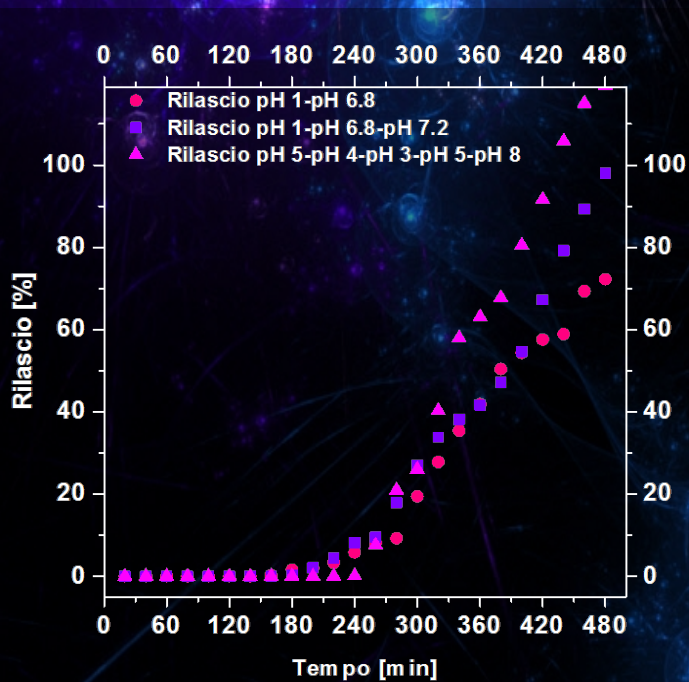


Effetto del pH sul rilascio di Mesalazina da diverse formulazioni farmaceutiche

Effetto del pH sul rilascio di Mesalazina da diverse formulazioni farmaceutiche



Francesca Calipa

Francesca Calipa



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

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

Effetto del pH sul rilascio di Mesalazina da diverse formulazioni farmaceutiche

Tesi in
Principi di Ingegneria Chimica

Relatori:

Prof. Ing. Gaetano Lamberti

Ing. Sara Cascone

Candidata:

Francesca Calipa

matricola 0612200559

Anno Accademico 2016/2017

*Il successo non è definitivo e
l'insuccesso non è fatale. L'unica cosa
che conta davvero è il coraggio di
continuare.*

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

La data prevista per la discussione della tesi è il 25/05/2017

Fisciano, 12/05/2017

Sommario

Sommario	I
Indice delle figure	III
Indice delle tabelle.....	VII
Abstract	IX
Introduzione.....	1
1.1 Rilascio di farmaci	2
1.1.1 Farmacocinetica	4
1.1.2 Dissoluzione di un farmaco	5
1.2 Apparato gastrointestinale.....	9
1.2.1 Lo stomaco	10
1.2.2 Intestino	12
1.2.3 pH nel tratto gastrointestinale	14
1.3 Stato dell'Arte	16
1.3.1 Modelli monocompartimentali	17
1.3.2 Modelli multicompartimentali	17
1.3.4 Modelli complessi in-vitro	23
1.3 Obiettivi.....	24
Materiali e metodi	25
2.1 Materiali.....	26
2.1.1 Mesavancol 1200 mg	26

2.1.2 Mesalazina	27
2.1.3 HPMC (Hydroxypropyl Methylcellulose)	30
2.1.4 Eudragit FS30D	31
2.2 Apparecchiature	32
2.2.1 Dissolutore USP II	32
2.2.2 Modello in vitro: Stomaco artificiale	34
2.2.3 Spettrofotometro	36
2.3 Metodi	40
2.3.1 Preparazione delle compresse non commerciali	40
2.3.2 Metodi di dissoluzione	41
2.3.3 Metodi analitici	43
Risultati e discussione	47
3.1 Rilascio in stato di digiuno	48
3.1.1 Rilascio convenzionale	48
3.1.2 Rilascio non convenzionale	52
3.2 Rilascio in stato post-prandiale	57
3.2.1 Rilascio compresse commerciali	58
3.2.2 Rilascio compresse non commerciali	60
3.3 Confronto Fasted e Fed State	63
Conclusioni	65
Bibliografia	69

Indice delle figure

Figura 1. Profili plasmatici teorici per un rilascio immediato (a) e uno controllato (b).	2
Figura 2. Le fasi della farmacocinetica.	4
Figura 3. Andamento della velocità di dissoluzione attraverso lo strato diffusionale [1].	7
Figura 4. Anatomia tratto gastrointestinale [2].	10
Figura 5. Anatomia dello stomaco [3].	10
Figura 6. Anatomia dell'intestino [4].	13
Figura 7. Valori pH nel tempo in uno stomaco in fed state [7].	15
Figura 8. Valori pH nel tempo nel tratto gastrointestinale in fed state [7].	16
Figura 9. Apparato USP1.	18
Figura 10. Apparato USP II.	18
Figura 11. Apparato USP III.	19
Figura 12. Apparato USP IV.	20
Figura 13. Processi dinamici nel modello ASD [25].	21
Figura 14. Modello ASD modificato [26].	22
Figura 15. Modello in-vitro 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 [27].	23
Figura 16. Compresa di Mesavancol 1200mg.	26
Figura 17. Struttura chimica della Mesalazina.	27
Figura 18. Struttura chimica dell'HPMC.	31
Figura 19. Dissolutore USP II.	33
Figura 20. Sacca di lattice che emula lo stomaco umano [32].	34

Figura 21. Particolare delle cinghie che simulano le contrazioni antrali.	36
Figura 22. Spettro elettromagnetico [33].	36
Figura 23. Schema funzionamento spettrofotometro [33].	37
Figura 24. Cuvetta spettrofotometro.	39
Figura 25. Spettri taratura pH8 diluizioni S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10 e retta di taratura pH8.	46
Figura 26. Rilascio percentuale di Mesalazina nel tempo per la tipologia di prova pH 1 (2 ore), pH 6.8 (6 ore) in dissolutore USP II.	49
Figura 27. Compresa dopo 2 ore a pH 1 (a), dopo 40 minuti a pH 6.8 (b) e dopo 6 ore a pH 6.8.	50
Figura 28. Rilascio percentuale di Mesalazina nel tempo per la tipologia di prova pH 1 (2 ore), pH 6.8 (2 ore) e pH 7.2 (4 ore) in dissolutore USP II.	51
Figura 29. Confronto rilascio di Mesalazina nel tempo tra la prova pH 1 (2 ore), pH 6.8 (6 ore) e la prova pH 1 (2 ore), pH 6.8 (2 ore), pH 7.2 (4 ore), in dissolutore USP II.	52
Figura 30. Rilascio percentuale di Mesalazina nel tempo per la tipologia di prova pH 1 (2 ore), pH 6.8 (6 ore) in sistema non convenzionale (stomaco+dissolutore USP II).	53
Figura 31. Confronto rilascio di Mesalazina nel tempo per la prova pH 1 (2 ore), pH 6.8 (6 ore) tra il sistema convenzionale (dissolutore USP II) e il sistema non convenzionale (stomaco+dissolutore USP II).	54
Figura 32. Rilascio percentuale di Mesalazina nel tempo per la tipologia di prova pH 1 (2 ore), pH 6.8 (2 ore), pH 7.2 (4 ore) in sistema non convenzionale (stomaco+dissolutore USP II).	55
Figura 33. Confronto rilascio di Mesalazina nel tempo per la prova pH 1 (2 ore), pH 6.8 (2 ore), pH 7.2 (6 ore) tra il sistema convenzionale (dissolutore USP II) e il sistema non convenzionale (stomaco+dissolutore USP II).	56
Figura 34. Confronto rilascio di Mesalazina nel tempo tra la prova pH 1 (2 ore), pH 6.8 (6 ore) e la prova pH 1 (2 ore), pH 6.8 (2 ore), pH 7.2 (4 ore), non convenzionale (stomaco+dissolutore USP II).	57
Figura 35. Rilascio percentuale di Mesalazina nel tempo per la tipologia di prova pH 5 (40 min), pH 4 (40 min), pH 3 (40 min), pH 5 (2 ore), pH 8 (4 ore) da compresse commerciali in dissolutore USP II.	58
Figura 36. Rilascio percentuale di Mesalazina nel tempo per la tipologia di prova pH 5 (40 min), pH 4 (40 min), pH 3 (40 min), pH 5 (2 ore), pH 8 (4 ore) da compresse commerciali in sistema non convenzionale (stomaco+dissolutore USP II).	59
Figura 37. Confronto rilascio di Mesalazina nel tempo per la prova pH 5 (40 min), pH 4 (40 min), pH 3 (40 min), pH 5 (2 ore), pH 8 (4 ore) da compresse	

commerciali tra il sistema convenzionale (dissolutore USP II) e il sistema non convenzionale (stomaco+dissolutore USP II).	60
Figura 38. Rilascio percentuale di Mesalazina nel tempo per la tipologia di prova pH 5 (40 min), pH 4 (40 min), pH 3 (40 min), pH 5 (2 ore), pH 8 (4 ore) da compresse non commerciali in dissolutore USP II.	61
Figura 39. Rilascio percentuale di Mesalazina nel tempo per la tipologia di prova pH 5 (40 min), pH 4 (40 min), pH 3 (40 min), pH 5 (2 ore), pH 8 (4 ore) da compresse commerciali in sistema non convenzionale (stomaco+dissolutore USP II).....	61
Figura 40. Confronto rilascio di Mesalazina nel tempo per la prova pH 5 (40 min), pH 4 (40 min), pH 3 (40 min), pH 5 (2 ore), pH 8 (4 ore) da compresse non commerciali tra il sistema convenzionale (dissolutore USP II) e il sistema non convenzionale (stomaco+dissolutore USP II).	62
Figura 41. Confronto rilascio di Mesalazina nel tempo da compresse commerciali ai diversi livelli di pH, in sistema convenzionale (USP II).....	63
Figura 42. Confronto rilascio di Mesalazina nel tempo da compresse commerciali ai diversi livelli di pH, in sistema non convenzionale (stomaco e dissolutore USP II).	64

Indice delle tabelle

Tabella 1. Caratteristiche HPMC K15M.	31
Tabella 2. EUDRAGIT® sensibili a variazioni del pH.	32
Tabella 3. Caratteristiche compresse con commerciali.	40
Tabella 4. Diluizioni tarature.....	45
Tabella 5. Valori costante di taratura.....	46

Abstract

In this work the effect of pH on the release of Mesalazine (an aminosalicylate anti-inflammatory drug used to treat inflammatory bowel disease, including ulcerative colitis) from gastro-resistant pharmaceutical commercial formulation (Mesavancol 1200 mg) and non-commercial formulation was studied.

The formulations prepared in laboratory using the same active substance and the same coating of commercial formulation, Mesalazine (5-ASA acid) and Eudragit FS30D. In particular, the attention was focused on comparison between fasted and fed state in the gastrointestinal tract. A USP II (Sotax AT7 SMART) apparatus was used to carry on the conventional tests, it simulates both the stomach and the intestine environments. In the non-conventional tests the in-vitro system was used for the first two hours and then the USP II for the remaining six hours. Three kinds of tests have been made at different pH levels in order to simulate the conditions of the fasted state and the fed state in the gastrointestinal tract. In the fasted state two methods were used for the tests. In the first method, the pharmaceutical formulation was placed in a pH 1 solution, the physiological pH of the gastric tract, then the solution was neutralized in order to simulate the passage in the intestine and a pH 6.8 was achieved. In the second method, an additional step of pH has been inserted. The first step, lasting two hours, consisted in the simulation of the active ingredient release in the human stomach in a pH 1 solution, after two hours, the pH of the dissolution medium was increased from 1 to 6.8 for 2 hours, and then the pH was increased again from 6.8 to 7.2.

According to the therapeutic indications, which indicate to take the tablets at the same time each day with food, it was simulated, through appropriate pH steps, the passage of the tablet through the stomach

under fed conditions. The tablet was maintained for 40 minutes in a solution at pH 5, for 40 minutes at pH 4, for 40 minutes at pH 3, 2 hours at pH 5, and 6 hours at pH 8, simulating a more realistic changing of the pH in the stomach (the first 2 hours), in the duodenum (the second 2 hours), and in the colon (the last 6 hours) during the digestion process.

From this analysis, it is evident that the insertion of an additional step of pH (from 6.8 to 7.2) results in an increase of the release at the end of the trial about 20%. In both case, conventional and unconventional systems, the final release is almost identical and it ends, for both systems, at 73%. The difference between the two systems is only concerned the kinetics of the release, that is slower when the tablet is moved from the stomach to the dissolver.

The test in the feed state was conducted using both the tablets, Mesavancol 1200 mg, the commercial tablet, and the non-commercial tablets made in the laboratory, in order to compare the release. At the end of the test the results showed a different release profile: for the commercial tablet the active ingredient is completely released with a value apparently greater than 100%, this is because there are many excipients inside the tablet that may disturb the absorption spectrum during the analysis, overlapping the absorption of the active ingredient. Instead, the release of active ingredient of the non-commercial tablet, with the same pH steps is lower, between 50 % and 60 %.

Finally, according to the tests results, the only factor that influences the release of Mesalazine in the commercial tablets is the pH value, whereas the mechanical action of the artificial stomach has no effect on the release, that is higher in fed conditions than in fasted state.

Different results were obtained from analyses on the tablet made in the laboratory. The final release of the active ingredient in a unconventional system is about 10% greater than the release in a conventional system, because of mechanical action that the artificial stomach produces in the first two hours. Another considerable difference is the release of Mesalazine, that is 40%, lower than the commercial tablets, with the same pH conditions. This difference may depend on a dissimilar tablets composition: the coating and the active ingredient are the same, but the pharmaceutical excipients change.

Bibliografia

1. <http://dctf.uniroma1.it/galenotech/biofarm2.htm>. Dissoluzione di forme farmaceutiche solide.
2. <http://www.scienceforpassion.com/2015/12/anatomia-dell'apparato-digerente-e.html>. Anatomia dell'apparato digerente.
3. <http://www.my-personaltrainer.it/anatomia/stomaco.html>. Anatomia dello stomaco.
4. <https://www.docticare.it/pagine/pagina.aspx?ID=Intestino001&L=IT>. Anatomia dell'intestino.
5. G. Spada. Tesi di dottorato in “Scienze e Tecnologie Chimiche”; Università degli Studi di Sassari. http://eprints.uniss.it/3895/1/Spada_G_Tesi_Dottorato_2010_Sviluppo.pdf
6. Dressman J. B., Berardi R. et al., Upper Gastrointestinal pH in Young, Healthy Man and Women, *Pharmaceutical Research*, Vol 7, No. 7, 1990.
7. Enrico Mauriello. Tesi di laurea in “Ingegneria Chimica”. Università degli studi di Salerno. Un modello fisico dell'apparato digerente umano: regolazioni di temperatura e pH nello stomaco.
8. <http://gruppotpp.unisa.it/farmacocinetica/>
9. F. Kong, R.P.Singh, A Human Gastric Simulator (HGS) to Study Food Digestion in Human Stomach, *Journal of Food Science*, 75 (2010) E627-E634
10. Wickham et al., Dynamic Gastric Model, United States Patent, patent no. US 8,435,036 B2 (2013).
11. Abrahamsson, B.; Pal, A.; Sjöberg, M.; Carlsson, M.; Laurell, E.; Brasseur, J. G. A novel in Vitro and numerical analysis of shear-induced drug release from extended-release tablets in the fed stomach. *Pharm. Res.* 2005, 22 (8), 1215–1226.
12. Diebold, S. M. Physiological parameters relevant to dissolution testing: hydrodynamic considerations. In *Pharmaceutical Dissolution*; Dressman, J. B., Kramer, J., Eds.; Taylor & Francis: London, U.K., 2005; pp 127-191.

13. Kukara, J.; Baxter, J. L.; Muzzio, F. J. Shear distribution and variability in the USP apparatus 2 under turbulent conditions. *Int. J. Pharm.* 2004, 279, 9–17.
 14. Diakidou, A.; Vertzoni, M.; Abrahamsson, B.; Dressman, J. B.; Reppas, C. Simulation of gastric lipolysis and prediction of felodipine release from a matrix tablet in the fed stomach. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2009, 37, 133–140.
 15. Fotaki, N.; Aivaliotis, A.; Butler, J.; Dressman, J. B.; Fischbach, M.; Hempenstall, J.; Klein, S.; Reppas, C. A comparative study of different release apparatus in generating in Vitro - in ViVo correlations for extended release formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2009, 73, 115–120.
 16. Klein, S.; Rudolph, M.; Skalsy, B.; Petereit, H.-U.; Dressman, J. B. use of the BioDis to generate a physiologically relevant IVIVC. *J. Controlled Release* 2008, 130, 216–219.
 17. Jantratid, E.; Janssen, N.; Chokshi, H.; Tang, K.; Dressman, J. B. Designing biorelevant dissolution tests for lipid formulations: Case example - Lipid suspension of RZ-50. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008, 69, 776–785.
 18. United States Pharmacopeia and National Formulary USP 29NF 24; The United States Pharmacoeial Convention, Inc.: Rockville, MD, 2007.
 19. Miller, D. A.; Gamba, M.; Sauer, D.; Purvis, T. P.; Clemens, N. T.; Williams, R. O., III. Evaluation of the USP dissolution test method A for enteric-coated articles by planar laser-induced fluorescence. *Int. J. Pharm.* 2007, 330 (1-2), 61–72.
 20. Fotaki, N.; Vertzoni, M. Biorelevant dissolution methods and their applications in in Vitro - in ViVo correlations for oral formulations. *Open Drug DeliVery J.* 2010, 4, 2–13.
 21. Gould, P. L. Salt selection for basic drugs. *Int. J. Pharm.* 1986, 33, 201–217.
 22. Carino, S. R.; Sperry, D. C.; Hawley, M. Relative bioavailability estimation of carbamazepine crystal forms using an artificial stomach-duodenum model. *J. Pharm. Sci.* 2006, 95 (1), 116–125.
 23. Castela-Papin, N.; Cai, S.; Vatieer, J.; Keller, F.; S, C. H.; Farinotti, R. Drug interactions with diosmectite: a study using the artificial stomach-duodenum model. *Int. J. Pharm.* 1999, 182, 111–119.
 24. <http://www.torrimedica.it/farmaci/schedetecniche/Mesavancol.asp#SP11>
 25. Vatieer, J.; Celice-Pingaud, C.; Farinotti, R. A computerized artificial stomach model to assess sodium alginate-induced pH gradient. *Int. J. Pharm.* 1998, 163 (1-2), 225–229.
 26. Kostewicz, E.; Wunderlich, M.; Brauns, U.; Becker, R.; Bock, T.; Dressman, J. B. Predicting the precipitation of poorly soluble weak bases upon entry in the small intestine. *J. Pharm. Pharmacol.* 2004, 56, 43–51.
-

27. 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).
 28. Minekus, M. and R. Havenaar, In-vitro model of an in-vivo digestive tract. US Patent 5,525,305 (1996).
 29. <http://www.torrinomedica.it/farmaci/schedetecniche/Mesavancol.asp#SP10>
 30. Beckett, A.H., T.T. Quach, and G. Kurs, Improved hydrodynamics for USP apparatus 2. *Dissolut Technol*, 1996. 3: p. 7-10.
 31. Vardakou, M., et al., 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*, 2011. 12(2): p. 620-626.
 32. C. Govetosa, Tesi di laurea magistrale in Principi di Ingegneria Chimica Un modello in-vitro per la simulazione del comportamento termomeccanico dello stomaco umano, (2014).
 33. http://www.tuttochimica.it/chimica_analitica_spettrofotometro.asp
-

Desidero innanzitutto ringraziare il Prof. Lamberti per avermi permesso di lavorare con il suo gruppo di ricerca; grazie anche e soprattutto per i principi (e non mi riferisco solo a quelli di Ingegneria Chimica) che riesce a trasmettere a noi studenti.

Ringrazio, infinitamente, l' Ing. Sara Cascone per avermi seguita dal primo giorno di laboratorio fino al traguardo, costantemente, sempre disponibile a chiarire i miei infiniti dubbi.

Ringrazio i miei genitori, senza i loro sacrifici e senza il loro supporto oggi non sarei qui. Questi anni non sono stati semplici come avrei e come avreste voluto, spero nel giorno del mio traguardo di avervi resi orgogliosi di me.

Ringrazio Stefano, il mio Stephi, per aver illuminato la mia vita. Grazie perché, per la prima volta, posso essere me stessa e la cosa sorprendente è che ti vado bene così.

Infine, un ringraziamento collettivo a chiunque ci sia stato: alle mie coinquiline, Katia, Maria e Maria che ormai portate all'esasperazione da me, avevano anche loro gli incubi sul mio ultimo esame, a tutta la mia famiglia, ai miei amici calabresi e non, ai vecchi e ai nuovi, grazie a chiunque abbia sofferto e gioito con me in questi anni. CE L'HO FATTA!!!!

