Immagine della Cella di Franz	15
Figura 10. Schema a blocchi di una spettrofotometro	16
Figura 11. Immagine dell'HPLC	17
Figura 12. Spettrografica del diclofenac.....	18
Figura 13.Taratura del diclofenac.....	19
Figura 14. Tipico cromatogramma del diclofenac, i punti rappresentano gli estremi dell'integrale, l' area tratteggiata l'integrale dell'area sottesa alla curva.....	21
Figura 15. Retta di taratura del diclofenac.....	22
Figura 16. Schema del sistema di scambio	24
Figura 17. Andamento delle concentrazioni nel tempo	26
Figura 18. Spettri delle prove per la taratura.	30
Figura 19. Retta di taratura per il diclofenac	31
Figura 20. Spettri per il diclofenac a 30 min (A) 159 min (B) e 179 min (C)	32
Figura 21. Profilo delle concentrazioni del donatore e dell'accettore per il diclofenac	33

Figura 22. Logaritmo della differenza delle concentrazione contro tempo per il diclofenac	34
Figura 23. Comparazione del modello con i dati sperimentali	35
Figura 24. Spettri delle prove per la taratura della teofillina	36
Figura 25. Retta di taratura per la teofillina	37
Figura 26. Spettri per la teofillina a15 min (A) 30 min (B) 90 min (C).....	38
Figura 27. Profilo delle concentrazioni del donatore e dell'accettore per la teofillina.....	39
Figura 28. Logaritmo della differenza delle concentrazione contro tempo per la teofillina.....	40
Figura 29. Comparazione del modello con i dati sperimentali	41
Figura 30. Spettri delle prove per la taratura	42
Figura 31.Retta di taratura	43
Figura 32.Spettri per il propranololo a 15 min (A) 45min (B) e 120 min (C)	44
Figura 33. Profilo delle concentrazioni del donatore e dell'accettore per il propranololo.....	45
Figura 34. Logaritmo contro tempo per il propranololo	45
Figura 35. Comparazione del modello con i dati sperimentali	46
Figura 36.Cromatogrammi delle varie prove.....	48
Figura 37. Retta di taratura del diclofenac.....	49
Figura 38. Cromatogrammi dei donatori	50
Figura 39. Cromatogrammi degli accettori.....	51
Figura 40. Profilo delle concentrazioni del donatore e dell'accettore per il diclofenac	52
Figura 41. Logaritmo contro tempo per il diclofenac	53
Figura 42. Comparazione del modello con i dati sperimentali	54
Figura 43. Cromatogramma delle prove della teofillina	55
Figura 44.Retta di taratura della TP con HPLC	56
Figura 45. Cromatogrammi dei donatori Tp.....	57
Figura 46.Cromatogrammi degli accettori Tp	58
Figura 47. Profilo delle concentrazioni del donatore e dell'accettore per la teofillina.....	59
Figura 48. Logaritmo contro tempo per la teofillina.....	60
Figura 49. Comparazione del modello con i dati sperimentali	61

Figura 50. Cromatogrammi delle prove con il propranololo	62
Figura 51. Retta di taratura del propranololo.....	63
Figura 52. Cromatogrammi dei donatori per il propranololo	64
Figura 53. Cromatogrammi degli accettori per il propranololo.....	65
Figura 54. Profilo delle concentrazioni del donatore e dell'accettore per il propranololo	66
Figura 55. Logaritmo contro tempo per il propranololo	66
Figura 56. Comparazione del modello con i dati sperimentali	67

Indice delle tabelle

Tabella 1. Proprietà fisiche del tratto gastrointestinale.....	4
Tabella 2. Dati chimici, fisici e farmacocinetici del Diclofenac Sodium	12
Tabella 3. Dati chimici, fisici e farmacocinetici della Teofillina.....	13
Tabella 4. Dati chimici, fisici e farmacocinetici del propranololo.....	14
Tabella 5. Metodo dell'HPLC per rilevare la teofillina.....	20
Tabella 6. Metodo dell'HPLC per rilevare il diclofenac	20
Tabella 7. Metodo dell'HPLC per rilevare il propranolo	20
Tabella 8. Valori delle concentrazioni e delle assorbanze per ogni prova.....	31
Tabella 9 Concentrazioni per ogni tempo del diclofenac.	33
Tabella 10. Logaritmo della differenza delle concentrazioni per ogni tempo	34
Tabella 11 Paramenti utilizzati per risolvere i bilanci.	35
Tabella 12. Valori delle concentrazioni e delle assorbanze per ogni prova.....	36
Tabella 13. Concentrazioni della teofillina per ogni tempo.....	39
Tabella 14. Tempo e logaritmo delle differenze di concentrazioni per la teofillina	40
Tabella 15. Paramenti utilizzati per risolvere i bilanci relativi alla teofillina.....	41
Tabella 16. Valori delle concentrazioni e delle assorbanze per ogni prova.....	42
Tabella 17. Concentrazioni del propranololo per ogni tempo	44
Tabella 18. Valori del logaritmo per ogni tempo	46
Tabella 19. Paramenti utilizzati per risolvere i bilanci	46
Tabella 20. Confronto tra le permeabilità.....	47
Tabella 21. Valori delle concentrazioni e dell'integrale per ogni prova.....	48
Tabella 22. Concentrazioni per ogni tempo del diclofenac	52

Tabella 23. . Tempo e logaritmo per il diclofenac	53
Tabella 24. Parametri utilizzati per risolvere i bilanci.	54
Tabella 25. Valori delle concentrazioni e dell'integrale per ogni prova	55
Tabella 26. Concentrazioni della teofillina per ogni tempo	58
Tabella 27 Tempo e logaritmo per la teofillina.	59
Tabella 28. Parametri utilizzati per risolvere i bilanci	60
Tabella 29. Valori delle concentrazioni e dell'integrale per ogni prova	62
Tabella 30. Concentrazioni del propranololo per ogni tempo.....	65
Tabella 31. Valori del logaritmo per ogni tempo.....	67
Tabella 32. . Parametri utilizzati per risolvere i bilanci	67
Tabella 33. Confronto tra ledelle permeabilità valutate con spettrofotometro UV e HPLC e il valore in vivo	68

Abstract

The aim of this work is to determine the permeability of some drugs through a synthetic membrane used to simulate the intestinal wall and the transport of drug from the intestine to the circulatory system. To this purpose, a simple method based on the use of a Franz cell was developed. The donor and acceptor compartments of this cell are separated from the membrane Immobilon.^(R). The donor compartment was filled by a buffer solution at pH 6.8 rich in drug and the acceptor one of pure buffer solution. In this work a series of experiments at different times were carried out for each molecule in the examination. During the time the concentrations both in the donor and the acceptor compartment were monitored. The cell was immersed in a bath heated to 37°C, which corresponds to the physiological temperature, for a predetermined time. At the end of the test period, the concentration of the drug was evaluated in both the donor compartment and the acceptor one by an UV spectrometer and HPLC. Also a mathematical model was developed to determine the profiles of the two concentrations with time and the permeability through the membrane.

The permeability, evaluated after the analysis by the spectrometer and by HPLC, was compared with that evaluated in vivo and with that obtained using another membrane. It is seen that the permeability through the membrane used in this work, obtained after spectrometer analysis, is smaller than the permeability obtained in the same research group, using a cellulose acetate membrane. Then, the membrane used show more resistance to the drug transport between the two compartments. The permeability obtained by HPLC analysis

is similar to that obtained by spectrophotometer analysis. However, because the concentrations and the volumes are small, the use of an HPLC method is more reliable from the spectrometer.

Finally, comparing the permeability, evaluated after spectrophotometer analysis and HPLC, with the in vivo values, it can be noted that the values are almost similar. Therefore, the system proposed appears suitable for the drug absorption studies.

Bibliografia

1. Wu C., Benet L. Z., *Biopharmaceutics Classification System: The Scientific Basis for Biowaiver Extensions*, Pharmaceutical Research 22(1): pp 11-23 (2002)
2. Avdeef A. , *Absorption and Drug Development:solubility, permeability, and charge state*, cap.1, Hoboken:John Wiley & Sons, Inc. (2003)
3. Avdeef A. , *Absorption and Drug Development:solubility, permeability, and charge state*, cap.2. , Hoboken:John Wiley & Sons, Inc. (2003)
4. Avdeef A.,*Absorption and Drug Development:solubility, permeabilit , and charge state*, cap7, Hoboken:John Wiley & Sons, Inc. (2003)
5. Cascone S.,*In vitro and in silico models in pharmacokinetic studies*, tesi di dottorato (2013)
6. B. Dressman H. Lennernäs, *Oral Drug Absorption Prediction and Assessment*, cap.2, Marcel Dekker, Inc.(2000)

