



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

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

**Analisi del comportamento meccanico
e diffusivo di idrogel di alginato
caricati con farmaci**

Tesi in
Principi di Ingegneria Chimica

Relatore:

Prof. Ing. Gaetano Lamberti

Candidato:

Rosario Cavallo

Correlatori:

Ing. Sara Cascone

Ing. Diego Caccavo

matricola 0612201360

Anno Accademico 2016/2017

Alla mia famiglia

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

La data prevista per la discussione della tesi è il 25/10/2017

Fisciano, 16/10/2017

Sommario

Sommario	I
Indice delle figure	V
Indice delle tabelle	VII
Abstract	IX
Introduzione.....	1
1.1 Generalità degli idrogel: struttura, parametri e proprietà	2
1.2 Classificazione degli idrogel	3
1.2.1 Cross-linking	4
1.2.2 In base al network	4
1.2.3 Origine	5
1.2.4 Carica ionica	5
1.3 Applicazioni degli idrogel	6
1.3.1 Sostanze assorbenti	7
1.3.2 Sistemi per rilascio controllato di sostanze	8
1.3.3 Ingegneria tissutale	8
1.4 Tecniche di gelificazione per idrogel	9
1.4.1 Cross-linking di tipo fisico	9
1.4.2 Cross-linking di tipo chimico	11
1.4.3 Cross-linking mediante radiazioni	12
1.5 Caratterizzazione degli idrogel	13

1.5.1 Proprietà meccaniche	13
1.5.2 Proprietà di swelling	16
1.6 Sistemi di rilascio a base di idrogel _____	18
1.6.1 Sistemi controllati dalla diffusione	18
1.6.2 Sistemi controllati mediante swelling	20
1.6.3 Sistemi controllati da fenomeni di degradazione	20
1.6.4 Sistemi dipendenti dagli stimoli esterni (smart idrogel)	21
1.7 Stato dell'arte _____	22
1.7.1 Caratterizzazione meccanica	22
1.7.2 Swelling e rilascio	25
1.8 Obiettivi _____	28

Materiali e metodi..... 29

2.1 Materiali _____	30
2.1.1 Alginato	30
2.1.2 Teofillina	32
2.2 Apparecchiature _____	32
2.2.1 Spettrofotometro	32
2.2.2 Texture Analyzer	35
2.3 Metodi _____	35
2.2.1 Preparazione soluzione di alginato 2% w/v	35
2.2.2 Preparazione soluzione di $CaCO_3/GDL$	36
2.2.3 Preparazione degli idrogel	37
2.2.4 Valutazione del grado di swelling	38
2.2.5 Valutazione della teofillina in ingresso durante lo swelling e rilasciata durante il texture	38
2.2.6 Residuo secco	40
2.2.7 Valutazione dell'erosione del gel con il metodo colorimetrico	40
2.2.8 Prova di compressione non confinata in 1.4 litri	43

Risultati e discussione..... 47

3.1 Set-up del metodo _____	48
-----------------------------	----

3.2 Caratterizzazione gel puro _____	59
3.3 Caratterizzazione gel con teofillina _____	67
3.4 Confronti _____	75
3.4.1 Fase 1	75
3.4.2 Fase 2	77
Conclusioni.....	81
4.1 Conclusioni _____	82
Bibliografia.....	85
Ringraziamenti	89

Indice delle figure

Figura 1. Struttura di un idrogel [2].....	2
Figura 2. Differenti strutture degli idrogel [10].....	6
Figura 3. Tecnica dell'ingegneria tissutale con idrogel [11].....	9
Figura 4. Processo termico di gelificazione (adattata da [14])	10
Figura 5. schema base della coacervazione complessa [12].....	11
Figura 6. Rappresentazione schematica del processo di gelificazione chimica con agenti reticolanti (adattata da [12]).....	12
Figura 7. Schema del processo di grafting (adattata da [12])	12
Figura 8. Tipico test di compressione non confinata con relativo grafico forza- spostamento [13]	14
Figura 9. Cinetica di swelling in dipendenza della densità di reticolazione [10]	17
Figura 10. Confronto tra sistema a matrice (A) e sistema reservoir (B).....	19
Figura 11. Schema riassuntivo dei meccanismi tradizionali [19].....	21
Figura 12. Schema dell'apparecchiatura utilizzata per l'indentazione [19].....	22
Figura 13. Schema dello standard linear model [19].....	23
Figura 14. Modulo di Young per alginato ed agarosio a differenti concentrazioni [19]	24
Figura 15. Viscosità effettiva a differenti concentrazioni [20]	25
Figura 16. Grado di swelling nel tempo per i differenti idrogel a pH 7.4(a), 5.0(b) e 3(c). In (d) il grado di swelling finale a diversi valori di pH per i vari tipi di idrogel [20].....	26
Figura 17. Profili di rilascio descritti mediante modello matematico [20]	27
Figura 18. Struttura dell'alginato [25]	30
Figura 19. Modello "egg-box" tipico della gelificazione ionotropica dell'alginato con ioni calcio (modificata) [12].	31
Figura 20. Struttura chimica della teofillina	32

Figura 21. Campione che assorbe una radiazione luminosa	34
Figura 22. Spettrofotometro Lambda 25, Perkin Elmer.....	34
Figura 23. Texture analyzer TA.XT Plus, Stable Micro Systems Ltd	35
Figura 24. Spettri assorbimento teofillina [A], retta di taratura teofillina [B]	40
Figura 25. Spettri di assorbimento polimero [A], retta di taratura polimero [B]	43
Figura 26. Schema del sistema utilizzato per la prova meccanica	44
Figura 27. Cinetica di assorbimento in 40 ml dei gel puri.....	49
Figura 28. Test di stress-relaxation a differenti compressioni.....	51
Figura 29. Cinetica di assorbimento in 600 ml dei gel puri	52
Figura 30. Cinetiche di assorbimento in 1.4 litri dei gel puri	54
Figura 31. Confronto cinetiche di assorbimento gel puri.....	56
Figura 32. Test di stress-relaxation con deformazione di 1mm influenzato dall'evaporazione.....	57
Figura 33. Posizione nel tempo delle grandezze misurate per i gel puri.....	60
Figura 34. Riassunto generale per i gel puri	62
Figura 35. Modulo elastico gel puri.....	66
Figura 36. Cinetiche di assorbimento in 1.4 litri dei gel con teofillina.....	67
Figura 37. Posizione nel tempo delle grandezze misurate per i gel con farmaco	69
Figura 38. Riassunto generale per i gel con teofillina.....	71
Figura 39. Modulo elastico gel con teofillina	74
Figura 40. Confronto cinetiche di assorbimento gel puri e gel con teofillina	75
Figura 41. Confronto erosione tra gel puri e gel con teofillina.....	76
Figura 42. Confronto trasporto delle specie in fase 2 tra gel puri e gel con teofillina.....	77
Figura 43. Confronto test meccanici tra gel puri e gel con teofillina.....	78
Figura 44. Confronto modulo elastico tra gel puri e gel con teofillina	78

Indice delle tabelle

Tabella 1. Riassunto delle principali caratteristiche dei vari sistemi di rilascio	21
Tabella 2. Assorbanza delle soluzioni di teofillina utilizzate per la taratura a 271nm.....	39
Tabella 3. Assorbanza delle soluzioni di alginato utilizzate per la taratura a 480 nm.....	42
Tabella 4. Risultati delle prove in 40 ml gel puri	49
Tabella 5. Risultati delle prove in 600 ml gel puri	53
Tabella 6. Risultati delle prove in 1.4 litri gel puri.....	55
Tabella 7. Risultati analisi dei residui secchi gel puri	64
Tabella 8. Risultati delle prove in 1.4 litri gel con teofillina	68
Tabella 9. Risultati analisi dei residui secchi gel con teofillina.....	73

Abstract

The study of the characteristics of hydrogels is critical to identify possible applications of these macromolecules. Swelling tests, mechanical tests, and network stability tests in various environments are therefore essential to evaluate their behavior and thus to be able to use them for various purposes in many fields.

In this work, the mechano-diffusive behavior of pure alginate (a biopolymer) hydrogels was analyzed and subsequently, the theophylline release from its network was analyzed. The analysis of mechanical behavior involved studies of swelling, polymer erosion and mechanical behavior during stress-relaxation tests performed on cylindrical gels. During the method set-up, absorption kinetics was evaluated using different external volumes to assess whether they could have affected the equilibrium conditions. From the results obtained, it was concluded that the volume of the outer medium influences the value of the degree of swelling. It was observed that a smaller volume causes a lower swelling degree. However, this was true until the use of a volume of a certain value beyond which no variation was evident.

Once the methods was set-up, the behavior of pure gels was evaluated. The analysis covered two consecutive phases, the first relating to the evaluation of water absorption kinetics and the second relating to the analysis of the mechano-diffusive behavior. The mechanical properties were studied by stress-relaxation tests performed with the texture analyzer, coupled with the evaluation of the gel transport properties (quantification of the water movements during the stress relaxation phase). It was noted that pure gels can double their weight with respect to their initial values. During the mechanical tests, however, it was observed that the relaxation of the network structure caused a small release of water. During the two phases, also the

analysis of the erosion of the polymer was performed by a colorimetric method (based on the oxidation of reducing sugar and polysaccharides). Hydrogels during the equilibration phase lost about 15% of the polymer initially present. No erosion was observed during the mechanical tests. The results obtained by the colorimetric method were also confirmed by a dry residue analysis.

The mechano-diffusive analyses were performed also on drug loaded hydrogels. In this case the first step (equilibration) was performed in a water plus theophylline solution, to allow both the water and the drug inlet. The results show that hydrogels during the equilibration phase can double their initial weight and that during the mechanical test the gel loses a small amount of water. Concerning the drug release, it was noted that it was complete at the end of the three-day mechanical test. Gel erosion was also evaluated and, as confirmed by the dry residue analysis, the trend was the same of the pure gels. Finally, a comparison was made between the results obtained from the pure and loaded gels, concluding that apart the absorption kinetics from which was noted that pure gels absorb about 5% more water than loaded gels, all the results of the other tests were similar.

In conclusion this work has allowed to identify the main phenomena regulating the mechano-diffusive behavior of alginate hydrogel, and it constitutes the starting point to characterize other hydrogel-loaded-systems as well as a good starting point to develop a descriptive mathematical model of the process.

Bibliografia

1. Kumar, A. C. and Erothu, H. Synthetic Polymer Hydrogels, in Biomedical Applications of Polymeric Materials and Composites (eds R. Francis and D. Sakthi Kumar), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 6th chapter (2016)
2. Faheem Ullaha, Muhammad Bisyrul, Hafi Othmana, Fatima Javedb, Zulkif Ahmada, Hazizan Md.Akila, Classification, processing and application of hydrogels: A review, *Materials Science and Engineering: C* **57** 414-433 (2015)
3. Sengqiang Cai, Y. Hu, X Zhao, Z Suo, Poroelasticity of a covalently crosslinked alginate hydrogel under compression, *Journal of Applied Physics* **108** 113514 (2010)
4. Fariba Ganji Fariba Ganji, Samira Vasheghani-Farahani, and Ebrahim Vasheghani-Farahani1, Theoretical Description of Hydrogel Swelling: A Review, *Iranian polymer journal* **19** 375-398 (2010).
5. Iwona Gibas and Helena Janik, Review: synthetic polymer hydrogels for biomedical applications, *chemistry & chemical technology* **4** (2010).
6. Diego Caccavo, Sara Cascone, Gaetano Lamberti, Anna Angela Barba and Anette Larsson, Swellable Hydrogel-based Systems for Controlled Drug Delivery, Smart Drug Delivery System, PhD. Ali Demir Sezer (Ed.), *InTech* (2016)
7. Anthony M. Lowman, Smart Pharmaceuticals
www-gateway.vpr.drexel.edu/files/NewEh/htmls/lowman.pdf
8. George A. Paleos, What are Hydrogels?
<http://pittsburghplastics.com/assets/files/What%20Are%20Hydrogels.pdf>
9. Guey-Sheng Liou Guey-Sheng Liou, Po-Han Lin, Hung-Ju Yen, Yang-Yen Yu, Tsung-Wei Tsai and Wen-Chang Chenac, Highly flexible and optical transparent 6F-PI/TiO₂optical hybrid films with tunable refractive index and excellent thermal stability, *Journals of materials chemistry*, **3** (2010)
10. Omidian Hossein, introduction to hydrogels, Biomedical applications of hydrogels handbook, pag 1-16, (2010)

11. H. A. Abd El-Rehim et al, Radiation synthesis of hydrogels to enhance sandy soils water retention and increase plant performance, *Applied Polymer science*, **93** 1360-1371 (2004).
 12. Syed K. H. Gulrez, Saphwan Al-Assaf and Glyn O Phillips, Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications, *InTech*(2011)
 13. Pietro Matricardi, Franco Alhaique, Tommasina Coviello, Polysaccharide Hydrogels: Characterization and Biomedical Applications, book (2015)
 14. Luca Gasperini, João F. Mano, Rui L. Reis, Natural polymers for the microencapsulation of cells, *Journal of the royal society interface* (2014)
 15. Qing Sheng Zhao, Preparation and characteristics of novel porous hydrogel films based on chitosan and glycerophosphate, *Carbohydrate Polymers*, **76** 410-416 (2009)
 16. Alves MH, Jensen BE, Smith AA, Zelikin AN, Poly(vinyl alcohol) physical hydrogels: new vista on a long serving biomaterial, *Macromolecular Bioscience*, **11** 1293-1313 (2011).
 17. M.L.Oyen, Mechanical characterisation of hydrogel materials, *International materials reviews*, **59** Pages 44-59 (2013)
 18. Nick X. Wang, Horst A. von Recum, Affinity-Based Drug Delivery, *Macromolecular Bioscience*, **11** Pages 321-332 (2010)
 19. Mark Ahearne, Ying Yang, Alicia J El Haj, Kong Y Then, Kuo-Kang Liu, Characterizing the viscoelastic properties of thin hydrogel-based constructs for tissue engineering applications, *Journal of the royal society interface* (2005)
 20. Yulin Li, Dina Maciel, Helena Tomás, João Rodrigues, Hui Mab and Xiangyang Shiab, pH sensitive Laponite/alginate hybrid hydrogels: swelling behaviour and release mechanism, *Soft matter*, **7** 6231-6238 (2011)
 21. A. J. M. Segeren, J. V. Boskamp and M. van den Tempel, Rheological and swelling properties of alginate gels, *Faraday Discussions of the Chemical Society*, **57** 255-262 (1974)
 22. Beate Thu, Per Bruheim, Terje Espevik, Olav Smidsrød, Patrick Soon-Shiong, Gudmund Skjåk-Braek, Alginate polycation microcapsules: II. Some functional properties, *Biomaterials*, **17** Pages 1069-1079 (1996)
 23. Nicolas M.Velings Michèle M.Mestdagh, Physico-chemical properties of alginate gel beads, *Polymer Gels and Networks*, **3** Pages 311-330 (1995).
 24. Martinsen A1, Skjåk-Braek G, Smidsrød O., Alginate as immobilization material: I. Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads, *Biotechnology and Bioengineering*, **33** 79-89 (1989)
 25. Diego Caccavo, Mathematical description of hydrogels' behavior for biomedical applications, Master's Thesis in Chemical Engineering (2013)
-

-
26. Choi BY1, Park HJ, Hwang SJ, Park JB, Preparation of alginate beads for floating drug delivery system: effects of CO(2) gas-forming agents, *International Journal of Pharmaceutics*, **239** 81-91 (2002)
 27. Michel Dubois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and Fred Smith, Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry*, **28** 350-356 (1956)
-

Ringraziamenti

È al Professore Lamberti, che mi ha permesso di conoscere il suo gruppo di ricerca e che in ogni situazione si è sempre rivolto a noi studenti con molta umanità;

è a Sara e a Diego, che mi hanno sempre, con molta pazienza, chiarito ogni dubbio e seguito costantemente fino alla fine di questo lavoro;

è alla mia famiglia, che mi ha sempre incoraggiato e supportato ogni qual volta ne ho avuto bisogno;

è a tutti i miei amici che mi hanno reso questo cammino meno duro e decisamente più divertente;

che vorrei dire *“Una sola parola, logora, ma che brilla come una vecchia moneta: Grazie!” [Pablo Neruda]*

