



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

Dipartimento di Ingegneria Industriale

Corso di Laurea in Ingegneria Chimica

Analisi del comportamento meccanico e del rilascio di principi attivi di gel di agarosio

Tesi in

Principi di Ingegneria Chimica

Relatori:

Prof. Ing. Gaetano Lamberti

Ing. Sara Cascone

Ing. Diego Caccavo

Candidata:

Maria Gaeta

matricola 0612201683

Anno Accademico 2017/2018

A mio fratello.

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

La data prevista per la discussione della tesi è il 20/12/2018

Fisciano, 11/12/2018

Sommario

Sommario	I
Indice delle figure	V
Indice delle tabelle	VII
Abstract	IX
Introduzione.....	1
1.1 Idrogel.....	2
1.1.1 Struttura e proprietà _____	2
1.2 Classificazione degli idrogel	4
1.2.1 Cross-linking_____	4
1.2.2 Tipo di network_____	4
1.2.3 Origini _____	5
1.2.4 Carica ionica _____	5
1.3 Campi di applicazione degli idrogel	6
1.3.1 Sostanze adsorbenti_____	6
1.3.2 Sistemi di rilascio controllato di principi attivi _____	7
1.3.3 Ingegneria tissutale _____	8

1.4 Tecniche di produzione	9
1.4 Caratterizzazione degli idrogel.....	11
1.5 Stato dell'arte	13
1.6 Obiettivi	17
Materiali, apparecchiature e metodi.....	19
2.1 Materiali.....	20
2.1.1 Agarosio _____	20
2.1.2 Teofillina _____	21
2.2 Apparecchiature.....	21
2.2.1 Spettrofotometro _____	21
2.2.2 Texture Analyzer _____	23
2.3 Metodi	24
2.3.1 Preparazione della soluzione di agarosio 2% w/w _____	24
2.3.2 Preparazione della soluzione di agarosio 2% w/w e teofillina 2% w/w _____	25
2.3.3 Preparazione degli idrogel _____	25
2.3.4 Valutazione del grado di swelling con analisi gravimetriche _____	25
2.3.5 Analisi sforzo-deformazione, prova a compressione ____	26
2.3.6 Analisi del rilascio di principio attivo, spettrofotometria _____	30
Risultati e discussione.....	33
3.1 Caratterizzazione di idrogel puri	34
3.1.1 Swelling _____	34
3.1.2 Stress-Rilassamento _____	35

3.2 Caratterizzazione di idrogel con principio attivo39

3.2.1 Analisi gravimetriche, prova di Stress-Rilassamento
e cinetica di rilascio..... 39

3.6 Confronti66

Conclusioni.....69

Bibliografia.....73

Indice delle figure

Figura 1. Struttura di un idrogel [2].	2
Figura 2. Classificazione dei gel in base alla carica presente sulla catena polimerici [4].	6
Figura 3. Inserimento dell'idrogel nel corpo umano, modalità [4].	9
Figura 4. Evoluzione del processo di gelificazione da riscaldamento/raffreddamento [4].	10
Figura 5. Rappresentazione del processo di gelificazione con agenti reticolanti [4].	10
Figura 6. Processo di grafting [5].	11
Figura 7. Dimostrazione di prova a compressione non confinata [5].	12
Figura 8. Rilascio cumulativo di frazione di teofillina da idrogel a base di gelatina e agar (a); gelatina e k-carrageenan (b); k-carrageenan e agar (c) a 37°C [10].	14
Figura 9. Risultati gravimetriche condotte da Rosario Cavallo [11].	16
Figura 10. Risultati prove di stress-relaxation condotte da Rosario Cavallo [11].	17
Figura 11. Struttura chimica dell'agarosio.	20
Figura 12. Struttura Teofillina.	21
Figura 13. Campione che assorbe una radiazione luminosa [13].	23
Figura 14. Spettrofotometro Lambda 25, utilizzato per questo lavoro di tesi.	23
Figura 15. Texture Analyzer usato per questo lavoro di tesi.	24
Figura 16. Schema riassuntivo del metodo utilizzato [4].	27
Figura 17. Andamento grafico Sforzo/Tempo.	28
Figura 18. Esempio di grafico Sforzo-Deformazione.	29
Figura 19. Diagrammi Assorbanza/Concentrazioni per la retta di taratura.	31
Figura 20. Analisi delle gravimetriche per i gel puri.	34

Figura 21. Grafico Sforzo Deformazione per $\epsilon = 15\%$ e $v=0.3\text{mm/s}$ e relative analisi gravimetriche e spettrofotometriche.....	35
Figura 22. Esempio grafico Sforzo/Deformazione per $\epsilon=15\%$ e $v=0,3\text{ mm/s}$	37
Figura 23. Andamento del modulo elastico in funzione della deformazione.	39
Figura 24. Grafico Sforzo/Tempo e rilascio con $\epsilon = 5\%$ e $v=0.3\text{mm/s}$ e relative analisi gravimetriche e spettrofotometriche.....	40
Figura 25. Grafico Sforzo/Tempo e rilascio con $\epsilon = 5\%$ e $v=0,5\text{ mm/s}$ e relative analisi.....	43
Figura 26. Grafico Sforzo/Tempo e rilascio $\epsilon = 5\%$ e $v=1,0\text{ mm/s}$ e relative analisi.....	45
Figura 27. Grafico Sforzo/Tempo e rilascio $\epsilon = 10\%$ e $v=0.3\text{ mm/s}$ e relative analisi.....	47
Figura 28. Grafico Sforzo/Tempo e rilascio con $\epsilon = 10\%$ $v=0.5\text{ mm/s}$	50
Figura 29. Grafico Sforzo/Tempo e rilascio con $\epsilon = 10\%$ $v=1.0\text{ mm/s}$	52
Figura 30. Grafico Sforzo/Tempo e rilascio con $\epsilon = 15\%$ $v=0.3\text{ mm/s}$	54
Figura 31. Grafico Sforzo/Tempo e rilascio con $\epsilon = 15\%$ $v=0.5\text{ mm/s}$	58
Figura 32. Grafico Sforzo/Tempo e rilascio con $\epsilon=15\%$ $v=1.0\text{ mm/s}$	61
Figura 33. Grafico Sforzo/Tempo e rilascio con $\epsilon = 15\%$ $v=1.0\text{ mm/s}$	63
Figura 34. Moduli elastici in funzione della deformazione.	65

Indice delle tabelle

Tabella 1. Risultati utilizzati per ricavare la retta di taratura.....	30
Tabella 2. Moduli elastici, altezza, sforzo massimo e sforzo di fine rilassamento per gel puri con relativi valori medi per gel puri.	38
Tabella 3. Moduli elastici, altezza, sforzo massimo e sforzo di fine rilassamento per gel con teofillina con relativi valori medi $\epsilon = 5\%$ e $v=0,3$ mm/s.	42
Tabella 4. Moduli elastici, altezza, sforzo massimo e sforzo di fine rilassamento per gel con teofillina con relativi valori medi $\epsilon = 5\%$ e $v=0,5$ mm/s.	44
Tabella 5. Moduli elastici, altezza, sforzo massimo e sforzo di fine rilassamento per gel con teofillina con relativi valori medi $\epsilon = 5\%$ e $v=1,0$ mm/s.	46
Tabella 6. Moduli elastici, altezza, sforzo massimo e sforzo di fine rilassamento per gel con teofillina con relativi valori medi $\epsilon = 10\%$ e $v=0,3$ mm/s.	49
Tabella 7. Moduli elastici, altezza, sforzo massimo e sforzo di fine rilassamento per gel con teofillina con relativi valori medi $\epsilon = 10\%$ e $v=0,5$ mm/s.	51
Tabella 8 . Moduli elastici, altezza, sforzo massimo e sforzo di fine rilassamento per gel con teofillina con relativi valori medi $\epsilon = 10\%$ e $v=1,0$ mm/s.	53
Tabella 9. Moduli elastici, altezza, sforzo massimo e sforzo di fine rilassamento per gel con teofillina con relativi valori medi $\epsilon = 15\%$ e $v=0,3$ mm/s.	57
Tabella 10. Moduli elastici, altezza, sforzo massimo e sforzo di fine rilassamento per gel con teofillina con relativi valori medi $\epsilon = 15\%$ e $v=0,5$ mm/s.	60
Tabella 11. Moduli elastici, altezza, sforzo massimo e sforzo di fine rilassamento per gel con teofillina con relativi valori medi $\epsilon = 15\%$ e $v=1,0$ mm/s.	62

Abstract

Hydrogels are macromolecules capable of absorbing large amount of water or biological fluids, which have different structures and characteristics depending the of technique used to produce them. In this thesis, two type of hydrogels were studied: the first type was made up of agarose, 2% w/w, and second type was made up of agarose and 2% w/w loaded with theophylline, 2% w/w, both obtained by means of the heating cooling technique, thus obtaining a microporous structure.

These systems are capable of responding to chemical stimuli (ie. difference in concentration of a species between the outside and the inside of the system) and to mechanical stimuli (ie. application of a certain deformation).

To investigate the response of these systems, in particular theophylline loaded hydrogel, gravimetric tests were carried out, to determine the evolution of the masses over time, and stress-relaxation tests to mechanically stimulate the system and at the same time to derive the specific mechanical parameters.

The gravimetric tests on pure hydrogels, conducted by letting the gels balance in distilled water, have shown that the 2% w/w agarose hydrogels are, at the time of extraction from the mold in which they were obtained, already very close to the equilibrium with pure water. In fact, weight variations were found due to negligible absorption/desorption of water. Pure gels thus produced and balanced, were subjected to stress-relaxation tests (deformation of 15% and strain rate of 0,3 mm/s) to evaluate their mechanical properties (such as maximum stress, stress at the end of relaxation and elastic modulus) to be used as a comparison with theophylline loaded gels.

Theophylline loaded gels were subjected to stress-relaxation tests by varying deformation (0%, 5%, 10%, 15%) and strain rate (0,3, 0,5,

1,00 mm/s) and monitoring the variation of the water, drug, and polymer masses beside of to the evolution of stress.

The results obtained confirm that the theophylline loaded gel are slightly stiffer than pure gels due to the presence of theophylline itself. The imposed deformation has a marked impact on the system response, both mechanical and transport, while the strain rate does not have considerable effects (both on the mechanical response and on the transport of water, Theophylline and polymer). In particular, the deformation of 0% and 5%, although with a totally different mechanical response (and mechanical stimulus), do not present significantly different drug releases and water absorption/desorption, showing that such deformation is not able to provide a sufficient stimulus to the hydrogel to trigger mass transport phenomena different from purely diffusive ones. On the other test at hand deformation of 10% and 15% showed an increased drug release and water expulsion following the stress-relaxation phase. Although there is no significant difference in terms of drug release and water desorbed between the sets of test, it was demonstrated that it is possible to influence, in hydrogel of agarose, mass transport through mechanical stimuli.

Bibliografia

1. Marchini Paolo, Tesi in Ingegneria Chimica e Fisica applicata: *Diffusion through hydrogels : a model study*, (18 Dicembre 2015)
2. Gruppo TPP Unisa, <http://gruppotpp.unisa.it/> (consultato il 10/12/2018)
3. Giuseppe Alonci,, *Alla scoperta degli idrogel: biomateriali dalle molteplici applicazioni chimiche*, (21 Agosto 2016).
4. Cavallo Rosario, Tesi in Ingegneria Chimica: *Analisi del comportamento meccanico e diffusivo di idrogel di alginato caricati con farmaci*, (25 Ottobre 2017)
5. Mancino Raffaele, Tesi in Ingegneria Chimica: *Analisi del comportamento meccanico di idrogel e criogel di agarosio*, (28 Settembre 2018)
6. Faheem Ullah, Muhammad Bisyrul Hafi Othman at all, *Materials Science and Engineering:C*, pagine 414-433, (1 Dicembre 2015)
7. Rong Jin, Pieter J. Dijkstra, Hydrogels for tissue engineering applications, *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*, pag. 203-225, (2010).
8. Josè Antonio Guardiani, Tesi in Ingegneria Biomedica: *Messa appunto di un protocollo sperimentale per lo studio dell'effetto della rigidità della matrice sulla differenziazione cellulare nell'ingegneria del tessuto cardiaco*, (2009/2010)
9. Dario Falcone, Tesi in Ingegneria Chimica: *Studio del comportamento di idrogel di alginato sottoposti a stimoli chimici e meccanici*, (2016/2017)
10. Jianhong Liu, Shiqi Lin, Lin LI, Erjia Liu, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 298, Num. 1 , Pag. 117-125
11. Cavallo Rosario, Tesi in Ingegneria Chimica: *Analisi del comportamento meccanico e diffusivo di idrogel di alginato caricati con farmaci*, (25 Ottobre 2017)
12. Agarose Physical Chemistry, [www.lonza.com\research](http://www.lonza.com/research)
13. V. Normand et al, “*New Insight into Agarose Gel Mechanical Properties*”, *Biomacromolecules*, (2000; pagine 730-738)

14. Paolo Iuorio, Tesi in Ingegneria Chimica: *Effetto della solubilità del principio attivo sul comportamento di matrici a base di idrogel*, (2016/2017).
15. Simone Gelosa, Legge di Lambert_Beer, Enciclopedia della Scienza e della Tecnica (2008)

Ringraziamenti

Ringrazio il Prof. Gaetano Lamberti per avermi permesso di collaborare con il suo gruppo di ricerca.

Ringrazio Sara e Diego per avermi seguito passo dopo passo in questo lavoro durato mesi.

Ringrazio la mia famiglia che mi ha permesso di studiare, in particolare mia mamma che mi ha sempre spronata a fare di più.

Ringrazio mio fratello che in questi tre anni ha sempre creduto in me e con la sua allegria e spensieratezza ha saputo regalarmi sempre un sorriso anche nei momenti di sconforto.

Ringrazio Roberto, la mia metà, che in questo percorso ha avuto un ruolo fondamentale, in lui ho trovato supporto e sopportazione. È stato la mia spalla forte, l'unico sempre presente, sempre pronto a scommettere tutto sul mio traguardo, l'unico che con pazienza mi ha aiutato a non arrendermi.

Ringrazio infine tutte le persone che mi vogliono bene: amici, parenti e conoscenti che hanno creduto in me, perché è anche grazie a loro se oggi ho raggiunto questo traguardo.

“La salita è dura ma quando arrivi in cima il panorama è fantastico.”