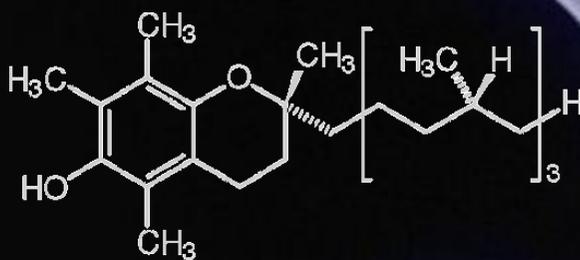


# Studio del rilascio di $\alpha$ -tocoferolo da geli biocompatibili per applicazioni medicali



Vincenzina  
Robertiello





UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

**Facoltà di Ingegneria**

Corso di Laurea in Ingegneria Chimica

# **Studio del rilascio di $\alpha$ -tocoferolo da geli biocompatibili per applicazioni medicali**

Tesi in

**Principi di Ingegneria Chimica**

Relatori:

Prof. Ing. Gaetano Lamberti

Prof. Ing. Anna Angela Barba

Correlatore:

Ing. Annalisa Dalmoro

Candidata:

Vincenzina Robertiello

matricola 0612200159

**Anno Accademico 2011/2012**



*L'essenziale è provare a fare in modo di avere  
sempre qualcosa in cui credi da inseguire, per non restare a piedi.*

*l'essenziale è riuscire a dare forma anche a quello  
che ti sembra assurdo e se pensi al futuro non tutto è perduto.*

Questo testo è stato stampato in proprio, in Times New Roman  
La data prevista per la discussione della tesi è il 21 febbraio 2013  
Fisciano, 8 febbraio 2013

# Sommario

<b>Sommario .....</b>	<b>I</b>
<b>Indice delle figure .....</b>	<b>III</b>
<b>Indice delle tabelle .....</b>	<b>VII</b>
<b>Introduzione .....</b>	<b>1</b>
1.1 Gli idrogeli .....	2
1.1.1 Generalità .....	2
1.1.2 Gli idrogeli di pluronico e alginato .....	2
1.2 Il rilascio di farmaci da idrogeli .....	4
1.2.1 Gli idrogeli per il gel paving di stent coronarici .....	5
1.3 Lo stato dell'arte .....	8
1.3.1 Limite di gelazione del Pluronic ed effetto del co-soluto .....	8
1.3.2 Rilascio di sostanze idrosolubili da film di pluronico e alginato .....	12
1.4 Obiettivi del lavoro di tesi .....	15
<b>Materiali e metodi .....</b>	<b>17</b>
2.1 Materiali .....	18
2.1.1 Alginati .....	18
2.1.2 Pluronici .....	21
2.1.3 $\alpha$ -Tocoferolo .....	25
2.1.4 Solventi e reagenti .....	26
2.2 Apparecchiature .....	26
2.2.1 Bagno termostato .....	26

---

2.2.2 Spettrofotometro	26
2.2.3 Texture analyzer	27
2.2.4 Centrifuga	28
2.2.5 Altre apparecchiature	28
<b>2.3 Metodi</b>	<b>28</b>
2.3.1 Soluzioni di Pluronic, Alginato e $\alpha$ -tocoferolo	29
2.3.2 Soluzione reticolante a base di solfato di rame	30
2.3.3 Preparazione dei film	30
2.3.4 Soluzione tampone bicarbonato	31
2.3.5 Osservazione dell'effetto co-soluto	32
2.3.6 Test di dissoluzione	34
2.3.7 Metodo analitico per la misura dell' $\alpha$ -TC rilasciato	35
<b>Risultati e discussione</b>	<b>45</b>
3.1 Test sull'effetto co-soluto	46
3.2 Curve di rilascio	49
3.3 <i>Fitting</i> delle cinetiche di rilascio	56
<b>Conclusioni</b>	<b>59</b>
4.1. Conclusioni	60
<b>Bibliografia</b>	<b>61</b>

---

## Indice delle figure

Figura 1. A) Unimero di pluronico; B) Micella di pluronico .....	3
Figura 2. Struttura ad <i>egg box</i> dell'alginato .....	4
Figura 3. Rappresentazione schematica del rilascio di farmaco da un gel. Le linee rosse indicano le catene polimeriche; le frecce in giallo evidenziano l'aumento di volume; il rilascio del farmaco è indicato in verde; in blu si può vedere la zona di gel non rigonfiata.....	5
Figura 4. Intervento di angioplastica mediante catetere a palloncino [7] .....	6
Figura 5. Sezione di un'arteria in presenza di un sistema di rilascio "stent-medicato" .....	8
Figura 6. Diagramma di fase del Pluronic F127 ricavato da Malmsten e Lindman. I cerchi vuoti indicano la curva di gelificazione, quelli pieni il <i>cloud point</i> .....	9
Figura 7. Diagramma di fase del Pluronic F127 in presenza di NaCl (cerchi con le croci) confrontato con quello in soluzione acquosa semplice (cerchi bianchi).....	10
Figura 8. Diagramma di fase del Pluronic F127 in presenza di NaSCN (cerchi con le croci) confrontato con quello in soluzione acquosa semplice (cerchi bianchi).....	10
Figura 9. Diagramma di fase del <i>Pluronic</i> F127 in presenza di p-xilene in rapporto idrocarburo-polimero di 10/1 (cerchi con le croci) confrontato con quello in soluzione acquosa semplice (cerchi bianchi).....	11
Figura 10. Struttura della molecola di teofillina.....	12
Figura 11. Schematizzazione delle tre diverse tipologie di prove di rilascio.....	13
Figura 12. Grafico del rilascio di teofillina nel tempo (A1, A2 e A3 rappresentano le tre diverse prove effettuate).....	13
Figura 13. Struttura della vitamina B12 .....	14
Figura 14. Profilo del rilascio di B12 caricato in miscele di alginato Sigma/PF127 (quadrato pieno) e alginato FMC/PF127(cerchio vuoto) .....	15
Figura 15. Alginato: in alto è rappresentata la struttura dell'acido D-mannuronico (M) e l'acido L-guluronico (G); in basso la struttura del polimero ....	18

Figura 16. Rappresentazione schematica del processo di gelificazione indotto dallo ione calcio in accordo con la teoria “egg-box” .....	20
Figura 17. Effetto della concentrazione del catione, rappresentato dalle sfere, sulla struttura del gel: sinistra, modello a basso contenuto di catione; destra, modello ad alto contenuto di catione .....	21
Figura 18. Griglia dei Pluronic (“L” = Liquido, “P” = pasta, “F” = solido) .....	22
Figura 19. Griglia dei <i>Pluronic</i> nella quale compare, evidenziata in viola, l’area di <i>best gel formation</i> .....	22
Figura 20. Blocchi del polimero di pluronico .....	23
Figura 21. Illustrazione della CMC e delle CGC in una soluzione di copolimero a blocchi .....	23
Figura 22. Micelle con farmaco solubilizzato .....	24
Figura 23. Struttura dell’ $\alpha$ -tocoferolo .....	25
Figura 24. Sistema di termostatazione .....	26
Figura 25. <i>TA.XT Plus Texture Analyzer</i> .....	27
Figura 26. Condizioni operative impostate per le misure di compressione meccanica .....	33
Figura 27. Rilascio di principio attivo da lato rame di <i>hard gel</i> e <i>soft gel</i> .....	34
Figura 28. A sinistra dispositivo di dissoluzione; a destra dettaglio del becher contenente il reticolo in metallo su cui è poggiata la piastra Petri .....	35
Figura 29. Valutazione della costante di proporzionalità tra costante ed assorbanza per il tocoferolo a pH 7.4 .....	38
Figura 30. Spettro dell’assorbanza di una soluzione di $\alpha$ -TC in funzione della lunghezza d’onda .....	39
Figura 31. Spettro traslato rispetto al valore dell’assorbanza a 400 nm .....	40
Figura 32. Funzione esponenziale da sottrarre come linea di base allo spettro .....	41
Figura 33. Sottrazione tra lo spettro dell’assorbanza e l’esponenziale .....	41
Figura 34. Curva ottenuta dalla sottrazione (linea tratto-punto) fittata con la gaussiana (linea continua) .....	42
Figura 35. Valutazione della costante di proporzionalità tra costante ed assorbanza per il tocoferolo a pH 7.4 con i valori ottenuti dal metodo della sottrazione spettrale .....	43
Figura 36. Confronto tra i tre <i>step</i> per i campioni senza tocoferolo .....	46
Figura 37. Andamento dello sforzo in funzione della deformazione, per i campioni senza gelificare .....	47
Figura 38. Andamento dello sforzo contro la deformazione del <i>soft gel</i> .....	48

---

Figura 39. Andamento dello sforzo contro la deformazione del <i>soft gel + hard gel</i> .....	49
Figura 40. Spettri realizzati allo spettrofotometro, relativi ad una piastra disciolta a 350 rpm .....	50
Figura 41. Andamento del tocoferolo rilasciato nel tempo a 200 rpm .....	51
Figura 42. Andamento del tocoferolo rilasciato nel tempo a 350 rpm .....	52
Figura 43. Andamento del tocoferolo rilasciato nel tempo a 500 rpm .....	52
Figura 44. Quantità di TC rilasciata nel tempo, applicando un'agitazione di 200 rpm .....	53
Figura 45. Quantità di TC rilasciata nel tempo, applicando un'agitazione di 350 rpm .....	54
Figura 46. Quantità di TC rilasciata nel tempo, applicando una velocità di 500 rpm .....	54
Figura 47. Confronto tra i tre tipi di test di rilascio di TC .....	55
Figura 48. <i>Fitting</i> dei dati con un'equazione a legge di potenza .....	57

---



## Indice delle tabelle

Tabella 1. Composizione percentuale degli alginati in alghe differenti .....	19
Tabella 2. Coefficienti di selettività per due alginati.....	19
Tabella 3. Contenuto di $\alpha$ -tocoferolo aggiunto alla miscela per ottenere le soluzioni a diversa concentrazione .....	30

---



# Bibliografia

1. Colombo P., P.L. Catellani, A. Gazzaniga, E. Menegatti, E. Vidale, Principi di tecnologie farmaceutiche, Casa Editrice Ambrosiana, Milano, 2004
2. Claro M., Applicazione di tecniche crioporosimetriche ad idrogeli biocompatibili, *Tesi di laurea in Ingegneria Chimica, Univeristà degli Studi di Salerno (2011)*
3. Grassi G., M. Grassi, Lapasin R., Colombo I., Undersanding Drug Release and Adsorption Mechanisms, CRC Press (2007)
4. Hong K.H., Jeon Y.S., Chung D.J., Kim J.H., Drug Release Characteristics of Modified PHEMA Hydrogel Containing Thermo-responsive Pluronic Copolymer. *Macromolecular Research* **18** 204-207 (2010)
5. Dalmoro A., A.A Barba, G. Lamberti, M. Grassi, M. D'Amore, Pharmaceutical Applications of Biocompatible Polimery Blends Containing Sodium Alginate, *Advances in Polymer Technology* **3** 219-230 (2012).
6. [http://www.cibo360.it/cibo\\_salute/aterosclerosi/](http://www.cibo360.it/cibo_salute/aterosclerosi/)
7. <http://www.farmacoecura.it/uncategorized/angioplastica-coronarica/>
8. Malmsten M., Lindman B., Self assembly in aqueous block copolymers solutions, *Macromolecules* **25** 5440-5445 (1992)
9. Barba A.A. d'Amore M., Grassi M., Chirico S., Lamberti G., TitomanlioG., Investigation of PluronicVC F127–Water Solutions Phase Transitions by DSC and Dielectric Spectroscopy, *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 114, 688–695 (2009)
10. Ruocco C., Meccanismi di rilascio di farmaci da un doppio strato polimerico per applicazioni biomedicali, *Tesi di laurea in Ingegneria Chimica, Università degli studi di Salerno (2009)*.
11. Pastus E., Analisi delle proprietà meccaniche e diffusive di gel omogenei costituiti da alginate di calcio, *Tesi di Laurea in Tecnologia, Socioeconomia e Legislazione Farmaceutiche, Università degli studi di Trieste, 2003*.
12. Pradhan S., S.S. Shukla and K. L. Dorris, Removal of nickel from aqueous solutions using crab shells, *Journal of Hazardous Materials* **125** (1-3) 201-204 (2005).

13. Cuofano C., Reticolazione dei geli a base di Alginato- Pluronic F127 con rame bivalente, *Tesi di Laurea in Ingegneria Chimica, Università degli Studi di Salerno*, (2009)
  14. Escobar-Chávez J.J, López-Cervantes M., Naik A.,Kalia Y.N., Quintanar-Guerrero D., Ganem-Quintanar A., Applications of thermoreversible pluronic F 127 gels in pharmaceutical formulations, *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* **9** (3) 339-358 (2006)
  15. Batrakova V. E., V. Kabanov A., Pluronic block copolymers: Evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers, *Journal of Controlled Release* **130** (2008) 98-106
  16. Bramley P.M., Elmadfa I., Kafatos A., Kelly F.J., Manios Y., Roxoborough H.E., Schuch W., Sheehy P.J.A., Wagner K.H, Vitamin E, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80** (7) 913-938 (2000)
  17. Manzanarez-López F., Soto-Valdez H., Auras R., Peralta E.,Release of  $\alpha$ -Tocopherol from Poly(lactic acid) films, and its effect on the oxidative stability of soybean oil, *Journal of Food Engineering*, **104** 508-517 (2011)
  18. Vascello C., Produzione di microparticelle a base di alginato mediante atomizzazione assistita da ultrasuoni, *Tesi di Laurea in Ingegneria Chimica, Università degli Studi di Salerno*, (2010)
  19. <http://texturetechnologies.com/index.php>
  20. Siepmann J., N.A. Peppas, Modeling of drug release from delivery system based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), *Advanced Drug Delivery Reviews*, **48** 139-157 (2001)
-

*Grazie..*

*...al Prof. Gaetano Lamberti, per me un punto di riferimento da sempre, al quale ho rivolto le mie mille perplessità (..spesso anche banalità!), ma nonostante tutto si è mostrato sempre disponibile e comprensivo.*

*...ancora grazie per avermi dato la possibilità di collaborare con la Prof.ssa Anna Angela Barba. A Lei va la mia gratitudine per avermi guidata e sostenuta durante questo lavoro con professionalità e pazienza, per i numerosi incoraggiamenti, fondamentali in alcuni momenti.*

*Ancora grazie ad entrambi per essere stati docenti attenti e premurosi, per aver riposto in me la loro stima e la loro fiducia dandomi l'opportunità di svolgere questo lavoro di tesi nel loro gruppo di ricerca.*

*...all'Ing. Annalisa Dalmoro, il mio "capo", per avermi supportato ma soprattutto 'sopportato' (☺) nei momenti difficili della ricerca, per avermi guidato nella stesura della tesi, e soprattutto per aver reso le giornate in laboratorio più spensierate grazie alla sua compagnia. (La mia imitazione non ti riesce, mia cara!)*

*...a mamma, papa e Angelo che mi hanno permesso di realizzare questo sogno, aiutandomi a superare ogni tipo di ostacolo grazie al loro sostegno morale, appoggiandomi in ogni mia scelta e soprattutto sostenendomi economicamente con i sacrifici di una vita...mi hanno permesso, così, di essere qui, a ringraziarli.*

*...a Vincenzo, per aver tollerato i miei sbalzi di umore in questo ultimo periodo, che ha condiviso con me gioie ma soprattutto momenti di dispiacere che mi hanno*

*accompagnata in questi anni e nonostante tutto sta ancora al mio fianco...Grazie!*

*..Tutti i miei amici di sempre, in particolare Milena, che nonostante le scelte universitarie ci hanno portato a non condividere le stesse esperienze, il nostro legame è rimasto comunque forte; a Ilaria, per aver condiviso tutti i fuori onda di questo momento, le gioie, i pianti passati in questi anni vissuti fuori casa.. Un ringraziamento speciale a Martina e Elda, con le quali ho condiviso il mio percorso universitario, dapprima compagne di banchi, diventate poi più che amiche.. e nonostante ciascuna di noi prenderà la sua via, non smetterò mai di ringraziarle per aver condiviso con me esami, ansie, paure e soddisfazioni. Grazie alle mie 'scriccioline', Giovanna e Sara, che hanno reso la vita fuori casa meno dura, che mi sono state vicine in questo periodo rendendolo sereno con la loro gioia di vivere. Ringrazio le ragazze del Lab, che hanno reso davvero piacevole quest'esperienza di tesi, allettando questo periodo con pranzetti e caffè, accompagnati da lunghe chiacchierate, interrotte però, dal senso di colpa che ci richiamava a lavoro.*