



Preparazione di sistemi farmaceutici a rilascio controllato nel tratto GI

Preparazione di sistemi farmaceutici a rilascio controllato nel tratto GI

Rossella Lamberti

Rossella Lamberti



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

Facoltà di Ingegneria

Corso di Laurea in Ingegneria Chimica

Preparazione di sistemi farmaceutici a rilascio controllato nel tratto GI

Tesi in

Principi di Ingegneria Chimica

Relatori:

Prof. Ing. Gaetano Lamberti

Prof. Ing. Anna Angela Barba

Correlatrice:

Ing. Annalisa Dalmoro

Candidata:

Rossella Lamberti

matricola 0612200014

Anno Accademico 2012/2013

*Non accontentarti dell'orizzonte...cerca
l'infinito*

Questo testo è stato stampato in proprio, in Times New Roman
La data prevista per la discussione della tesi è il 21/06/2013
Fisciano, 14/06/2013

Sommario

Sommario	I
Indice delle figure	III
Indice delle tabelle	V
Abstract	VII
Introduzione.....	1
1.1 Rilascio controllato dei farmaci	2
1.2 Microparticelle	3
1.3 Nanoparticelle	6
1.4 Metodi di preparazione	9
1.5 Obiettivo della tesi	11
Stato dell'arte.....	13
2.1 Analisi dei lavori di letteratura	14
2.1.1 Microparticelle a base di PLGA cariche di budesonide	14
2.1.2 Particelle a base di PLA caricate con budesonide	16
2.1.3 Preparazione e caratterizzazione di micro particelle a base di Eudragit S caricate di BDS e contenenti nuclei di CAB.	18
2.1.4 Nanoparticelle a base di poliesteri caricate con α -tocoferolo	20
2.1.5 Microparticelle a base di poly(MMA-AA) caricate con α -TC e tamoxifen	20
Materiali, metodi e apparecchiature	21

3.1 Materiali	22
3.1.1 Budesonide	22
3.1.2 PMMA-AA	23
3.2 Altri materiali	24
3.3 Metodi	25
3.3.1 Preparazione delle particelle	25
3.3.2 Selezione solvente	27
3.3.4 Analisi dimensionale	28
3.3.5 Misura del PVA residuo nelle particelle	28
3.3.6 Rilascio	29
3.4 Apparecchiature	29
3.4.1 Sonicatore	29
3.4.2 Centrifuga	31
3.4.3 Microscopio ottico	32
3.4.4 SEM	33
3.4.5 HPLC	33
3.4.6 Spettrofotometro	34
Risultati e discussione	37
4.1 Resa in polveri	38
4.2 Analisi dimensionale delle particelle	41
4.3 Retta di taratura della budesonide	42
4.4 Retta di taratura del PVA	44
4.5 Rilascio	45
Conclusioni	55
5.1 Conclusioni	56
Bibliografia	59

Indice delle figure

Figura 1: Immagine al microscopio elettronico della morfologia di una microcapsula.....	4
Figura 2: Esempio di cinetica di rilascio in una microcapsula.	4
Figura 3: Struttura delle microparticelle: A) Microsfera omogenea o tipo gel; B) Microcapsula monolitica (tipo matrice); C) Microcapsula mononucleata; D) Microcapsula polinucleata; E) Microcapsula tipo double core; F) Microcapsula a doppia parete. [4].....	5
Figura 4: A sinistra è raffigurata la struttura delle nanocapsule e la distribuzione uniforme del principio attivo nel cuore del sistema circondato dalla membrana polimerica. A destra è rappresentata la struttura delle nanosfere in cui il farmaco è intrappolato o disciolto all'interno della matrice polimerica.	7
Figura 5: Esempi di nano sistemi.	8
Figura 6: Preparazione di nanoparticelle attraverso la tecnica dell'evaporazione di solvente da doppia emulsione.....	11
Figura 7: Rilascio di budesonide a diversi valori di pH per particelle ricoperte con Eudragit (simboli pieni) e non ricoperte (simboli aperti), prodotte utilizzando diversi pesi molecolari di PLGA (H=73000; L=5000).	15
Figura 8. Analisi morfologica delle particelle a base di PLA caricate con budesonide. (A) TEM microfotografia di particelle a base di PLA caricate con budesonide. La barra indica 0.5 μ m (B) SEM microfotografia di particelle a base di PLA caricate con budesonide.	16
Figura 9: Profili di rilascio in vitro di budesonide da nano particelle a base di PLA (cerchi piccoli) e microparticelle (cerchi larghi) (A) Rilascio cumulativo di Budesonide conto il tempo.	17
Figura 10: Scansione al microscopio elettronico di una sezione trasversale di microparticelle contenenti Eudragit S caricate con budesonide e aventi "core" di acetato butirrico di cellulosa.	19
Figura 11: Profili di rilascio in vitro ottenuti da microparticelle Eudragit S contenenti budesonide (BDS) direttamente incapsulate (BDS} MCP) o inclusi in nuclei CAB (BDS-CAB} MCP). I dati sono media $\pm$ S.D., n = 4.	19
Figura 12: Struttura chimica della budesonide.	22

Figura 13: struttura del PMMA-AA.	24
Figura 14: Schematizzazione del processo di emulsificazione.	26
Figura 15: Sonicatore VCX 130 PB Ultrasonic Processors.	30
Figura 16: Microscopio ottico.....	32
Figura 17: Spettrofotometro.....	34
Figura 18: immagine scattata al SEM delle particelle (A1- PMMA-AA 73%) ottenute dall'emulsione al termine delle operazioni di centrifugazione ed essiccamento.	40
Figura 19: Immagine scattata al SEM delle particelle (A3- PMMA-AA 75%) ottenute dall'emulsione al termine delle operazioni di centrifugazione ed essiccamento.	40
Figura 20: distribuzione dimensionale delle particelle a base di PMMA-AA 73%.	41
Figura 21: distribuzione dimensionale delle particelle a base di PMMA-AA 75%.	42
Figura 22: Cromatogrammi di soluzioni di budesonide a varie concentrazioni usando una portata di eluente di 1.3 ml/min.	43
Figura 23: Cromatogrammi di soluzioni di budesonide a varie concentrazioni , usando una portata di eluente di 1 ml/min.	43
Figura 24: Valutazione della costante di proporzionalità tra la concentrazione di budesonide e i valori dell'area dei cromatogrammi ottenuti all'HPLC, con una portata di eluente pari a 1 ml/min.	44
Figura 25: Valutazione della costante di proporzionalità tra concentrazione ed assorbanza per il PVA.	45
Figura 26: Quantità di budesonide rilasciata dalle particelle del campione S1 aventi carico teorico pari a 2.70 mg (---).	47
Figura 27: Percentuale di farmaco rilasciato sulla massa totale di particelle del campione S2 con un carico teorico pari a 2.82 mg (---).....	48
Figura 28: Percentuale di farmaco rilasciato sulla massa totale di particelle del campione S3 con un carico teorico pari a 3.04 mg (---).....	49
Figura 29: Percentuale di farmaco rilasciato sulla massa totale di particelle del campione S4 con un carico teorico pari a 4.01 mg (---).....	51

Indice delle tabelle

Tabella 1: Principali metodi di preparazione delle micro particelle.[4]	9
Tabella 2: Efficienza d'incapsulamento e dimensione di microparticelle e nanoparticelle a base di PLA caricate con budesonide.....	17
Tabella 3: prove di solubilità	28
Tabella 4: composizione delle soluzioni utilizzate per le emulsioni.	38
Tabella 5: composizione delle soluzioni utilizzate per le emulsioni.	39
Tabella 6: Valori riassuntivi della budesonide per S1(PMMA-AA 73%).	47
Tabella 7: Valori riassuntivi della budesonide per A2 (PMMA-AA 73%).	48
Tabella 8: Valori riassuntivi della budesonide per S3 (PMMA-AA 75%).	50
Tabella 9: Valori riassuntivi di budesonide per S4 (PMMA-AA 75%).....	51
Tabella 10: Valori riassuntivi di rilascio dei quattro campioni analizzati.	52
Tabella 11: Confronto delle rese di incapsulamento in funzione di alcune proprietà chimiche delle molecole analizzate [24].	52

Abstract

The aim of this work was to produce pharmaceutical systems for controlled delivery of budesonide in the gastro-intestinal tract, interesting for the therapy of Crohn's disease.

A copolymer of methylmethacrylate (MMA, hydrophobic monomer) and acrylic acid (AA, hydrophilic monomer), PMMA-AA, synthesized by the research group, was used. The different percentage of hydrophobic monomer, MMA, gives a different hydrophobic feature to the polymeric chain, bringing to a dissolution variable with pH. therefore, a single class of copolymers, with similar physical properties, can dissolve and release the drug at the pH chosen in function of the initial ratio between the two starting monomers.

In this work, two copolymers, with 73% (dissolution pH: 6.8) and 75% (only swelling) of MMA respectively, were used to produce microparticles as drug delivery system. In particular the solvent evaporation from multiple emulsions technique was applied to obtain the microparticles.

Particles' size was in the range between 1 μ m and 10 μ m, as found out by image analysis (images from optical microscope). SEM analysis showed a high particles porosity, probably due to the different nature of the solvents used during preparation.

Micro-particles were subjected to release tests at different pH to assess their enteric properties, doing samples taking at predetermined intervals for a total duration of 6 hours. Budesonide loading was similar for the two polymers (49%-51%), while the PMMA-AA_73% assured a smaller percentage of budesonide lost at pH 1 than PMMA-AA_75%.

Then, comparison between results of budesonide encapsulation and tocopherol and tamoxifen encapsulation (results of a previous experimental work), all in PMMA-AA_73% microparticles, was done.

The loading of budesonide was 51% against the 76% of tamoxifen because the latter is less soluble in ethanol and then less subjected to exit from the system during the preparation. Instead, budesonide's loading was comparable to tocopherol's loading, although budesonide has a higher polar surface area, so it is more soluble in polar solvents. This behavior can be explained by a higher steric hindrance of the budesonide molecule.

Bibliografia

1. Yang L., Chu J.S., Fix J.A., Colon-specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation, *International Journal of Pharmaceutics* **235** 1–15 (2002).
2. Obeidat W.M., Price J.C., Preparation and evaluation of Eudragit S 100 microspheres as pH-sensitive release preparations for piroxicam and teophylline using the emulsion-solvent evaporation method, *Journal of Microencapsulation* **23** (2) 195-202 (2006).
3. Barakat N.S., Ahmad A.A.E., Diclofenac sodium loaded-cellulose acetatebutyrate: Effect of processing variables on microparticles properties, drug release kinetics and ulcerogenic activity, *Journal of Microencapsulation*. **25** (1) 31-45 (2008).
4. Colombo P., Catellani P.L., Gazzaniga A., Menegatti E., Vidale E., *Principi di tecnologie farmaceutiche*, Casa Editrice Ambrosiana, Milano(2004).
5. Couvreur P., Blanco-Prieto M.J., Puisieux F., Roques B., Fattal E., *Multiple emulsion technology for the design of microspheres containing peptides and oligopeptides*, *Advanced Drug Delivery Reviews*. **28** 85-96 (1997).
6. Couvreur P., Vauthier C. Nanotechnology: *Intelligent Design to Treat Complex Disease*, *Pharmaceutical Research*, (2006) **23** (7) 1417-1450.
7. Benoit MA, Baras B, Gillard J. *Preparation and characterization of protein-loaded poly(epsilon-caprolactone) microparticles for oral vaccine delivery*. *Int J Pharm*. **184**(1), 73-84, (1999).
8. Barba A.A., Dalmoro A., De Santis F., Lamberti G., Synthesis and characterization of P(MMA-AA) copolymers for targeted oral drug delivery, *Polymer Bulletin* **62** (5) 679-688 (2009).

9. Kenneth S. Suslick - The Chemistry of ultrasound (from The Yearbook of Science & the Future 1994; *Encyclopaedia Britannica*: Chicago, 1994; pp **138-155**).
10. www.sonics.biz.
11. Robert Perry; Don W. Green, *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, 8th edition, McGraw-Hill (2007).
12. Y. Krishnamachari, P. Madan, S. Lin, Development of pH- and time-dependent oral microparticles to optimize budesonide delivery to ileum and colon, *International Journal of Pharmaceutics* **338** 238–247, (2007).
13. Kompella, U.B., Bandi, N., Ayalasomayajula, S.P., Poly(lactic acid) nanoparticles for sustained release of budesonide. *Drug Deliv. Technol.* **1**, 28–34, 2001.
14. S. K. Sahoo , J. Panyam , S. Prabha , V. Labhasetwar, Residual polyvinyl alcohol associated with poly(D,L-lactide-co-glycolide) nanoparticles affects their physical properties and cellular uptake, *Journal of Controlled Release*, **82**,105-114 (2002).
15. M. K. Li and H. S. Fogler, Acoustic emulsification. Part 1. The instability of the oil-water interface to form the initial droplets, *Journal of Fluid Mechanics*, **88**(3), 499 - 511 (1978).
16. M. K. Li and H. S. Fogler, Acoustic emulsification. Part 2. Breakup of the large primary oil droplets in a water medium, *Journal of Fluid Mechanics*, **88**(3), 513 - 528 (1978).
17. Baker, D.E., Budesonide modified release capsules. *Rev. Gastroenterol. Disord.* **1**, 147–155, 2001.
18. Feagan, B.G., Sandborn,W.J., Initial therapy for mild to moderate Crohn's disease: mesalmaine or budesonide? *Rev. Gastroenterol. Disord.* **2**, s9–s15, 2002.
19. Klotz, U., Schwab, M., Topical delivery of therapeutic agents in the treatment of inflammatory bowel disease. *Advanced Drug Deliv. Rev.* **57**, 267–279, 2005.
20. Vascello C., Produzione di nanoparticelle per evaporazione di solvente da emulsioni multiple, Laurea Magistrale in Ingegneria Chimica, Università degli Studi di Salerno. (2013).
21. M. Rodriguez, J. A. Antùnez, C. Taboada, B.Seijo, D. Torre, Colon-specific delivery of budesonide from microencapsulated cellulosic cores: evaluation of the efficacy against colonic inflammation in rats, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2001, **53**: 1207-1215.

22. Ellul-Micallef R., Johansson S.A., Br. Journal of Clinical Pharmacology. 1983, **15**, 419, 1983.
23. Holopainen E. et al., European. Journal of Respiratory Diseases, , **63**, Suppl. 122, 221, 1982.
24. www.chemspider.com.

Ringraziamenti

Ringrazio il Prof. Lamberti e la Prof.ssa Barba per avermi dato l'opportunità di partecipare a questo progetto di tesi e per la loro grande disponibilità.

Ringrazio la mia correlatrice "Lisiliii" per la pazienza, la gentilezza e l'enorme aiuto dato.

Ringrazio Barbara, Sabrina e Imma per tutti i bellissimi momenti trascorsi in laboratorio.

Ringrazio, infine, la mia famiglia per avermi supportato e sopportato sempre e comunque.
