



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA

DIPARTIMENTO DI FARMACIA

Dottorato di ricerca in BIOFARMACEUTICA-FARMACOCINETICA

CICLO XXVI (2011-2013)

SOMMINISTRAZIONE DI FARMACI A BAMBINI E  
ANZIANI: NUOVA TECNOLOGIA PER PRODOTTI  
ESTEMPORANEI EFFERVESCENTI

Coordinatore:

Chiar.mo Prof. Paolo Colombo

Relatori:

Chiar.mo Prof. Paolo Colombo

Prof.sa Gaia Colombo

Dottoranda:

Dott.ssa Eleonora Torre

*Ai miei genitori*

## **INDICE**

<b>1.</b>	<b>INTRODUZIONE</b>	<b>1</b>
1.1	Stato dell'arte delle compresse effervescenti	6
1.2	Moduli Dome Matrix®	10
1.3	Tubercolosi e farmaci antitubercolari	15
<b>2.</b>	<b>SCOPO</b>	<b>20</b>
<b>3.</b>	<b>MATERIALI E METODI</b>	<b>23</b>
<b>3.1</b>	<b>Materiali</b>	<b>23</b>
<b>3.2</b>	<b>Metodi</b>	<b>26</b>
3.2.1	Analisi dimensionale delle polveri di reagenti	26
3.2.2	Macinazione dell'acido citrico	26
3.2.3	Granulazione dell'acido citrico	26
3.2.4	Preparazione delle miscele da comprimere	27
3.2.5	Fabbricazione dei moduli Dome Matrix®	27
3.2.6	Controlli tecnologici sulle compresse	28
3.2.7	Osservazione del comportamento in acqua della compressa	30
3.2.8	Saggio di dissoluzione in vitro dell'acido citrico monoidrato	30
3.2.9	Determinazione quantitativa dell'acido citrico	30
3.2.10	Quantificazione della reazione di effervescenza	33
3.2.11	Calorimetria differenziale a scansione della rifampicina.	38

3.2.12 Misura della densità reale della formulazioni da comprimere.	39
3.2.13 Fabbricazione di compresse cilindriche a faccia piatta	39
3.2.14 Misura della durezza delle compresse piatte	40
3.2.15 Determinazione del contenuto di Rifampicina e/o di Isoniazide nelle compresse mediante spettrofotometria UV-Vis	40
3.2.16 Saggio di Dissoluzione in vitro sulle compresse cilindriche	42
3.2.17 Saggio di dissoluzione in vitro sugli assemblati Dome Matrix®	43
3.2.18 Studi di dispersione delle compresse in piccoli volumi d'acqua e analisi dimensionale della dispersione tramite diffrattometria laser	44
<b>4.     RISULTATI E DISCUSSIONE</b>	<b>46</b>
<b>4.1 Moduli effervescenti senza principi attivi</b>	<b>47</b>
4.1.1 Formulazioni di orientamento	47
4.1.2 Sostituzione del diluente	51
4.1.3 Studi qualitativi di effervescenza sulle polveri	54
4.1.4 Nuove formulazioni per sistemi assemblati con reagenti per l'effervescenza in rapporto molare 1:1	56

4.1.5	Aumento dimensioni compresse e ottimizzazione formulativa	58
4.1.5.1	Diluyente e lubrificante	58.
4.1.5.2	Confronto tra diluenti per compresse orosolubili	60
4.1.6	Moduli con F-Melt® tipo C contenenti i reagenti per l'effervescenza	63
4.1.7	Determinazione dell'influenza della quantità di acido citrico sul processo di disgregazione della compressa	64
4.1.8	Velocità di dissoluzione dell'acido citrico dai moduli DM	67
4.1.9	Confronto tra compresse di acido citrico disgreganti	69
4.1.10	Modifiche al modulo acido (acido citrico granulato, acido tartarico) e misura dell'effervescenza prodotta	73
4.1.11	Ottimizzazione delle formulazioni dei moduli contenenti acido tartarico o bicarbonato	85
4.1.11.1	Caratterizzazione tecnologica delle compresse	89
4.1.11.2	Valutazione della variazione di pH durante la reazione di effervescenza	92
<b>4.2</b>	<b>Formulazione e fabbricazione dei moduli contenenti i principi attivi</b>	<b>94</b>

4.2.1	Caratterizzazione di Rifampicina e Isoniazide polvere	94
4.2.2	Preparazione delle compresse cilindriche di Isoniazide e Rifampicina	98
4.2.2.1	Analisi quantitativa dei farmaci	104
4.2.2.1.1	Prove di dissoluzione sulle compresse di farmaco	105
4.2.3	Preparazione delle compresse cilindriche di acido tartarico e aromi.	106
4.2.4	Fabbricazione dei moduli Dome Matrix®	113
4.2.4.1	Prove di dissoluzione sugli assemblati	116
4.2.4.2	Analisi dimensionale della sospensione	119
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONI</b>	<b>122</b>
<b>6.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>127</b>

## **1. INTRODUZIONE**

I bambini e gli anziani sono categorie speciali di pazienti. Nella pratica clinica, poiché molti farmaci non sono presentati in formulazioni pediatriche specifiche, gli operatori sanitari o i genitori preparano estemporaneamente il prodotto da somministrare al bambino a partire dal medicinale per l'adulto. Una pratica comunemente utilizzata è quella di macinare per quanto possibile finemente la compressa e somministrarla al bambino mescolata ad acqua o ad alimenti. Questo comporta la perdita di parte del medicinale durante il procedimento poiché macinare forme di somministrazione solide può generare errori di dosaggio, incompatibilità, rischi dovuti all'uso di strumenti inadatti o distruzione di forme di dosaggio a rilascio prolungato. Inoltre, poiché la formulazione non è stata studiata per essere gradevole, l'accettabilità del bambino verso la terapia si riduce.

Recentemente si è evidenziata maggiore attenzione per l'innovazione nella somministrazione di farmaco in pazienti pediatrici attraverso l'utilizzo di forme solide di dosaggio espressamente studiate per rispondere ai bisogni dei piccoli secondo criteri di sicurezza, efficacia e accettabilità.

Lo sviluppo fisico, cognitivo e motorio del bambino evolve rapidamente. Ciò influenza l'interazione del piccolo organismo col farmaco, la capacità di usarlo e accettarlo. Il medicinale tarato sull'età del bambino, dall'infanzia all'adolescenza, dovrebbe variare non solo come dose, ma anche come forma di dosaggio nelle caratteristiche di aspetto, dimensioni, volume somministrabile, sapore e sicurezza degli eccipienti.

Una forma di dosaggio pediatrica dovrebbe utilizzare di preferenza vie di somministrazione non invasive. Una formulazione ideale deve rispondere ai requisiti di essere a dose pediatrica singola o ottenuta con un sicuro e facile prelievo (dose scaling), avere frequenza di somministrazione ridotta, essere appropriata per l'età del bambino e facile da somministrare, contenere eccipienti non tossici per il bambino ed essere perfettamente accettabile.

Sono presenti in commercio diverse forme farmaceutiche pediatriche. Si possono trovare formulazioni pronte all'uso come sciroppi, sospensioni, soluzioni, compresse, compresse masticabili, compresse orosolubili e strips. Le formulazioni pediatriche possono anche richiedere manipolazioni: per esempio si trovano compresse, polveri e granuli da disperdere in acqua, soluzioni concentrate da diluire, compresse effervescenti o polveri da disperdere nei cibi.



**Figura 1.** Alcuni esempi di formulazioni per bambini: strips (sinistra) e gocce per sospensione orale (destra).



**Figura 2.** Sciroppo per bambini (sinistra) e compresse masticabili (destra).

La via di somministrazione è scelta in base all'età del bambino; per i neonati si utilizzano sciroppi e soluzioni; sospensioni o compresse effervescenti possono essere usata dai 2 anni in poi, mentre le compresse masticabili o oro solubili dopo i 6 anni. Per adolescenti (dagli 11 anni) vengono utilizzate anche capsule e compresse da inghiottire. Per una formulazione liquida un aspetto importante da considerare è il volume di liquido somministrato. Per i bambini sotto i 5 anni viene raccomandato di non superare un volume di circa 5 ml, mentre si può arrivare a 10 ml per i bambini più grandi. Il volume di liquido può essere aumentato se la formulazione ha un gusto gradevole ed è quindi ben accettata dal bambino.

Il sapore è infatti un punto molto critico nella formulazione di farmaci diretti ai bambini. Alcune ricerche di mercato hanno dimostrato che il sapore di “bubble gum” o di uva sono i gusti preferiti dai bambini statunitensi, il gusto limone è invece preferito in Europa e la liquirizia nei paesi scandinavi. Un altro fattore chiave nel taste masking è la dolcezza della preparazione; i bambini sono infatti in grado di riconoscere molto presto il sapore dolce. Il dolcificante più utilizzato

nelle preparazioni per adulti è il saccarosio, ma questo viene sostituito da dolcificanti sintetici per i farmaci utilizzati nelle terapie a lungo termine. Infine anche il colore è un fattore considerato nelle preparazioni per bambini che generalmente preferiscono colori brillanti, ma allo stesso tempo l'uso dei coloranti viene limitato per evitare problemi di ipersensibilità e altre reazioni avverse [1-7].

Le compresse sono, generalmente, le forme farmaceutiche più facili ed economiche da sviluppare, trasportare e conservare. A differenza degli adulti, dove le forme di dosaggio orali solide come compresse o capsule sono accettate nella maggioranza dei pazienti, neonati e bambini hanno esigenze diverse sia per quanto riguarda il tipo di forma farmaceutica da utilizzare sia per quanto riguarda il dosaggio, che varia in funzione dell'età e del peso del paziente.

In alcune terapie a lungo termine, per esempio anti malarica e anti-tubercolare, è necessaria l'assunzione quotidiana di numerose preparazioni di farmaci. Questa è una situazione particolarmente critica nel caso della terapia pediatrica, in quanto il bambino non è in grado di capire quanto la terapia sia necessaria e semplicemente la rifiuta perché l'assunzione del medicinale è sgradevole.

I bambini, specialmente se molto piccoli non sono in grado di deglutire una compressa, lo stesso problema è presente nella somministrazione di compresse a pazienti molto anziani. Inoltre, di fondamentale importanza è la necessità di mascherare il gusto del principio attivo. Il gusto sgradevole è un fattore essenziale per la formulazione di medicinali per bambini e anziani in

quanto può aumentare il rischio di una somministrazione incompleta con una conseguente riduzione della dose di farmaco assunta.

Una soluzione alle problematiche presentate dalle formulazioni pediatriche e geriatriche, in particolare quelle che comportano la somministrazione di più principi attivi contemporaneamente, può risiedere nella combinazione della tecnologia delle forme solide effervescenti con la tecnologia delle compresse denominate Dome Matrix®. In questa direzione si rivolge il lavoro di tesi effettuato [8-12].

## 1.1 Stato dell'arte delle compresse effervescenti

Le compresse effervescenti sono forme farmaceutiche solide che immerse in acqua sviluppano anidride carbonica che provoca la disgregazione e dissoluzione della forma solida, dando luogo ad una soluzione o sospensione del farmaco contenuto nella compressa stessa. [13]

Le compresse effervescenti presentano numerosi vantaggi rispetto alle compresse tradizionali:

- vengono disciolte in acqua prima dell'uso per cui il principio attivo che viene somministrato in forma liquida, rimane allo stato solido fino al momento dell'utilizzo del preparato. Questo permette di avere una maggiore stabilità della preparazione, ridurre il rischio di degradazione del principio attivo rispetto alle soluzioni pronte ed allo stesso tempo, rende più veloce l'assorbimento del farmaco rispetto ad una compressa tradizionale o altra forma solida.
- la dissoluzione o dispersione del principio attivo è rapida grazie alla disgregazione creata dall'effervescenza.
- la presenza di acido citrico o tartarico migliora il sapore della soluzione.
- la somministrazione è meno irritante per lo stomaco.

Tuttavia le compresse effervescenti presentano anche alcune criticità di fabbricazione e conservazione:

- il processo di produzione è più complesso rispetto alle normali compresse dovendo realizzarsi in un ambiente fortemente condizionato per temperatura e umidità.
- è necessario un confezionamento a prova di umidità che protegga la compressa durante il trasporto e la vendita.

A contatto con l'acqua, le compresse effervescenti sviluppano CO<sub>2</sub> in seguito alla reazione di un acido organico solubile, ad esempio l'acido citrico, con una base, come il sodio bicarbonato. La reazione del sodio bicarbonato con l'acido citrico è la seguente:



La prima cosa da notare è che in seguito alla reazione dell'acido citrico con il sodio carbonato, oltre alla liberazione di CO<sub>2</sub>, si ottiene anche la formazione di acqua. Poiché la reazione può iniziare anche con una piccolissima quantità d'acqua, è importante che durante le fasi di produzione delle compresse effervescenti e del loro stoccaggio il contatto con l'acqua o l'umidità ambientale sia ridotto al minimo [14-17].

Per quanto riguarda gli acidi il più comunemente utilizzato è l'acido citrico. L'acido malico conferisce alla preparazione un sapore ancora più gradevole ma il suo costo è maggiore. Altri acidi come tartarico, adipico e fumarico sono usati più raramente a causa della loro minore solubilità in acqua. Le basi tipicamente utilizzate sono carbonati e bicarbonati di sodio o potassio oppure carbonato di

sodio e glicina. Il sodio bicarbonato è quello usato più di frequente poiché produce una soluzione limpida dopo l'effervescenza.

Nella preparazione delle compresse effervescenti sono utilizzati comunemente come diluenti destrosio, xilitolo, sorbitolo e lattosio. I tipici lubrificanti usati nelle compresse normali, come il magnesio stearato, sono da utilizzare con attenzione a causa della loro insolubilità in acqua che pregiudicherebbe l'aspetto della soluzione da ingerire. Pertanto, tra i lubrificanti idrosolubili vengono utilizzati l'acido benzoico, fumarico e adipico, i PEG con peso molecolare superiore a 4000, l'alanina e la glicina. Altri eccipienti presenti nelle compresse effervescenti sono i coloranti, i dolcificanti e gli aromatizzanti. Idealmente, tutti i componenti della miscela dovrebbero solubilizzarsi completamente in acqua.

La produzione di compresse effervescenti richiede alcuni accorgimenti: il primo è quello di mantenere le materie prime, alcune delle quali igroscopiche, al riparo dall'umidità. Nel caso di materie prime con scarse proprietà di scorrevolezza e di comprimibilità è necessario a volte produrre un granulato. Il granulato può essere preparato a secco o a umido, in particolare la produzione del granulato ad umido risulterà problematica in quanto l'acido e la base potrebbero reagire durante la fase di granulazione.

Anche la compressione deve avvenire in condizioni controllate: gli ambienti devono essere ad umidità controllata e inferiore a 20%RH. Circa le caratteristiche meccaniche delle compresse, le compresse effervescenti dovrebbero avere una durezza sufficiente ad impedirne la loro rottura durante la

produzione e le fasi di stoccaggio ma commisurata alla necessità di ottenere una disgregazione/dissoluzione piuttosto rapida [18-25].

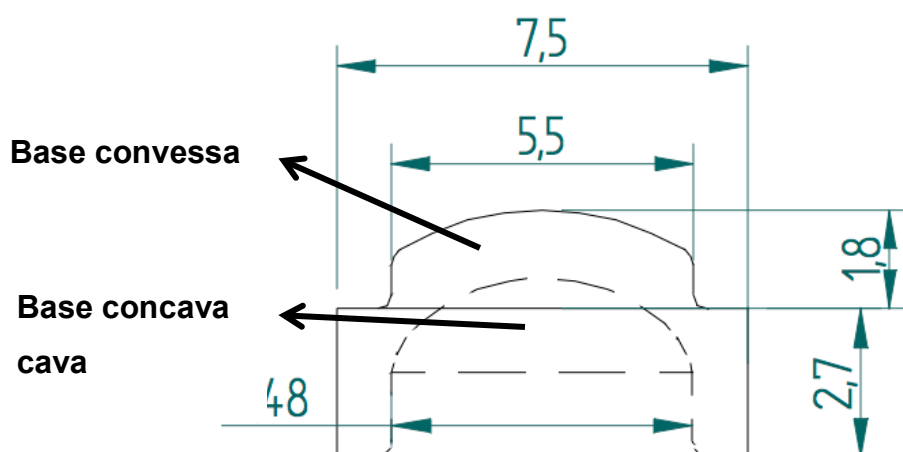
Il confezionamento di prodotti effervescenti avviene, generalmente, in blister con fogli di alluminio water-proof, oppure in tubi di plastica muniti di tappo ermetico nel quale è inserito un agente essiccante. Vale la pena di ricordare che anche l'atmosfera dell'area dove avviene il confezionamento delle compresse effervescenti deve essere sottoposta a controllo di temperatura ed umidità [13, 14, 26].

Visto la difficoltà produttiva di queste compresse legata principalmente alla presenza in stretto contatto dei due componenti per ottenere l'effervescenza, una proposta di innovazione in tale senso potrebbe venire dalla realizzazione di un nuovo sistema di rilascio che consenta di tenere separati i due componenti. Questo permetterebbe di semplificare la produzione e lo stoccaggio del prodotto.

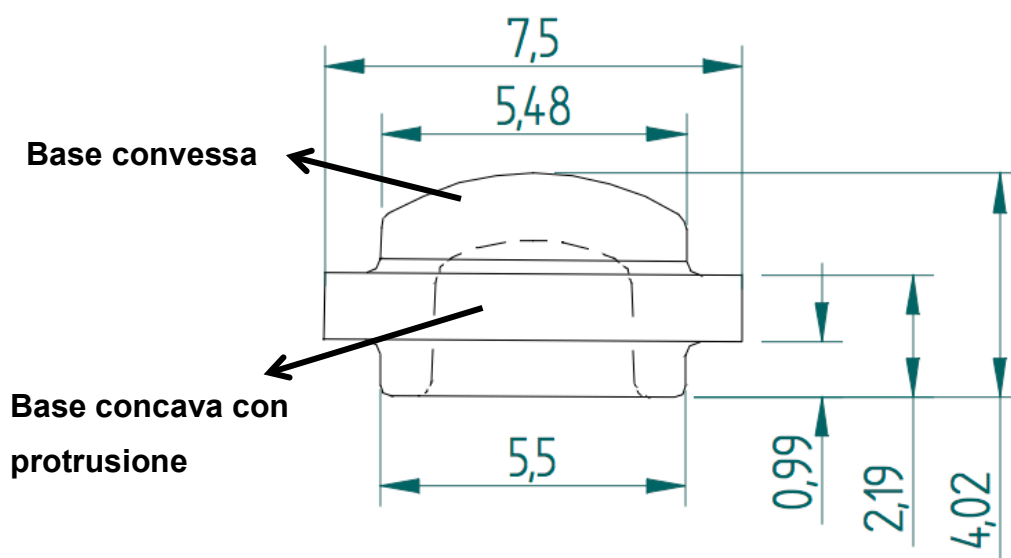
## 1.2 Moduli Dome Matrix®

Nei laboratori del Dipartimento Farmaceutico dell'Università di Parma è stato sviluppato un nuova forma farmaceutica per il rilascio controllato di farmaco basato sulla tecnologia definita **assemblaggio di moduli**. Il modulo di rilascio è una compressa avente forma di disco con una delle due basi convessa e l'altra concava. Esso consente la produzione di forme solide per somministrazione orale versatili in quanto più moduli aventi la stessa o una diversa composizione possono essere riuniti a formare un sistema di rilascio definito assemblato di moduli. Ogni modulo esibisce una peculiare velocità di rilascio del farmaco che può essere immediata, prolungata o più in generale modificata oppure può essere caratterizzato dal fatto di avere una diversa composizione [27].

La sezione assiale di queste moduli appare come una cupola, da cui la denominazione **DOME MATRIX**. Esistono due tipologie di moduli. Entrambi i moduli hanno una base convessa e differiscono nella forma della base concava. Un primo tipo, denominato anche "modulo femmina" (Figura 3) presenta una base concava cava, mentre il secondo tipo, denominato "modulo maschio" (figura 4) presenta una protrusione anulare sulla base concava.



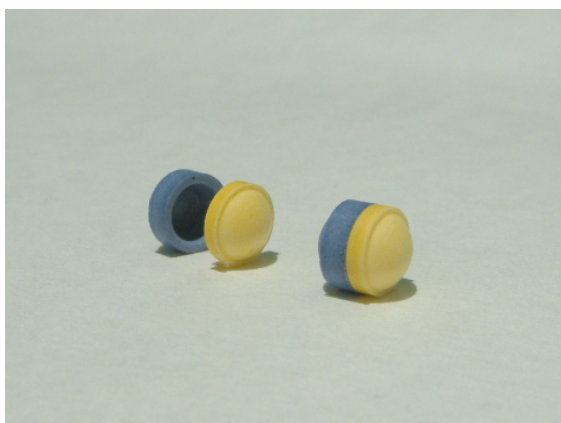
**Figura 3.** Rappresentazione schematiche di un modulo Dome Matrix femmina con diametro di 7,5 mm.



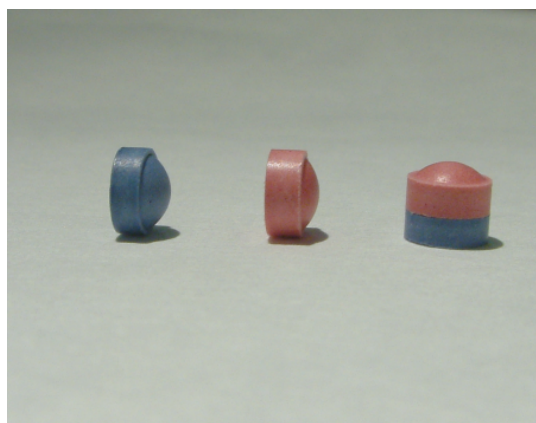
**Figura 4.** Rappresentazione schematiche di un modulo Dome Matrix maschio con diametro di 7,5 mm.

Tali moduli sono fabbricati singolarmente e la tipologia del modulo può essere variata in base alle necessità di formulazione e di rilascio. I singoli moduli sono utilizzati per costruire dei sistemi assemblati modulari ottenuti unendo più moduli come unità di rilascio tramite incastro dei moduli, saldatura a ultrasuoni, oppure incollaggio delle basi dei rispettivi moduli assemblati. La quantità totale di farmaco liberata è data dalla somma delle quantità contenute in ciascun modulo. La liberazione avviene con velocità diverse a seconda della composizione di ciascun modulo, del numero di moduli che costituiscono il sistema di rilascio, e del modo con cui i moduli vengono assemblati. Infatti i moduli DOME sono estremamente versatili e, a seconda dell'orientamento con cui sono assemblati, si possono ottenere sistemi di rilascio controllato con differenti configurazioni che conferiscono comportamenti diversi.

I moduli DOME possono essere assemblati in due configurazioni definite: **“configurazione a camera vuota”** (Figura 5) e **“configurazione impilata”** (Figura 6).

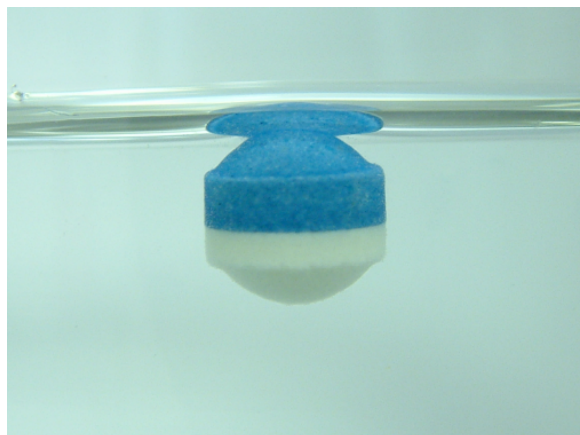


**Figura 5.** Configurazione a camera vuota



**Figura 6.** Configurazione impilata.

La prima (configurazione a camera vuota) è ottenuta incastrando le facce concave di due moduli costruiti in maniera complementare. In questo modo si forma una camera d'aria interna all'assemblato che permette il galleggiamento dello stesso nei fluidi gastrici dopo somministrazione orale, consentendone così una più lunga permanenza nello stomaco (Figura 7).



**Figura 7.** *Configurazione a camera vuota che galleggia*

L'aumento di permanenza a livello gastrico del sistema di rilascio permette di ottenere un assorbimento maggiore per quei principi attivi che vengono assorbiti nello stomaco o nella prima parte dell'intestino. Quindi questa configurazione consente di esercitare un controllo del rilascio dell'attivo non solo temporale ma anche **spaziale**.

La configurazione impilata, invece, si ottiene incastrando i moduli uno sull'altro (faccia convessa di un modulo inserita nella faccia concava dell'altro). La quantità di principio attivo rilasciata nel tempo cambia in funzione del numero di moduli impilati. Tale configurazione permette un controllo del rilascio del principio attivo solo di tipo temporale in quanto il sistema non può galleggiare.

I moduli possono essere formulati in modo indipendente e quindi ogni unità può contenere un principio attivo diverso dall'altro. Questo comporta notevoli vantaggi: permette di superare limiti di incompatibilità di principi attivi con particolari caratteristiche chimico-fisiche o farmacocinetiche e consente di riunire in un'unica compressa più principi attivi utilizzati in una terapia complessa, riducendo così le somministrazioni per il paziente ad una sola forma di dosaggio multifunzionale. Ciò comporta di aumentare di fatto la compliance del paziente [28-32].

In questo progetto di dottorato la tecnologia DOME MATRIX dei sistemi modulari assemblati è stata proposta per la fabbricazione di compresse effervescenti, considerato che si potrebbero tenere separati i due componenti responsabili dell'effervescenza in moduli diversi, con evidenti vantaggi in termini di fabbricazione e conservazione.

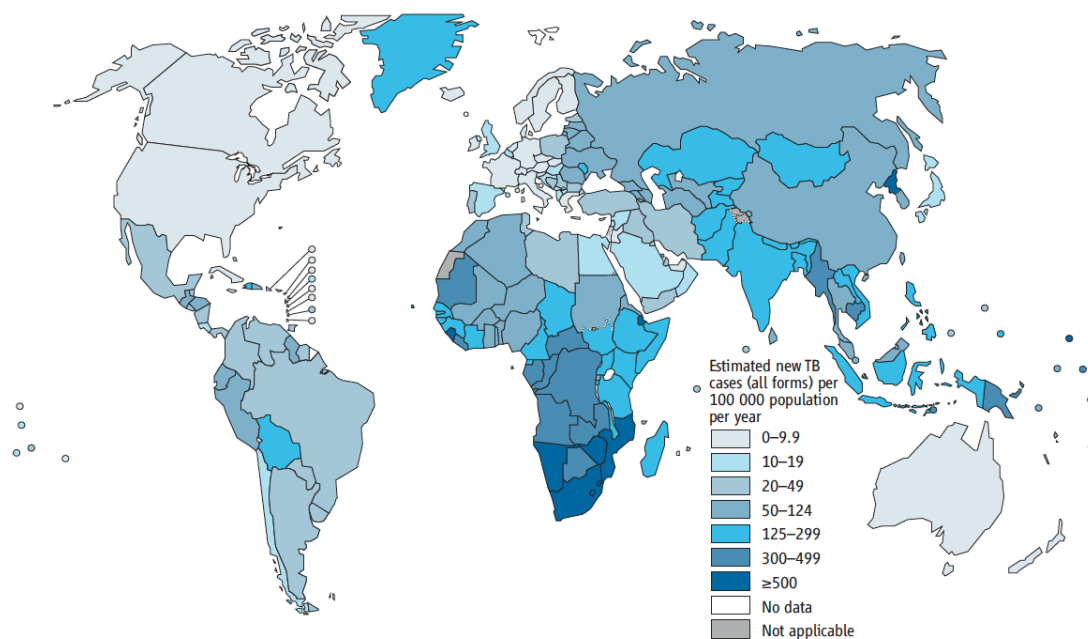
Inoltre, poiché il prodotto effervescente non è destinato ad essere inghiottito ma a venire disperso in acqua prima dell'assunzione, le dimensioni dei moduli di rilascio, il loro numero e la lunghezza o diametro dell'assemblato non costituiranno un problema di opportunità per la fabbricazione e l'utilizzo del prodotto. Inoltre, con questa tecnologia modulare esiste la possibilità di adattare la terapia al paziente aggiungendo più moduli alla combinazione come richiesto nel caso dei bambini che necessitano di differenti dosi in base alla età e peso. Pertanto utilizzando questa tecnologia modulare si apre la possibilità di costruire un prodotto finale assemblando moduli che contengano separatamente acido citrico e bicarbonato. Mantenendo separati i due

componenti è possibile produrre e confezionare il prodotto in condizioni meno rigorose di controllo di temperatura ed umidità e quindi facilitarne la produzione. L'unione della tecnologia effervescente e della tecnologia Dome Matrix® porta quindi all'ottenimento di un prodotto personalizzabile per dose e somministrabile in un ridotto volume di acqua, entrambi requisiti fondamentali per la somministrazione pediatrica. La modularità del prodotto permette infine di inserire in un'unica forma farmaceutica tutti i farmaci richiesti per la multiterapia di patologie gravi come la tubercolosi.

### **1.3 Tubercolosi e farmaci antitubercolari**

La tubercolosi è una malattia infettiva causata da vari ceppi di micobatteri trasmessa per via aerea. Questa malattia è la seconda più comune causa di morte nel mondo da agente infettivo dopo l'HIV.

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità, circa 8.6 milioni di persone hanno contratto la tubercolosi nel 2012, di questi, 1.1 milione di persone (13%) erano affette da HIV. Circa il 75% dei nuovi casi di malattia sono stati rilevati nel continente africano. L'OMS ha stimato che, nel 2012, 530000 bambini hanno contratto la tubercolosi, di questi, sono state registrate 74000 morti per bambini non affetti da HIV [33- 35].



**Figura 8.** Nuovi casi di tubercolosi stimati dall'OMS nel 2012 [33].

I farmaci di prima linea utilizzati sono rifampicina, isoniazide, pirazinamide ed etambutolo. L'OMS raccomanda, per il trattamento della tubercolosi, una multiterapia giornaliera dei quattro farmaci. La multiterapia comporta l'assunzione di numerose compresse ogni giorno, e questo è un serio problema per la compliance del paziente, soprattutto nel caso dei bambini. Sono state quindi sviluppate delle forme farmaceutiche orali comprensive di almeno due delle quattro sostanze necessarie in modo da ridurre il numero delle somministrazioni giornaliere. L'OMS ha inoltre fornito indicazioni sulle dosi, dei quattro farmaci, da somministrare ai bambini in base al loro peso (Tabella 1) [36-44].

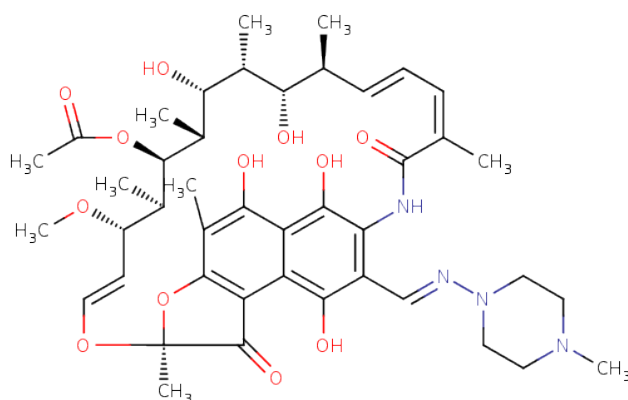
**Tabella I.** Una delle tabelle delle linee guida dell'OMS per la multiterapia della tubercolosi nei bambini (tabella adattata da rif 39).

Weight (kg)	Rifampicin, isoniazid, pyrazinamide dispersible (60,30,150)	Rifampicin, isoniazid dispersible (60,60)	Rifampicin (mg/kg)	Isoniazid (mg/kg)	Pyrazinamide (mg/kg)
5	1	1	24.0 <sup>∞</sup>	18 <sup>∞</sup>	30.0
6	1	1	20.0	15.0	25.0 <sup>r</sup>
7	1	1	17.1	12.9	21.4 <sup>r</sup>
8	2	1	22.5 <sup>∞</sup>	15.0	37.5
9	2	1	20.0	13.3	33.3
10	2	1	18.0	12.0	30.0
11	2	1	16.4	10.9	27.3 <sup>r</sup>
12	2	1	15.0	10.0	25.0 <sup>r</sup>
13	2	1	13.8	9.2 <sup>r</sup>	23.1 <sup>r</sup>
14	2	1	12.9	8.6 <sup>r</sup>	21.4 <sup>r</sup>
15	3	2	20.0	14.0	30.0
16	3	2	18.8	13.1	28.1 <sup>r</sup>
17	3	2	17.6	12.4	26.5 <sup>r</sup>
18	3	2	16.7	11.7	25.0 <sup>r</sup>
19	3	2	15.8	11.1	23.7 <sup>r</sup>
20	3	2	15.0	10.5	22.5 <sup>r</sup>

Dalla tabella si può notare che il numero di compresse da assumere per i bambini cresce in base al peso perciò un bambino di 15 kg dovrebbe assumere ogni giorno 5 compresse (prima e seconda colonna della tabella 1). [39]

### Rifampicina

La rifampicina è un antibiotico che inibisce la RNA polimerasi DNA dipendente negli organismi sensibili. Ha uno spettro di azione molto ampio sia su gram positivi che su gram negativi, in particolare su *Mycobacterium Tuberculosis*. La rifampicina ha un buon assorbimento dopo somministrazione orale e si distribuisce ampiamente nei tessuti corporei. È metabolizzato nel fegato, e viene eliminato nella bile e nelle urine [40-46].

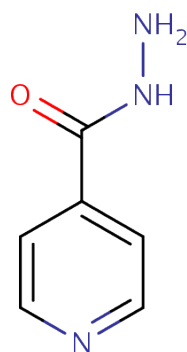


**Figura 9.** *Struttura chimica della rifampicina.*

La rifampicina presenta polimorfismo, dovuto ai differenti legami idrogeno all'interno della molecola, a scambi conformazionali e a differenti stati di ionizzazione. Il polimorfismo influenza la solubilità e la velocità di dissoluzione della polvere. Alcuni studi sulle proprietà fisiche della polvere hanno mostrato che i cristalli possono avere diverse forme (allungata, "a mattone", irregolare), e diverse caratteristiche di superficie. Tramite analisi spettroscopica IR, sono state distinte due forme cristalline, una stabile e una metastabile, e una forma amorfa. Queste tre forme della polvere presentano solubilità e stabilità differenti. La forma amorfa presenta velocità di dissoluzione elevata e una buona solubilità. Delle due forme cristalline la forma II è elettrostatica, ha scarsa bagnabilità e scarsa solubilità, risulta quindi avere una velocità di dissoluzione molto bassa [47-50].

### Isoniazide

L'isoniazide è un agente battericida altamente specifico contro il *Mycobacterium Tuberculosis*. L'isoniazide è come tale un profarmaco che viene attivato dalla catalasi perossidasi batterica (katG) tramite una reazione di ossidoriduzione del gruppo idrazinico in presenza di perossido di idrogeno. Una volta attivato inibisce la sintesi degli acidi micolici, indispensabili per la parete del batterio. Il principio attivo è prontamente assorbito dopo somministrazione orale [43-44, 51-53].



**Figura 10.** *Struttura chimica dell'isoniazide.*

## **2. SCOPO**

Questo progetto di ricerca ha come scopo l'innovazione delle forme farmaceutiche solide per la somministrazione di farmaci a pazienti pediatrici e anziani. In generale, questi pazienti hanno difficoltà a deglutire le preparazioni solide monolitiche per cui l'innovazione sarà rivolta alle forme solide destinate ad essere disciolte o disperse in acqua o liquidi alimentari. Il progetto ricercherà quindi nuove forme di dosaggio solide, espressamente studiate per rispondere ai bisogni di tali pazienti, preparate secondo criteri di sicurezza, efficacia ed accettabilità.

Il primo obiettivo sarà lo studio della tipologia della forma di dosaggio, con particolare attenzione ai preparati estemporanei e più precisamente a prodotti effervescenti. Si vuole ricercare un preparato solido, flessibile e versatile, che possa mantenere l'accuratezza di dosaggio mentre contemporaneamente dà la possibilità di modulare la dose per adattarla al soggetto con problemi di deglutizione. Inoltre il prodotto deve essere facile da fabbricare e semplice da conservare. Pertanto, un ulteriore obiettivo di questo progetto sarà l'innovazione del processo di fabbricazione dei prodotti effervescenti che richiede, al momento, per la manipolazione delle polveri e per il confezionamento del prodotto, tecnologie di condizionamento dell'aria e regole di svolgimento delle operazioni farmaceutiche molto rigorose. Infatti, si vogliono superare le tecnologie attuali proponendo nuove metodiche che consentano di fabbricare i prodotti effervescenti in condizioni di climatizzazione meno severe rispetto alle attuali.

Si è scelto quindi di utilizzare la tecnologia di fabbricazione farmaceutica di preparati solidi in forma di compresse, denominata Dome Matrix®. Essa si caratterizza per la fabbricazione di un preparato per il rilascio di farmaco ottenuto mediante l'assemblaggio di moduli di rilascio, i quali contengono individualmente un solo principio attivo. L'assemblaggio di un numero variabile di moduli consegna la possibilità di fabbricare un prodotto dotato di flessibilità della dose e della composizione.

Inoltre, la struttura modulare potrebbe facilitare il processo di fabbricazione dei prodotti effervescenti. Infatti, si potranno sistemare le sostanze incompatibili in moduli diversi e combinare i diversi moduli o diverse composizioni in un solo prodotto in una fase di fabbricazione successiva.

Poiché il prodotto finito dovrà disgregare o disciogliersi velocemente a formare una soluzione/sospensione in un volume ridotto di acqua, la formulazione dei singoli moduli sarà attentamente studiata, in quanto le sostanze per l'effervescenza non sono intimamente mescolate, ma collocate in moduli diversi seppur contigui uno all'altro.

Un altro aspetto importante, soprattutto perché i destinatari di questo prodotto sono i bambini, sarà anche quello di conferire alla soluzione/sospensione un aspetto e un sapore gradevole. Allo scopo, per l'assemblato finale, saranno previsti moduli dedicati al mascheramento del sapore dei farmaci, che contengano aromi e dolcificanti per raggiungere questo obiettivo fondamentale nella somministrazione pediatrica.

In conclusione, l'assemblato effervescente Dome Matrix® sarà costituito da moduli che producono l'effervescenza, moduli contenenti i farmaci da somministrare e moduli dedicati al mascheramento del sapore. In questa tesi abbiamo scelto di formulare secondo i principi sopra esposti, farmaci destinati al trattamento della tubercolosi. La ragione di tale scelta risiede nelle seguenti osservazioni:

1. il trattamento richiede l'impiego di più principi attivi contemporaneamente, la cui dose deve essere adattata all'età del paziente, in particolare quello pediatrico. Infatti, la "*fixed dose combination*" dei farmaci antitubercolari si è dimostrata più efficace delle somministrazioni singole anche per i noti problemi di resistenza del microorganismo al trattamento;
2. lo schema terapeutico prevede la somministrazione di più dosi in forme farmaceutiche diverse per una durata di almeno sei mesi, durante la quale i dosaggi vengono progressivamente variati;
3. i farmaci utilizzati sono rifampicina, isoniazide, pirazinamide e etambutolo, sostanze caratterizzate da problemi biofarmaceutici e di sapore sgradevole.

In particolare verranno preparati moduli contenenti, separatamente, isoniazide e rifampicina.

### 3. MATERIALI E METODI

#### 3.1 Materiali

- Acido citrico monoidrato cristallino (PM 210,14 u, lotto C0072001; ACEF, Fiorenzuola PC, Italia)
- Acido citrico monoidrato semolato (PM 201,14 u, lotto H0072012 ACEF Fiorenzuola PC, Italia)
- Acido citrico anidro semolato (PM 192,14 u, lotto H0219005 ACEF, Fiorenzuola PC, Italia)
- Bicarbonato di sodio (PM 84,01 u, lotto 510933051 CARLO ERBA Rodano, MI, Italia)
- Talco lotto (C5239004 ACEF, Fiorenzuola, PC, Italia)
- Magnesio stearato vegetale (lotto C1402005 ACEF, Fiorenzuola, PC, Italia)
- Lattosio (lotto B1991007 ACEF, Fiorenzuola, PC, Italia)
- AcDiSol<sup>®</sup> type SD-711 lotto TO646C FMC Philadelphia, USA
- Sodio diidrogeno fosfato monoidrato (lotto 737A168646 MERCK Darmstadt, Germany)
- Carbonato di sodio anidro (lotto A871392530 MERCK Darmstadt, Germany)
- Sodio acetato (lotto 16227KB SIGMA ALDRICH Milano Italia)
- Sodio benzoato
- Prosolv Easytab<sup>®</sup> (lotto 4295306 JRS PHARMA Rosenberg, Germany)
- Sodio stearil fumarato (lotto 22374/TF/95 JRS PHARMA Rosenberg, Germany)

- Glicina-Glicocollo (lotto 453807 CARLO ERBA Rodano, MI, Italia)
- Aerosil® (lotto 3150030114 EVONIK INDUSTRIES Essen, Germania)
- F-melt® type C (lotto 910008 FUJI CHEMICAL INDUSTRIES Toyama, JAPAN)
- F-melt® type F1 (lotto 100706-1 FUJI CHEMICAL INDUSTRIES, Toyama, Japan)
- F-melt® type M (lotto 904003 FUJI CHEMICAL INDUSTRIES, Toyama, Japan)
- Ludipress® , BASF (lotto 68-C846 , Cesano Maderno, MB, Italia)
- PEG 6000 lotto 03394 FLUKA (SIGMA ALDRICH Milano Italia)
- Vivastar® P (lotto 2111041027 JRS PHARMA Rosenberg, Germany)
- Prosolv® SMCC HD 90 (lotto D955007 JRS PHARMA Rosenberg, Germany)
- Prosolv® SMCC 50 (lotto P555018 JRS PHARMA Rosenberg, Germany)
- Retalac® hypromellose (lotto 1004 FUJI CHEMICAL INDUSTRIES, Toyama, Japan)
- Kollidon® CL BASF ( lotto 42367236W0 Cesano Maderno, MB, Italia)
- Acido tartarico (PM 150,09 u, lotto I0119001 ACEF, Fiorenzuola, PC, Italia)
- Pearlitol® 500 DC- mannitol (lotto 817132 ROQUETTE Lestrem, France)
- Pearlitol® 500 DC- mannitol (lotto E-677N ROQUETTE Lestrem, France)
- Betaciclodestrina (lotto 89/0763/0 CHIESI, Parma, Italia)
- Sodio bicarbonato (lotto I1319001 ACEF, Fiorenzuola, PC, Italia)
- Mannitolo (lotto M1781 LISAPHARMA, Erba, Italia)

- E110 yellow sunset (lotto 05709000 RECORDATI, Milano, Italia)
- Simeticone
- Sodio Bicarbonato (lotto I1319001 ACEF, Fiorenzuola, PC, Italia)
- Glycamil lotto 20100720
- Acesulfame K (lotto 13020401, C.F.M., Milano, Italia)
- PEG 6000 PF (lotto 10792426894 CLARIANT Milano, Italia)
- Aroma arancia lotto 13020401
- Rifampicina (lotto 2172 SANOFI Milano, Italia)
- Isoniazide (lotto 09D05-B03-240033, A.C.E.F. Fiorenzuola PC, Italia)
- Avicel pH102 (lotto H2692003 ACEF Fiorenzuola, PC, Italia)

## **3.2. Metodi**

### **3.2.1 Analisi dimensionale delle polveri di reagenti**

L'analisi dimensionale di acido citrico monoidrato, acido citrico anidro e bicarbonato di sodio è stata effettuata utilizzando i setacci analitici (setacciatura meccanica con vibrovaglio). I setacci sono stati impilati in ordine di apertura di maglia decrescente dall'alto verso il basso. Sono stati effettuati due cicli di setacciatura da 5 minuti l'uno. I setacci scelti erano da: 1000, 710, 500, 355, 250, 180, 125  $\mu\text{m}$ .

### **3.2.2 Macinazione dell'acido citrico**

La macinazione dell'acido citrico monoidrato è stata effettuata con un mortaio meccanico (Pulverisette Fritsch) per 5 minuti. La polvere è stata poi separata in frazioni tramite setacciatura con vibrovaglio per 5 minuti ottenendo tre polveri con dimensioni  $<125\mu\text{m}$ , tra 125 e 180  $\mu\text{m}$  e tra 180 e 250  $\mu\text{m}$ .

### **3.2.3 Granulazione dell'acido citrico**

L'acido citrico monoidrato macinato è stato granulato con betaciclodestrina in rapporto 1:1 p/p. I due componenti sono stati miscelati secondo diluizioni geometriche in un mortaio e impastati con acqua distillata. L'impasto è stato granulato in un granulatore a bracci oscillanti (ERWEKA AR400 D, Dusseldorf, Germania) con rete di diametro 0,8 mm.

Il granulato ottenuto è stato essiccato in stufa per 6 ore a 40 °C.

### 3.2.4 Preparazione delle miscele da comprimere

Tutte le miscele utilizzate per la fabbricazione delle compresse sono state preparate mediante una doppia miscelazione in Turbula (WAB, Basilea, Svizzera). Inizialmente sono stati miscelati per 15 minuti tutti i componenti della formulazione esclusi il lubrificante e il glidante. In seguito, a questa prima miscela sono stati aggiunti gli ultimi due componenti e la seconda miscelazione è stata condotta per 10 minuti. In alcuni casi è stato necessario impiegare per la miscelazione l'apposito contenitore di metallo dotato di messa a terra per evitare l'accumulo di cariche elettrostatiche tra le particelle della miscela.

### 3.2.5 Fabbricazione dei moduli Dome Matrix®

La produzione dei moduli è avvenuta con una comprimitrice alternativa (KORSH, Mod. 9341-72, Berlino, Germania) riempiendo la matrice manualmente. Sono stati utilizzati punzoni speciali Dome Matrix® che permettono di ottenere moduli “maschio” e moduli “femmina”.



**Figura. 11.** *Punzoni Dome Matrix®. A sinistra il punzone terminale inferiore, al centro il punzone per incastro inferiore, a destra il punzone femmina superiore.*

Sono stati fabbricati solo moduli femmina impiegando un punzone inferiore a base concava, un punzone superiore con base convessa e una matrice regolabile. Inizialmente, il diametro dei punzoni era di 8.4 mm. Successivamente, sono stati usati punzoni e matrice regolabile con diametro di 9.5 mm.

Infine, è stato utilizzato un punzone superiore con diametro da 9.2 mm abbinato ad un punzone inferiore terminale o a un punzone inferiore ad incastro, utilizzando, rispettivamente, una matrice fissa o una matrice regolabile.

Infine, sono stati utilizzati anche dei punzoni con diametro di 11 mm, superiore e inferiore terminale, e matrice fissa.

### **3.2.6 Controlli tecnologici sulle compresse**

#### *Durezza*

La misura di durezza è stata effettuata secondo la procedura riportata in F.U.I. XII Ed. su 6 compresse utilizzando l'apparecchio Monsanto. Si tratta di un durometro manuale in cui la compressa è inserita tra due supporti, uno fisso e uno mobile. Il supporto mobile è collegato a una molla sulla quale è possibile esercitare una pressione mediante una vite girevole. Il test è stato eseguito sui moduli Dome Matrix® lateralmente (forza applicata alle pareti del modulo) e verticalmente (forza applicata alla cupola e alla base del modulo) I risultati sono espressi come forza media applicata, espressa in kg.

### *Friabilità*

La misura della friabilità è stata effettuata secondo la procedura riportata in F.U.I. XII Ed. E' stato utilizzato un friabilometro Roche (ERWEKA GmbH Dusseldorf, Germania) costituito da un tamburo rotante di plexiglass di diametro 30 cm e di spessore 4 cm. il tamburo è fissato ad un asse che lo fa ruotare a velocità costante di 25 rotazioni al minuto. Il saggio è stato effettuato su un numero di moduli tale per cui il peso totale dei moduli utilizzati per l'analisi fosse 6,5 g sottoposti a 100 rotazioni durante le quali i moduli rotolano, sfregano e cadono da un'altezza di 15 cm. La perdita di peso delle compresse, espressa in percentuale, misura la friabilità. Secondo la F.U.I. Ed. XII la perdita massima di peso deve rimanere entro l'1% della massa iniziale del campione di compresse sottoposto al saggio.

### *Saggio di disgregazione*

L'apparecchio di Farmacopea utilizzato per la misura del tempo di disgregazione delle forme solide orali ha come elemento essenziale un cestello costituito da 6 cilindri di vetro aperti alle estremità, fissati tra due dischi di plexiglas. Sotto il disco inferiore è posta una rete di fili di acciaio inossidabile. In ciascun tubo viene posta una compressa o un assemblato Dome Matrix® e sopra viene inserito un dado sempre di plexiglass, che impedisce la fuoriuscita delle compresse dal tubo durante il saggio, senza però impedirne il movimento. Il cestello viene immerso in un becker riempito con circa 800 ml di acqua alla temperatura di 25 °C Il becker è immerso in un bagno termostato (25 °C) Durante il saggio il cestello viene abbassato e alzato fino al tempo limite di

disintegrazione, che è di 15 minuti per le compresse non rivestite. La disgregazione è completa quando nessun residuo rimane nel cestello [54].

### **3.2.7. Osservazione del comportamento in acqua della compressa**

Le compresse sono state immerse in 30 o 100 ml di acqua deionizzata a 25 °C, in un becker, in assenza di agitazione. È stato osservato il tempo e la modalità di disgregazione ed è stata eventualmente valutata qualitativamente l'effervescenza.

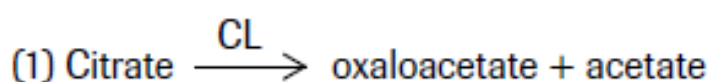
### **3.2.8 Saggio di dissoluzione in vitro dell'acido citrico monoidrato**

I test di dissoluzione sulla polvere di acido citrico e sul modulo di acido citrico sono stati effettuati utilizzando un dissolutore (VARIAN 705 DS) a paletta. Il vessel conteneva 500 ml di acqua distillata a 25 °C.

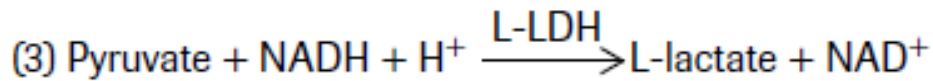
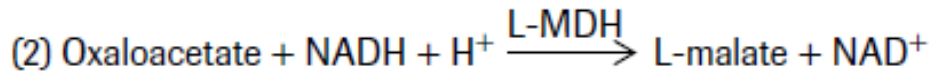
### **3.2.9 Determinazione quantitativa dell'acido citrico**

La determinazione quantitativa dell'acido citrico nei campioni degli esperimenti di dissoluzione è stata effettuata mediante saggio enzimatico (kit R-Biopharm).

Le reazioni enzimatiche coinvolte sono le seguenti:



Ad opera dell'enzima citrato liasi (CL) il citrato è convertito in ossaloacetato e acetato. In seguito, per azione degli enzimi L-Malato deidrogenasi (L-MDH) e L-Lattato deidrogenasi (L-LDH), l'ossaloacetato e il suo prodotto di decarbossilazione piruvato, sono convertiti in L-malato, L-Lattato e NAD<sup>+</sup>.



La quantità di NAD<sup>+</sup> è corrispondente alla quantità di citrato che era presente nel campione. La quantità di NAD<sup>+</sup> è determinata per via spettrofotometrica (lunghezza d'onda 340 nm).

### Procedimento

Prima di analizzare il campione si effettua la lettura del "bianco". Il "bianco" è prodotto dosando nella cuvette 1 ml di soluzione 1 (per la composizione di questa soluzione vedere di seguito) e 2 ml di acqua. Dopo avere agitato leggermente, si legge il valore di assorbanza A<sub>1</sub> dopo 5 minuti, tempo di attesa richiesto per il completamento della reazione. Di seguito, si aggiungono nella stessa cuvette 0,020 ml di soluzione 2 (per la composizione di questa soluzione vedere di seguito). Dopo agitazione e attesa di 5 minuti, si legge il valore di assorbanza A<sub>2</sub>.

Per l'analisi dei campioni, essi sono preparati nello stesso modo descritto per il bianco, dosando nella cuvette 0,2 ml di campione, 1,8 ml di acqua distillata e 1 ml di soluzione 1. Dopo aver agitato e aspettato 5 minuti si legge il valore di assorbanza A<sub>1</sub>. Dopo aver aggiunto la soluzione 2 (0,02 ml) si agita leggermente e dopo 5 minuti si legge il valore di assorbanza A<sub>2</sub>.

Per ogni campione sono state effettuate 2 letture.

La soluzione 1 è preparata aggiungendo 12 ml di acqua distillata al contenuto del flacone 1 del kit enzimatico che contiene 1,4g di liofilizzato composto da:

buffer di glicilglicina (pH 7,8), L-malato deidrogenasi (136 U), L-lattato deidrogenasi (280 U) e NADH (5mg). Il procedimento è stato effettuato con due pipette di vetro a doppia tacca da 10 e da 2 ml. La soluzione 2 è stata ottenuta aggiungendo, con una pipetta Gilson, 0.3 ml di acqua distillata al contenuto del flacone 2. Il flacone 2 contiene 50 mg di liofilizzato di citrato liasi (12 U).

Dopo aver misurato i valori di  $A_1$  e  $A_2$ , si calcola il  $\Delta A$  per ogni campione:

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{campione}} - (A_1 - A_2)_{\text{bianco}}.$$

Infine il valore ottenuto,  $\Delta A$ , consente di calcolare la concentrazione di acido citrico nel campione:

$$c = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \text{ [g/l]}$$

V = volume finale (3,020 ml)

MW = peso molecolare dell'acido citrico ( acido citrico monoidrato 210.1; acido citrico anidro 192.1 g/mol)

$\epsilon$  = coefficiente di estinzione molare ( 6.3 l x mmol<sup>-1</sup>x cm<sup>-1</sup>)

d = cammino ottico (1 cm)

v = volume del campione

### Retta di calibrazione

Per valutare la linearità del metodo per la quantificazione dell'acido citrico nei campioni di dissoluzione, sono state preparate cinque soluzioni acquose di acido citrico monoidrato a concentrazione nota, ovvero 10, 50, 100, 200 e 400 µg/ml. Il procedimento per l'analisi dei campioni con il kit enzimatico è stato precedentemente descritto. La retta di calibrazione è riportata in figura 12.

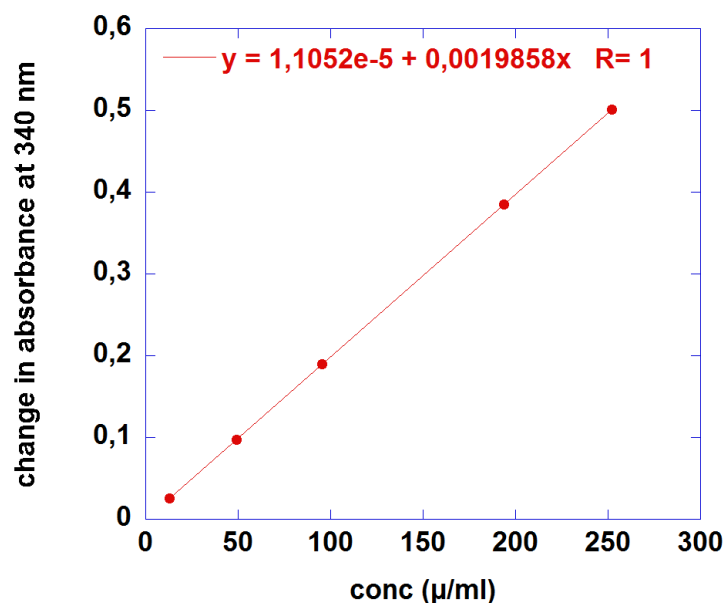


Figura 12. Retta di calibrazione acido citrico monoidrato.

Nel range di concentrazioni considerato il metodo si è dimostrato lineare. La dissoluzione della polvere (100 mg) e di tre compresse è stata eseguita in 500 ml di acqua a 25 °C.

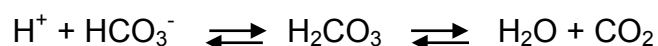
### 3.2.10 Quantificazione della reazione di effervescenza

Il calcimetro di Bernard è uno strumento che permette di misurare la quantità di CO<sub>2</sub> prodotta da una reazione chimica di effervescenza. Lo strumento (Figura 4) è costituito da:

- A- Boccia di livello
- B- Buretta graduata per gas
- C- Rubinetto
- D- Camera di reazione
- E- Recipiente termostatico

La reazione avviene quindi in un sistema chiuso contenente un liquido di scambio colorato (acqua acidulata). I componenti principali del sistema, tra loro collegati, sono la boccia di livello A e la buretta graduata B. La CO<sub>2</sub> che si sviluppa nella camera di reazione D, collegata direttamente con la buretta, determina uno spostamento del liquido (misurato in ml) presente nella buretta. Dal volume di liquido spostato, ammettendo valide le leggi dei gas ideali, si può calcolare il numero di moli di CO<sub>2</sub> prodotto dalla reazione.

Dalla reazione tra un acido ed un bicarbonato si forma acido carbonico, che si decompone producendo acqua ed anidride carbonica:



Dai ml di CO<sub>2</sub> sviluppati (volume di gas che ha spostato un equivalente volume di aria dentro il sistema), utilizzando la legge dei gas perfetti in condizioni standard (Eq. 1), sono calcolate le moli di CO<sub>2</sub>, che equivalgono alle moli di bicarbonato che hanno reagito.

$$n = \frac{P \cdot Vf_2}{(R \cdot P_{atm}) \cdot T}$$

*Eq.1*

$n$  = numero di moli di CO<sub>2</sub>

$P$  = pressione del gas secco corretta per la tensione di vapore dell'acqua con

$P_w = 19.8$  Torr a 22 °C.

$Vf_2$  = volume corretto (ml)

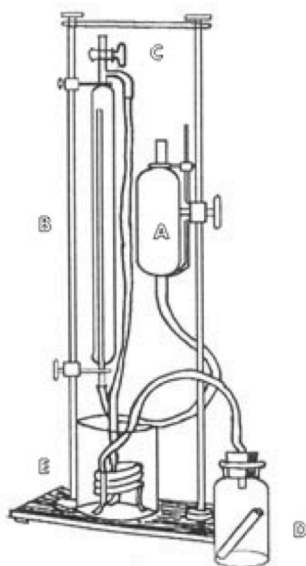
$R = 0.082$

$P_{atm} =$  pressione atmosferica 760 Torr a 22 °C

$T$  = temperatura (°K)

Conoscendo quante moli di bicarbonato di sodio sono presenti nel sistema all'inizio della reazione, si può calcolare la quantità di bicarbonato che ha effettivamente reagito (in percentuale).

Le misure col calcimetro sono servite per confrontare le diverse formulazioni dal punto di vista della reazione d'effervescenza. In particolare, è stata misurata la quantità di anidride carbonica prodotta nel tempo (espressa in percentuale rispetto alla quantità massima ottenibile in base alla quantità di bicarbonato presente nel pallone di reazione).



**Figura 13.** *Rappresentazione schematica del calcimetro di Bernard (sinistra) e camera di reazione modificata (destra).*

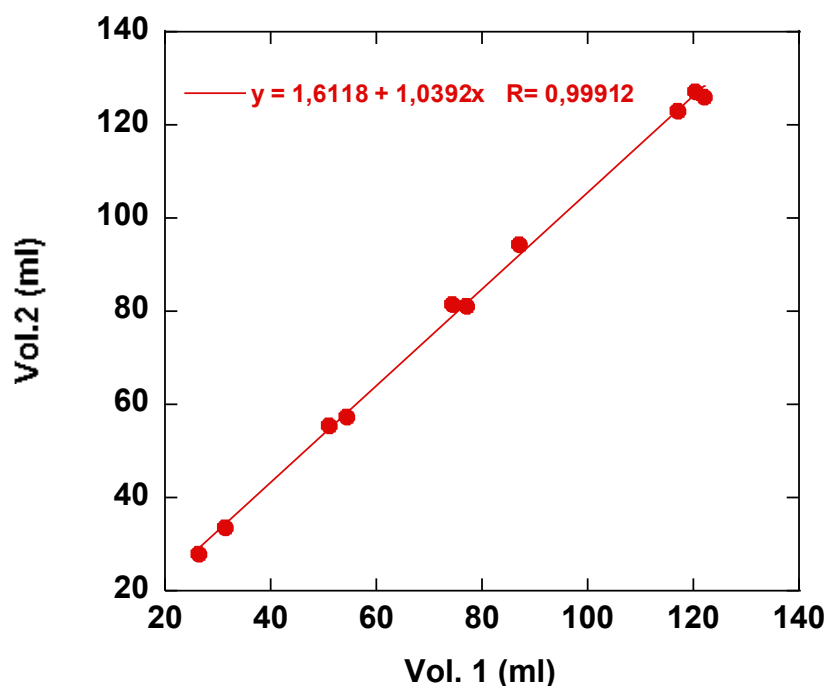
Rispetto al disegno in Figura 13, la camera di reazione è stata modificata utilizzando un pallone a due colli da 100 ml contenente un'ancoretta magnetica. L'acqua per la reazione era introdotta all'interno del pallone che era collegato al recipiente termostatico e attraverso un tubo di plastica raccordato al collo del pallone di diametro minore. I reattivi (polveri o compresse) erano caricati nel

collo del pallone di diametro maggiore sfruttando il suo tappo di vetro con collo smerigliato. Tenendo il rubinetto C aperto, l'acqua era introdotta nel pallone e i solidi posizionati delicatamente nel tappo, successivamente inserito nel collo del pallone. Una volta assemblato il pallone, l'intero sistema era isolato chiudendo il rubinetto. In quel momento i livelli di liquido di scambio nella boccia A e nella buretta B si trovavano alla stessa altezza. Durante il caricamento dei reattivi e dell'acqua, il pallone era mantenuto in posizione orizzontale, per evitare il contatto tra i reagenti e l'acqua anzitempo. Al momento d'innescare la reazione il pallone era girato in modo che il collo di diametro maggiore si trovasse in posizione verticale per far cadere i solidi nell'acqua ed iniziare la misura. Dentro il sistema, lo sviluppo di  $\text{CO}_2$  dovuto alla reazione determinava l'abbassamento del livello del liquido colorato nella buretta graduata B con conseguente innalzamento del livello del liquido stesso nella boccia di scambio A. Per poter essere utilizzato per la misura cinetica dello sviluppo di  $\text{CO}_2$  il sistema ha richiesto una calibrazione. Il calcimetro di Bernard si usa di solito per la determinazione quantitativa di carbonati o bicarbonati: si fa reagire il sale completamente con un eccesso di acido (es.  $\text{HCl}$ ), si misura il volume di  $\text{CO}_2$  si risale alle moli di sale. In questa applicazione, la lettura della  $\text{CO}_2$  prodotta viene fatta una volta sola alla fine del processo, cioè quando l'effervescenza è completamente terminata. La lettura si fa sulla buretta graduata B, quando il liquido in essa contenuto non si muove più. In quel momento, nella buretta B il livello del liquido nella buretta corrisponde ad un volume in ml identificato come  $V_{f1}$  si trova ad un'altezza diversa rispetto al liquido nella boccia A (sulle due colonne di liquido si esercitano quindi pressioni diverse). Quindi, non è  $V_{f1}$  il

volume da considerare per il calcolo delle moli di  $\text{CO}_2$ , che e deve essere corretto abbassando la boccia A rispetto alla buretta fino al punto in cui i due liquidi si trovino alla stessa altezza. Questo spostamento fa abbassare ancora un po' il liquido nella buretta B fino al volume corretto  $V_{f_2}$  (ml), che viene letto [55-57].

Nel presente studio il calcimetro è stato invece utilizzato per determinare la quantità di  $\text{CO}_2$  che si sviluppa progressivamente durante la reazione (mentre essa è in corso) ad intervalli regolari. Dovendo fare letture istantanee mentre il liquido nella buretta è in movimento, non è possibile effettuare la correzione del volume da  $V_{f_1}$  a  $V_{f_2}$ . La calibrazione del sistema si è resa quindi necessaria per conoscere la relazione tra  $V_{f_1}$  e  $V_{f_2}$ .

Utilizzando quantità note dei reattivi in polvere, è stata condotta una serie di reazioni che, lasciate andare fino all'esaurimento dell'effervescenza, sviluppassero quantità differenti di  $\text{CO}_2$ , diversi valori di  $V_{f_1}$  letti alla fine di ogni reazione sono stati corretti nei rispettivi valori  $V_{f_2}$ . Le coppie di valori ( $V_{f_1}$ ,  $V_{f_2}$ ), messe in grafico, hanno permesso di ricavare la relazione matematica tra gli ml "letti" e non corretti ( $V_{f_1}$ ) e gli ml corretti ( $V_{f_2}$ ) da utilizzare per il calcolo delle moli. L'equazione ottenuta dalla regressione lineare dei punti sperimentali (Figura 14) è stata utilizzata nelle misure di effervescenza effettuate per calcolare i valori di  $V_{f_2}$  a partire da  $V_{f_1}$ , letti ad intervalli di tempo prestabiliti durante la reazione.



**Figura 14.** Retta di calibrazione per le misure con il calcimetro di Bernard.

Gli studi di effervescenza col calcimetro sono stati eseguiti su polveri, moduli Dome Matrix® e compresse piatte.

### **3.2.11 Calorimetria differenziale a scansione della rifampicina e dell'isoniazide.**

I tracciati DSC sono stati registrati mediante un apparecchio DSC 821c (Mettler Toledo, USA), gestito mediante software STARe, il cui principio di funzionamento si basa sull'utilizzo di una cella di misura contenente due crogioli collegati tra loro da una termocoppia. Un crogiolo contiene il campione da analizzare esattamente pesato, mentre l'altro vuoto funge da riferimento. Quando la cella viene riscaldata il calore è trasferito in modo differente al campione e al riferimento in funzione del calore liberato o assorbito dal

campione stesso. La differenza di flusso di calore tra i due crogioli é rilevata dalla termocoppia, quantificata e riportata in grafico in funzione del tempo o della temperatura della cella. Tutti i campioni sono stati analizzati tra 25 e 300 °C ad una velocità di riscaldamento di 10°C al minuto in azoto. I campioni sono stati preparati pesando circa 5 mg di rifampicina e circa 9 mg di isoniazide ed utilizzando crogioli in alluminio chiusi con coperchio forato per permettere la fuoriuscita di eventuali gas generati dalla combustione del campione.

### **3.2.12 Misura della densità reale della formulazioni da comprimere.**

La densità reale (true density) delle formulazioni è stata misurata con un picnometro a elio (Beckman Air Comparison Picnometer). Lo strumento, dotato di una cella di riferimento e una cella per il campione viene riempito alternativamente con aria e gas elio. Al termine dell'analisi lo strumento fornisce l'indicazione del volume (V) della polvere presente nella cella. Conoscendo il peso del campione di polvere si può calcolare la densità attraverso la formula  $d = m/V$ . Per ogni analisi sono state effettuate tre misure di volume ed è stata utilizzata la media dei dati per il calcolo della densità.

### **3.2.13 Fabbricazione di compresse cilindriche a faccia piatta**

La produzione di compresse piatte è stata eseguita, nel laboratorio dell'Università di Leuven, con una comprimitrice alternativa (Korsh-Berlin EK0) riempiendo la matrice manualmente. Sono stati utilizzati punzoni piatti con diametro di 11 mm e una matrice fissa. La comprimitrice era equipaggiata con

un misuratore di forza applicata ed il software poteva fornire informazioni quali porosità, yield pressure e ritorno elastico della polvere.

Sono state fabbricate compresse piatte di rifampicina e di isoniazide. Per le composizioni si rimanda al capitolo dei risultati.

### **3.2.14 Misura della durezza delle compresse piatte**

La durezza delle compresse piatte è stata misurata tramite un Tablet Tester 6D (Schleuninger). Lo strumento esercita una pressione sulla compressa fino alla rottura della stessa e fornisce una misura di durezza in kilopond (1 kp = 10N).

### **3.2.15 Determinazione del contenuto di Rifampicina e/o di Isoniazide nelle compresse mediante spettrofotometria UV-Vis**

La determinazione del contenuto di rifampicina mediante spettrofotometria UV-Vis è stata eseguita su 5 compresse macinate tutte insieme in un mortaio. Dalla polvere ottenuta sono stati prelevati tre campioni pesati in modo che corrispondessero ciascuno al peso medio di una compressa. Ogni campione è stato solubilizzato in un litro di HCl 0.1N. La lettura dell'assorbanza del campione è stata effettuata, previa filtrazione con un filtro a chiocciola da 0,45 mm, alla lunghezza d'onda di 475 nm.

Lo standard era una soluzione di circa 6 mg di rifampicina in 100 ml di HCl 0.1N.

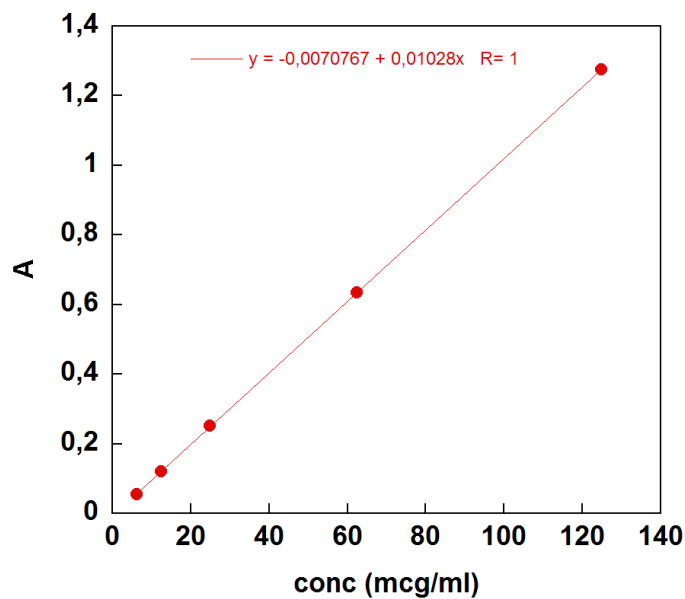
Per l'isoniazide, si è proceduto in maniera del tutto analoga, con uniche differenze il solvente utilizzato (qui HCl 0.01N) e la lunghezza d'onda per la lettura del campione, che era di 286 nm.

Lo standard era una soluzione di circa 6 mg di isoniazide in 100 ml di HCl 0.01N.

Retta di calibrazione di rifampicina e isoniazide

Per entrambi i farmaci è stata effettuata una retta di taratura dello spettrofotometro per verificare che il metodo scelto per la rivelazione fosse lineare nell'intervallo di concentrazioni utilizzato.

È stata preparata una soluzione madre di rifampicina a concentrazione nota, disciogliendo 62,41mg di rifampicina in 100 ml di medium (HCl 0,1N). Da questa soluzione (624,1 µg/ml) sono poi state ottenute altre quattro soluzioni. La lunghezza d'onda utilizzata è di 481 nm ed è stata scelta dopo aver effettuato una curva di colore della rifampicina.



**Figura 15.** Retta di calibrazione della rifampicina.

La soluzione madre di isoniazide, da cui sono poi state ricavate altre 4 soluzioni è stata ottenuta solubilizzando 60,05 mg di isoniazide esattamente pesati in 100

ml di medium (HCl 0,01N). La lunghezza d'onda utilizzata è di 266 nm ed è stata scelta dopo aver effettuato una curva di colore dell'isoniazide.

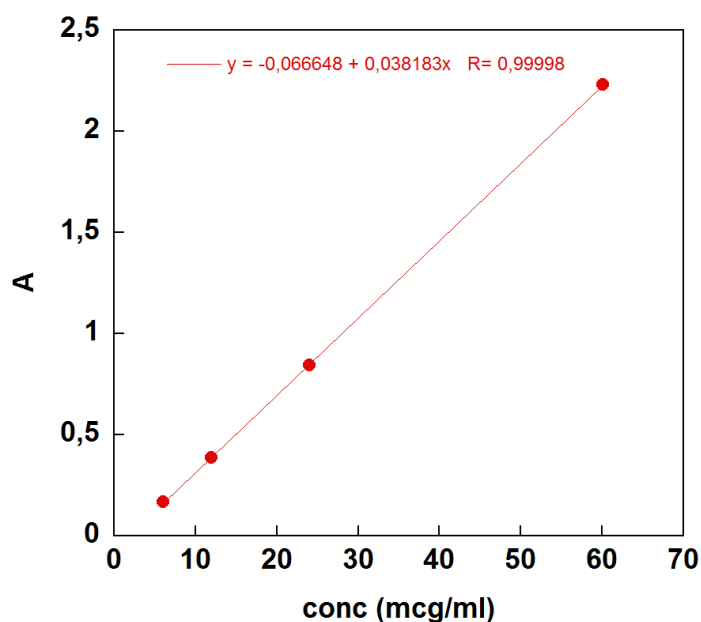


Figura 16. retta di calibrazione dell'isoniazide.

Per entrambi i farmaci, nell'intervallo di concentrazioni considerato, il metodo di analisi si è mostrato lineare. È stata anche verificata l'assenza di interferenze dovute alla presenza di eccipienti nei campioni.

### 3.2.16 Saggio di Dissoluzione in vitro sulle compresse cilindriche

Le compresse cilindriche di isoniazide e di rifampicina sono state sottoposte al saggio di dissoluzione separatamente utilizzando l'apparato 2 della USP 34<sup>th</sup> Ed. (SR8 Plus Dissolution Test Station, Hanson Research, Chatsworth CA, USA) con agitatore a paletta azionato alla velocità di 100 rpm. Il volume del mezzo di dissoluzione era 900 ml di medium a 37 °C. Il medium utilizzato per le compresse di rifampicina era HCl 0,1N, mentre quello utilizzato per le compresse di isoniazide era HCl 0,01N. In ogni vessel era introdotta o una compressa intera o la sospensione ottenuta avendo fatto disgregare

preventivamente la compressa in 10 ml di acqua deionizzata. Ogni quindici minuti il medium era campionato (9 ml), il campione filtrato (filtro idrofilo a chiocciola da 0,45 mm) e successivamente analizzato tramite spettrofotometria UV nelle stesse condizioni adottate per la determinazione del contenuto di p.a. nelle compresse (paragrafo 3.2.14). In ogni vessel la quantità di soluzione prelevata era immediatamente ripristinata con medium fresco per mantenere il volume di dissoluzione costante. Per entrambi i principi attivi la durata del test di dissoluzione è stata di 45 minuti. La USP34 richiede, per le compresse di rifampicina, che non meno del 75% del principio attivo contenuto nella compressa (dose di etichetta) si sia disciolto in 45 minuti. Per le compresse di isoniazide, la farmacopea prevede che almeno l'80% di principio attivo contenuto nella compressa (dose di etichetta) sia in soluzione dopo 45 minuti.

### **3.2.17 Saggio di dissoluzione in vitro sugli assemblati Dome Matrix®**

Il saggio è stato condotto su assemblati composti da 4 moduli: due moduli contenenti acido tartarico (uno terminale e uno incastro), un modulo incastro di rifampicina e un modulo incastro di isoniazide. E' stato utilizzato l'apparato 2 (USP 34th Ed.) (SR8 Plus Dissolution Test Station, Hanson Research, Chatsworth CA, USA) con la paletta azionata a 100 rpm. Il saggio è stato condotto in 900 ml di medium a 37 °C. Il medium era HCl 0,1N. In ogni vessel era introdotto un assemblato o la sospensione ottenuta avendo fatto disgregare preventivamente l'assemblato in 10 ml di acqua deionizzata. Ogni quindici minuti il medium era campionato (12 ml), il campione filtrato (filtro idrofilo a chiocciola da 0,45 mm) e successivamente analizzato tramite spettrofotometria

UV (paragrafo 3.2.14). In ogni vessel la quantità di soluzione prelevata era immediatamente ripristinata con medium fresco per mantenere il volume di dissoluzione costante. Per entrambi i principi attivi la durata del test di dissoluzione è stata di 45 minuti. La USP34 richiede, per le compresse di rifampicina, che non meno del 75% del principio attivo contenuto nella compressa (dose di etichetta) si sia disciolto in 45 minuti. Per le compresse di isoniazide, la farmacopea prevede che almeno l'80% di principio attivo contenuto nella compressa (dose di etichetta) sia in soluzione dopo 45 minuti.

### **3.2.18 Studi di dispersione delle compresse in piccoli volumi d'acqua e analisi dimensionale della dispersione tramite diffrazione laser**

La dispersione ottenuta dopo la disgregazione delle compresse in 10 ml di acqua millipore è stata analizzata mediante *laser light scattering* (Spraytech®, Malven instruments Ltd., UK). La diffrazione laser è una tecnica ampiamente utilizzata nella caratterizzazione dimensionale delle polveri. Questa tecnica si basa sul principio che le particelle, passando attraverso un raggio laser, diffrangono la luce di un angolo che è inversamente proporzionale alla loro dimensione. Al diminuire della dimensione delle particelle, l'angolo di scattering aumenta in maniera logaritmica. L'intensità dello scattering dipende anch'esse dalle dimensioni delle particelle e diminuisce, con buona approssimazione, in funzione della superficie della sezione trasversale delle particelle. Tale tecnica quindi fornisce una distribuzione dimensionale delle particelle espressa come *diametro sferico equivalente in volume* ( $d_v$ ), cioè il diametro di una sfera avente lo stesso volume della particella in esame.

Per la misura è stata usata una cella di capacità di 100 ml dotata di un sistema di agitazione. La lente impiegata era da 300 mm (corrispondente ad un range dimensionale 0,1-900  $\mu\text{m}$ ) posta ad una distanza di circa 5 cm dall'obiettivo. La dispersione è stata analizzata come tale in acqua.

## **4. RISULTATI E DISCUSSIONE**

Inizialmente è stata condotta una ricerca bibliografica approfondita sulla reazione effervescente per individuare materiali e metodi applicabili alla nostra tecnologia [13-20, 24, 25, 59-63]. Dal momento che si voleva ottenere una reazione di effervescenza efficiente tenendo i reagenti separati in due moduli/compresse diverse, in una prima fase sono stati confrontati e valutati diversi reagenti per l'effervescenza. La scelta di essi è stata basata non solo sull'efficienza della sostanza nella reazione chimica che conduce all'effervescenza, ma anche sulle caratteristiche di compressione di tali sostanze. Infatti la tecnologia Dome Matrix®. è impegnativa dal punto di vista delle proprietà di compressione al fine di ottenere un compatto coerente. Pertanto, contemporaneamente allo studio dei prodotti reagenti, è stato necessario ottimizzare la formulazione in modo da avere a disposizione una miscela facile da comprimere, che desse origine a compresse coerenti ma capaci di disgregare velocemente. È stato anche importante considerare le caratteristiche di solubilità in acqua dei componenti della miscela, dal momento che il progetto, occupandosi di allestire una forma farmaceutica dispersibile in acqua, richiedeva che l'aspetto della dispersione fosse quanto più possibile attraente.

La fase finale della ricerca è stata quella di modificare i moduli "basici" (contenenti sodio bicarbonato) in modo da poter comprendere al loro interno uno dei farmaci per la terapia della tubercolosi scelti per questo lavoro. Sono stati quindi fabbricati moduli basici contenenti, singolarmente, rifampicina o isoniazide. Contemporaneamente la formulazione dei moduli "acidi" (contenenti

acido tartarico) è stata modificata inglobando nella loro composizione i moduli per il mascheramento del sapore che in una prima ipotesi avevamo considerato di fabbricare individualmente.

## **4.1 Moduli effervescenti senza principi attivi**

### **4.1.1 Formulazioni di orientamento**

Poiché lo scopo del lavoro era di tenere separati in due moduli Dome Matrix® distinti i reagenti dell'effervescenza, sono stati fabbricati moduli contenenti solo l'acido e moduli contenenti il produttore di gas. L'acido utilizzato è stato il citrico monoidrato e l'agente produttore di gas bicarbonato di sodio, scelti come quantità impiegata in seguito alle ricerche bibliografiche.

Per quanto riguarda le proporzioni tra i due componenti, in questa fase è stato scelto il rapporto molare 1:3 (acido:bicarbonato), rispettando il rapporto stechiometrico tra i due reagenti della reazione per la produzione di anidride carbonica. In questa fase sono stati fabbricati solo moduli femmina in considerazione del fatto che il progetto prevedeva di arrivare all'ottenimento di un assemblato impilato, composto cioè da moduli femmina impilati uno sull'altro. Sono stati utilizzati punzoni di forma adeguata alla fabbricazione delle superfici concava e convessa e una matrice mobile con diametro di 8.4 mm al fine di regolare l'altezza della cupola funzionale all'incastro di due moduli. Dopo una serie di prove di orientamento, la prima formulazione portata a compressione è stata quella riportata in Tabella II con la quale abbiamo fabbricato compresse che avevano un peso medio di circa 250 mg.

**Tabella II:** *Composizione quali-quantitativa delle compresse ACM24-L (modulo acido) e BS28-L (modulo basico).*

	<b>ACM24-L</b>	<b>BS28-L</b>
	<b>% (p/p)</b>	<b>% (p/p)</b>
<b>Acido Citrico Monoidrato</b>	24	-
<b>Sodio Bicarbonato</b>	-	28
<b>Avicel pH 102</b>	40	32
<b>Lattosio</b>	31,4	35,4
<b>Talco</b>	1,2	1,2
<b>Magnesio stearato</b>	0,4	0,4
<b>AcDiSol</b>	3	3
<b>Totale</b>	100	100

Preliminarmente, la distribuzione dimensionale dei reagenti acido citrico monoidrato, acido citrico anidro e di bicarbonato da impiegare nella formulazione è stata determinata, tramite setacciatura. Come si può vedere nella figura 17(sinistra) più del 90% della polvere di acido citrico anidro era compresa in un intervallo dimensionale tra 710 e 355  $\mu\text{m}$ , con più del 60% delle particelle tra 510 e 355  $\mu\text{m}$ . Nella figura 17(destra) si può invece notare che la distribuzione dimensionale delle particelle di acido citrico monoidrato era molto più ampia. Infatti le particelle sono comprese in un intervallo che va dai 180  $\mu\text{m}$  a dimensioni maggiori di 1000  $\mu\text{m}$ , concentrandosi per l'80% dai 355 ai 1000  $\mu\text{m}$ .

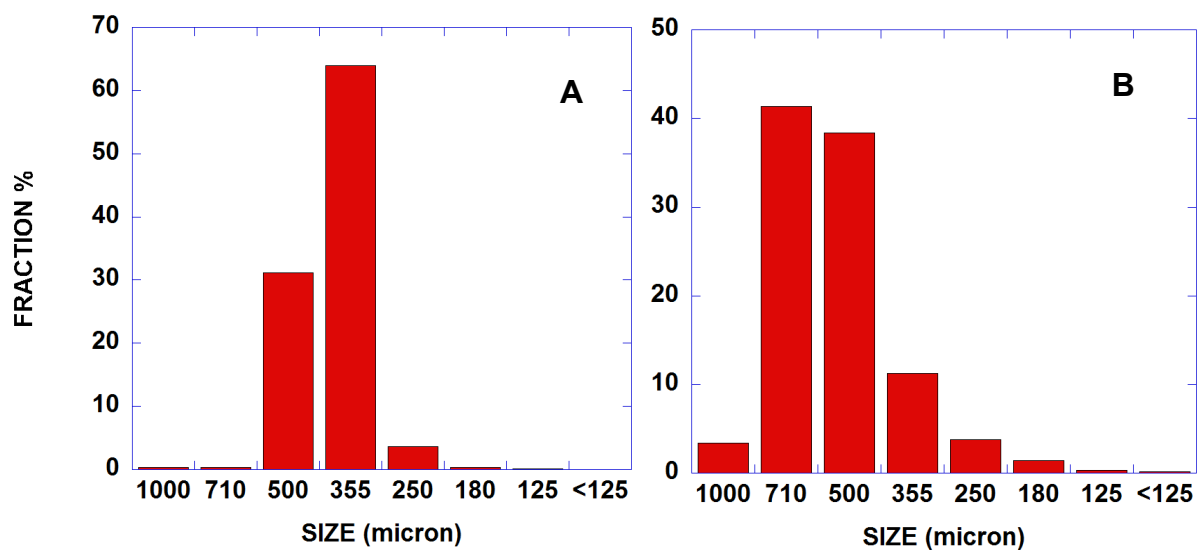


Figura 17. Distribuzione dimensionale di: acido citrico anidro (A) e acido citrico monoidrato (B).

La figura 18 mostra infine la granulometria del bicarbonato di sodio. La distribuzione dimensionale è contenuta e oltre il 90% delle particelle è localizzato sotto i 355  $\mu\text{m}$ .

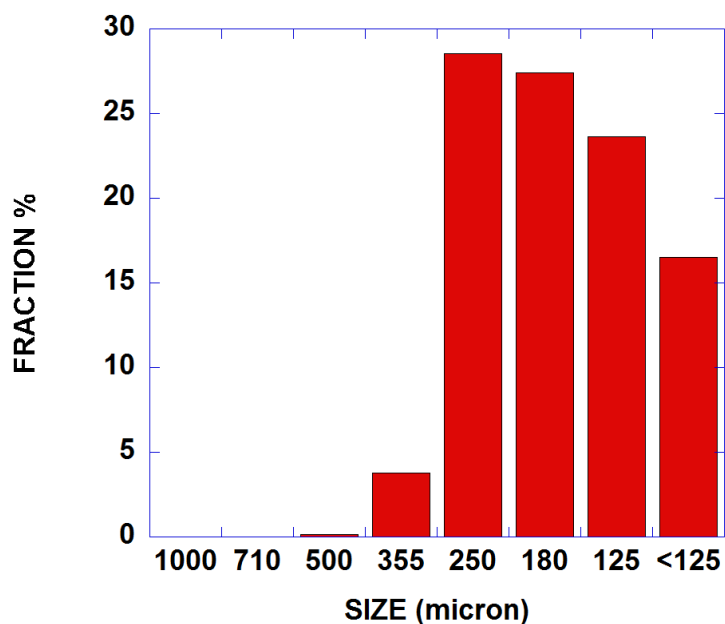
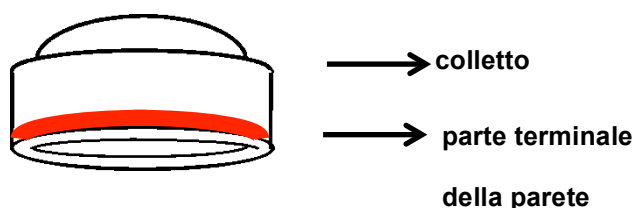


Figura 18. Distribuzione dimensionale del bicarbonato di sodio.

La formulazione contenente il bicarbonato di sodio è stata compressa facilmente e i moduli sono risultati resistenti e lucidi. La miscela non lasciava residui nella matrice, ad eccezione di occasionali residui adesi ai punzoni dopo un certo numero di compresse fabbricate.

Nella formulazione acida, la percentuale di acido citrico monoidrato è stata tenuta bassa (24% p/p) poiché formulazioni precedenti più concentrate in acido citrico si erano dimostrate difficili da comprimere in maniera riproducibile: la miscela era poco scorrevole, scarsamente coesiva e le compresse risultavano di difficile estrazione dalla matrice.

Nonostante il contenuto di acido citrico limitato, la formulazione ACM24-L rimaneva comunque difficile da comprimere. La formulazione lasciava sempre qualche residuo sui punzoni e incrostazioni nella matrice; inoltre i moduli erano fragili al punto che non resistevano alla manipolazione. I punti maggiormente critici del modulo erano il colletto e la parte terminale della parete cilindrica che tendeva a staccarsi come un unico anello. Inoltre le compresse erano molto polverose (Figura19).



**Figura 19.** Rappresentazione schematica della Dome Matrix®.

Sulle compresse prodotte è stato eseguito un test di disintegrazione in 100 ml di acqua deionizzata a temperatura ambiente. La prova è stata effettuata immergendo nell'acqua due moduli (uno acido e uno basico), sia separati che

assemblati. Nel primo caso l'effervescenza era pressoché nulla, mentre nel caso dell'assemblato, l'effervescenza era presente, ma si sviluppava unicamente nel punto di contatto tra i due moduli. In entrambi i casi la disgregazione dei moduli era lenta, in particolare per il modulo contenente l'acido citrico, nel quale, la cupola tendeva a non disintegrare. Agitando, si riusciva a portare a compimento la disgregazione con la formazione di una sospensione non omogenea (magnesio stearato e talco galleggiavano sulla superficie dell'acqua) che sedimentava in pochi secondi dalla cessazione dell'agitazione.

Nell'ipotesi che i problemi di scarsa comprimibilità, coesione e disintegrazione difficoltosa del modulo acido ACM24-L dipendessero dalla granulometria dell'acido citrico, la materia prima è stata sottoposta a macinazione in mulino a palle. Ciononostante, il processo di compressione per la formulazione con l'acido citrico macinato è risultato ancora problematico senza miglioramenti né nella disgregazione né nell'effervescenza in presenza del modulo di bicarbonato.

#### **4.1.2. Sostituzione del diluente**

Nelle prime formulazioni il diluente impiegato era costituito da una miscela di Avicel® PH 102 e di lattosio in rapporto 1,3:1 per la formulazione ACM24-L e 1:1,1 per la formulazione BS28-L. Visti i risultati poco favorevoli relativi alla compressione, per migliorare il processo e accelerare la disgregazione, il lattosio è stato sostituito da una pari quantità di Avicel®.

La tabella III presenta la composizione delle nuove formulazioni, nelle quali oltre al diluente, sono state raddoppiate le quantità di glidante e di lubrificante.

**Tabella III.** *Composizione quali-quantitativa delle compresse ACM24 (modulo acido) e BS28( modulo basico).*

	<b>ACM24</b>	<b>BS28</b>
	<b>% (p/p)</b>	<b>(%p/p)</b>
<b>Acido Citrico Monoidrato</b>	24	-
<b>Sodio Bicarbonato</b>	-	28
<b>Avicel pH 102</b>	69,8	65,8
<b>Talco</b>	2,4	2,4
<b>Magnesio stearato</b>	0,8	0,8
<b>AcDiSol</b>	3	3
<b>Totale</b>	100	100

Anche in questo caso, la formulazione di bicarbonato (BS28) è stata compressa senza difficoltà; il peso medio delle compresse prodotte ( $258.8 \text{ mg} \pm 8.7$ ,  $n= 10$ ) era conforme al teorico (250 mg) desiderato in base alla quantità di bicarbonato richiesta per la reazione. La formulazione acida (ACM24) si comprimeva più facilmente rispetto alla precedente grazie al contributo di Avicel®, mostrando coesione maggiore (nessuna rottura della parete alla base del modulo) e minore adesione a matrice e punzoni. Utilizzando i punzoni e la matrice da 8.4 mm non è stato però possibile per i moduli di acido citrico raggiungere il peso richiesto di 250 mg (peso medio:  $223.9 \text{ mg} \pm 9.9$ ,  $n= 10$ ) poiché la polvere risultava più voluminosa della precedente formulazione. Essendo più leggeri,

questi moduli acidi contenevano quindi meno acido citrico (in mg) dello stechiometrico di reazione.

La prova di disgregazione è stata effettuata su questi moduli considerando tre diverse modalità di assemblaggio dei moduli, sempre in 100 ml di acqua deionizzata a temperatura ambiente (becker da 100 ml, in assenza di agitazione).

Per la prima modalità, un modulo acido e uno basico non assemblati sono stati immersi nell'acqua. Il modulo di bicarbonato disgregava in circa 30 secondi, rigonfiando leggermente. Rimaneva sul fondo del becker un sedimento consistente. La compressa di acido citrico disgregava lentamente. L'effervescenza era pressoché nulla. Dopo 8 minuti la disgregazione del modulo acido non era ancora completata. Agitando il becker si otteneva una sospensione rapida a sedimentare e disomogenea, caratterizzata dalla presenza di aggregati di polvere di diverse dimensioni.

Nella seconda modalità, i due moduli erano immersi in acqua assemblati. Nei primi secondi si osservava una certa effervescenza, soprattutto nel punto di contatto tra i due moduli, che si esauriva prima che le compresse avessero finito di disgregare. La compressa di acido citrico rimaneva sostanzialmente integra, mentre quella di bicarbonato disgregava completamente lasciando un precipitato (Avicel®) sul fondo del becker. Anche dopo agitazione la compressa di acido citrico non disgregava completamente.

Infine, è stato immerso un assemblato a 3 moduli, due di acido citrico intercalati da uno di bicarbonato di sodio. Questo assemblato a 3 unità è stato realizzato avendo osservato che l'effervescenza si sviluppava soprattutto nel punto di

contatto tra la compressa di acido citrico e quella di bicarbonato di sodio. In questo modo si è cercato di aumentare la superficie di contatto tra i reagenti, oltre al fatto di raddoppiare la quantità di acido teoricamente disponibile per la reazione col bicarbonato. L'effervescenza dell'assemblato a tre moduli era evidente nei punti di contatto tra i moduli, ma rispetto al sistema a 2 moduli, l'assemblato si rompeva e l'effervescenza cessava; la disgregazione di tutti i moduli si completava in circa 10 minuti, sempre residuando aggregati solidi nell'acqua.

Il fatto che non si sia riusciti ad innescare un'effervescenza tale da provocare la disgregazione veloce dell'assemblato, poteva essere dovuto alla disponibilità in soluzione del reagente acido, resa insufficiente a causa della lentezza nella disintegrazione del modulo acido e quindi nella dissoluzione dell'acido citrico.

Resta evidente che non avendo raggiunto il peso teorico delle compresse di acido citrico monoidrato, le prove di disgregazione dei due moduli assemblati o non, sono state effettuate con un eccesso di bicarbonato rispetto alle quantità stechiometrica.

#### **4.1.3. Studi qualitativi di effervescenza sulle polveri**

Per comprendere se la scarsa effervescenza prodotta dai moduli assemblati fosse dovuta ad un problema di disponibilità in soluzione dei reagenti (soprattutto dell'acido citrico), la reazione di effervescenza in acqua è stata studiata dal punto di vista qualitativo utilizzando i reagenti in polvere. Le polveri di acido citrico monoidrato e bicarbonato di sodio sono state fatte reagire in 30 ml di acqua deionizzata a 25 °C, in assenza degli altri eccipienti. È stato scelto

questo volume ritenendo che potesse essere il volume di acqua da utilizzare per la somministrazione del prodotto finito. E' stato esaminato qualitativamente l'effetto di rapporti molari diversi tra i due reagenti sulla reazione di effervescenza. I risultati sono ed descritti nella tabella IV.

**Tabella IV.** Osservazioni della reazione tra acido citrico monoidrato e bicarbonato di sodio in funzione della quantità di reagenti.

Acido citrico monoidrato (mg)	Bicarbonato di sodio (mg)	Rapporto molare (A:B)	pH finale della soluzione	Osservazioni
250	300	1:3	5,23	Effervescenza molto intensa, (20 secondi). Deposito.
500	400	1:2	4,5	Effervescenza debole (circa 50 sec). Deposito.
625	250	1:1	3,5	Effervescenza molto intensa (schiuma). Nessun deposito.
500	300	2:3	3,85	Effervescenza debole (circa 1 minuto), Deposito.
500	800	1:4	6,23	Effervescenza iniziale intensa che diminuisce velocemente. Deposito
250	500	1:5	6,35	Effervescenza scarsa. Deposito.
500	500	2:5	5,7	Necessaria agitazione per produrre effervescenza intensa (schiuma)

La combinazione dei reagenti che ha dato origine all'effervescenza più intensa è stata quella nel rapporto molare 1:1. Questo probabilmente è spiegato dal fatto che una delle tre  $pK_a$  dell'acido è abbastanza bassa (3.09), mentre le altre due sono più alte (4.75; 5.41), ad indicare che uno dei tre idrogenioni è molto più acido degli altri due. Essendo l'acido citrico in questa composizione in

eccesso rispetto al bicarbonato di sodio, il numero maggiore di idrogenioni molto acidi per la reazione con il bicarbonato produce una effervescenza più intensa.

In questo progetto dove i reagenti, acido citrico e bicarbonato, sono localizzati in due moduli separati, e non sono mescolati tra loro come di consueto nelle forme effervescenti, diviene ancora più necessario avere una quantità eccedente lo stechiometrico di acido citrico nella compressa, in modo che un numero maggiore di idrogenioni sia disponibile per la reazione.

#### **4.1.4 Nuove formulazioni per sistemi assemblati con reagenti per l'effervescenza in rapporto molare 1:1**

Alla luce delle osservazioni fatte sulla qualità dell'effervescenza in funzione del rapporto molare tra i reagenti, le compresse di acido citrico e bicarbonato sodico sono state riformulate in modo che i moduli fabbricati permettessero poi di costruire un assemblato nel quale i reagenti fossero in rapporto molare 1:1. La composizione delle nuove formule è riportata in tabella V.

**Tabella V.** *Composizione quali-quantitativa delle compresse ACM42 (acido) e BS16,8 (basico).*

	<b>ACM42</b> % (p/p)	<b>BS16,8</b> % (p/p)
<b>Acido Citrico Monoidrato</b>	42	-
<b>Sodio Bicarbonato</b>	-	16,8
<b>Avicel pH 102</b>	51,8	77
<b>Talco</b>	2,4	2,4
<b>Magnesio stearato</b>	0,8	0,8
<b>AcDiSol</b>	3	3
<b>Totale</b>	100	100

La formulazione contenente la base è stata compressa senza difficoltà, mentre quella contenente l'acido citrico a volte rimaneva incastrata nella matrice. In questa fase si è cercato di fabbricare moduli che avessero una geometria della compressa (altezza della parete e altezza della cupola) tale per cui due moduli potessero incastrarsi solidamente. Per quanto riguarda la formulazione della base, non si è potuto ottenere moduli aventi un peso di 250 mg, in quanto sostituendo l'Avicel® al bicarbonato, la formulazione risultava molto più voluminosa delle precedenti. Per mantenere il rapporto stechiometrico stabilito tra acido e base (1:1), è stato diminuito di conseguenza anche il peso della compressa acida,

Sono stati assemblati due di questi moduli; l'assemblato con acido citrico e bicarbonato in rapporto 1:1 è stato immerso in 30 ml di acqua a 25 °C. Avendo ridotto con il peso dei moduli le quantità assolute dei due reagenti, rispetto ai precedenti saggi di disintegrazione, il volume di acqua è stato diminuito da 100

a 30 ml al fine di mantenere una concentrazione in acqua sufficientemente elevata dei reagenti. La disgregazione avveniva abbastanza velocemente, ma l'effervescenza era debole. Essa è stata comunque più intensa rispetto alle prove con i moduli in cui il rapporto molare tra acido citrico e bicarbonato era 1:3.

#### **4.1.5. Aumento dimensioni compresse e ottimizzazione formulativa**

##### **4.1.5.1. Diluente e lubrificante**

Avendo attribuito alla quantità disciolta dei reagenti (soprattutto di acido) la debole effervescenza osservata, si è deciso di aumentare il peso dei moduli a 400-500 mg utilizzando punzoni e matrice regolabile con diametro di 9.5 mm. L'aumento di dimensione dei moduli (e quindi dell'assemblato) non sarebbe comunque un problema per la somministrazione in quanto l'assemblato non è destinato a essere inghiottito solido, ma deve essere preventivamente disperso in acqua. Inoltre, come diluente si è deciso di utilizzare un tipico diluente per compresse orosolubili, vale a dire F-Melt, prodotto per compressione diretta. Questa scelta è stata effettuata con l'intenzione di ottenere una disgregazione completa delle compresse.

In una prima fase abbiamo ricercato la migliore lubrificazione delle compresse dispersibili da preparare. Alcune miscele preparate con un tipo di F-Melt® sono state formulate (Tabella VI) utilizzando lubrificanti e glidanti alternativi al magnesio stearato e al talco, poco adatti in una formula effervescente.

**Tabella VI.** *Composizione quali-quantitativa delle compresse ACM42-F(acido) e BS50.4-F(basico).*

	<b>ACM42-F</b>	<b>BS50.4-F</b>
	<b>% (p/p)</b>	<b>% (p/p)</b>
<b>Acido Citrico Monoidrato</b>	42	-
<b>Sodio Bicarbonato</b>	-	50,4
<b>F-Melt type C</b>	52,5	44,1
<b>Sodio benzoato</b>	0,5	0,5
<b>AcDiSol®</b>	5	5
<b>Totale</b>	100	100

Nelle formulazioni in tabella VI come lubrificante è stato impiegato sodio benzoato, lubrificante solubile in acqua; il disgregante AcDiSol® (croscarmellosa sodica) è stato utilizzato al 5% (p/p), massima percentuale consigliata dal produttore. In alternativa al sodio benzoato, in alcune formulazioni, che non sono state portate avanti, è stato usato come lubrificante idrofilo anche sodio acetato.

In questo progetto, si utilizzano speciali punzoni per tecnologia Dome Matrix®, perciò la loro particolare geometria richiede una perfetta lubrificazione delle polveri da comprimere. Non è stato possibile fabbricare moduli Dome a base di F-Melt® in presenza di sodio benzoato o sodio acetato come lubrificanti, perché la lubrificazione era insufficiente. Pertanto si è reso necessario effettuare alcune prove per ottimizzare la quantità di magnesio stearato da utilizzare con F-Melt. I produttori di F-Melt®, per fabbricare compresse orosolubili consigliano la percentuale di impiego dello 0.4% (p/p). E' stata prodotta una miscela di F-Melt® e magnesio stearato contenente lo 0.4% in peso del lubrificante. La miscela ottenuta sottoposta a compressione, ha rivelato che la quantità di

magnesio stearato era insufficiente per una corretta lubrificazione. Si è trovato come valore ottimale di magnesio stearato per lubrificare F-Melt® era di 0.8% (p/p). Abbiamo verificato il comportamento della compressa di FMelt lubrificato in acqua per scoprire se il solo F-Melt® avesse proprietà disgreganti oppure si dissolvesse in un tempo ragionevole. La disgregazione sebbene lenta, si completava in 15 minuti.

#### 4.1.5.2 Confronto tra diluenti per compresse orosolubili

Il nuovo diluente utilizzato, F-Melt® type C, ha migliorato, rispetto alle formulazioni contenenti Avicel®, l'aspetto della sospensione generata dalla disgregazione delle compresse. Con l'intenzione di migliorare ulteriormente l'aspetto della sospensione e semplificare la compressione, sono stati confrontati altri due tipi di F-Melt® e una nuova miscela per compressione chiamata Prosolv®, anche questo fornito in diverse versioni. Le prime prove sono state svolte sul solo diluente, cioè i moduli non contenevano acido citrico nè bicarbonato. Le composizioni sono riportate in Tabella VII.

**Tabella VII.** *Composizione dei diversi gradi di F-Melt*

<b>F-Melt type C</b>	<b>F-Melt type M</b>	<b>F-Melt type F1</b>
D-mannitolo	D-mannitolo	Amido di riso
Xilitolo	Xilitolo	
Cellulosa microcristallina	Cellulosa microcristallina	Cellulosa microcristallina
Crospovidone	Crospovidone	
Calcio dibasico fosfato anidro	Magnesio alluminio silicato	Calcio dibasico fosfato anidro

Alle miscele per compressione sono stati aggiunti il magnesio stearato (0.8% p) e l'AcDiSol (5%).

La miscela di F-Melt® type C e la miscela di F-Melt® type M, consentivano di ottenere moduli del peso di 400 mg che presentavano caratteristiche meccaniche simili. La miscela di F-Melt® type M però dopo una decina di compresse, mostrava un fenomeno di adesione della polvere al punzone superiore. La miscela di F-Melt® type F1 è risultata più voluminosa (densità di F-Melt® type F1 più bassa rispetto alle altre due polveri), per ottenere una compressa di 400 mg è stato necessario di aumentare il volume della camera di compressione. Le tre compresse sono state immerse in acqua (30 ml, 25 °C). Il modulo costituito da F-Melt® type F1 mostrava una disgregazione molto lenta (circa 6 minuti), il modulo di F-Melt® type C e il modulo di F-Melt® type M hanno mostrato lo stesso tempo di disgregazione (circa 4 minuti). Nel caso dell' F-Melt® type M, il materiale disgregato rimaneva sul fondo del becker, mentre con -Melt® type C era in parte, in sospensione nel liquido.

È stato poi considerato il Prosolv® (JRS Pharma), un altro tipo di diluente per compressione diretta che è stato fornito in tre differenti versioni. Il Prosolv® Easytab è una miscela, a base di cellulosa microcristallina, completa di disgregante, glidante e lubrificante. Il prodotto, senza aggiunta di altri eccipienti, si comprimeva con facilità e il modulo completava la disgregazione in 4 minuti. Sono stati poi provate le altre due versioni di Prosolv® , SMCC HD90 e SMCC 50. Questi due diluenti sono composti da particelle di cellulosa microcristallina ricoperte da silice colloidale anidra. Le particelle che compongono Prosolv® SMCC50 hanno una dimensione media 60µm, mentre quelle che compongono

Il Prosolv® SMCC HD90 hanno una dimensione media di 110µm. Entrambi i prodotti si comprimevano con facilità. La compressa prodotta con Prosolv® SMCC HD90 disgregava immediatamente dopo l'immersione in 30 ml d'acqua a 25 °C, dando luogo ad una dispersione disomogenea e instabile. La compressa prodotta con Prosolv® SMCC 50 mostrava invece una disgregazione più lenta, completa in circa 6 minuti. I tre diluenti sono stati quindi miscelati con acido citrico monoidrato (10%) senza l'aggiunta di altri eccipienti. Le miscele, sono state compresse con punzoni Dome Matrix® femmina da 9.5 mm diametro.

Le miscele ACM10-ProE e ACM10-ProSMCC90 si comprimevano facilmente, mentre la formulazione ACM10-ProSMCC50 non era adatta alla compressione con punzoni Dome da 9.5 mm, in quanto dopo le prime compressioni la miscela cominciava ad aderire ai punzoni e alla matrice. Le prove di disgregazione sono state effettuate in 30 ml di acqua deionizzata a 25 °C. La compressa costituita da Prosolv Easytab disgregava in circa 3 minuti, le pareti si disgregavano immediatamente, la cupola più lentamente. Dopo 3 minuti la disgregazione si interrompeva, lasciando una dispersione non uniforme con frammenti di compressa sul fondo del becker.

Sia con Prosolv SMCC HD 90 che con Prosolv SMCC 50 la compressa rigonfiava appena immersa in acqua. Le pareti del modulo disgregavano immediatamente, mentre dopo 5 minuti la cupola era ancora integra sul fondo del becker. Il materiale disgregato sedimentava immediatamente.

Dopo queste prove con differenti diluenti è stato scelto per proseguire lo studio di formulazione con i reagenti per l'effervescenza F-Melt® type C perché aveva mostrato migliori caratteristiche di compressione, tempo di disgregazione più

breve e una sedimentazione del materiale più lenta al termine della disgregazione.

#### 4.1.6 Moduli con F-Melt® tipo C contenenti i reagenti per l'effervescenza

Una volta definite le percentuali di lubrificante magnesio stearato (0.8% p/p) e di disgregante Ac-di-Sol® (5% p/p) adeguate alla compressione con punzoni Dome Matrix® di miscele in cui il diluente era F-Melt®, sono state formulate nuove miscele per i moduli di acido citrico e di bicarbonato (Tabella VIII)

**Tabella VIII.** *Composizione quantitativa e qualitativa delle compresse ACM52,5-FM (acido) e BS56-FM (basico).*

	<b>ACM52,5-FM</b>	<b>BS56-FM</b>
	<b>% (p/p)</b>	<b>% (p/p)</b>
<b>Acido Citrico Monoidrato</b>	52,5	-
<b>Sodio Bicarbonato</b>	-	56
<b>F-Melt type C</b>	41,7	38
<b>Magnesio stearato</b>	0,8	0,8
<b>AcDiSol</b>	5	5
<b>Totale</b>	100	100

La formulazione “basica” è stata compressa senza difficoltà, al peso desiderato di circa 450 mg (454.3 mg  $\pm$  6.6; n=10). La miscela relativa alla formulazione acida non era omogenea in quanto erano presenti aggregati presumibilmente di acido citrico. Tale miscela consentiva di ottenere moduli accettabili, pur necessitando ogni tanto di pulire la matrice da materiale adeso. Inoltre, sebbene il riempimento della matrice fosse effettuato con una spatola livellatrice del volume di polvere introdotto nella matrice, il peso dei moduli ottenuti era

variabile. Questa variabilità di peso poteva essere attribuita alla disomogeneità della miscela.

Le prove di disgregazione sono state effettuate in 30 ml di acqua deionizzata a 25 °C. La reazione di effervescenza iniziava molto lentamente, ma era aumentata per lieve agitazione. La disgregazione iniziava immediatamente per entrambi i moduli, ma continuava con una certa lentezza. Dopo 6 minuti la compressa di bicarbonato era completamente disgregata, mentre quella di acido citrico presentava ancora la cupola intatta, che completava la disgregazione dopo 10 minuti.

#### **4.1.7 Determinazione dell'influenza della quantità di acido citrico sul processo di disgregazione della compressa**

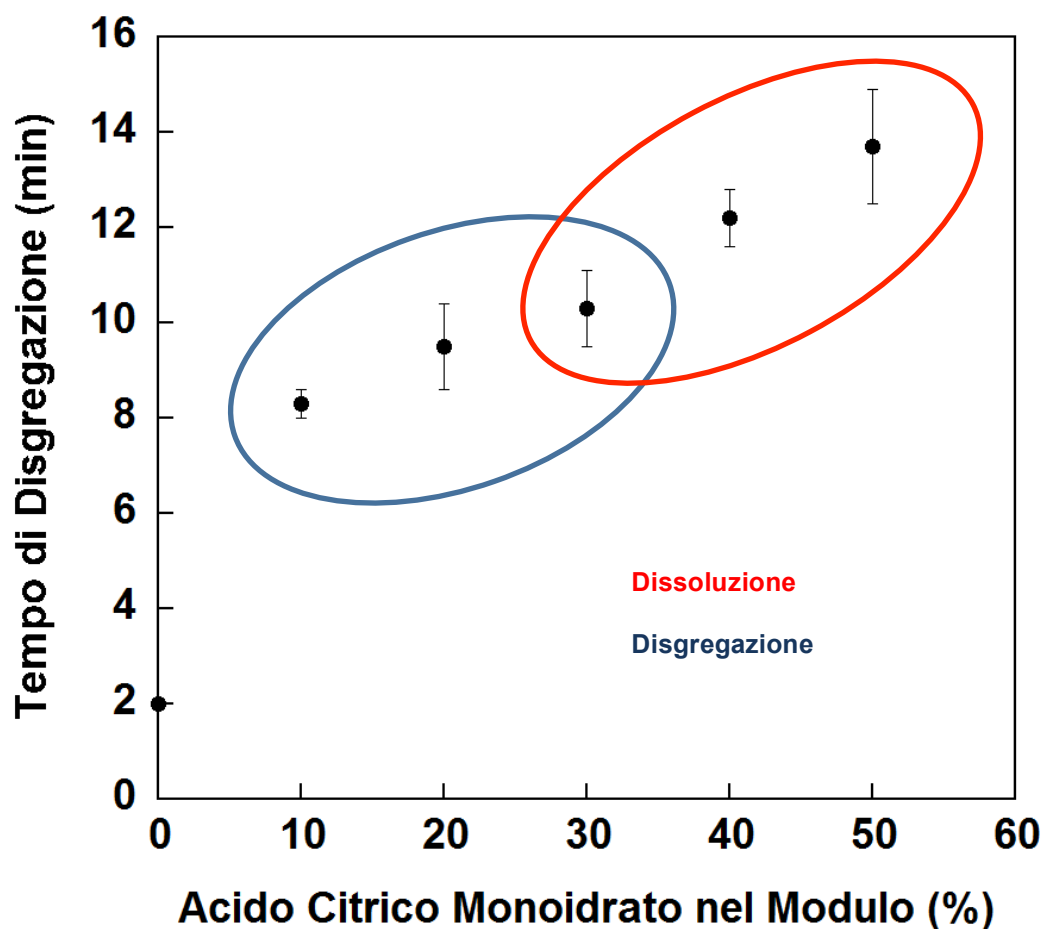
Allo stato attuale delle evidenze sperimentali, siamo rimasti poco soddisfatti del comportamento dei moduli di acido citrico sia nei confronti della compressione che della loro disgregazione in acqua. La ragione di ciò era che ritenevamo che fosse importante per lo sviluppo della effervescenza del sistema assemblato che i moduli di acido citrico fossero in grado di portare in soluzione rapidamente il reagente acido. Allo scopo sono state preparate diverse miscele contenenti dal 10% al 60% in peso di acido citrico monoidrato. Tutte le formulazioni contenevano F-Melt® type C, 0,8% p/p di magnesio stearato e 5% p/p di Ac-Di-Sol®.

Le miscele contenenti acido citrico dal 10% al 40% apparivano omogenee e si potevano comprimere per ottenere i moduli "acidi" senza difficoltà. Le compresse prodotte avevano un peso di circa 400 mg. La miscela contenente il

50% (p/p) di acido citrico mostrava una minore omogeneità a causa dell'alta percentuale di acido citrico, sebbene si riuscisse a comprimerla favorevolmente per ottenere compresse di circa 400 mg.

Invece non è stato possibile comprimere la miscela contenente il 60% di acido citrico monoidrato la cui coesione richiedeva l'aggiunta di un agente legante. Infatti, anche alla massima forza esercitata della comprimitrice, la compressa era friabile.

La prova di disgregazione di tutti questi moduli è stata effettuata in assenza del modulo di bicarbonato in 30 ml di acqua deionizzata a 25 °C. Il tempo di disgregazione delle compresse diminuiva con la diminuzione del contenuto di acido citrico monoidrato. In particolare, una reale disgregazione avveniva per le compresse al 10% p/p (circa 8 minuti) e al 20% p/p di acido citrico (circa 9 minuti). Aumentando il contenuto di acido citrico, non si aveva una vera e propria disgregazione del modulo ma piuttosto una sua erosione superficiale. I tempi per il completamento della disgregazione/dissoluzione crescevano con la concentrazione di acido: al 30% erano necessari circa 10 minuti, al 40% e al 50% di acido citrico, rispettivamente 12 e 13 minuti come si può vedere in figura 20.



**Figura 20.** Tempi di disgregazione dei moduli con diversa percentuale (p/p) di acido citrico monoidrato.

Nella figura 20 i cerchi colorati indicano il meccanismo prevalente nel processo di dissoluzione del modulo di acido citrico in funzione della concentrazione dello stesso.

A titolo di confronto, è stata anche preparata una compressa del peso di 400 mg priva di acido citrico e quindi composta solo da F-Melt® type C, magnesio stearato e AcDiSol® nelle percentuali già utilizzate. Dopo la compressione avvenuta senza difficoltà, la compressa è stata immersa in acqua e completava la propria disgregazione in 2 minuti, con un evidente rigonfiamento subito dopo l'immersione in acqua.

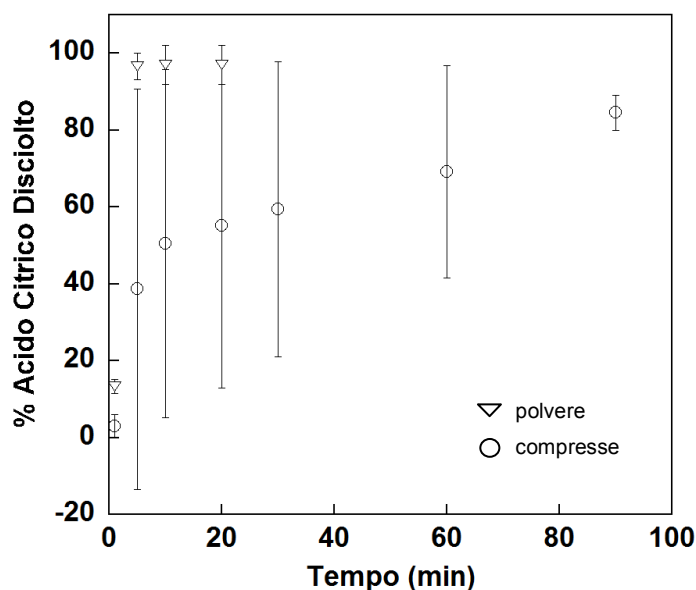
E' emerso dunque che, sia per la compressione che per la disgregazione, il punto critico era la percentuale di acido citrico monoidrato presente nella formulazione del modulo. Dopo queste osservazioni si è deciso di utilizzare per la fabbricazione di moduli Dome Matrix® "acidi" una percentuale di acido citrico non superiore al 30%. Pertanto l'acido citrico è stato prevalentemente impiegato al 20% visto che le queste prove di disgregazione mostravano una disgregazione predominante del modulo (dal 30% in poi predominava l'erosione derivante dalla dissoluzione dell'acido).

In definitiva il modulo di riferimento sarà quello contenente il 20% di acido citrico monoidrato.

#### **4.1.8 .Velocità di dissoluzione dell'acido citrico dai moduli DM**

Sul modulo "acido" contenente il 20% (p/p) di acido citrico monoidrato è stato condotto un test di dissoluzione per determinare la velocità con cui l'acido veniva liberato dai moduli rendendosi disponibile per la reazione di effervescenza. La quantificazione dell'acido citrico è stata effettuata con un kit enzimatico. Questo test è stato condotto sui moduli di acido citrico da soli, cioè in assenza del modulo di bicarbonato.

La dissoluzione della polvere (100 mg) presa come riferimento e di tre compresse è stata eseguita in 500 ml di acqua a 25 °C. Le compresse appartenevano allo stesso lotto (ACM20-DILF-MK) e avevano tutte lo stesso peso (408 mg) in modo da contenere la stessa quantità di acido citrico pari 74.6 mg di acido citrico. Il grafico in figura 21 riporta la percentuale di acido citrico disciolta contro il tempo.



**Figura 21.** *Acido citrico monoidrato disciolto nel tempo: polvere (triangolo) e compresse (cerchio).*

Dopo 4 minuti la polvere (triangolo) risultava completamente sciolta. Le compresse di questo lotto presentavano il profilo di dissoluzione riportato in figura 21 che si caratterizza per una quasi completa dissoluzione in 60 minuti, una elevata variabilità del dato giustificabile con una certa variabilità della metodica analitica, o anche una differente velocità di disintegrazione dei moduli. Con l'intenzione di velocizzare la dissoluzione e di migliorare la miscelazione dell'acido citrico monoidrato con gli altri componenti della miscela è stata anche studiato l'effetto di una riduzione delle dimensioni delle particelle di acido citrico monoidrato. L'acido citrico si presenta in grossi cristalli con dimensione compresa tra 1 mm e 500  $\mu\text{m}$ . Dopo macinazione la polvere è stata separata in tre frazioni caratterizzate dalla seguente dimensione delle particelle: < 125  $\mu\text{m}$ ; 125- 180  $\mu\text{m}$ ; 180-250  $\mu\text{m}$ .

Sono state preparate tre miscele contenenti F-Melt® type C e acido citrico monoidrato macinato. Il componente preponderante della miscela è F-Melt® type C che è composto da particelle con diametro medio di 120 µm.

Le tre polveri sono state utilizzate per allestire tre miscele per compressione dei moduli (tabella IX).

**Tabella IX.** *Composizione delle miscele contenenti acido citrico monoidrato macinato.*

	<b>Miscela A</b>	<b>Miscela B</b>	<b>Miscela C</b>
	<b>%(p/p)</b>	<b>%(p/p)</b>	<b>%(p/p)</b>
<b>A.Citrico Mon. &lt;125 µm</b>	30	-	-
<b>A.Citrico Mon. 125-180µm</b>	-	30	-
<b>A.Citrico Mon. 180-250µm</b>	-	-	30
<b>F-melt Type C</b>	64,2	64,2	64,2
<b>PVP CL</b>	5	5	5
<b>Mg stearate</b>	0,8	0,8	0,8
<b>Totale</b>	100	100	100

Nessuna delle miscele si è dimostrata adatta alla compressione, poiché si sono verificate una forte adesione della polvere ai punzoni senza che si ottenessero dei moduli coerenti. Anche aumentando la percentuale di Mg stearato al 2%, non si è potuto ottenere moduli coerenti con queste miscele contenenti acido citrico macinato.

#### **4.1.9 Confronto tra compresse di acido citrico disgreganti**

Abbiamo anche studiato l'effetto della presenza di acqua nel cristallo di acido citrico preparando formulazioni contenenti F-Melt come diluente e acido citrico monoidrato al 20% (p/p). Oltre all'acido citrico monoidrato, è stato osservato il

comportamento dell'acido citrico anidro utilizzato allo stesso livello ponderale, specialmente nella fase di compressione. Le composizioni sono descritte in Tabella X e XI.

**Tabella X.** *Composizione quali-quantitativa e delle compresse ACM20-F-MK (acido) e BS8-F-MK (basico).*

	<b>ACM20-F-MK</b>	<b>BS8-F-MK</b>
	<b>% (p/p)</b>	<b>% (p/p)</b>
<b>Acido Citrico Monoidrato</b>	20	-
<b>Sodio Bicarbonato</b>	-	8
<b>F-Melt type C</b>	74,2	86,2
<b>Magnesio stearato</b>	0,8	0,8
<b>Kollidon-CL</b>	5	5
<b>Totale</b>	100	100

**Tabella XI.** *Composizione quali-quantitativa e delle compresse ACA20-F-MK (acido) e BS8,5-F-MK (basico).*

	<b>ACA20-F-MK</b>	<b>BS8,5-F-MK</b>
	<b>% (p/p)</b>	<b>% (p/p)</b>
<b>Acido Citrico Anidro*</b>	20	-
<b>Sodio Bicarbonato</b>	-	8,5
<b>F-Melt type C</b>	74,2	85,7
<b>Magnesio stearato</b>	0,8	0,8
<b>PVP-CL</b>	5	5
<b>Totale</b>	100	100

\* In considerazione della non elevata differenza stechiometrica tra i due tipi di acidi citrico, abbiamo deciso di non rispettare la stechiometria e confrontare le due masse mantenute allo stesso livello. Parimenti abbiamo aggiustato la % di bicarbonato in funzione del rapporto 1:1 tra i due reagenti.

Le quattro miscele sono state compresse a 400 mg di peso con punzoni e matrice dal diametro di 9.5 mm. La compressione è avvenuta senza difficoltà.

Le dimensioni delle compresse sono state confrontate misurando il diametro interno, esterno e lo spessore. I risultati riassunti in Tabella XII mostrano una similarità di dimensioni.

**Tabella XII.** *Caratteristiche delle compresse con 20% (p/p) acido citrico (monoidrato o anidro) e delle relative compresse di bicarbonato.*

	<b>Peso (mg)</b>	<b>Spessore della compressa (mm)</b>	<b>Altezza della parete (mm)</b>	<b>Diametro interno (mm)</b>	<b>Diametro esterno (mm)</b>
<b>ACM20-F-MK</b>	403,4±5,5	7.63±0,03	5.1±0,08	7.21±0,07	9.59±0,02
<b>BS8-F-MK</b>	400,9±4,7	7.44±0,04	4.79±0,02	7.06±0,17	9.54±0,01
<b>ACA20-F-MK</b>	401,6±4,5	7.44±0,02	5.08±0,02	5.90±0,09	9.58±0,02
<b>BS8,5-F-MK</b>	400,2±5,8	7.43±0,04	5.01±0,04	6.79±0,16	9.57±0,01

Inizialmente sono stati disgregati in 30 ml di acqua deionizzata a 25 °C il modulo di acido citrico anidro assemblato con il rispettivo di bicarbonato in rapporto molare 1:1. Dopo un minuto le pareti di entrambe le compresse erano completamente disgregate mentre le cupole disgregavano in 3 minuti. L'effervescenza sviluppata era scarsa come intensità e il pH finale era di 4.03. Due compresse appartenenti agli stessi lotti sono state immerse non assemblate. La disgregazione dei moduli non cambiava; l'effervescenza era sempre scarsa e il pH finale era 3.73.

Sono stati quindi preparati assemblati in altre configurazioni costituiti da 1 modulo di bicarbonato e due di acido citrico anidro ed anche un modulo di bicarbonato e tre di acido citrico anidro. Il risultato di questi assemblaggi è

quello di modificare il rapporto molare tra i due reagenti dell'effervescenza portandolo a 1:2 e 1:3 rispettivamente. Nel rapporto 1:2, l'effervescenza sviluppata rimaneva scarsa e la disgregazione avveniva in circa 3 minuti senza cambiare quindi il comportamento osservato nel caso del rapporto 1:1. Nel rapporto 1:3 l'effervescenza rimaneva simile e la disgregazione si completava in 2 minuti. Pertanto in queste formulazioni la modifica del rapporto molare tra i due reagenti non ha prodotto significativi miglioramenti del loro comportamento in disgregazione. Solo il pH misurato diminuiva a 3,18 e 2,52. In tutti i casi, la dispersione in acqua formatasi non era omogenea.

Sono state eseguite prove di disgregazione nelle stesse condizioni per le formulazioni ACM20-F-MK e BS8-F-MK, dove il modulo acido era quello di acido citrico monoidrato. Due moduli (rapporto molare 1:1) sono stati immersi sia assemblati che successivamente, non assemblati. Nel primo caso la disgregazione terminava in 2 minuti e mezzo e il pH finale era di 4.71, con effervescenza pressoché nulla. Nel secondo caso, la disgregazione avveniva in circa 1 minuto, l'effervescenza era sempre scarsa e il pH finale era 4.22. Le dispersioni ottenute erano abbastanza omogenee. Le compresse sono state quindi disgregate come assemblato in precedenza con l'acido anidro, nei rapporti molarli 1:2 e 1:3. In entrambi i casi la disgregazione si completava in un 1,5 minuti, sviluppando un'effervescenza maggiore rispetto alle prove precedenti, ma comunque non particolarmente intensa. Gli assemblati realizzati con moduli acidi contenenti il 20% (p/p) di acido citrico monoidrato hanno mostrato una disgregazione di 3 minuti,

Dopo questa serie di prove abbiamo potuto concludere che la debole effervescenza prodotta fosse dovuta alla bassa concentrazione di acido citrico nel modulo in rapporto al suo peso. Sebbene l'acido citrico monoidrato nelle formulazioni avesse mostrato un certo vantaggio nella fase di compressione ed una maggiore velocità di disgregazione dei moduli, l'impiego di questa sostanza nella tecnologia Dome Matirx ha portato con sé una serie di problemi che non ha consentito di elevare più di tanto il suo contenuto nella formulazione.

#### **4.1.10 Modifiche al modulo acido (acido citrico granulato, acido tartarico) e misura dell'effervescenza prodotta**

In base ai dati finora raccolti, la performance del modulo acido rimaneva scarsa sia perché l'effervescenza era debole e perché il compatto era problematico. Ciò probabilmente dipendeva dalla bassa velocità di dissoluzione dell'acido unita alla sua ridotta quantità nel modulo. Quindi si è provato come ultima ratio di aumentare questa quantità preparando un granulato di acido in modo da facilitare la compressione con i punzoni Dome Matrix® anche in presenza di percentuali di acido superiori al 20% (p/p).

Siccome sino a questo punto di indagine abbiamo basato il nostro giudizio sulla qualità dell'effervescenza alla semplice osservazione visuale, abbiamo deciso di mettere a punto un metodo quantitativo che consentisse di misurare esattamente l'effervescenza prodotta in termini di quantità e velocità.

I moduli di seguito descritti contenenti acido citrico o anche acido tartarico come alternativa di reagente acido, sono stati preparati per essere sottoposti al test quantitativo di effervescenza. Pertanto per la preparazione del modulo di acido

citrico monoidrato, l'acido è stato mescolato in rapporto 1:1 con betaciclodestrina e granulato utilizzando acqua come solvente. La betaciclodestrina è una polvere bianca, cristallina, inodore, dal sapore leggermente dolce. Avendo una bassa solubilità in acqua, poteva accelerare la disgregazione della compressa. In questa evoluzione della formulazione dei moduli "acidi", il diluente (F-Melt type C) è stato sostituito da Pearlitol DC 500, diluente a base di mannitolo impiegato nella formulazioni di compresse rapidamente dispersibili ed effervescenti. Il magnesio stearato è stato sostituito con il Sodio Stearil Fumarato, lubrificante meno potente, ma leggermente meno idrofobo. [64-70]

Le composizioni sono riportate in tabella XIII.

**Tabella XIII.** *Composizione delle formulazioni.*

	<b>ACMG20/40-Per</b>	<b>BS12/36/60-Per</b>
	<b>% (p/p)</b>	<b>% (p/p)</b>
<b>Acido citrico monoidrato</b>	10/20	-
<b>Betaciclodestrina</b>	10/20	-
<b>Bicarbonato di sodio</b>	-	12/36/60
<b>Pearlitol DC 500</b>	70/50	78/54/30
<b>PVP CL</b>	5	5
<b>Kollidon 30</b>	3	3
<b>Talco</b>	1	1
<b>Sodio stearil fumarato</b>	1	1
<b>Totale</b>	100	100

Le formulazioni col granulato di citrico hanno mostrato una tendenza alla adesione ai punzoni (era necessario pulire il punzone ogni 20 compresse circa). Aumentare le quantità di granulato nella miscela oltre il 40% conduceva un

prodotto incomprimibile per eccessiva adesività. Quindi, abbiamo dovuto rinunciare all'idea di aumentare la quantità di citrico nel modulo e di conseguenza per lo studio di effervescenza, si è dovuto ripiegare sulla preparazione di moduli con contenuto di acido rispettivamente da 10 a 20% p/p. L'acido citrico monoidrato è stato introdotto come granulato 1:1 con la betaciclodestrina. Le miscele per il modulo di bicarbonato sono state formulate in modo da rispettare il rapporto molare acido citrico monoidrato : bicarbonato di sodio 1:3. Sono state fabbricate compresse da 11 mm di diametro e peso di 400 mg  $\pm$ 5. Come già osservato per le formulazioni con F-Melt, il bicarbonato di sodio non ha dato problemi in compressione. Le compresse, tuttavia, soprattutto alla massima percentuale di sale, erano più fragili di quelle precedenti, per eccessiva friabilità (non misurata).

In previsione delle prove di effervescenza, non avendo potuto aumentare le quantità di acido citrico nel modulo, abbiamo provato la sostituzione dell'acido citrico con l'acido tartarico. Siccome l'acido tartarico aveva di per sé buona scorrevolezza, non è stato necessario granularlo per ottenere senza difficoltà, compresse coese e di peso conforme. da 10 a 30 a 50% (p/p) circa di tartarico

Tabella XIV.

**Tabella XIV. Composizione quantitativa dei moduli contenenti acido tartarico.**

	<b>AT10,5 / 32,1 / 53,6-Per</b>
	<b>% (p/p)</b>
<b>Acido tartarico</b>	10,5 / 32,1 / 53,6
<b>Pearlitol DC 500</b>	79,5 / 57,9 / 36,4
<b>PVP CL</b>	5
<b>Kollidon30</b>	3
<b>Talco</b>	1
<b>Sodio stearil fumarato</b>	1
<b>Totale</b>	100

In aggiunta a questi moduli, a scopo di confronto, sono state preparate anche compresse piatte di diametro 11 mm e peso 400 mg. Le compresse piatte contenenti acido tartarico (AT10,5/32,1/53,6-Per-P) e le compresse piatte contenenti bicarbonato di sodio (BS12/36/60Per-P) avevano la stessa composizione quali-quantitativa dei rispettivi moduli Dome Matrix®. Per le compresse piatte di acido citrico monoidrato non è stato necessario utilizzare il granulato, ma è stato possibile comprimere direttamente l'acido citrico monoidrato anche senza betaciclodestrina. La tabella XV riporta le composizioni delle compresse piatte contenenti acido citrico monoidrato.

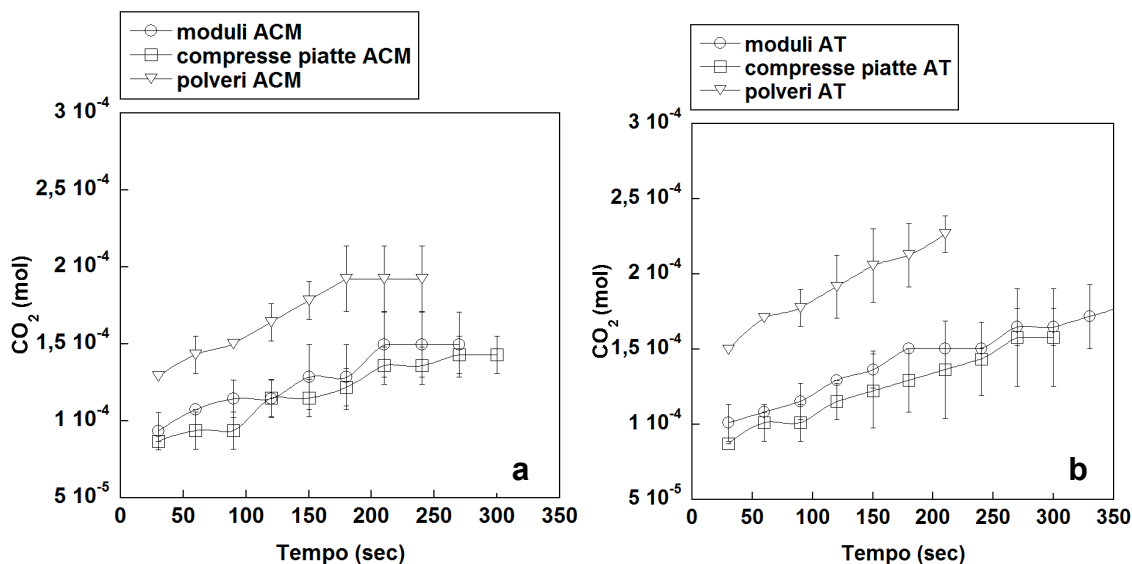
**Tabella XV** *Composizione delle compresse piatte di acido citrico.*

<b>ACM10/30/50-Per-</b>	
	<b>P.</b>
	<b>% p/p</b>
<b>Acido citrico monoidrato</b>	10/30/50
<b>Pearlitol DC 500</b>	80/60/40
<b>PVP CL</b>	5
<b>Talco</b>	1
<b>Kollidon 30</b>	3
<b>Sodio stearil fumarato</b>	1
<b>Totale</b>	100

Lo sviluppo di effervescenza prodotto dai moduli Dome Matrix® è stato confrontato con quello prodotto dalle compresse piatte contenenti la stessa percentuale di reagenti e anche con i reagenti in polvere in quantità uguale a quelle contenute nelle compresse. Il rapporto molare tra i sue reagenti è stato mantenuto al livello di 1:3 per il citrico e a 1:2 per il tartarico.

Nella prima prova di effervescenza con il calcimetro di Bernard, nel contenitore di reazione sono stati introdotti un modulo al 12% di bicarbonato di sodio (BS12-PER) e un modulo contenente il 10,5% di acido tartarico (AT10,5-PER). In una seconda prova, al modulo di bicarbonato è stato aggiunto un modulo contenente il 20% di granulato di acido citrico monoidrato (ACMG20-PER). In una terza prova di effervescenza sono state utilizzate le compresse piatte 12% di bicarbonato (BS12-PER-P) associate alla compressa 10% di acido citrico (ACM10-PER-P), o in alternativa alla compressa 10,5% di acido tartarico (AT10,5-PER-P).

A titolo di confronto sono state effettuate due prove a partire da polveri: acido citrico monoidrato 40 mg + Na bicarbonato 48 mg (1:3), oppure acido tartarico 42 mg + Na bicarbonato 48 mg (1:2).



**Figura 22.** Sviluppo di anidride carbonica nel tempo di reazione. Il grafico (a) si riferisce alle prove condotte con i moduli e le compresse contenenti acido citrico monoidrato. Il grafico (b) si riferisce alle prove condotte con i moduli e le compresse contenenti acido tartarico.

Lo sviluppo di anidride carbonica dalla reazione tra le polveri è molto più veloce che nel caso delle compresse. Lo sviluppo di anidride carbonica nel corso delle reazioni prodotte dalle compresse piatte contenenti acido citrico monoidrato associate con le rispettive compresse contenenti bicarbonato di sodio è simile allo sviluppo di anidride carbonica nella reazione tra compresse piatte di bicarbonato di sodio e acido tartarico. L'anidride carbonica prodotta dai moduli contenenti acido tartarico immersi in acqua con i rispettivi moduli di bicarbonato di sodio, rispetto a quella prodotta dai moduli contenenti il granulato erano

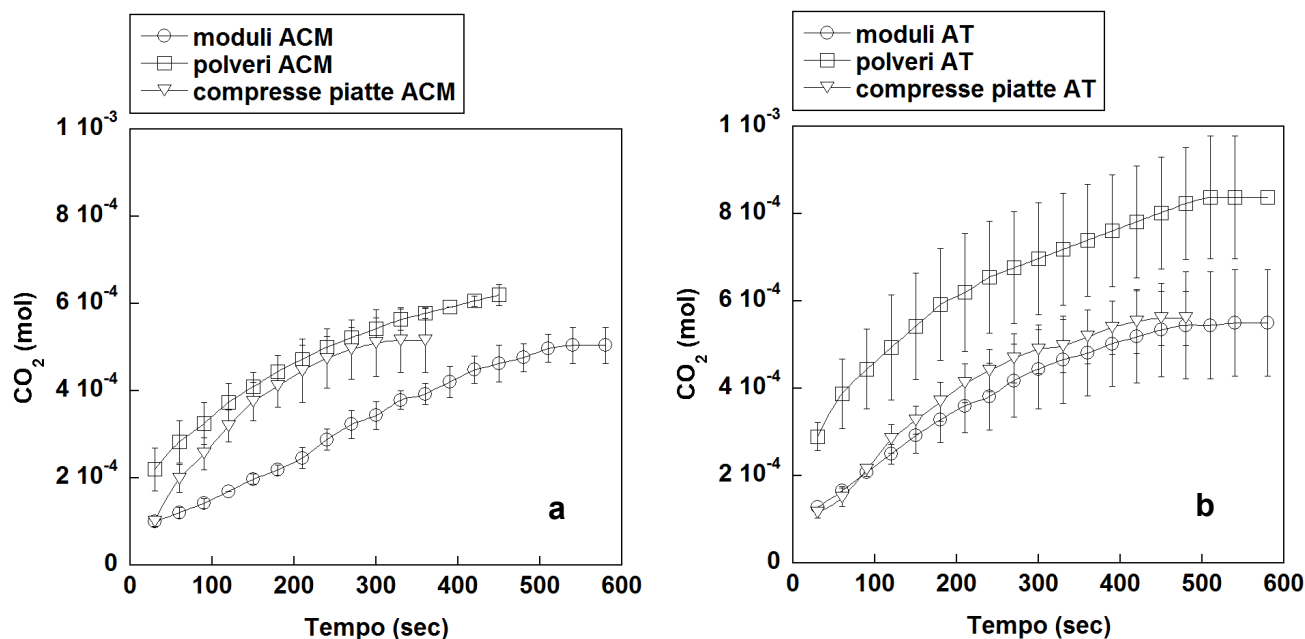
invece più veloce. La deviazione standard è in molti casi elevata e variabile, questo è stato attribuito al fatto di non aver tenuto in considerazione i pesi delle compresse. Pertanto nelle prove successive le compresse sono state pesate singolarmente.

Nella seconda serie di prove di effervescenza sono stati utilizzati i moduli BS36-PER contenenti il 36% di bicarbonato di sodio associati con i moduli AT32,1-PER contenenti il 32,1% di acido tartarico, o con i moduli ACMG40-PER e ACMG20-PER contenenti il 40% e il 20% di granulato di acido citrico monoidrato. In queste prove è stato necessario associare due moduli contenenti il granulato di acido citrico per mantenere nella reazione il rapporto 3:1.

Nella prova di effervescenza con compresse piatte, sono state utilizzate le compresse BS36-PER-P contenenti il 36% di bicarbonato di sodio combinate alle compresse ACM30-PER-P contenenti il 30% di acido citrico o alle compresse AT32,1-PER-P contenenti il 32,1% di acido tartarico rispettivamente.

Le prove con le polveri sono state condotte abbinando 144 mg di bicarbonato di sodio con 120 mg di acido citrico monoidrato (3:1) o 128 mg di acido tartarico (2:1).

La disgregazione delle compresse piatte ha mostrato una velocità molto maggiore rispetto ai moduli, in quanto tutte le compresse disgregavano entro 1 minuto.

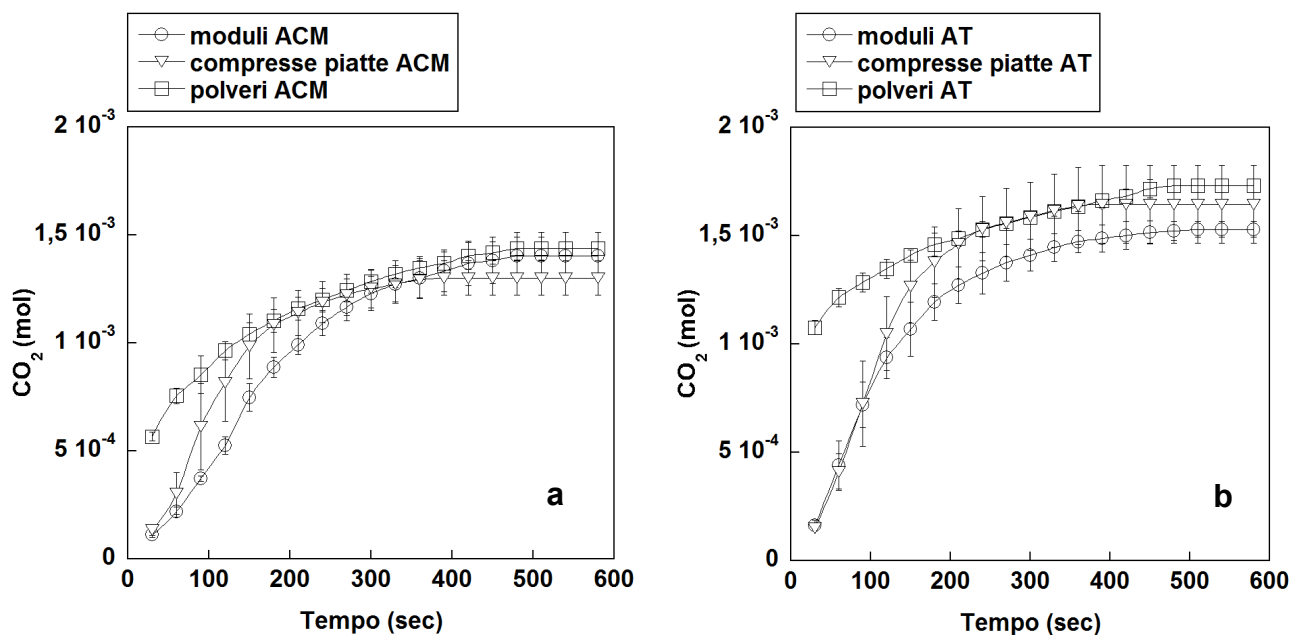


**Figura 23.** Sviluppo di anidride carbonica nel tempo di reazione. Il grafico (a) si riferisce alle prove condotte con i moduli e le compresse contenenti acido citrico monoidrato. Il grafico (b) si riferisce alle prove condotte con i moduli e le compresse contenenti acido tartarico.

La figura 23 mostra che la reazione tra le polveri rimaneva la più veloce e produceva una quantità maggiore di anidride carbonica. Il comportamento delle compresse piatte era simile con i due acidi e la quantità totale di anidride carbonica prodotta era molto vicina a quella prodotta dalla reazione dei moduli Dome Matrix®. Si nota una differenza tra il profilo di emissione di  $\text{CO}_2$  prodotta dai moduli contenenti l'acido citrico (grafico a) e quello prodotto dai moduli contenenti acido tartarico (grafico b). La deviazione standard rimaneva elevata. Al termine della reazione tra i moduli e tra le compresse piatte, si poteva osservare sulla superficie del liquido un film idrofobico attribuito al talco e sodio stearil fumarato.

La terza serie di prove di effervescenza è stata condotta combinando i moduli BS60-PER contenenti il 60% di bicarbonato di sodio con i moduli AT53,6-PER contenenti il 53,6% di acido tartarico oppure con due moduli ACMG40-PER più un modulo ACMG20-PER contenenti rispettivamente il 40% e il 20% di granulato di acido citrico monoidrato sempre per mantenere il rapporto stechiometrico 3:1. Nella prova di effervescenza con compresse piatte sono state associate le compresse BS60-PER-P contenenti il 60% di bicarbonato di sodio e le compresse ACM50-PER-P contenenti il 50% di acido citrico (3:1) o con le compresse AT53,6-PER-P contenenti il 53,6% di acido tartarico (2:1). La prova di effervescenza con le polveri è stata condotta combinando 240 mg di bicarbonato di sodio con 200 mg di acido citrico monoidrato (3:1) o con 214,4 mg di acido tartarico (2:1).

In questa serie di prove le reazioni di effervescenza sono state molto intense. Come nella prova precedente, i moduli Dome Matrix® di bicarbonato si sono disgregati in tempi più rapidi. Si è potuto notare sempre la formazione di un film idrofobico sulla superficie dovuto al talco e sodio stearil fumarato. Tutte le compresse piatte hanno presentato una disgregazione molto rapida (entro 1 minuto).



**Figura.24** Sviluppo di anidride carbonica nel tempo di reazione. Il grafico (a) si riferisce alle prove condotte con i moduli e le compresse contenenti acido citrico monoidrato. Il grafico (b) si riferisce alle prove condotte con i moduli e le compresse contenenti acido tartarico.

Come si può osservare dai grafici (Figura. 24 a e b), le quantità finale di CO<sub>2</sub> prodotta dalla reazione tra le compresse, sia piatte che Dome Matrix® è risultata molto vicina a quella prodotta dalla reazione tra le polveri. In generale abbiamo osservato che l'effervescenza prodotta con l'acido tartarico era più rapida e intensa di quella prodotta da acido citrico. Ciò si riflette sul comportamento dei moduli Dome Matrix®. I moduli con acido citrico sviluppavano lentamente anidride carbonica (primi 200 secondi), mentre quelli con tartarico presentavano una produzione di anidride carbonica molto rapida. Questa differenza è spiegata anche dal diverso comportamento dei moduli in acqua. Il modulo di acido tartarico disgregava velocemente mettendo a disposizione l'acido tartarico per la reazione, mentre il modulo di acido citrico

granulato erodeva, impiegando perciò più tempo per rendere disponibile l'acido per la reazione.

**Tabella. XVI** *Tempi di disgregazione e valori di CO<sub>2</sub> (rispetto allo stechiometrico e rispetto alla polvere) prodotti dalla reazione tra compresse o moduli nei secondo e terzo set di prove. Nella seconda colonna sono riportati i lotti utilizzati: in rosso quelli contenenti acido citrico, in verde quelli contenenti acido tartarico e in blu quelli contenenti bicarbonato*

		Tempo di disgregazione (min)	CO <sub>2</sub> sviluppata rispetto allo stechiometrico	CO <sub>2</sub> sviluppata rispetto alla polvere
DOME MATRIX	ACMG20-Per ACMG40-Per BS36-Per	7	29,4%	81,3%
	AT32,1-Per BS36-Per	5,5	32,1%	65,5%
	ACMG40-Per (2cpr) ACMG20-Per BS60-Per	7	49%	97,2%
	AT53,6-Per BS60-Per	3	53,51%	88,44%
FLAT	ACM50-Per-P BS36-Per-P	1	28,6%	98,38%
	AT32,1-Per-P BS36-Per-P	1	35,6%	72,8%
	ACM50-Per-P BS60-Per-P	0.5 sec	45,53%	90,34%
	BS60-Per-P AT53,6-Per-P	0.5 sec	57,5%	95,37%

Nella tabella XVI sono riportati i valori relativi alle quantità di CO<sub>2</sub> prodotta nel secondo e terzo set di prove, in confronto con quella sviluppabile stechiometricamente oppure in rapporto con quella sviluppata da una pari quantità di reagenti in polvere. La prima serie di prove è stata trascurata nella tabella perché, viste le basse quantità di acidi e di bicarbonato nella reazione, i dati non sono stati ritenuti significativi. Le moli di anidride carbonica attese (stechiometriche) corrispondono alle moli di bicarbonato di sodio introdotte nella soluzione. Nella tabella abbiamo anche riportato i valori dei tempi di disgregazione complessivi di tutti i moduli o compresse che in certo modo esprimono la disponibilità dei reagenti alla reazione. Si può vedere che tra le Dome Matrix®, la coppia che ha prodotto la maggiore quantità di CO<sub>2</sub> (53%) è quella formata dai moduli con maggiore quantità di acido tartarico (AT53,6-Per) e bicarbonato (BS60-Per) che completavano la disgregazione in 3 minuti. Il dato più interessante per l'analisi è la CO<sub>2</sub> sviluppata rispetto alla polvere, che è la CO<sub>2</sub> sviluppata dalle compresse piatte, o dai moduli, considerando come 100% la CO<sub>2</sub> sviluppata dalle corrispondenti quantità di polveri. La differenza tra la CO<sub>2</sub> sviluppata rispetto allo stechiometrico e la CO<sub>2</sub> sviluppata rispetto alle polveri è probabilmente dovuta alla quota di CO<sub>2</sub> che rimane disciolta in acqua. Il modulo di acido tartarico (AT53,6-PER) associato a quello di bicarbonato (BS60-PER) ha prodotto una quantità di CO<sub>2</sub> pari all'88% della CO<sub>2</sub> prodotta dalle polveri di acido tartarico (214,4 mg) e bicarbonato (240 mg). I moduli di acido citrico e quello di acido tartarico utilizzati nella terza prova, hanno prodotto una quantità di CO<sub>2</sub> pari al 97,2% della CO<sub>2</sub> prodotta dalle polveri di acido citrico monoidrato (200 mg) e bicarbonato (240 mg). Concludendo, nel

terzo set di prove, i moduli Dome Matrix® hanno sviluppato una quantità di CO<sub>2</sub> molto vicina a quella sviluppata dalle polveri. Per quanto riguarda il confronto tra acido citrico monoidrato e acido tartarico, quest'ultimo si è rivelato migliore sia in fase di compressione che in fase di disgregazione. L'acido tartarico si è rivelato migliore in fase di compressione in quanto non è stato necessario produrre un granulato per ottenere i moduli Dome Matrix® ed è stato possibile inserire una grande quantità (53,1%) di acido nella singola compressa. Inoltre, la disgregazione del modulo è più rapida (3 min) rispetto alla disgregazione dei moduli di acido citrico (7 min). Si è quindi ritenuto di utilizzare come componente acido per gli studi successivi l'acido tartarico.

#### **4.1.11. Ottimizzazione delle formulazioni dei moduli contenenti acido tartarico o bicarbonato**

##### *Formulazioni contenenti acido tartarico*

L'acido tartarico avevano promettenti caratteristiche di compressione e le prove con il calcimetro di Bernard hanno mostrato una disgregazione più rapida della compressa rispetto a quella contenente acido citrico. Infatti le compresse di acido tartarico sviluppavano anidride carbonica più intensamente di quelle contenenti acido citrico. Abbiamo quindi apportato alcune modifiche alla formulazione di acido tartarico per migliorare la compressione e l'aspetto della dispersione ottenuta dopo la disgregazione.

La formulazione di partenza era la AT53,6-PER, contenente il 53,6% di acido tartarico. Per prima cosa si è cercato di aumentare la quantità di acido tartarico

contenuto nella compressa, arrivando fino all'80%, percentuale oltre la quale non è stato possibile ottenere moduli coerenti.

**Tabella. XVII** *Formulazioni con contenuto di acido tartarico pari a 70 % e 80%.*

	<b>AT70-PER %p/p</b>	<b>AT80-PER %p/p</b>
<b>Acido tartarico</b>	70	80
<b>Pearlitol DC 500</b>	20	10
<b>Kollidon 30</b>	3	3
<b>Talco</b>	1	1
<b>PVP CL</b>	5	5
<b>Sodio stearil fumarato</b>	1	1
<b>Totale</b>	100	100

La formulazione contenete l'80% di tartarico (AT80-PER) ha portato all'ottenimento di compresse Dome Matrix®, che risultavano fragili e polverose per cui la % di acido tartarico è stata diminuita a 70 %. La modifica successiva è stata quella riguardante il Kollidon® 30 (legante) che si intendeva togliere o ridurre, ma i moduli prodotti senza Kollidon® 30 presentavano molte imperfezioni e tendevano a sbriciolarsi con facilità. Non è stato possibile quindi ridurre la percentuale di legante impiegata. Un altro punto critico della formulazione era la presenza di sodio stearil fumarato e talco, che nelle prove con il calcimetro di Bernard determinavano la presenza di un film idrofobico sulla superficie del liquido di disgregazione. Un primo tentativo è stato quello di sostituire al talco l'Aerosil® (silice colloidale) ma senza buoni risultati. Il sodio stearil fumarato è stato sostituito in un primo momento con 10% di glicina ma il risultato è stato di generare un consistente problema di sticking (adesione della

polvere ai punzoni e alla matrice). Infine, come lubrificante solubile ed anche legante, in sostituzione di Sodio stearil fumarato e Kollidon® 30 abbiamo deciso di impiegare PEG 6000 polvere fine.

L'impiego di PEG 6000 come lubrificante e legante ha dato risultati soddisfacenti. Il PEG 6000, impiegato in diverse percentuali dall'8% al 14%, è entrato nella formula in sostituzione dei lubrificanti, leganti e in parte del diluente (tabella XVIII).

**Tabella XVIII.** *Composizione delle miscele preparate con PEG 6000 Polvere Fine*

	<b>AT70-PER- PEG8 %(p/p)</b>	<b>AT70-PER- PEG10 %(p/p)</b>	<b>AT70-PER- PEG12 %(p/p)</b>	<b>AT70-PER- PEG14 %(p/p)</b>
<b>Acido tartarico</b>	70	70	70	70
<b>Pearlitol DC 500</b>	16,5	14,5	12,5	10,5
<b>PVP CL</b>	5	5	5	
<b>PEG 6000 PF</b>	8	10	12	14
<b>Talco</b>	0,5	0,5	0,5	0,5
<b>Totale</b>	100	100	100	100

La formulazione AT70-PER-PEG8 permetteva di ottenere i moduli ma con difficoltà: infatti è stato necessario pulire frequentemente i punzoni e i moduli erano piuttosto polverosi. Aumentando la quantità di PEG 6000, la compressione e l'estrazione delle compresse è risultata più facile. La formulazione AT70-PER-PEG10 ha portato alla formazione di moduli ben definiti e meno polverosi rispetto ai precedenti; è stata notata solo una piccola adesione della polvere ai punzoni, ma senza compromettere l'ottenimento dei

moduli. Non sono state notate variazioni significative aumentando la quantità di PEG con le formulazioni AT70-PER-PEG12 e AT70-PER-PEG14. In conclusione, la formula di riferimento ottimizzata è stata la AT70-PER-PEG10 contenente il 10% di PEG 6000 PF.

*Formulazioni contenenti bicarbonato.*

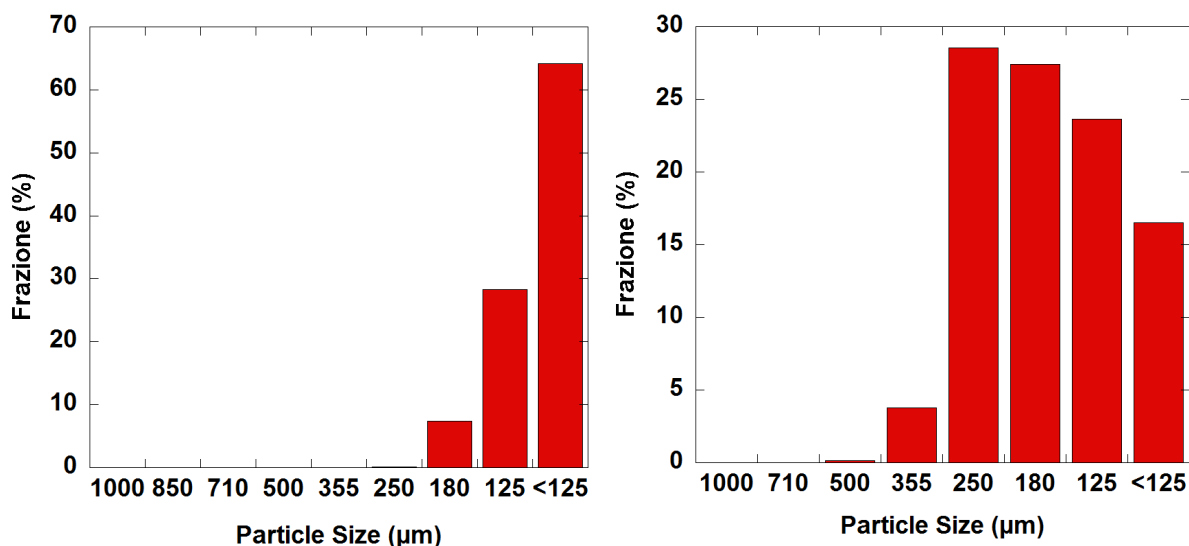
Dalle prove di effervescenza abbiamo scelto come formulazione di partenza per l'ottimizzazione la BS60-PER. La formulazione non presentava difficoltà durante la compressione ma i moduli Dome Matrix® ottenuti risultavano fragili. Sulla falsariga della ottimizzazione del modulo acido, abbiamo sostituito Kollidon® 30, sodio stearil fumarato e talco con PEG 6000 PF. Nella tabella XIX è riportata la formulazione. Le compresse presentano qualche imperfezione alla base della parete e alla base della cupola, ma questo non ha compromesso l'ottenimento di un modulo soddisfacente.

**Tabella XIX.** *Composizione quali-quantitativa del lotto BS60-PER-PEG8*

<b>BS60-PER-PEG8</b>	<b>% p/p</b>
<b>Bicarbonato di sodio</b>	60
<b>Pearlitol DC 500</b>	26,75
<b>PVP CL</b>	5
<b>PEG 6000 PF</b>	8
<b>E110</b>	0,25
<b>Totale</b>	100

Per l'allestimento di questa formulazione è stato utilizzato un differente tipo di bicarbonato di sodio (ACEF lotto I1319001). Come si può osservare in figura

25, la granulometria era più fine rispetto al bicarbonato di sodio ( CARLO ERBA lotto 510933051) utilizzato precedentemente.



**Figura 25.** Nel grafico a sinistra è rappresentata la granulometria del bicarbonato di sodio ACEF lotto 11319001, nel grafico a destra è rappresentata la granulometria del bicarbonato di sodio CARLO ERBA lotto 510933051

#### 4.1.11.1. Caratterizzazione tecnologica delle compresse

Sono state eseguiti sui moduli delle formulazioni ottimizzate dei moduli contenenti acido tartarico o bicarbonato, i test di resistenza alla rottura, friabilità e tempo di disgregazione.

##### BS60-PER-PEG8

1. Peso modulo.  $400 \pm 9$  mg. ; altezza modulo:  $5,88 \pm 0,07$  mm
2. resistenza alla rottura (Monsanto)
  - resistenza laterale             $4,16$  Kg ( $\pm 0,75$ )
  - resistenza assiale             $1,83$  Kg ( $\pm 0,26$ )

3. friabilità:

peso iniziale = 4,024 g

perdita consentita (<1%): 0,04 g

peso finale = 3,873 g

perdita in peso = 0,151 g; 3,75%

4. tempo di disgregazione

compresse completamente disgregate entro 15 secondi.

AT70-PER-PEG8

1. peso modulo: 407±8; altezza modulo: 6,20±0,08 mm

2. resistenza alla rottura (Monsanto):

○ resistenza laterale 0,83 Kg (±0,26)

○ resistenza assiale 1,83 Kg (± 0,26)

3. friabilità:

peso iniziale = 4,045 g

perdita consentita (<1%): 0,040 g

peso finale = 3,572 g

perdita in peso = 0,473 g 11,69 %

4. tempo di disgregazione: 40±13 sec

AT70-PER-PEG10

1. resistenza alla rottura (Monsanto):

○ resistenza laterale 0,92 Kg (±0,38)

○ resistenza assiale 4,33 Kg (± 0,26)

2. friabilità:

peso iniziale = 3,99 g

perdita consentita (<1%): 0,04 g

peso finale = 3,688 g

perdita in peso= 0,302 g 7,56%

AT70-PER-PEG12

1. resistenza alla rottura (Monsanto):

- resistenza laterale 1,17 Kg ( $\pm 0,26$ )
- resistenza assiale 3,16 Kg ( $\pm 0,26$ )

2. friabilità:

peso iniziale = 4,024 g

perdita consentita (<1%): 0,040 g

peso finale = 3,854 g

perdita in peso = 0,170 g 4,22%

AT70-PER-PEG14

1. resistenza alla rottura (Monsanto):

- resistenza laterale 1,25 Kg ( $\pm 0,42$ )
- resistenza assiale 3,25 Kg ( $\pm 0,69$ )

2. friabilità:

peso iniziale = 4,093 g

perdita consentita (<1%): 0,041 g

peso finale = 3,085 g

perdita in peso = 0,288 g 7,03%

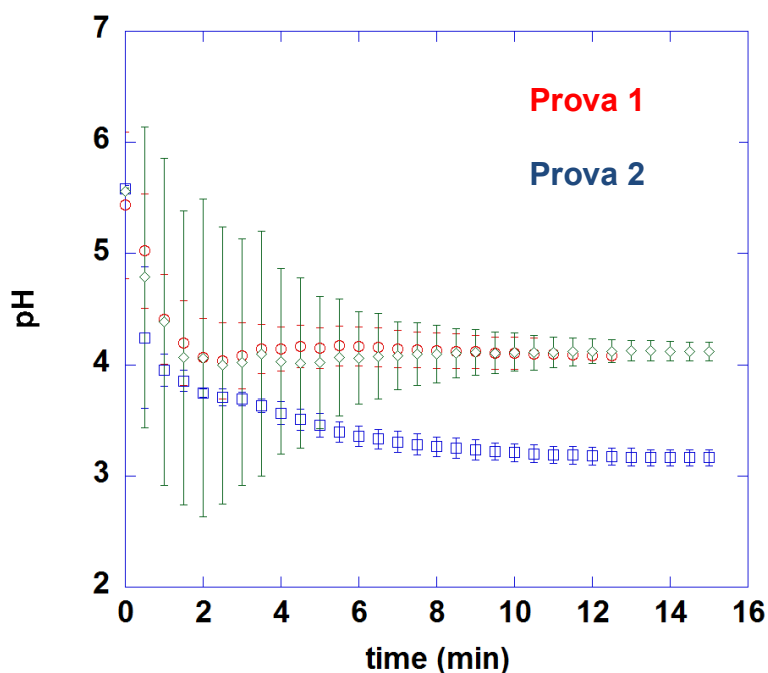
All'aumentare del contenuto di Peg 6000 macinato aumenta la durezza delle compresse. Nessun lotto è risultato soddisfacente al test di friabilità.

#### 4.1.11.2. Valutazione della variazione di pH durante la reazione di effervescenza

In alternativa alla misura della quantità di CO<sub>2</sub> sviluppata dalle formulazioni, abbiamo anche introdotto un test basato sull'uso di un pHmetro per seguire l'evolversi della dissoluzione (e quindi reazione) dei due reagenti. Pertanto durante la reazione tra le moduli di acido tartarico e di bicarbonato di sodio è stata eseguita la misura in continuo del valore di pH della dispersione acquosa. Sono stati usati tre differenti moduli, AT70-PER-PEG8 contenente 70% di acido tartarico, BS60-PER-PEG8 contenente il 60% di bicarbonato e AT35-PER-PEG8 contenente il 35% di acido tartarico. La misura del pH durante la reazione di effervescenza è stata condotta in 30 ml di acqua distillata (25°C) utilizzando la combinazione dei moduli come riportato tabella XX.

**Tabella XX.** *Combinazione dei moduli utilizzati per le prove e relativi pesi.*

	AT70-PER-PEG8	AT35-PER-PEG8	BS60-Per-Peg8
<b>1</b>	402±2 (un modulo)	-	402±3 (un modulo)
<b>2</b>	402±2 (due moduli)	-	403±3 (un modulo)
<b>3</b>	-	408±3 (due moduli)	408±2 (un modulo)



**Figura 26.** *Variazione del pH durante la reazione di effervescenza*

Il valore iniziale di pH (5.6) quando erano presenti due moduli con 70% di tartarico (pari a 560 mg) si è abbassato più rapidamente per raggiungere un pH finale più basso rispetto agli altri due casi (prova 2). Altre due prove (prova 1 e prova 3) sono state eseguite a partire da una quantità di acido dimezzata (280 mg); rispetto alla prova 2 possiamo notare che il profilo della variazione di pH era identico usando uno o due moduli di acido tartarico. Abbiamo notato che il modo in cui le compresse erano introdotte nel mezzo di reazione influenzava l'andamento iniziale della reazione, come si è potuto osservare nella prova 3, dalla elevata deviazione standard dei punti sperimentali.

## **4.2 Formulazione e fabbricazione dei moduli contenenti i principi attivi**

### **4.2.1. Caratterizzazione di Rifampicina e Isoniazide polvere**

Prima di procedere allo studio formulativo, abbiamo caratterizzato le materie prime utilizzate per la fabbricazione dei moduli contenenti i principi attivi. Al fine di progettare un prodotto assemblato completo per l'applicazione terapeutica, abbiamo in questa fase limitato lo studio a due dei quattro principi attivi principali utilizzati in terapia di combinazione a dose fissa, e precisamente rifampicina e isoniazide.

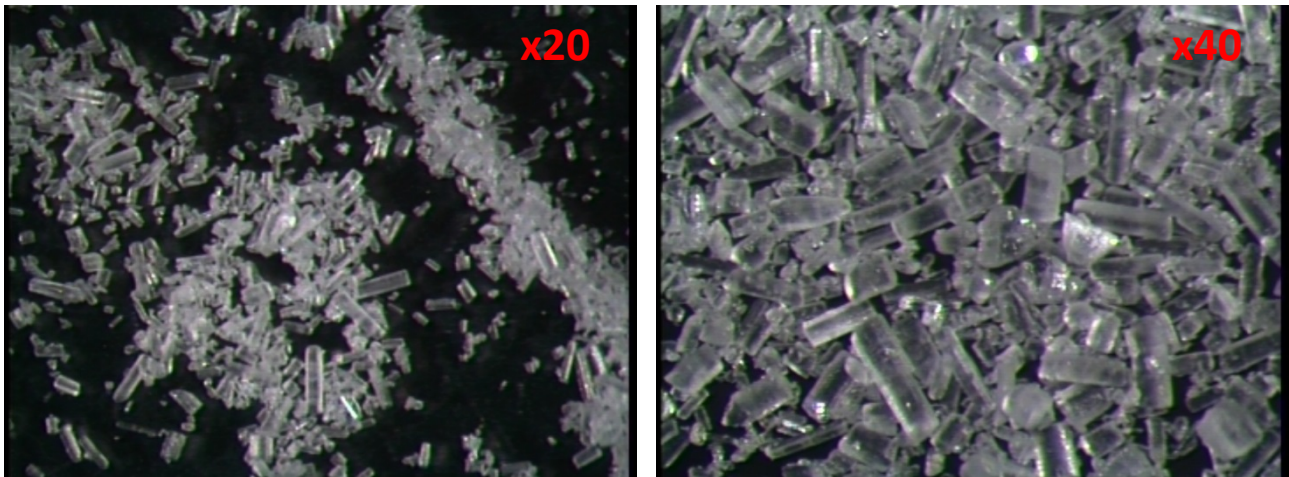
Le caratteristiche studiate sono state: morfologia delle polveri al microscopio e analisi con calorimetria differenziale a scansione.

La solubilità in acqua della rifampicina è 1,4 g/L a 25 °C

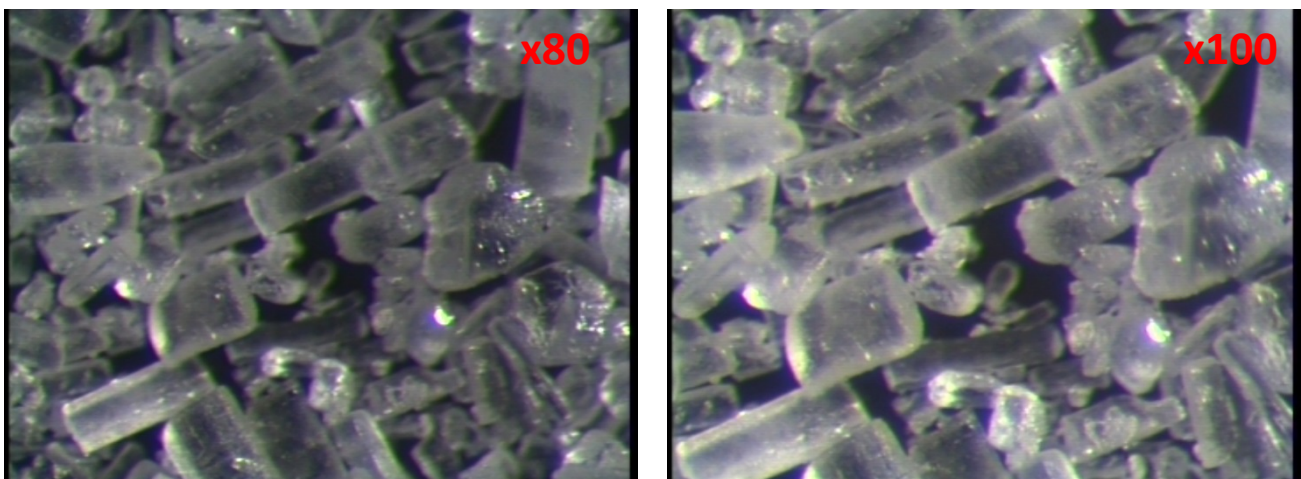
La solubilità in acqua della isoniazide è 140g/L a 25 °C

Analisi con microscopio ottico dell'Isoniazide

I cristalli di isoniazide sono stati osservati tramite microscopio ottico, utilizzando diversi ingrandimenti.



**Figura 27.** Immagini dei cristalli di isoniazide con ingrandimento x20 (sinistra) e x40 (destra)

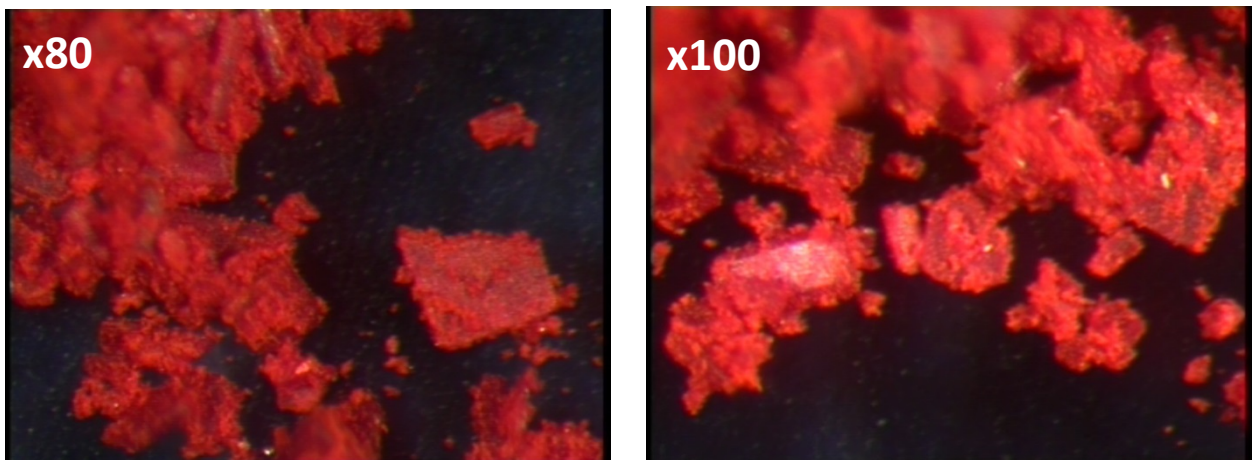


**Figura 28.** Immagini dei cristalli di isoniazide con ingrandimento x80 (sinistra) e x100 (destra)

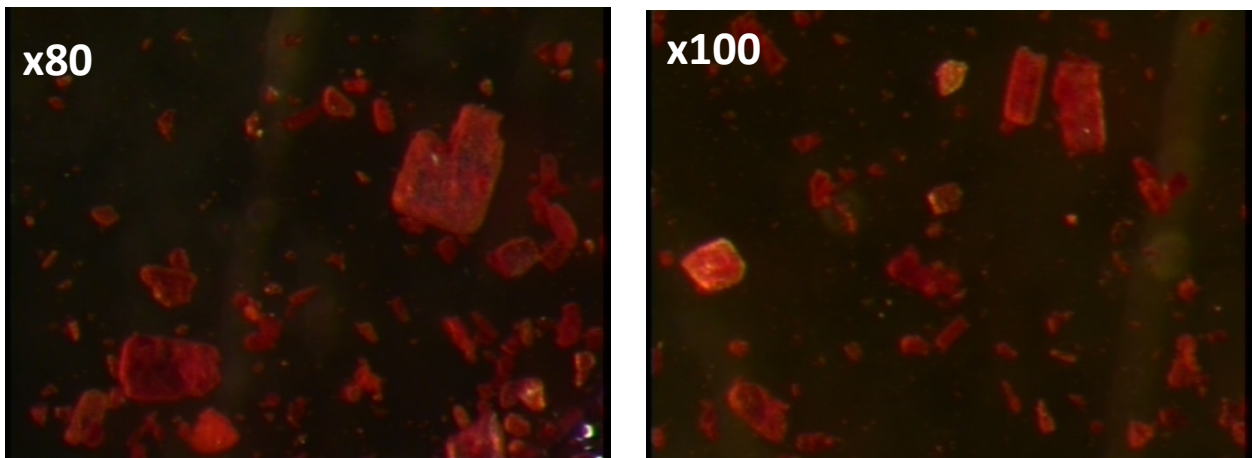
L'isoniazide si presenta prevalentemente composta da cristalli di forma a bastoncino colonnare aventi dimensioni di circa 600  $\mu\text{m}$  con presenza di cristalli prismatici irregolari e pochi cristalli piatti.

Analisi con microscopio ottico della Rifampicina

La rifampicina osservata con microscopio ottico sia come polvere secca (figura 29), sia come sospensione in acqua deionizzata (figura 30).



**Figura 29.** Immagini dei cristalli di rifampicina con ingrandimento x80 (sinistra) e x100 (destra)



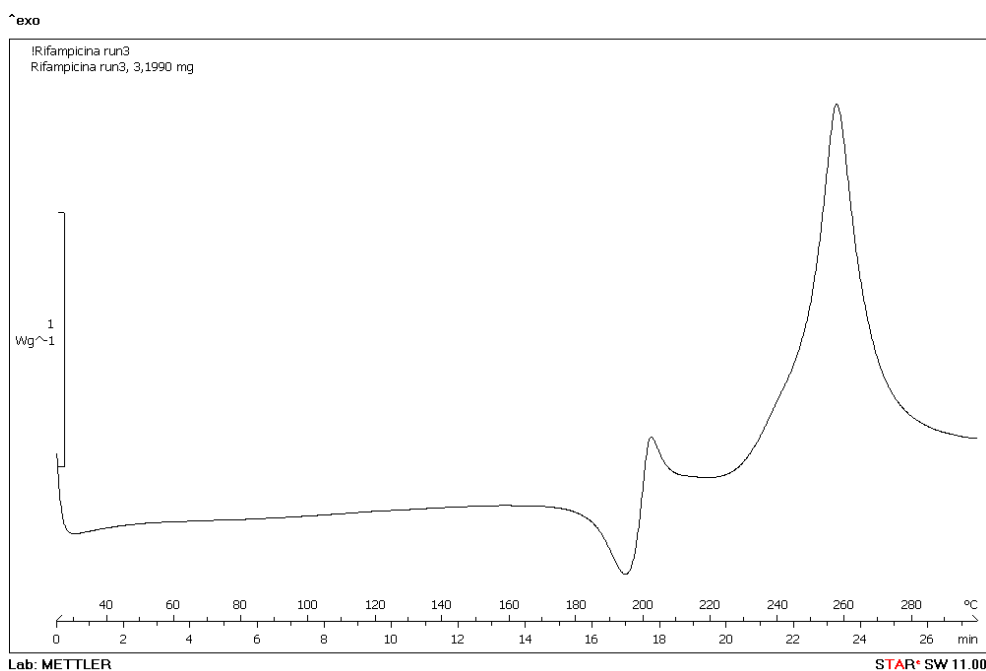
**Figura 30.** Immagini di una sospensione di rifampicina con ingrandimento x80 (sinistra) e x100 (destra)

Nella figura 30 si può osservare che la rifampicina è caratterizzata da cristalli di dimensione inferiori ai 125  $\mu\text{m}$ . L'immagine della polvere tale e quale mostra la presenza di particelle più fini agglomerate con i cristalli più grossolani.

Le polveri dei due farmaci presentano quindi una dimensione adatta ad una compressione diretta.

### Analisi DSC della Rifampicina

Poiché è noto che la rifampicina possiede un marcato polimorfismo [47], è stata eseguita una analisi tramite calorimetria differenziale a scansione (DSC) per identificare il tipo di polimorfo.

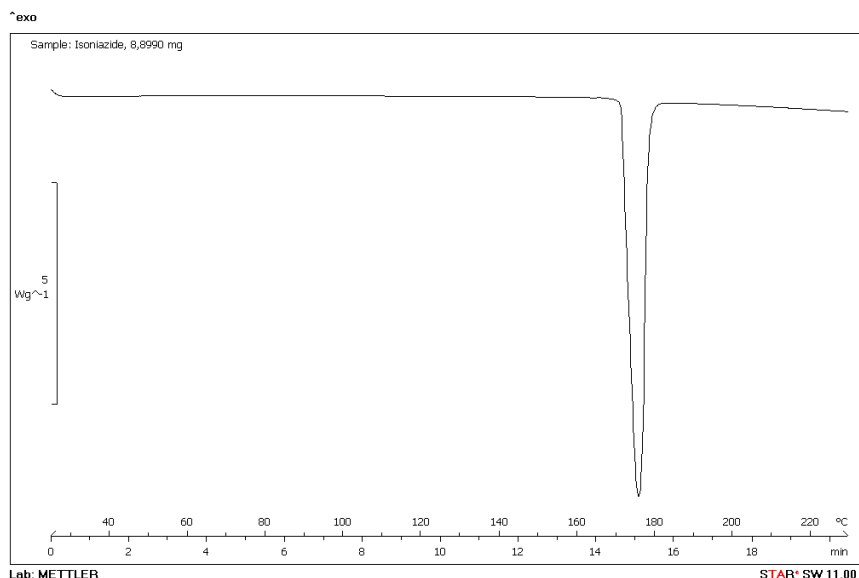


**Figura 31** Tracciato DSC della rifampicina. 25-300°C, 10°/min

Nel tracciato si può osservare a circa 188-193 °C un picco endotermico corrispondente alla fusione della polvere, seguita dalla ricristallizzazione. Infine

a circa 250°C si trova un picco esotermico corrispondente alla decomposizione del farmaco. Il tracciato ha permesso di identificare il polimorfo di tipo II.

#### Analisi DSC dell'isoniazide



**Figura 32.** Tracciato DSC dell'isoniazide. 25-220  $^{\circ}\text{C}$ , 10 $^{\circ}/\text{min}$

Nel tracciato si nota un unico picco endotermico a circa 176  $^{\circ}\text{C}$  corrispondente alla fusione della polvere.

#### **4.2.2. Preparazione delle compresse cilindriche di Isoniazide e Rifampicina**

La fase di sviluppo della formulazione dei principi attivi è stata svolta in un laboratorio straniero dove non vi era disponibilità di set di punzoni Dome Matrix. Pertanto in attesa di verificare la fattibilità dei moduli Dome Matrix delle formulazioni approntate, lo studio di compressione delle polveri dei principi attivi è stata effettuato utilizzando punzoni cilindrici diametro 11 mm in una compresse alternativa attrezzata per la misura delle forze di compressione.

È stata scelta come riferimento una compressa dispersibile di Isoniazide e Rifampicina contenente 60 mg di ognuno dei due farmaci [39]. Questa compressa descritta dalla WHO è destinata a un bambino di almeno 5 kg, all'interno di una multiterapia con più farmaci e dosi somministrate in contemporanea. Sono state prodotte due formulazioni, una contenente rifampicina e l'altra contenente isoniazide. Ad eccezione del farmaco, le due formulazioni avevano la stessa composizione quali-quantitativa (tabella XXI). Le compresse prodotte con queste formulazioni sono state progettate per essere entrambe presenti nell'assemblato finale ed, insieme, sostituire la compressa "basica". Per questa ragione la quantità di bicarbonato necessaria per la reazione di effervescenza, precedentemente studiata, è stata divisa in due parti uguali nelle due compresse. È stato utilizzato come diluente Avicel® perché la formulazione è stata allestita per consentire una compressione diretta.

Nella tabella sottostante (tabella XXI) vengono riportate le formulazioni utilizzate. Prima di procedere con la produzione di compresse è stata misurata la True Density della miscela da comprimere con l'utilizzo di un picnometro ad elio. La True Density della formulazione BS30-ISO era 1,646 g/cm<sup>3</sup> e quella della formulazione BS30-RIF era 1,607 g/cm<sup>3</sup>.

**Tabella XXI.** *Composizione quali-quantitativa dei lotti BS30-ISO e BS30-RIF. La colonna “Cpr(mg)” riporta il peso di tutti i componenti della miscela in una singola compressa.*

	<b>BS30-ISO</b>		<b>BS30-RIF</b>	
	Cpr (mg)	%p/p	Cpr(mg)	%p/p
<b>Rifampicina</b>	-	-	60	20
<b>Isoniazide</b>	60	20	-	-
<b>Avicel® PH 102</b>	129	43	129	43
<b>Na Bicarbonato</b>	90	30	90	30
<b>Kollidon® CL</b>	15	5	15	5
<b>PEG 6000 FP</b>	5	1	5	1
<b>Talco</b>	3	1	3	1
<b>Mg Stearato</b>	3	1	3	1
<b>Totale</b>	300	100	300	100

Per ognuna delle due formulazioni sono stati preparati tre lotti di compresse dei due farmaci utilizzando tre diverse forze di compressione. Sulle compresse prodotte sono stati eseguiti i test di durezza e disgregazione. Il software della comprimitrice utilizzata ha inoltre fornito informazioni sulla misura della porosità totale delle compresse, sul ritorno elastico del compatto e sulla pressione di cedimento del materiale (yield pressure). (tabella XXII e XXIII) [71,72]

**Tabella. XXII** Caratteristiche delle compresse dei lotti ISO0506#1, ISO0506#2 e ISO0506#3 preparati rispettivamente con forza di compressione bassa(circa 9 kN), intermedia (circa 14kN), e alta (circa 27kN).

	<b>BS30-ISO#1</b>	<b>BS30-ISO#2</b>	<b>BS30-ISO#3</b>
<b>Peso (mg)</b>	300±20	301±1	300±1
<b>Altezza (mm)</b>	2,122±0,01	2,038±0,012	1,975±0,03
<b>Durezza (kp)</b>	4,7±0,30	6,9±0,3	9,5±0,2
<b>Fmax(kN)</b>	8,9±0,20	14,4±0,5	27,1±0,5
<b>Porosità %</b>	9,61±0,51	5,51±0,5	2,94±0,58
<b>Ritorno elastico della polvere %</b>	7,59±1,82	11,92±1,14	17,47±1,34
<b>Yield pressure (MPa)</b>	38,61±3,14	39,36±8,84	39,17±12,38

**Tabella XXIII** Caratteristiche delle compresse dei lotti BS30-RIF#1, BS30-RIF#2 e BS30-RIF#3 preparati rispettivamente con forza di compressione bassa(circa 8 kN), intermedia (circa 13kN), e alta (circa 21kN).

	<b>BS30-RIF#1</b>	<b>BS30-RIF#2</b>	<b>BS30-RIF#3</b>
<b>Peso (mg)</b>	300±1	302±4	301±3
<b>Altezza (mm)</b>	2,209±0,001	2,130±0,013	2,016±0,026
<b>Durezza (kp)</b>	7,5±0,2	11,3±0,2	14,0±0,8
<b>Fmax(kN)</b>	8,48±0,08	12,91±0,69	21,63±0,39
<b>Porosità %</b>	11,09±0,18	7,07±0,66	2,35±0,36
<b>Ritorno elastico della polvere %</b>	5,52±0,15	7,96±0,20	12,00±1,13
<b>Yield pressure (Mpa)</b>	36,90±2,15	48,12±5,17	48,81±8,83

Come si può notare dalle tabelle, all'aumentare della forza di compressione utilizzata aumentava la durezza, mentre la porosità e l'altezza diminuivano. Le compresse dei lotti BS30-RIF#3 e BS30-ISO#3 avevano un aspetto lucido sia lateralmente che frontalmente e erano perfettamente formate. Anche le compresse dei lotti BS30-ISO#2 e BS30-RIF#2 erano ben formate e lucide, ma

apparivano opache sulle basi. Le compresse ottenute con la forza di compressione più bassa (BS30-RIF#1 e BS30-ISO#1 ) erano polverose, avevano bordi mal definiti e non erano lucide.

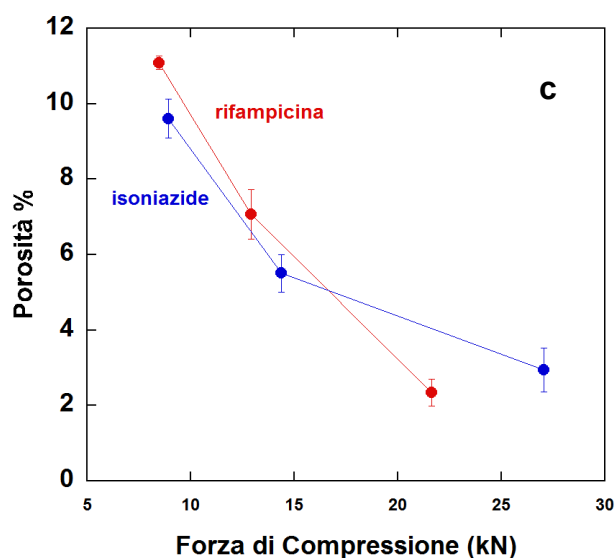
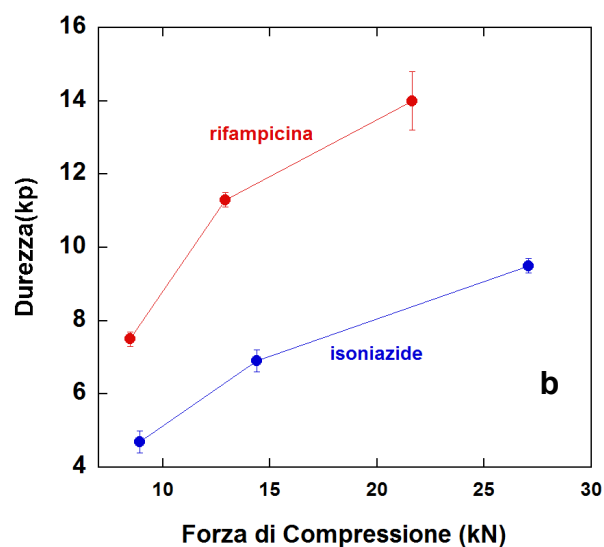
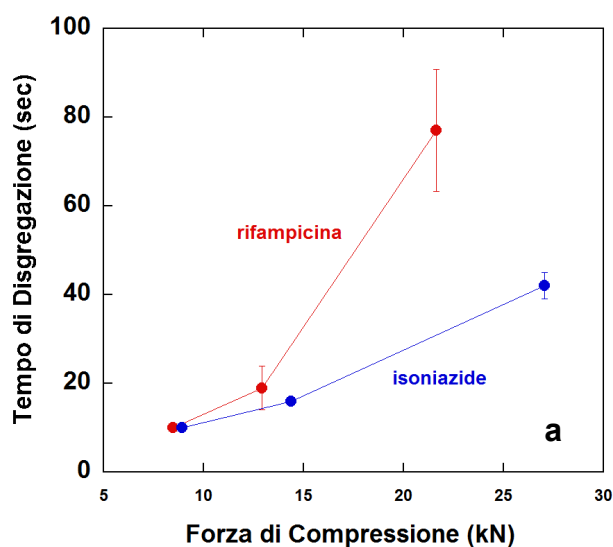
I valori di yield pressure presentano una deviazione standard elevata, questo indica che le miscela difettavano di omogeneità. La causa della non omogeneità della miscela era probabilmente da attribuire alla mescolazione avvenuta manualmente. Nella tabella XXIV sono riportati i dati relativi alla misura del tempo di disgregazione. Anche le compresse ottenute con forza più alta, e quindi con porosità molto bassa, disgregavano in poco più di un minuto (77 sec, BS30-RIF#3), indicando che la formulazione approntata possedeva ottime caratteristiche di disgregazione.

**Tabella XXIV.** *Pesi e altezze delle compresse utilizzate per la prova di disgregazione e tempo impiegato per completare la disgregazione*

	<b>Peso (mg)</b>	<b>Altezza (mm)</b>	<b>Tempo di disgregazione(sec)</b>
<b>ISO0506#1</b>	301±3	2,126±0,012	<10
<b>ISO0506#2</b>	300±1	2,033±0,01	16±1
<b>ISO0506#3</b>	301±3	1,980±0,020	42±3
<b>BS30-RIF#1</b>	298±1	2,235±0,01	<10
<b>BS30-RIF#2</b>	301±4	2,141±0,021	19±5
<b>BS30-RIF#3</b>	298±3	2,009±0,014	77±14

Il comportamento delle polveri può essere descritto attraverso grafici. Nel grafico (figura. 33a) viene illustrata la variazione del tempo di disgregazione all'aumentare della forza di compressione utilizzata per ottenere le compresse. In entrambi i casi, il tempo necessario per la disgregazione delle compresse è

maggiore all'aumentare della forza di compressione utilizzata. Si può notare un aumento più rapido del tempo di disgregazione nelle compresse di rifampicina rispetto a quelle di isoniazide a parità di forza di compressione utilizzata. La durezza delle compresse aumenta all'aumentare della forza di compressione utilizzata (figura 33b). Le compresse di rifampicina risultano avere una durezza maggiore rispetto a quelle di isoniazide ottenute con la stessa forza di compressione. Nel grafico (figura 33c) si può notare come la relazione tra porosità e forza di compressione sia diverso per le due polveri. La porosità delle compresse di rifampicina ha una diminuzione quasi lineare in relazione alla forza di compressione utilizzata mentre nelle compresse di isoniazide si nota come inizialmente la porosità cali molto rapidamente per poi calare più lentamente all'aumentare della forza di compressione.



**Figura 33.** Relazione tra la forza di compressione utilizzata per ottenere le compresse e il tempo di disgregazione (A), la durezza (B), e la porosità (C).

#### 4.2.2.1 Analisi quantitativa dei farmaci

Per valutare la quantità e la velocità con cui i farmaci si disciolgono nel mezzo di dissoluzione sono stati effettuati dei test di dissoluzione che prevedevano come tecnica quantitativa l'analisi tramite spettrofotometro UV. Le prove di dissoluzione sono state eseguite, sulle compresse di rifampicina (BS30-RIF#3) e isoniazide (BS30-ISO#3) separatamente.

#### **4.2.2.1.1. Prove di dissoluzione sulle compresse di farmaco**

Sono state effettuate due tipi di prove di dissoluzione per ogni lotto. Nel primo caso, le compresse sono state disperse in 10 ml di acqua deionizzata (21°C); essendo compresse dispersibili prima dell'assunzione si è ritenuto che questa fosse la condizione più simile alla realtà. Nel secondo caso le compresse sono state immerse nel medium integre, per poter osservare eventuali differenze. Questo doppio test è stato effettuato per verificare se la velocità di disgregazione della compressa influenzasse la dissoluzione dei principi attivi.

##### Dissoluzione : lotto BS30-RIF#3

1)Le compresse sono state pesate e disperse in 10 ml di acqua deionizzata, quindi la dispersione è stata vuotata nei vessel riempiti con 900 ml di medium (HCl 0,1N). Il peso medio delle compresse utilizzate è  $304,02 \pm 2,02$  mg.

2) le compresse sono state pesate e immerse nei vessel integre. Il peso medio delle compresse utilizzate è  $304,52 \pm 1,73$ mg

Con l'utilizzo dello spettrofotometro UV sono stati ottenuti i valori da assorbanza alla lunghezza d'onda predefinita ed è stato possibile infine calcolare la quantità di farmaco in soluzione. La farmacopea richiede come limite di accettabilità che dopo 45 minuti almeno il 75% del farmaco sia in soluzione. In entrambi i casi, sia che le compresse siano immerse come tali, sia che le compresse siano prima disperse in acqua, quasi il 100% del farmaco presente nelle compresse risulta essere in soluzione dopo 15 minuti.

##### Dissoluzione : lotto BS30-ISO#3

1) la dispersione delle compresse (10 ml di acqua deionizzata) è stata vuotata nei vessel riempiti con 900 ml di HCl 0,01N. Il peso medio delle compresse utilizzate è  $302,74 \pm 1,52$  mg.

2) Il peso medio delle compresse immerse integre nei vessel era  $300,10 \pm 2,30$  mg

La farmacopea richiede come limite di accettabilità che dopo 45 minuti almeno l'80% del farmaco sia in soluzione. In entrambi i casi, sia che le compresse siano immerse come tali, sia che le compresse siano prima disperse in acqua, tutto il farmaco risulta essere in soluzione dopo 15 minuti.

#### **4.2.3. Preparazione delle compresse cilindriche di acido tartarico e aromi.**

Le compresse contengono acido tartarico, dolcificante e aroma, oltre ad altri eccipienti necessari alla compressione. La quantità di acido tartarico è stata scelta dopo gli studi sulla reazione di effervescenza svolti con il calcimetro di Bernard. Anche in questa formulazione è stato introdotto Avicel® per agevolare la compressione ma è stato possibile mantenere una parte di Pearlitol® DC 500, il diluente a base di mannitolo per compressione diretta che era già stato utilizzato per la fabbricazione dei moduli Dome Matrix di acido tartarico.

##### Compresse AT35-GLY

Le compresse contengono Glycamil ( ammonio glicirrinato) come dolcificante e l'aroma arancia. Il Glycamill è circa 50 volte più dolce del saccarosio ed ha un sapore di liquirizia adatto a coprire il sapore amaro dei farmaci. Nella tabella XXV viene riportata la composizione della compresse. Prima di procedere con

la produzione delle compresse è stata misurata la True Density della polvere con l'utilizzo di un picnometro ad elio che è risultata essere 1,542 g/cm<sup>3</sup>.

**Tabella XXV.** In tabella è riportata la composizione quantitativa e qualitativa del lotto AT35-GLY. La colonna "Cpr(mg)" riporta il peso di tutti i componenti della miscela in una singola compressa.

	<b>Cpr (mg)</b>	<b>p/p %</b>
<b>Acido Tartarico</b>	105	35
<b>Avicel® PH 102</b>	76,5	25,5
<b>Pearlitol® DC 500</b>	76,5	25,5
<b>Talco</b>	3	1
<b>Kollidon® CL</b>	15	5
<b>Mg st</b>	3	1
<b>PEG 6000</b>	3	1
<b>Glycamill</b>	15	5
<b>Aroma Arancio</b>	3	1
<b>totale</b>	300	100

Sulle compresse sono stati eseguiti i test di durezza e disgregazione. Nella tabella XXVI sono riportati i dati di porosità, ritorno elastico e yield pressure.

**Tabella XXVI. Caratteristiche delle compresse del lotto AT35-GLY**

<b>Peso (mg)</b>	301±1
<b>Altezza (mm)</b>	2,097±0,026
<b>Durezza (kp)</b>	3,2±0,4
<b>Fmax(kN)</b>	16±0
<b>Porosità %</b>	2,13±1,60
<b>Ritorno elastico della polvere %</b>	7,39±1,60
<b>Yield pressure (Mpa)</b>	44,63±6,33

Le compresse appaiono lucide e dalla forma ben definita. È stato poi effettuato un test di disgregazione (tabella XXVII).

**Tabella XXVII. Pesi e altezze delle compresse utilizzate per la prova di disgregazione e tempo impiegato per completare la disgregazione.**

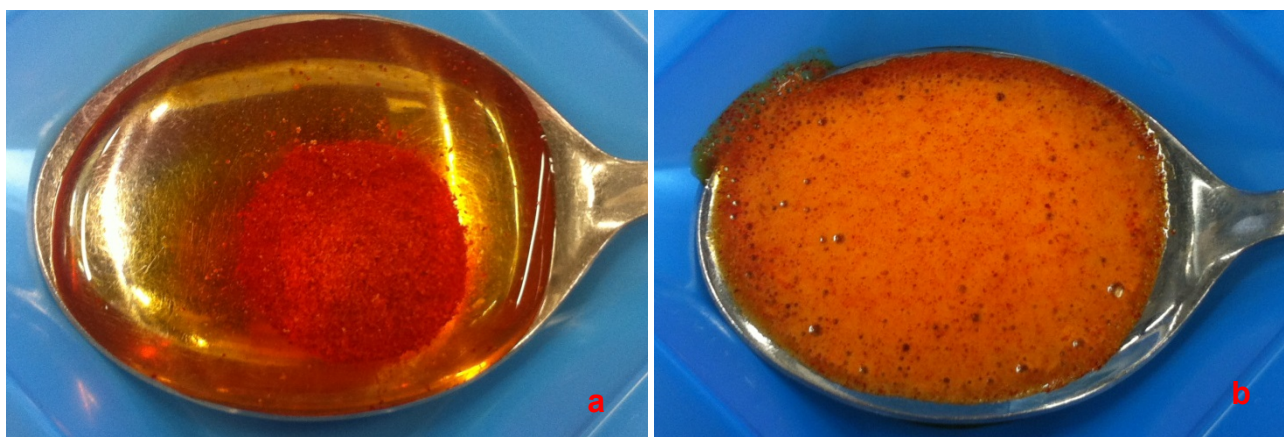
<b>Peso (mg)</b>	299,58±2,21
<b>Altezza (mm)</b>	2,103±0,012
<b>Tempo di disgregazione (sec)</b>	28±6

Questo prodotto, una volta assemblato sarà destinato alla somministrazione pediatrica, è stato perciò utile osservare il comportamento delle compresse in un piccolo volume di acqua (10 ml) che può essere contenuto in un cucchiaino da tavola. Il prodotto disgregato all'interno del cucchiaino può essere infine somministrato agevolmente al piccolo paziente. È stato osservato il comportamento di una singola compressa di farmaco in 10 ml di acqua (deionizzata, 21°): al termine della disgregazione il materiale rimaneva circoscritto in un solo punto (figure 34a e 35a). È stato poi osservato il

comportamento di una compressa di farmaco insieme a una compressa di acido tartarico sempre in 10 ml di acqua. La reazione di effervescenza produceva una leggera turbolenza utile per disperdere la polvere in tutto il volume di liquido (figure 34b e 35b).



**Figura 34.** Una compressa BS30-ISO#3 disgregata in 10 ml di acqua deionizzata (a), e una compressa BS30-ISO#3 e una compressa AT35-GLY disgregate in 10 ml di acqua (b)



**Figura 35.** Una compressa BS30-RIF#3 disgregata in 10 ml di acqua deionizzata (a) e una compressa BS30-RIF#3 e una compressa AT35-GLY disgregate in 10 ml di acqua (b)

Compresse AT35-GLYACE

La composizione delle compresse di acido tartarico è stata modificata in seguito a studi bibliografici [73]. La commissione europea considera che il limite massimo giornaliero di 100mg di Glycamil sia un livello sufficiente di sicurezza per la maggior parte della popolazione. È stato considerato come limite massimo giornaliero di Glycamil 6mg per un bambino di 5kg. È stato introdotto nella formulazione un secondo dolcificante, Acesulfame K, con potere dolcificante pari a 200 volte quello del saccarosio. Gli altri eccipienti della formulazione precedente sono stati mantenuti invariati. Nella tabella XXVIII viene riportata la composizione della compresse. La True Density è risultata 1,571 g/cm<sup>3</sup>

**Tabella.XXVIII**      *Composizione quali-quantitativa delle compresse AT35-GLY.*  
*La colonna "Cpr(mg)" riporta il peso di tutti i componenti della miscela in una singola compressa.*

	<b>Cpr (cpr)</b>	<b>p/p %</b>
<b>Acido Tartarico</b>	105	35
<b>Avicel ph 102</b>	78,75	26,25
<b>Pearlitol DC 500</b>	78,75	26,25
<b>Talco</b>	3	1
<b>Kollidon CL</b>	15	5
<b>Mg st</b>	3	1
<b>Peg 6000</b>	3	1
<b>Glycamill</b>	1,5	0,5
<b>Acesulfame K</b>	9	3
<b>Aroma Arancio</b>	3	1
<b>Totale</b>	300	100

Le compresse sono lucide, ben definite nella loro geometria e non sono state rilevate difficoltà nella fase di espulsione della compressa. La tabella sottostante (tabella XXIX) riporta le caratteristiche delle compresse.

**Tabella XXIX. Caratteristiche delle compresse del lotto AT35-GLYACE**

	<b>media</b>
<b>Peso (mg)</b>	301±1
<b>Altezza (mm)</b>	2,023±0,006
<b>Durezza (kp)</b>	2,0±0,2
<b>Fmax(kN)</b>	19±1
<b>Porosità %</b>	0,19±0,29
<b>Ritorno elastico della polvere %</b>	7,62±0,57
<b>Yield pressure (Mpa)</b>	48,30±7,78

Si può notare che il valore di porosità è prossimo allo zero. Questo indica che durante la compressione non è avvenuta solamente una compattazione della polvere, ma le particelle sono andate incontro a fusione. Questo fatto potrebbe spiegare la tendenza delle compresse a erodere in acqua piuttosto che disgregare. Inoltre, nonostante la forza di compressione utilizzata sia abbastanza elevata la durezza delle compresse è piuttosto bassa. Questa fragilità fa presupporre che aumentando la forza di compressione utilizzata la compressa vada incontro a laminazione. È stato poi effettuato un test di disgregazione (tabella XXX)

**.Tabella XXX** *Pesi e altezze delle compresse utilizzate per la prova di disgregazione e tempo impiegato per completare la disgregazione.*

<b>Peso (mg)</b>	298,32±3,78
<b>Altezza (mm)</b>	2,055±0,025
<b>Tempo di disgregazione (sec)</b>	35±11

A questo punto erano disponibili le 4 compresse cilindriche necessarie per il prodotto finale. È stato osservato il comportamento delle compresse di farmaco (una contenente isoniazide e una contenente rifampicina) immerse in 10 ml di acqua deionizzata insieme a due compresse di acido tartarico. Si può notare dalle immagini che al termine della disgregazione/effervescenza l'aspetto della sospensione appariva soffice e schiumoso.



**Figura 36.** *Sospensione ottenuta dopo la disgregazione di una compressa BS30-RIF#3, una compressa BS30-ISO#3 e due compresse AT35-GLYACE in 10 ml di acqua deionizzata , in un cucchiaino (sinistra) e in un becker (a destra).*

Sono stati svolti ulteriori test di dissoluzione in vitro. Le compresse di farmaco sono state testate separatamente, ad ognuna di esse è stata associata una

compressa di acido tartarico e dolcificanti. In tutti i casi dopo 15 minuti tutto il farmaco era disciolto nel mezzo di dissoluzione.

#### **4.2.4.Fabbricazione dei moduli Dome Matrix®**

Sulla base di quanto svolto per le compresse cilindriche sono stati preparati dei moduli Dome Matrix® contenenti rifampicina, isoniazide e acido tartarico separatamente. Le formulazioni dei moduli sono state preparate a partire da quelle delle compresse cilindriche. Sono stati preparati dei moduli femmina a tutto tondo (o terminali) e per incastro, dal diametro di 9,2 mm e dal peso di 300 mg.

##### Moduli di Isoniazide

Rispetto alla formulazione utilizzata per le compresse cilindriche, che prevedeva come unico diluente la cellulosa microcristallina (Avicel® PH 102), è stato introdotto il mannitolo per compressione diretta (Pearlitol® DC 500). Il mannitolo è solubile e conferisce alla soluzione un sapore dolce inoltre il Pearlitol® DC 500 aveva già presentato buone caratteristiche di compressione tramite punzoni Dome Matrix®. La seconda modifica riguardava il lubrificante. Il magnesio stearato, che presenta un ottimo potere lubrificante, conferiva alla sospensione finale un aspetto sgradevole a causa dell'idrofobicità del prodotto. Il magnesio stearato è stato sostituito interamente con Peg 6000 PF, solubile in acqua. È stato mantenuto invariato il contenuto degli altri componenti della formulazione.

**Tabella XXXI.** *Composizione quali-quantitativa dei moduli Dome Matrix® di isoniazide.*

*La colonna "Cpr(mg)" riporta il peso di tutti i componenti della miscela in una singola compressa.*

	<b>Cpr (mg)</b>	<b>%p/p</b>
<b>Isoniazide</b>	60	20
<b>Avicel pH 102</b>	72	24
<b>Pearlitol DC 500</b>	36	12
<b>Na Bicarbonato</b>	90	30
<b>Kollidon CL</b>	15	5
<b>Peg 6000 FP</b>	24	8
<b>Talco</b>	3	1
<b>Totale</b>	300	100

I moduli, sia terminali che per incastro, erano ben definiti nella loro forma e non sono stati rilevati problemi nella fase di estrusione. Precedentemente era stata preparata una miscela contenente Avicel® pH 102 e Pearlitol® DC500 in uguale quantità, ma non era stato possibile ottenere le compresse a causa dello sticking della polvere sui punzoni.

#### Moduli di Rifampicina

La rifampicina presentava scarse caratteristiche di compressione, per questo motivo è stato necessario mantenere come unico diluente la cellulosa microcristallina e non è stato possibile introdurre il Pearlitol DC 500 nella formulazione. Anche in questo caso è stato possibile però sostituire il magnesio stearato con PEG 6000 PF ma è stato necessario raddoppiare la quantità di talco impiegata.

**Tabella XXXII.** *Composizione quali-quantitativa dei moduli Dome Matrix®. La colonna “Cpr(mg)” riporta il peso di tutti i componenti della miscela in una singola compressa.*

	<b>Cpr (mg)</b>	<b>%p/p</b>
<b>Rifampicina</b>	60	20
<b>Avicel® PH 102</b>	105	35
<b>Na Bicarbonato</b>	90	30
<b>Kollidon® CL</b>	15	5
<b>PEG 6000 FP</b>	24	8
<b>Talco</b>	6	2
<b>Totale</b>	300	100

Sono stati ottenuti sia moduli terminali che moduli per incastro lucidi e ben definiti. Precedentemente erano state preparate delle altre formulazioni, contenenti il 12% e il 18% di Pearlitol®, ma erano stati rilevati importanti problemi di adesione della polvere ai punzoni.

#### Moduli di acido tartarico e dolcificanti

Anche la formulazione delle compresse cilindriche contenenti acido tartarico, dolcificanti e aromi è stata modificata. È stato possibile aumentare la quantità di Pearlitol® DC 500 e di conseguenza diminuire quella di Avicel® PH 102. Il magnesio stearato è stato completamente sostituito dal PEG 6000 PF. Gli altri eccipienti sono stati mantenuti invariati come quantità e qualità rispetto alla formulazione AT35-GLYACE.

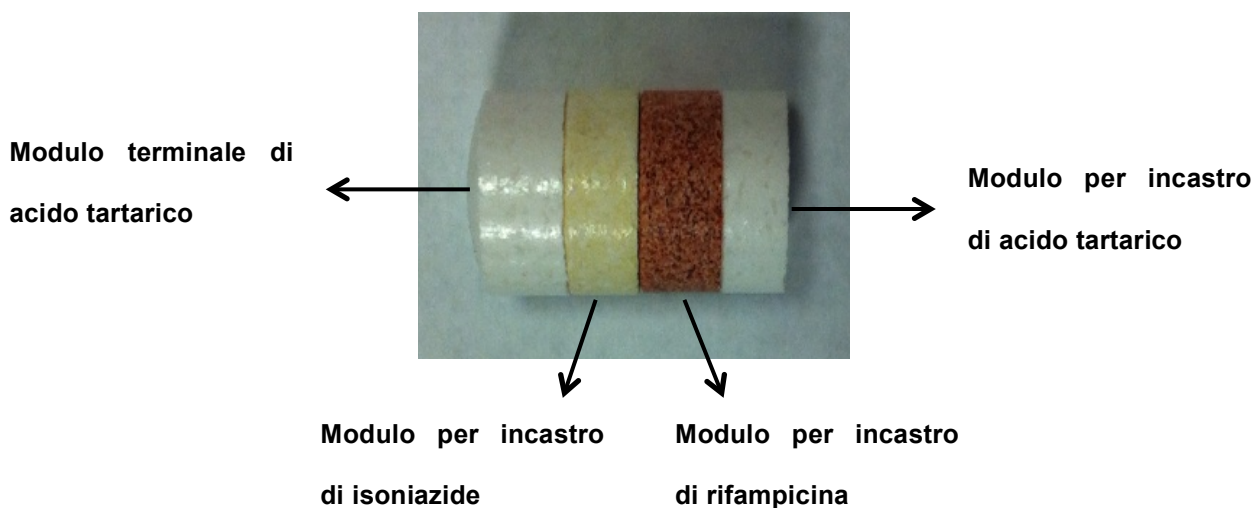
**Tabella XXXIII.** *Composizione quantitativa e qualitativa dei moduli Dome Matrix®. La colonna “Cpr(mg)” riporta il peso di tutti i componenti della miscela in una singola compressa.*

	p/p %	Compressa (mg)
<b>Acido Tartarico</b>	35	105
<b>Avicel® PH 102</b>	15,5	46,5
<b>Pearlitol® DC 500</b>	31	93
<b>Talco</b>	1	3
<b>Kollidon® CL</b>	5	15
<b>PEG 6000 PF</b>	8	24
<b>Glycamill</b>	0,5	1,5
<b>Acesulfame K</b>	3	9
<b>Aroma Arancio</b>	1	3
<b>totale</b>	100	300

Sono stati ottenuti, senza difficoltà, sia moduli terminali che moduli per incastro con forme ben definite. Sono stati rilevati piccoli problemi di adesione ai punzoni durante la fase di estrusione ma non hanno compromesso l'ottenimento di moduli in quantità soddisfacente.

#### 4.2.4.1 Prove di dissoluzione sugli assemblati

Con i moduli Dome Matrix appena descritti sono stati costruiti degli assemblati impilati composti da quattro moduli incastrando la faccia convessa di un modulo nella faccia concava di quello adiacente. Gli assemblati sono stati costruiti come mostrato in figura 37. È stata utilizzato un modulo femmina terminale di acido tartarico, un modulo per incastro di isoniazide, un modulo per incastro di rifampicina e infine un modulo per incastro di acido tartarico.



**Figura 37.** *Assemblati impilati ottenuti con i moduli Dome Matrix®*

L'assemblato di quattro moduli rappresenta il prodotto finale. Sono stati effettuati dei test di dissoluzione in vitro sull'assemblato. Analogamente a quanto fatto per le compresse singole l'assemblato è stato disgregato in 10 ml di acqua e quindi la dispersione è stata versata nei vessel contenenti come mezzo di dissoluzione una soluzione di HCl 0,1N a 37 °C. Anche in questo caso il test è stato ripetuto immergendo gli assemblati integri nei vessel. L'analisi dei campioni prelevati ha mostrato che entrambi i farmaci erano completamente disciolti dopo 15 minuti

Utilizzando degli assemblati costruiti nello stesso modo, è stato anche effettuato un test di disgregazione in vitro come previsto dalla Farmacopea. Il tempo di disgregazione era di  $260,5 \pm 31,9$  secondi

Infine, come per le compresse cilindriche, è stato eseguito un test di disgregazione in cucchiaio. L'assemblato, costruito come descritto per le prove di dissoluzione e di disgregazione, è stato posto in un cucchiaio contenente 10 ml di acqua. La disgregazione si completava in circa 6 minuti. L'effervescenza

prodotta era sufficiente per aiutare la disgregazione dei moduli ma non causava la fuoriuscita del liquido dal cucchiaino (figura 38). La sospensione che si otteneva era schiumosa appena terminata l'effervescenza (figura 39); dopo qualche minuto, con una lieve agitazione, la schiuma scompariva lasciando un liquido rosso brillante (figura 40). Parte del materiale era sedimentato sul fondo del cucchiaino ma non si osservavano grossi aggregati di particelle.



**Figura 38.** *Momento di maggiore effervescenza*



**Figura 39.** *Aspetto della sospensione al termine dell'effervescenza*



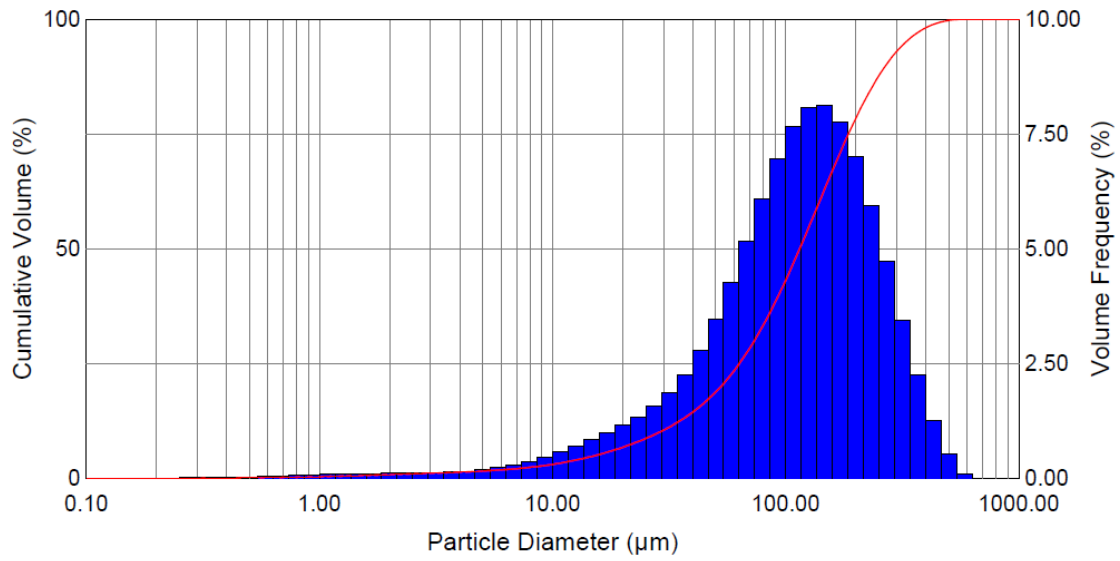
**Figura 40.** *Aspetto della sospensione al termina dell'effervescenza dopo un breve riposo e una lieve agitazione.*

#### 4.2.4.2. Analisi dimensionale della sospensione

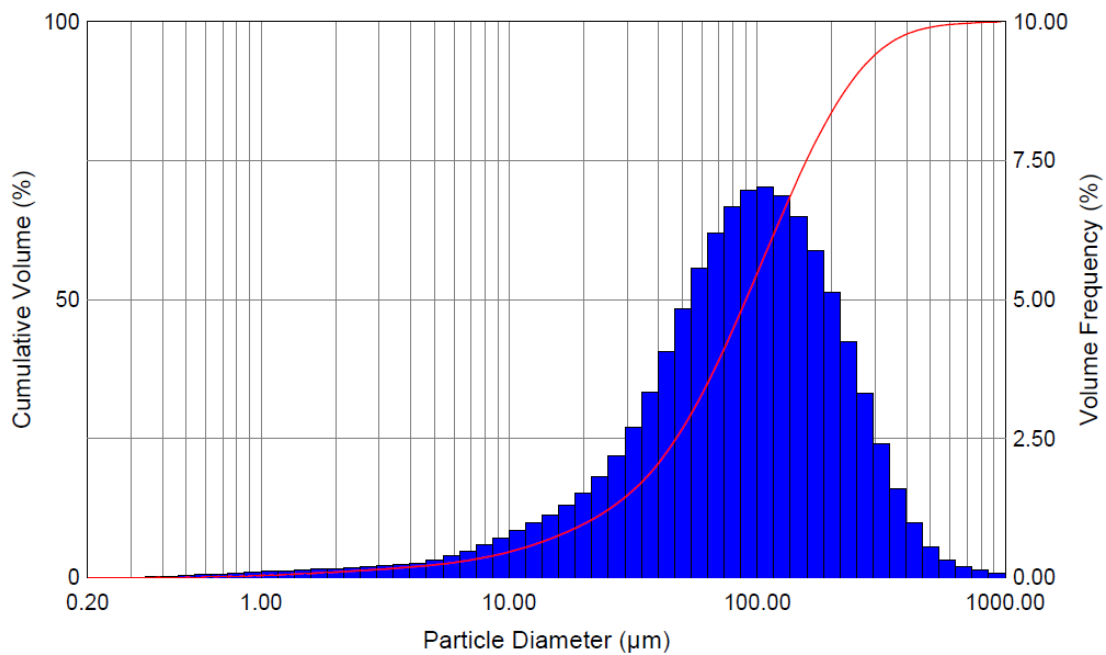
Per avere una misura della dimensione delle particelle presenti nella sospensione che si otteneva dalla disgregazione dell'assemblato, la sospensione ottenuta è stata analizzata mediante diffrazione laser. L'assemblato era costituito da un modulo di rifampicina, un modulo di isoniazide e due moduli di acido tartarico. Per confronto è stata preparata una sospensione delle materie prime in acqua deionizzata. In questo caso le materie prime sono state pesate in quantità corrispondente a quella presente nell'assemblato utilizzato.

**Tabella XXXIV** *Valori di diametro volume equivalente*

	<b>Dv10 (µm)</b>	<b>Dv50 (µm)</b>	<b>Dv90 (µm)</b>	<b>Span</b>
<b>Assemblato</b>	34,00±7,63	117,45±3,75	269,25±0,35	2,779±0,561
<b>Polveri</b>	18,84±4,73	86,52±13,63	263,33±87,62	2,005±0,133



**Figura 41.** *Distribuzione dimensionale della sospensione ottenuta dalla disgregazione dell'assemblato.*



**Figura 42.** *Distribuzione dimensionale della sospensione ottenuta dalla dispersione delle polveri.*

Dai grafici si può notare che le distribuzioni dimensionali della sospensione ottenuta dalla disgregazione dell'assemblato e di quella ottenuta dalla dispersione delle materie prime non sono significativamente differenti. Questo

indica che gli aggregati formatisi durante il processo di compressione non sono particolarmente forti e dopo la disgregazione restituiscono una distribuzione dimensionale di particelle simile a quella ottenuta dalla dispersione delle materie prime.

## **5. CONCLUSIONI**

I risultati ottenuti in questa ricerca di dottorato hanno dimostrato che l'obiettivo di fabbricare un prodotto effervescente di tipo modulare utilizzando la tecnologia Dome Matrix® ,nel quale i reagenti siano fisicamente separati ed entrino in reazione solo dopo la disgregazione del prodotto in acqua, possiede una validità realizzativa.

I componenti modulari contenenti i reagenti acido e base e i principi attivi sono stati fabbricati. Vari problemi sono stati risolti a tal fine, in particolare quello della realizzazione del modulo acido. Infatti non è stato possibile realizzare un modulo acido di qualità adatta alla preparazione del prodotto finale, a partire da acido citrico sia in polvere che granulare oppure anidro. Pertanto il modulo acido è stato realizzato impiegando acido tartarico che dal punto di vista delle caratteristiche di compressione ha permesso di risolvere i problemi che la preparazione dei moduli Dome Matrix presentano soprattutto per la coesione dei granuli o la loro adesione a punzoni e matrici.

Viceversa la formulazione del modulo basico è stata meno critica. Il bicarbonato di sodio ha mostrato buone caratteristiche di compressione, permettendo la fabbricazione dei moduli senza presentare problemi importanti.

Dalla combinazione dei due moduli al fine dell'effervescenza abbiamo concluso che per ottenere una effervescenza valida per la dispersione del preparato occorreva presentare un rapporto acido-base che superasse il valore stechiometrico della reazione. Infatti nel prodotto finale tale rapporto era superiore allo stechiometrico 1:2 (acido tartarico:bicarbonato).

L'efficacia di questo rapporto è stata dimostrata con studi di sviluppo dell'effervescenza condotti su combinazioni dei due tipi di moduli per arrivare a determinare i valori minimi da introdurre nella preparazione finale. Le compresse contenenti acido tartarico fornivano una reazione più veloce e più intensa rispetto alle compresse contenenti acido citrico monoidrato.

Realizzati i moduli dei reagenti, sono stati costruiti i moduli contenenti i due principi attivi antitubercolari scelti per questa tesi. I farmaci sono stati introdotti individualmente in due moduli separati con l'obiettivo di poter adattare la loro dose rispettiva in funzione della necessità del paziente combinando uno o più moduli dello stesso farmaco fino a raggiungere la dose di somministrazione. Questo procedimento ha portato ad ottenere una personalizzazione del trattamento in quanto consentirebbe di adattare il preparato al peso, età o schema terapeutico dell'utilizzatore. Al fine di ottenere una dispersione fine e omogenea e di limitare la quantità di materiale nel liquido di dissoluzione, nell'evoluzione della formulazione abbiamo concluso che si potesse evitare di fabbricare il modulo base purché il bicarbonato fosse introdotto assieme ai farmaci nei rispettivi moduli. Questa idea è stata realizzata e ha dimostrato di essere una valida soluzione alternativa all'impiego del modulo base.

La dimostrazione della efficacia dell'unione dei due moduli di reagenti è stata condotta mediante prove di dissoluzione e disgregazione, svolte singolarmente sui moduli di acido e di base ma anche sui moduli combinati

Prima di procedere alla fabbricazione dei moduli Dome abbiamo condotto uno studio di fisica della compressione utilizzando una comprimitrice attrezzata per la misura delle forze e dello spostamento dei punzoni. È stato evidenziato che

la struttura del modulo e la differente forza impartita alla polvere durante il processo di compressione con punzoni Dome Matrix® fosse molto importante per il processo di disgregazione della compressa. La geometria dei punzoni Dome Matrix dava origine ad una compressa che immersa in acqua disgregava immediatamente lateralmente (pareti) mentre la cupola mostrava difficoltà durante la disgregazione. Questa disparità nel tempo impiegato per la disgregazione è dovuto alla diversa entità della forza impressa alla polvere sulle pareti e sulla cupola della compressa, ed era molto evidente per compresse ottenute con formulazioni con scarse caratteristiche di compressione, come quelle contenenti acido citrico monoidrato o acido tartarico.

La misura della forza ha permesso di indagare la porosità dei compatti e ipotizzare una fusione tra le particelle della formulazione che poteva spiegare la tendenza ad erodere della compressa di acido tartarico piuttosto che a disgregare.

Riguardo ai farmaci, sono stati fabbricati moduli femmina (terminali e per incastro) contenenti bicarbonato di sodio e, separatamente, 60 mg di rifampicina e 60 mg di isoniazide. Queste compresse hanno mostrato che dopo 15 minuti il farmaco risultava essere completamente disciolto.

Nella fase progettuale avevamo ipotizzato che si potesse anche fabbricare un modulo dedicato al mascheramento del sapore. Questa soluzione potrebbe consentire di modificare l'aromatizzazione dell'assemblato semplicemente cambiando un modulo. In realtà abbiamo poi ripiegato sulla soluzione di inserire i dolcificanti e aromatizzanti nel modulo acido.

In definitiva, il prodotto effervescente che abbiamo potuto realizzare ha visto la combinazione di 4 moduli, due di reagente acido con i dolcificanti e due contenenti separatamente i due farmaci. Quindi il combinato base serve per la somministrazione di 60 mg di rifampicina e 60 mg di isoniazide. Nel caso in cui fosse necessario un aumento della dose, la soluzione sarebbe quella di aggiungere uno o più moduli rispettivi contenenti il farmaco.

La dispersione dell'assemblato per la somministrazione potrebbe essere fatta in acqua o in liquido alimentare. Sarebbe auspicabile che tale liquido fosse contenuto come volume in pochi millilitri per facilitare la somministrazione e controllare la dose somministrata. Queste considerazioni ci hanno spinto a realizzare la dispersione del prodotto in assemblato in 10 ml di acqua contenuta in un cucchiaino da tavola. L'obiettivo era quello di favorire la preparazione della dose dispersa e promuovere l'accettazione da parte del paziente in particolare quello pediatrico. La dispersione dell'assemblato in queste condizioni ha mostrato che il processo si sviluppava rapidamente. L'aspetto schiumoso, l'odore, la consistenza e la morbidezza della soluzione dispersa, potevano portare a una interessante accettazione. Circa la morbidezza abbiamo potuto verificare che la distribuzione dimensionale del disgregato a partire dal prodotto assemblato non era significativamente diversa da quella ottenuta dalla dispersione delle materie prime, dimostrando che non si formavano aggregati che potessero compromettere la texture della sospensione.

In conclusione, l'unione di tecnologia Dome Matrix e tecnologia effervescente ha portato all'ottenimento di un prodotto innovativo che potrebbe essere impiegato in alternativa ai prodotti già esistenti nella terapia pediatrica della

tubercolosi. L'assemblato è in grado di disgregare in un piccolo volume d'acqua ed è personalizzabile per quanto riguarda la dose da somministrare. Eventualmente sarà possibile includere nell'assemblato gli altri due farmaci necessari alla terapia della tubercolosi ottenendo una ulteriore riduzione delle somministrazioni giornaliere.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. Formulations of medicines for children, Tony Nunn, Julie Williams, Royal Liverpool children's NHS Trust, Liverpool, UK, Pfizer Global research and development, Sandwich UK.
2. Pediatric drugs- A review of commercially available oral formulations, Robert G.Strickley, Quynh Iwata, Sylvia Wu, Terrence C. Dahl; Formulation and process development, Gilead sciences, Lakeside drive, Foster city, California.
3. Acceptability of different oral formulations in infants and preschool children, Diana A van Riet-Nales, Barbara J de Neef, Alfred F A M Schobben, José A Ferreira, Toine C G Egberts, and Catharine M A Rademaker, Arch Dis Child. 2013 September; 98(9): 725–731.
4. New platform technologies for pediatric formulations. Jörg Breitzkreutz, Heinrich Heine Universität Dusseldorf , EuPFI, Los Angeles, 11 Sept. 2009.
5. Novel drug formulations for children, Jörg Breitzkreutz, Heinrich Heine Universität Dusseldorf Jörg Breitzkreutz, Heinrich Heine Universität Dusseldorf , WorldPharma 2010, Copenhagen.
6. Ranitidine (Zantac) syrup versus Ranitidine effervescent tablets (Zantac EFFERdose) in children: a single-center taste preference study, Ameen VZ, Pobiner BF, Giguere GC, Carter EG, Paediatr Drugs. 2006;8(4):265-70.

7. Fexofenadine in pediatrics: oral tablet and suspension formulations. Mansfield LE. Expert Opin Pharmacother. 2008 Feb;9(2):329-37.
8. Industry prospective on palatability testing in children-two case studies. G. Winzenburg, S. Dessel-Brêthes. International Journal of Pharmaceutics 435(2012)131-151
9. Evaluation of taste-masking effects of pharmaceutical sweeteners with an electronic tongue system. Du Hyung Choi, Nam Ah Kim, tack So Nam, Sangkil Lee, Seong Hoon Jeong, Drug development and industrial Pharmacy, Posted online on June 20, 2013.
10. In vivo evaluation of taste masking for developed chewable and orodispersible tablets in humans and rats. Noorjahan A, Amrita B, Kavita S, Pharm Dev Technol. 2014 May;19(3):290-5
11. Taste-masking effect of physical and organoleptic methods on peppermint-scented orally disintegrating tablet of famotidine based on suspension spray-coating method. Sugiura T, Uchida S, Namiki N, Chem Pharm Bull (Tokyo). 2012;60(3):315-9.
12. Evaluation of palatability of 10 commercial amlodipine orally disintegrating tablets by gustatory sensation testing, OD-mate as a new disintegration apparatus and the artificial taste sensor. Uchida T, Yoshida M, Hazekawa M, Haraguchi T, Furuno H, Teraoka M, Ikezaki H. J Pharm Pharmacol. 2013 Sep;65(9):1312-20
13. Effervescent Pharmaceuticals, Nils-Olof Lindberg, Pharmacia AB, Helsinborg, Sweden, Henri Hansson, Galenica AB, Meleon, Malmo, Sweden

14. Preparation of effervescent tablets. Dr Avani, Tejal Shah, Reena Dua and Renuka, The Free Pharmaceutical Encyclopedia.
15. Effervescent tablets and method. Frank Witzel, Warren Clark, US Patent nr. 4,127,645
16. Uncoated Pharmaceutical Reaction tablet. G. Gergley, I. Gergley and T. Gergley. US Patent nr. 5,064,656
17. Effervescent tablets, Raymonde Mohrle, Warner-Lambert Company, Morris Plains, New Jersey.
18. Handbook of Pharmaceutical Excipients, The American Pharmaceutical Association and The Royal Pharmaceutical Society of Great Britain. Washington and London, 4th edition, pp158 (2003).
19. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology Swarbrick J. and Boylan J.,; Volume -1, 1037-1049 (2002), Marcel Dekker Inc., New York
20. Preparation and optimization of L-leucine as lubricant for effervescent tablet formulations Roscheisen, G. and Schmidt, P.C.,; *Pharma. Acta Helv.*, 70 (2), 133-139 (1995).
21. Bioavailability of a new effervescent tablet of ibuprofen in healthy volunteers, E. Altomare · G. Vendemiale · C. Benvenuti · P. Andreatta, *Eur J Clin Pharmacol* (1997) 52: 505–506
22. Preparation and Evaluation of Fast-Disintegrating Effervescent Tablets of Glibenclamide, Shery Jacob, Arun Shirwaikar, Anroop Nair, *Development and Industrial Pharmacy*, 35:321–328, 2009
23. Optimization of an effervescent tablet formulation containing spray dried L-leucine and polyethylene glycol 6000 as lubricants using a central

- composite design, Barbel Rotthausser, Gerolf Kraus, Peter C. Schmidt, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 46 (1998) 85–94
24. Preparation of direct compressible effervescent components: spray-dried sodium bicarbonate Saleh. S.I., Boymond C., and Stamm. A.; Int. J. Pharm.,; 45 (1), 19-26, 1988.
25. Formulation design and optimization of fast disintegrating lorazepam tablets by effervescent method. S.B. Shirsand, Sarasija Suresh, I.S.Jodhana, P.V.Swamy, Indian journal of pharmaceutical sciences, 2010 Jul-Aug, 72(4) 431-438
26. www.packworld.com, Packing World Magazine
27. "Assemblage of novel release modules for the development of adaptable drug delivery systems" Losi E., Bettini R., Santi P., Sonvico F., Colombo G., Lofthus K., Colombo P., Peppas N.A. Journal of Controlled Release, 2006, 111, 212-218 DOME
28. "Sistemi modulari per il rilascio controllato di sostanza e controllo spaziale e temporale" Colombo P., Bettini R., Santi P., Catellani P.L., PCT WO 03/043601 A2 DOME
29. "New modules, new assemblage kits and new assemblies for the controlled release of substances" Colombo P., Santi P., Bettini R., Strusi O. L., Sonvico F., Colombo G., PCT EP2006/011661 DOME
30. Assemblage of drug release modules: Effect of module shape and position in the assembled systems on floating behavior and release rate C. Hascicek , A. Rossi , P. Colombo , G. Massimo , O.L. Strusi , G.

- Colombo *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 77 (2011) 116–121
31. Artesunate-clindamycin multi-kinetics and site-specific oral delivery system for antimalaric combination products Orazio Luca Strusi , Pedro Barata , Daniela Traini , Paul M. Young , Salvatore Mercuri , Gaia Colombo , Fabio Sonvico , Ruggero Bettini , Paolo Colombo, *J Control Release*. 2010 Aug 17;146(1):54-60.
32. Tapioca starch graft copolymers and Dome matrix modules assembling technology. I. Effect of module shape on drug release. Marta Casas, Orazio Luca Strusi, M Rosa Jiménez-Castellanos, Paolo Colombo, *Eur J Pharm Biopharm*. 2010 May;75(1):42-7
33. Global tuberculosis report 2013, World Health Organization.
34. The history of tuberculosis. Thomas m. Daniel, *Respiratory medicine* (2006) 100, 1862-1870
35. Historical perspective on the etiology of tuberculosis. Davis S. Barnes, *Microbes and Infection*, 2, 2000, 431-440
36. Drug therapy for children with tuberculosis, L.Peter Ormerod, Chest clinic, Royal Blackburn Hospital, Blackburn UK. 2012.
37. Antituberculosis medicines: Antituberculosis treatment for children. WHO model formulary for children 2010.122-138
38. Comparison of a four-drug fixed dose combination regimen with a single tablet regimen in smear positive pulmonary tuberculosis, A. Bartacek, D.Schütt, B. Panosch, M.Borek, Sandoz GmbH, Kundl, Austria. *Int.J tuberc lung dis* 13(6)760-766.

39. Dosing instructions for the use of currently available fixed dose combination TB medicines for children. WHO September 2009.
40. A Novel Solid Dosage Form of Rifampicin and Isoniazid With Improved Functionality, Mukesh C. Gohel<sup>1</sup> and Krishnakant G. Sarvaiya, PharmSciTech 2007; 8 (3) Article 68
41. Fixed dose combination drugs for tuberculosis. Bjorn Blomberg, Bernard Fourie, Drugs 2003, 63 (6) 535-553
42. Rifampicin for continuation phase tuberculosis treatment in Uganda: a cost effectiveness analysis. Yukari C. Manabe, Sabine M. Hermans, Mohammed Lomorde, Barbara Castelnuovo, Daniel Mullins, Andreas kuznik, PlosOne June 2012, Volume 7, Issue 6,
43. New antituberculosis agents among known drugs. Kathryn E.A. Loughheed, Debra L. Taylor, Simon A. Osborne, Justin S. Bryans, Roger S. Buxton, Tuberculosis 89 (2009), 364-370
44. Biopharmaceutics Classification System (BCS)-based biowaiver applications: anti-tuberculosis medicines, WHO Prequalification of Medicines Programme , Guidance Document February 2009
45. Formulation development of pediatric rifampicin oral suspension C. K. Dhanapal, R. Manavalan, N. Chandar and A.Chenthilnathan, Der Pharmacia Lettre, 2012, 4 (3):845-853
46. Rifampin. GianG.Gallo, Pietro Radaelli, Analytical profile of drug substances vol 5 1976, 467-513
47. Solubility and dissolution properties of generic rifampicin raw materials, S.Q.Henwood, M.M.de Villiers, W.liebenberg, A.P.Lotter, Research

- Institute of Industrial Pharmacy, Potchefstroom University of Christian Higher Education, Potchefstroom, 2520, South Africa.
48. Solid-state characterization of rifampicin samples and its biopharmaceutic relevance, Shrutidevi Agrawal <sup>a</sup>, Yasvanth Ashokraj <sup>a</sup>, Prasad V. Bharatam <sup>a</sup>, Omathanu Pillai <sup>a</sup>, Ramesh Panchagnula, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 22 (2004) 127–144
49. Thermal behavior and decomposition kinetics of rifampicin polymorphs under isothermal and non-isothermal conditions. Ricardo Alves, Thaís Vitória da Silva Reis, Luis Carlos Cides da Silva, Silvia Storpirtis, Lucildes Pita Mercuri, Jivaldo do Rosário Matos, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* vol. 46, n. 2, abr./jun., 2010
50. [www.drugbank.ca/drugs/DB01045](http://www.drugbank.ca/drugs/DB01045)
51. [www.drugbank.ca/drugs/DB00951](http://www.drugbank.ca/drugs/DB00951)
52. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Isoniazid, C. Becker, J.B. Dressman, G.L. Amidon, H.E. Jungigers, S. Kopp, K.K. Midha, V.P. Shah, S. Stavchansky, D.M. Barends, Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI 10.1002/jps.20765
53. Host-guest complexes of the antituberculosis drugs pyrazinamide and isoniazid with cucurbit [7]uril Nial J. Wheate, Virendra Vora, Nahoum G. Anthony, Fiona J. McInnes, *Journal of Inclusion Phenomena and macrocyclic Chemistry* (2010) 68: 359-367
54. Farmacopea Ufficiale Italiana XXII ed.

55. Methods for the determination of the carbon dioxide evolved from effervescent systems. J. Amela, R. Salazar, J. Cemeli, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 19(9), 1019-1036 (1993).
56. Etude d'un couple effervescent standard: mise au point d'une méthode de granulation humide et contrôle du dégagement de CO<sub>2</sub>. J Joachim; J Cordoba; G Joachim; H Delonca, *Journal de pharmacie de Belgique*, vol 38, Sep-Oct 1983.
57. Etude de l'influence de l'humidité et de la température sur la conservation de comprimés effervescents. J.P.Faguet, E.Spingler, D.Duchene, F Puisieux. *Pharm. Acta Helv.* 50, Nr 9 (1975)
58. *European Pharmacopoeia* 7 Ed.
59. Techniques used in orally disintegrating drug delivery system Manoj Ashok Wagh, Kothawade Parag Dilip, Kishor Sahebrao Salunkhe, Nayana Vija Chavan, Vandana Radheshyam Daga, *International Journal of Drug Delivery* 2 (2010) 98-107
60. Evaluation of Rapidly Disintegrating Tablets Prepared by a Direct Compression Method, Y. X. Bi,\* H. Sunada, Y. Yonezawa, and K. Danjo, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 25(5), 571–581 (1999)
61. Fast dispersible ibuprofen tablets, Simone Schiermeier, Peter Christian Schmidt, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 15 (2002) 295–305
62. Effects of disintegration-promoting agent, lubricants and moisture treatment on optimized fast disintegrating tablets, Sameer G. Late, Yi-Ying Yu, Ajay K. Banga, *International Journal of Pharmaceutics* 365

- (2009) 4–11 Recent trends in the developments of orally disintegrating tablet technology. Sandipan Kundu, P.K.Sahoo. *Pharma Times* Vol.40 N.4 April 2008
63. Preparation, evaluation and optimization of rapidly disintegrating tablets, Hisakadzu Sunada , Yunxia Bi, *Powder Technology* 122 Ž2002. 188–198
64. Orally disintegrating systems: innovations in formulation and technology. Goel H, Rai P, Rana V, Tiwary AK, *Recent Pat Drug Deliv Formul.* 2008;2(3):258-74
65. The preparation of orally disintegrating tablets using a hydrophilic waxy binder, G. Abdelbary, P. Prinderre, C. Eouani, J. Joachim, J.P. Reynier, Ph. Piccerelle, *International Journal of Pharmaceutics* 278 (2004) 423–433
66. Excipients Updates for Orally Disintegrating Dosage Forms Sunita A. Chaudhary, Ankit B. Chaudhary, Tejal A. Mehta, *Int. J. Res. Pharm. Sci.* Vol-1, Issue-2, 103-107, 2010
67. Orally Fast Disintegrating Tablets: Developments, Technologies, Taste-Masking and Clinical Studies Yourong Fu, Shicheng Yang, Seong Hoon Jeong, Susumu Kimura, Kinam Park, *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 21(6):433–475 (2004)
68. Mixing order of glidant and lubricant – Influence on powder and tablet properties Kalyana Pingali, Rafael Mendez, Daniel Lewis, Bozena Michniak-Kohn, Alberto Cuitino, Fernando Muzzio, *International Journal of Pharmaceutics* 409 (2011) 269–277

69. Effect of two super disintegrants on combination dispersible tablets of isoniazid and rifampicin for oral treatment of tuberculosis. Vikesh Shukla, F.V.Manvi, International journal of drug delivery 2 (2010) 322-332
70. Formulation Design and Optimization of Fast Disintegrating Lorazepam Tablets by Effervescent Method. S. B. Shirsand,\* Sarasija Suresh,<sup>1</sup> L. S. Jodhana, and P. V. Swamy, Indian J Pharm Sci. 2010 Jul-Aug; 72(4): 431–436
71. Mechanical property of powders for compaction and tableting : an overview. Suan Jain, PSTT vol 2, No 1 January 1999.
72. Overview of compaction data analysis techniques. Metin Celik, Drug development and industrial Pharmacy, 18, 767-810 (1982).
73. Opinion of the scientific committee on food on glycyrrhizinic acid and its ammonium salt, European Commission, health and consumer protection directorate general, SCF/CS/ADD/EDUL/225Funal 10 april 2003

## ACKNOWLEDGMENTS

I am deeply grateful to professor Guy Van den Mooter for his precious support and for giving me the opportunity to work in his lab in Leuven during the period of research spent abroad. I would also like to express my thanks to Bernard Appeltans and Patrick Rombuat for their really important help.

This period in Leuven has been supported by an ULLA grant. The ULLA Consortium is gratefully acknowledged.