



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

Dipartimento di Ingegneria Industriale

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Chimica

***Riprogettazione di un modello in vitro dinamico per la
simulazione del comportamento dello stomaco umano***

Tesi in
Fenomeni di Trasporto

Relatori:

Prof. Ing. Gaetano Lamberti

Ing. Diego Caccavo

Ing. Marco Iannone

Candidato:

Davide Guerriero

0622201009

Anno Accademico 2019/2020

"I thought it was impossible

But you make it possible"

Questo testo è stato stampato in proprio, in Times New Roman 12

La data prevista per la discussione della tesi è il 15/12/2020

Fisciano

Sommario

Sommario	I
Indice delle figure	V
Indice delle tabelle	IX
Abstract	XI
Introduzione.....	1
1.1 Introduzione.....	2
1.2 Biodisponibilità di un farmaco.....	3
1.3 Incapsulamento dei farmaci e relativi meccanismi di rilascio.....	4
1.4 Fenomeni ADME.....	6
1.5 Il tratto gastrointestinale	7
1.5.1 Anatomia e fisiologia dello stomaco	8
1.6 Motilità gastrica.....	12
1.6.1 Modellazione fluidodinamica della motilità	15
1.7 Profilo pH all'interno dello stomaco	23
1.8 Modello farmacocinetico	25
1.8.1 Volume apparente di distribuzione	26

1.8.2 Clearance	27
1.9 Stato dell'arte: Dispositivi in vitro per la simulazione dello stomaco umano	28
1.9.1 Sistemi USP	28
1.9.2 Sistemi dinamici	33
1.10 Obiettivi	49
Materiali, apparecchiature e metodi	51
2.1 Materiali	52
2.1.1 Carbamazepina	52
2.1.2 Mezzi di dissoluzione	53
2.2 Apparecchiature	53
2.2.1 Apparato USP II	53
2.2.2 HPLC	54
2.2.3 Texture Analyzer (TA)	55
2.3 Metodi	56
2.3.1 Metodo di dissoluzione	56
2.3.2 Metodi analitici	57
2.3.3 Taratura del sensore di pressione	58
Riprogettazione e realizzazione del modello in vitro	61
3.1 Riprogettazione e realizzazione del dispositivo	62
3.2 Sistema di controllo e misura	65
3.2.1 Controllo del pH	65
3.3 Sistema di misura della pressione	66
Risultati e discussione	67

4.1 Forza di contrazione del dispositivo dinamico	68
4.2 Analisi dei rilasci di carbamazepina in USP II	73
4.2.1 Rilascio convenzionale in USP II	73
4.2.2 Rilascio non convenzionale in USP II	74
4.3 Analisi dei rilasci di carbamazepina nel dispositivo dinamico	75
4.3.1 Profilo di concentrazione nel dispositivo dinamico	75
4.3.2 Rilascio nel dispositivo in vitro dinamico con profilo di pH convenzionale	76
4.3.3 Rilascio nel dispositivo in vitro dinamico con profilo di pH non convenzionale	77
4.4 Confronto dei rilasci	79
Modello PBPK	81
5.1 Modello farmacocinetico basato sulla fisiologia.....	82
5.2 Implementazione del modello PBPK su Matlab	86
5.3 Ottimizzazione dei parametri del modello PBPK....	87
5.4 Risultati del modello PBPK.....	89
Conclusioni.....	93
6.1 Conclusioni.....	94
Bibliografia.....	97

Indice delle figure

Figura 1. Schema fenomeni ADME di un farmaco somministrato per via orale.....	6
Figura 2. Organi principali del tratto gastrointestinale.....	7
Figura 3. Parti principali dello stomaco umano.....	9
Figura 4. Schema motilità dello stomaco [6].....	12
Figura 5. Ipotetica disposizione dei contenuti luminali dello stomaco a riposo e durante l'attività digestiva. A) Stratificazione e separazione di fase. B) Allontanamento delle particelle e delle goccioline di grasso dalle pareti antrali [7].	14
Figura 6. Immagini MRI da una sequenza di movimenti dello stomaco catturati con un intervallo di 4 secondi [9].	16
Figura 7. Geometria dello stomaco in condizioni fed e fasted [9].	17
Figura 8. (a) Vettori di velocità del flusso gastrico predetti a ogni istante di tempo; (b) Linee di flusso istantanee con tre paia di vortici evidenziati; (c) Flusso di velocità lungo l'asse z mostrato in (a), rappresentato a intervalli di 1 s. La curva riempita sulla destra è la massima velocità di retroflusso attraverso le contrazioni in funzione del tempo. La linea punteggiata segue la propagazione distale delle contrazioni nello spazio e nel tempo[9].	18
Figura 9. Modello 3D di uno stomaco umano.	19
Figura 10. Effetto della viscosità sulla formazione del retropulsive-jet like motion [11].	21
Figura 11.Figura 16. Effetto delle proprietà reologiche dei contenuti gastrici sul valore [12].	21
Figura 12 Schema dell'attività della pressione antrale che contribuisce periodi di pompa peristaltica e di pompa di pressione dello svuotamento gastrico [10].	23
Figura 13. Profilo approssimativo del pH dello stomaco umano in seguito all'assunzione di cibo (M) [12].	24
Figura 14. Schematizzazione dispositivo USP 1	29
Figura 15. Dispositivo USP 1	29
Figura 16. Schematizzazione dispositivo USP 2.	30

Figura 17. Dispositivo USP 2.	30
Figura 18. Schematizzazione dispositivo USP 3.	31
Figura 19. Dispositivo USP 3.	32
Figura 20. Schematizzazione dispositivo USP 4	32
Figura 21. Dispositivo USP 4.	33
Figura 22. Human Gastric Simulator[8].	34
Figura 23. Sistema per la simulazione della peristalsi e controllo della pressione interna.	36
Figura 24. Confronto profilo assiale di forze nel sistema HGS (A) con quello ottenuto in uno stomaco in vivo (B)	37
Figura 25. Profilo pH ottenuto nell'HGS	38
Figura 26. Dynamic Gastric Simulator [14].	40
Figura 27. Schema TIMagc: il corpo gastrico (A), il corpo distale, l'antro prossimale (B), l'antro distale (C) e una valvola (D).....	42
Figura 28. Fasi motilità del dispositivo TIMagc.....	42
Figura 29. Profilo pH dispositivo TIMagc.....	43
Figura 30. Sistema per la simulazione della peristalsi del GSM.....	44
Figura 31. Profili di pressione ottenuti nel GSM [16].	45
Figura 32. Profilo pH riprodotto in condizioni fed (rosso) [17].	47
Figura 33. (A) Fotografia del modello proposto. (B) Vista schematica dall'alto del dispositivo [17].	48
Figura 34. Struttura della Carbamazepina.	52
Figura 35. Schema HPLC	54
Figura 36. Texture Analyzer (TA)	55
Figura 37. Retta di taratura Carbamazepina	58
Figura 38. Retta di taratura del sensore di pressione.	59
Figura 39. Stomaco in lattice.	62
Figura 40. Fotografia della sacca in lattice.	63
Figura 41. Fotografia del sistema di piatti e cuscinetti	64
Figura 42. Fotografia delle molle utilizzate per la fase di ritorno della contrazione.	64
Figura 43. Controllo di pH.....	65
Figura 44. Trasduttore di pressione in acciaio inossidabile (30 PSI).....	66
Figura 45. Pressione nella strizione superiore.	68

Figura 46. Figura 46. Pressione nella strizione intermedia.....	69
Figura 47. Pressione strizione inferiore	69
Figura 48. Profilo di forza nella strizione superiore.	70
Figura 49. Profilo di forza nella strizione intermedia.....	71
Figura 50. Profilo di forza nella strizione inferiore.	71
Figura 51. Profilo forze nel sistema HGS (A) con quello ottenuto in uno stomaco in vivo (B).	72
Figura 52. Rilascio convenzionale CBZ.....	73
Figura 53. Rilascio non convenzionale in USP II.....	74
Figura 54. Profilo di concentrazione all'interno del dispositivo dipendente dall'altezza e dal tempo.....	76
Figura 55. Rilascio di CBZ nel dispositivo dinamico con profilo di pH convenzionale.....	77
Figura 56. Rilascio nel dispositivo in vitro non convenzionale con storia di pH.	78
Figura 57. Confronto dei rilasci.....	79
Figura 58. Schema del modello PBPK.	82
Figura 59. Fitting dei dati sperimentali. In rosso i dati ottenuti dal modello PBPK; in blu i punti sperimentali in vivo ricavati in letteratura.....	88
Figura 60. Concentrazione plasmatica risultante dalla somministrazione orale di una dose di 200mg. Concentrazione A, ottenuta dai dati di rilascio ricavati con metodo convenzionale; Concentrazione B ottenuta dai dati di rilascio ricavati con dispositivo USP II e pH variabile; Concentrazione C ottenuta dai dati di rilascio ricavati con dispositivo dinamico con profilo di pH convenzionale; Concentrazione D ottenuta dai dati di rilascio ricavati con dispositivo dinamico con profilo di pH variabile. Le linee orizzontali rappresentano la minima concentrazione efficace e la minima concentrazione tossica.....	89
Figura 61. Concentrazione plasmatica risultante dalla somministrazione orale di una dose di 400mg. Concentrazione A, ottenuta dai dati di rilascio ricavati con metodo convenzionale; Concentrazione B ottenuta dai dati di rilascio ricavati con dispositivo USP II e pH variabile; Concentrazione C ottenuta dai dati di rilascio ricavati con dispositivo dinamico con profilo di pH convenzionale; Concentrazione D ottenuta dai dati di rilascio ricavati con dispositivo dinamico con profilo di pH variabile. Le linee orizzontali rappresentano la minima concentrazione efficace e la minima concentrazione tossica.....	90

Indice delle tabelle

Tabella 1. Principali fattori che influenzano la biodisponibilità [2].	4
Tabella 2. Proprietà generali Carbamazepina.	53
Tabella 3. Metodo HPLC per la Carbamazepina.....	57
Tabella 4. Parametri stimati in letteratura.....	86
Tabella 5. Parametri ottenuti con il fitting.....	86
Tabella 6. Limiti inferiori e superiori dei parametri da ottimizzare.....	88
Tabella 7. Parametri di fitting per il modello PBPK.....	88

Abstract

The study of drug release pattern from an orally administrated pharmaceutical dosage is necessary in order to evaluate the effectiveness of the pharmaceutical form itself. The use of accurate in vitro devices to simulate the behavior of human organs, allows to reduce the number of animal experiments, thus assuming a high ethical value.

The aim of this work has been to study the influence of the effects of different pH profile evolution and of the mixing conditions on the release from a commercial carbamazepine tablet using both a conventional dissolution device and an unconventional in vitro model redesigned during this thesis work.

The innovative in vitro model for the simulation of behavior of the human stomach has been redesigned reproducing gastric motility by coupling a gear motor, with a corresponding rotation speed to the antral contraction frequency, to an iron threaded bar on which plates and ball bearings have been mounted. It has been possible to transfer the motion from gear motor to device by connecting the device and the mechanical system with belts. In order to validate the fluid dynamics of the innovative device, a measurement system has been designed and realized. Using a balloon as a sensitive element, it has been possible to measure the pressure exerted by the belts on the stomach in vitro thanks to a pressure transducer. The pressure values have been converted in force measures by calibrating the pressure transducer with the texture analyzer (TA). The force values obtained are within an acceptable range, that is 4 to 7.5 N, compatible with literature data. Furthermore, a pH control system has been developed in such a manner that it has been possible to reproduce the real pH profile that occurs in the stomach during digestion of food.

Concerning the investigation of release pattern of pharmaceutical form, four types of experiment have been carried out. The conventional test have been performed with a conventional USP II apparatus, placing the tablet in a solution at pH 1 to simulate the gastric environment for two hours, the average retention time of the stomach, and then the solution has been neutralized obtaining an estimated pH of 6.8 in which the dissolution has been performed for one hour. Instead, the unconventional test in the USP II has been executed reproducing the typical “fed state” pH profile. Subsequently, the last two tests have been carried out using the dynamic device applying conventional and unconventional pH profile. The samples withdrawn regularly during the tests have been analysed by high performance liquid chromatography (HPLC) in order to trace dissolved drug concentration in time. In particular, taking into consideration the fluid dynamic segregation of innovative device, it has been necessary to withdrawn at different heights in such a manner that it has been possible to evaluate the concentration profile along the in vitro model. The method comparisons confirm the influence of pH profile and of shear stress on release pattern by tablet. The results of the gastrointestinal tract release pattern have been shown negligible released quantity for conventional pH profile in both devices, and an high percentage of release when submitted to “fed state” pH profile. Analyzing the unconventional pH profile cases, it has been possible to underline the influence of shear stress on released amount. In each experiment, the results of dissolution into intestine environment has been the instantaneous complete release performed by drug.

In order to evaluate the corresponding in vivo release pattern, it has been necessary to optimize and adapt a previous PBPK model using Matlab. The estimated plasma concentration have been compared with the minimum effective concentration and the minimum toxic concentration in such a manner that it has been possible to declare the effectiveness of drug. It has been demonstrated the influence of in vitro method on the obtained plasma concentration and the importance of a valid approach to evaluate the in vitro release pattern.

Bibliografia

1. Amidon, G.L., et al., *A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability*. Pharmaceutical research, 1995. **12**(3): p. 413-420.
2. Roy, D.S. and B.D. Rohera, *Comparative evaluation of rate of hydration and matrix erosion of HEC and HPC and study of drug release from their matrices*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2002. **16**(3): p. 193-199.
3. Cascone, S., et al., *Gastrointestinal behavior and ADME phenomena: I. In vitro simulation*. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2016. **35**: p. 272-283.
4. Soybel, D.I., *Anatomy and physiology of the stomach*. Surgical Clinics, 2005. **85**(5): p. 875-894.
5. Mahadevan, V., *Anatomy of the stomach*. Surgery (Oxford), 2020.
6. Ferrua, M. and R. Singh, *Modeling the fluid dynamics in a human stomach to gain insight of food digestion*. Journal of food science, 2010. **75**(7): p. R151-R162.
7. Schulze, K., *Imaging and modelling of digestion in the stomach and the duodenum*. Neurogastroenterology & Motility, 2006. **18**(3): p. 172-183.
8. Kong, F. and R.P. Singh, *A human gastric simulator (HGS) to study food digestion in human stomach*. Journal of food science, 2010. **75**(9): p. E627-E635.
9. Pal, A., et al., *Gastric flow and mixing studied using computer simulation*. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 2004. **271**(1557): p. 2587-2594.
10. Indireskumar, K., et al., *Relative contributions of "pressure pump" and "peristaltic pump" to gastric emptying*. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 2000. **278**(4): p. G604-G616.

11. Marra, F., M.J. Ferrua, and R.P. Singh, *Experimental characterization of the fluid dynamics in an in-vitro system simulating the peristaltic movement of the stomach wall*. *Procedia Food Science*, 2011. **1**: p. 1473-1478.
 12. Mudie, D.M., G.L. Amidon, and G.E. Amidon, *Physiological parameters for oral delivery and in vitro testing*. *Molecular pharmaceutics*, 2010. **7**(5): p. 1388-1405.
 13. Dressman, J.B. and J. Krämer, *Pharmaceutical dissolution testing*. 2005: Taylor & Francis Boca Raton, FL:.
 14. Wickham, M., et al., *The design, operation, and application of a dynamic gastric model*. *Dissolution Technol*, 2012. **19**(3): p. 15-22.
 15. Bellmann, S., et al., *Development of an advanced in vitro model of the stomach and its evaluation versus human gastric physiology*. *Food Research International*, 2016. **88**: p. 191-198.
 16. Li, Y., L. Fortner, and F. Kong, *Development of a Gastric Simulation Model (GSM) incorporating gastric geometry and peristalsis for food digestion study*. *Food Research International*, 2019. **125**: p. 108598.
 17. Cascone, S., et al., *In vitro simulation of human digestion: chemical and mechanical behavior*. *Dissolution Technologies*, 2016. **23**(4): p. 16-23.
 18. Greenberg, R., et al., *Therapeutic Index Estimation of Antiepileptic Drugs: A Systematic Literature Review Approach*. *Clinical Neuropharmacology*, 39(5), 232–240.
 19. Paolucci F., *Analisi parametrica di un modello farmacocinetico basato sulla fisiologia del corpo umano*, Tesi di Laurea in Ingegneria Chimica, Università degli Studi di Salerno, (2011).
 20. Di Muria M., Lamberti G., Titomanlio G., *Physiologically based pharmacokinetics: a simple, all purpose model*, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 49 (6), pp 2969–2978 (2010).
-

