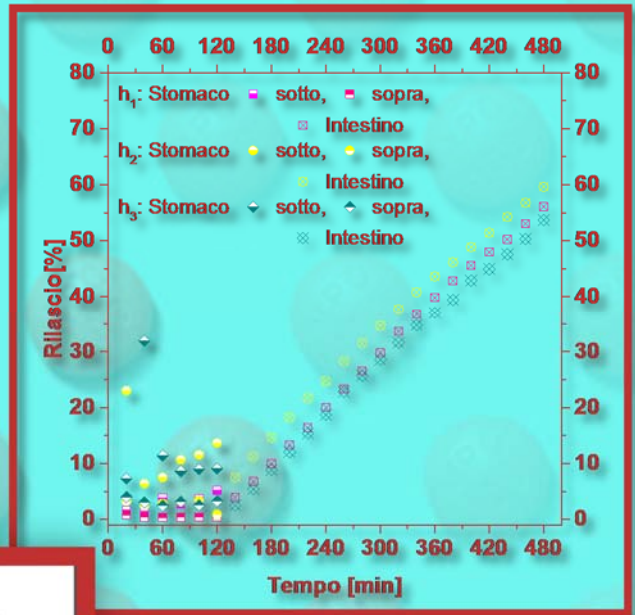


Effetto della posizione della compressa sul rilascio di farmaci in un modello *in vitro*

Effetto della posizione della compressa sul rilascio di farmaci in un modello *in vitro*



Emanuela Lisanti

Emanuela Lisanti



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

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

Effetto della posizione della compressa sul rilascio di farmaci in un modello *in-vitro*

Tesi in
Principi di Ingegneria Chimica

Relatore:

Prof. Ing. Gaetano Lamberti

Candidata:

Emanuela Lisanti

matricola 0612200561

Correlatrice:

Ing. Sara Cascone

Anno Accademico 2014/2015

Alla mia resilienza.

Questo testo è stato stampato in proprio, in Times New Roman.

La data prevista per la discussione della tesi è il 24/02/2016.

Fisciano, 17/02/2016

Sommario

Sommario	I
Indice delle figure	III
Indice delle tabelle	V
Abstract	VII
Introduzione.....	1
1.1 Rilascio di farmaci _____	2
1.1.1 Farmacopea	2
1.1.2 Rilascio di Diclofenac	2
1.2 Apparato gastrointestinale _____	5
1.2.1 Stomaco	6
1.2.2 Intestino	7
1.3 Stato dell'Arte _____	8
1.3.1 Fluidodinamica del sistema gastrointestinale	8
1.3.2 Sistemi USP	11
1.3.3 Sistemi non USP	12
1.4 Obiettivi _____	16
Materiali e metodi	17
2.1 Materiali _____	18
2.1.1 Diclofenac	18
2.1.2 Mezzi di dissoluzione	19

2.2 Strumentazione _____	20
2.2.1 Dissolutore USP 2	20
2.2.2 Modello in-vitro	21
2.2.3 Spettrofotometro	23
2.3 Metodi _____	25
2.3.1 Metodi di dissoluzione	25
2.3.2 Metodi analitici	28
Risultati e discussione.....	33
3.1 Rilascio convenzionale _____	34
3.2 Rilascio non convenzionale_____	36
3.2.1 Rilascio ad h_1	37
3.2.2 Rilascio ad h_2	39
3.2.3 Rilascio ad h_3	41
3.3 Discussione _____	42
Conclusioni	47
Bibliografia	51

Indice delle figure

Figura 1. Schema del processo di diffusione per una compressa a rilascio prolungato.....	3
Figura 2. Diverse formulazioni di Diclofenac presenti in commercio.....	4
Figura 3. Anatomia dell'apparato gastrointestinale.	5
Figura 4. Anatomia dello stomaco umano.	6
Figura 5. Anatomia dell'intestino umano.....	7
Figura 6. Schema di motilità dello stomaco umano [5].	10
Figura 7. Flusso gastrico: intensità localizzata al piloro [5].	11
Figura 8. Modello GIS [7].	13
Figura 9. Modello SHIME [9].	14
Figura 10. Modello "Gut Simulator" [12].	15
Figura 11. Schema (a sinistra) ed immagine reale (a destra) del "gut-on-a-chip" [13].	15
Figura 12. Formula di struttura del Diclofenac.	18
Figura 13. Dissolvente USP 2 SOTAX AG.	20
Figura 14. Elemento in lattice con particolare delle contrazioni antrali [17].	22
Figura 15. Sacca di lattice che emula lo stomaco umano [17].	22
Figura 16. Schema di funzionamento di uno spettrofotometro.....	24
Figura 17. Immagine reale della sacca simulante lo stomaco umano con le tre altezze d'interesse.	26
Figura 18. Fotografia di una compressa di Diclofenac durante dissoluzione in apparato USP 2.....	27
Figura 19. Spettro della soluzione acida a pH=1.	28
Figura 20. Spettro della soluzione basica a pH=6.8.	28

Figura 21. Esempi di spettri di un prelievo effettuato durante una prova convenzionale a 400 min (sinistra) ed un prelievo effettuato durante una prova non convenzionale ad altezza h_1 a 200 min (destra).	29
Figura 22. Relazione tra l'integrale dell'assorbanza e la concentrazione di diclofenac in una soluzione di HCl a pH=1.	31
Figura 23. Relazione tra l'integrale dell'assorbanza e la concentrazione di diclofenac in una soluzione di Sodio Fosfato tribasico dodecaidrato a pH=6,8.	31
Figura 24. Profilo di rilascio di Diclofenac compresse 100 mg a rilascio prolungato in apparato USP 2.	34
Figura 25. Profili di rilascio di Diclofenac compresse 100 mg a rilascio prolungato in apparato USP 2 analizzati in HPLC da studi precedenti [20] [21].	35
Figura 26. Profilo di rilascio di Diclofenac compresse 100 mg a rilascio prolungato in sistema non convenzionale ad altezza h_1	37
Figura 27. Profilo di rilascio di Diclofenac compresse 100 mg a rilascio prolungato in sistema non convenzionale ad altezza h_1 di V. Campitelli [20].	38
Figura 28. Profilo di rilascio di Diclofenac compresse 100 mg a rilascio prolungato in sistema non convenzionale ad altezza h_2	39
Figura 29. Profilo di rilascio di Diclofenac compresse 100 mg a rilascio prolungato in sistema non convenzionale ad altezza h_2 di M. Armenante [21].	40
Figura 30. Profilo di rilascio di Diclofenac compresse 100 mg a rilascio prolungato in sistema non convenzionale ad altezza h_3	41
Figura 31. Profili di rilascio per le tre altezze in esame.	42
Figura 32. Particolare dei profili di rilascio per le tre altezze in esame nelle due ore nel sistema in-vitro: prelievi dall'alto.	43
Figura 33. Particolare dei profili di rilascio per le tre altezze in esame nelle due ore nel sistema in-vitro: prelievi dal basso.	44
Figura 34. Fotografie di compresse di diclofenac prima della prova ed al termine delle 8 ore di neutralizzazione alle tre altezze, da sinistra verso destra: h_1 , h_2 , h_3	45

Indice delle tabelle

Tabella 1. Specifiche dei mezzi di dissoluzione.....	19
Tabella 2. Misure del diametro di riposo, del diametro della massima contrazione e del grado di occlusione percentuale [17].....	23

Abstract

In this work the release of a pharmaceutical commercial formulation has been studied: Diclofenac DOC Generici 100 mg, using an *in-vitro* system simulating the human stomach behavior. In particular, attention has been focused on the tablet position into the innovative system, and how it is able to affect degradation phenomena and therefore release values. The *in-vitro* apparatus has been developed by the research team.

The release profiles obtained in the artificial stomach have been compared with those obtained to the conventional dissolution method. An USP 2 apparatus has been used to conduct the conventional trial. It simulates both the stomach and the intestine environments. The non conventional trial has used the *in-vitro* system for the first two hours, while the USP 2 for the remaining six hours. In both cases the “stomach” environment has been reproduced preparing an acid solution characterized by pH 1, whereas the intestinal one has been simulated adding a basic solution to the first one to obtain a pH of 6,8. The drug has been inserted into the “stomach” *in-vitro*, where the dissolution has been carried on for 2 hours, thereafter, adding the basic solution to simulate the intestinal tract, the test has been continued for 6 more hours. Samples have been collected every 20 minutes to be analyzed via spectrophotometer and moving the stomach content in the USP 2 apparatus, this allows to know the percentage release during time. The tablet, throughout the non conventional tests, has been secured using a support, which allowed the suspension at the desired position into the artificial stomach, represented the human stomach. Release profiles have been inspected suspending the tablet at these results resulted at 3 different heights defined as: h_1 , just above the emptying valve which simulates the pylorus; h_2 , between the first two bands that allow the antral

contractions; h_3 , between the second and the third belt, considering the bands' order from the bottom to the top.

It has been possible to prove a clear difference between a standard apparatus operation and the artificial "stomach". Effectively, during the first two hours release profiles are very different: they are quite constant and close to the zero point, in the conventional case; while these values move away from zero in a pretty significant way, depending on the heights in the non conventional tests. Another result obtained concerns the different trends of samples collected at the top and those picked up at the bottom: the release proves to be almost zero in the first case, while in the second is quite evident. About the following six hours performed in the same device (USP 2), it has been possible to notice how the release increases for both the cases and the final values obtained are higher for the non conventional dissolution system than the standard one. These results prove that the tablet is subjected to a major deterioration due to the mechanics and fluid dynamics spread by the artificial stomach.

With regard to the effect of the position of the tablet into the artificial stomach, it has been found that the h_2 curve is higher than the other two, this suggests that the maximum stresses suffered by the tablet in the *in-vitro* system are observed in this location. Despite the drug release is clearly affected by the position of the tablet in the artificial stomach, from a visual analysis no differences can be appreciated, but only the swelling phenomenon could be undoubtedly observed.

A future improvement of the artificial stomach could be the reproduction of the pressure waves generated by the contraction closer to the real physiology, for example measuring the strength of the contractions.

Bibliografia

1. Avachat A. and Kotwal V., Design and evaluation of matrix-based controlled release tablets of diclofenac sodium and chondroitin sulphate, *AAPS PharmSciTech*, **8** 51-56 (2007).
2. Amelia Avachat and VikramKotwal, Design and Evaluation of Matrix-Based Controlled Release Tablets of Diclofenac Sodium and Chondroitin Sulphate, *AAPS PharmSciTech*, **8** (2007).
3. M.C. Gohel, A.F. Amin, Formulation optimization of controlled release diclofenac sodium microspheres using factorial design, *Journal of Controlled Release*, **51** 115-122 (1998).
4. J. Sujja-areevath, D.L. Munday, P.J. Cox, K.A. Khan, Release characteristics of diclofenac sodium from encapsulated natural gum mini-matrix formulations, *International Journal of Pharmaceutics*, **139** 53-62 (1996).
5. M.J. Ferrua and R.P. Singh, Modeling the Fluid Dynamics in a Human Stomach to Gain Insight of Food Digestion, *Journal of Food Science*, **75** 151-162 (2010).
6. Pal A, Indireskumar K, Schwizer W, Abrahamsson B, Fried M, Brasseur JG, Gastric flow and mixing studied using computer simulation, *The Royal Society*, **271** (2004).
7. Stephen R. Carino, David C. Sperry, Michael Hawley, Relative Bioavailability Estimation of Carbamazepine Crystal Forms using an Artificial Stomach-Duodenum, published online in *Wiley InterScience* (www.interscience.wiley.com) (2006).
8. Yasuhiro Tsume, Susumu Takeuchi, Kazuki Matsui, Gregory E. Amidon, Gordon L. Amidon, In vitro dissolution methodology, mini-Gastrointestinal Simulator (mGIS), predicts better in vivo dissolution of a weak base drug, dasatinib, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **76** 203-212 (2015).
9. K. Molly, M. VandeWoestyne, W. Verstraete, Development of a 5-step multi-chamber reactor as a simulation of the human intestinal microbial ecosystem, *Applied Microbial And Cell Physiology*, **39** 254-258 (1993).

10. C.F. Williams, G.E. Walton, L. Jiang, S. Plummer, I. Garaiova, G.R. Gibson, Comparative Analysis of Intestinal Tract Models, *Annual Review of Food Science and Technology*, **6** 329-350 (2015).
 11. C. Cueva, A. Jiménez-Girón, I. Muñoz-González, A. Esteban-Fernández, I. Gil-Sánchez, M. Dueñas, P.J. Martín-Álvarez, M.A. Pozo-Bayón, B. Bartolomé, M.V. Moreno-Arribas, Application of a new Dynamic Gastrointestinal Simulator (SIMGI) to study the impact of red wine in colonic metabolism, *Food Research International*, **72** 149-159 (2015).
 12. Hamid A. Merchant, Alvaro Goyanes, Narendra Parashar, Abdul W. Basit, Predicting the gastrointestinal behaviour of modified-release products: Utility of a novel dynamic dissolution test apparatus involving the use of bicarbonate buffers, *International Journal of Pharmaceutics*, **475** 585-591 (2014).
 13. Hyun Jung Kim, Dongeun Huh, Geraldine Hamilton, Donald E. Ingber, Human gut-on-a-chip inhabited by microbial flora that experiences intestinal peristalsis-like motions and flow, *Lab Chip*, **12** 2165-2174 (2012).
 14. Project ATHENA creates surrogate human organ systems, *Los Alamos National Laboratory* (2015).
 15. Alfred R. Sallmann, The history of diclofenac, *The American Journal of Medicine*, **80** 29-33 (1986).
 16. Antonio Llina`s, Jonathan C. Burley, Karl J. Box, Robert C. Glen, Jonathan M. Goodman, Diclofenac Solubility: Independent Determination of the Intrinsic Solubility of Three Crystal Forms, *Journal of Medicinal Chemistry*, **50** 979-983 (2007).
 17. C. Govetosa, Un modello *in-vitro* per la simulazione del comportamento termomeccanico dello stomaco umano, *Tesi di laurea magistrale in Principi di Ingegneria Chimica* (2014).
 18. Arnold H. Beckett, Tlnh T. Quach, Glenn s. Kurs, Improved Hydrodynamics for USP Apparatus 2, *Dissolution Technologies* (1996).
 19. Maria Vardakou, Annalisa Mercuri, Susan A. Barker, Duncan Q. M. Craig, Richard M. Faulks, Martin 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, *AAPS PharmSciTech*, **20** (2011).
 20. V. Campitelli, Analisi dei profili di rilascio in un modello in vitro simulante il comportamento meccanico dello stomaco umano, *Tesi di laurea in Principi di Ingegneria Chimica* (2015).
 21. M. Armenante, Studio del rilascio prolungato di diclofenac da compresse mediante diversi modelli in vitro, *Tesi di laurea in Principi di Ingegneria Chimica* (2015).
-

Non sono mai stata convinta di poter concludere questo percorso. Mi reputavo sempre più incline ad un milione di altre cose però questi argomenti di studio mi piacevano, e molto. Fatta questa premessa, è chiaro dovrò ringraziare un bel po' di persone perché andare avanti non è stata cosa da poco soprattutto per le endovena di autostima che puntualmente dovevano essermi iniettate, che si trattasse di eventi positivi o negativi, era irrilevante. Questi ringraziamenti semiseri e tragicomici non seguiranno un ordine d'importanza (fatta eccezione per i primi e gli ultimi, che si equiparano, i mediani non si sentano discriminati, la sequenza non è logica perché, almeno per quest'ultima parte mi sono riservata il flusso di coscienza che mi caratterizza).

Ho vissuto l'esperienza di laboratorio non solo come qualcosa da cui apprendere gli aspetti pratici del lavoro, ma soprattutto come esperienza di vita. Quindi è giusto ringraziare tutti: il professore Lamberti, che mi ha permesso di intraprendere questo percorso, Sara che ha avuto la pazienza di seguirmi in ogni cosa; e poi Pietro, Diego, Gianni e Felice, dal salvataggio dello stomaco all'impiccaggio delle compresse, alle risate, ai punti di vista sconvolgenti, ai discorsi, ai pranzi condivisi, grazie.

Grazie a chi ha condiviso con me le ore di prove, rendendole più leggere, ché magari, io ci credo qualche amicizia l'abbiamo creata. Cosimo, Gianni, Pierfrancesco. Rachele ha poi un'altra valenza, mi ha salvato da un bel po' di belle situazioni: le chiavi, i passaggi, i discorsi, gli amici, i più o meno amici...grazie.

Ilaria, io non so ancora se quella copertina diventerà la definitiva di questo elaborato ma giuro che mi farò stampare una copia con i pois che in realtà sono le compresse. Le merende, le sorprese, più metà della vita.

Danilo, sempre ed ovunque.

Non so come definirvi, siamo stati i ragazzi del Giffoni, e lo siamo tutt'ora però mi è sempre parso riduttivo. Mezza vita insieme tra alti e bassi è un discreto successo in termini di sopportazione (sì, a voi ho riservato la mia solita parte acida e decisamente distante dal concetto di amorevolezza, spero apprezzerete). Debora, Martina, Carmine, Enzo ed ovviamente i precitati Ilaria e Danilo: grazie.

Ale, sei il "Danilo" al femminile: sempre ed ovunque. La distanza è qualcosa di decisamente inconsistente. Sai praticamente tutto, e va bene così, perché non dovrò dilungarmi oltre, qui.

Grazie a Francesca, con cui ho condiviso chiacchiere, serate ed avventure.

Grazie a chi mi ha accompagnato in questo percorso universitario: Adriana (io ancora ricordo come ci siamo conosciute), Barbara (Barbara, no non ti definirò come la ragazza di Battipaglia, ma “Barbaransia” citando qualcuno, sì!) e poi Angela, Livia, Rita, Antonio. Angelica, con cui oltre allo studio ho costruito una bella amicizia: grazie.

Però non posso fare a meno di ricordare chi mi ha fatto male, perché è contato più di tutto il bene di questi quattro anni, mi ha fatto capire quanto posso essere in grado di affrontare le situazioni difficili ed ottenere discreti risultati, nonostante tutto, quindi grazie soprattutto a voi.

Per questi ultimi ringraziamenti ho ritenuto opportuno cambiare il genere musicale che sto ascoltando, puntando su qualcosa di molto più movimentato, festaiolo, modaiolo... più me, e capirete anche il perché: grazie mamma, grazie papà, grazie Lory, grazie Dario ed ultimo ma non meno importante (anzi!) grazie Samuele. Io le parole so usarle abbastanza bene, come mi pare, quando non lo faccio è perché non reputo sia opportuno (è forse una delle poche cose di cui sono consapevole essere in grado di saper fare, quindi perdonatemi la presunzione), però ci sono momenti come questo in cui non ne trovo di veramente giuste e corrette; è proprio in questi frangenti che preferisco non esprimermi inutilmente.

Grazie a chi c'è stato anche se distante, grazie a chi ha sottovalutato questo percorso e lo fa tutt'ora e a chi, invece, è consapevole di quanto ci tenga.

Avrò dimenticato molte persone, altre a questo punto saranno deluse (ed era proprio questo il mio intento).

Per tutti quelli che sono riusciti ad arrivare fin qui, grazie anche per questo ulteriore sforzo, giuro che è finita...per ora!

Io, comunque, continuerò nello spirito del:

“Se non possiamo essere intelligenti, possiamo sempre essere gentili.”

(Alfred Fripp, artista)

