

**Universidad del País Vasco/Euskal Herriko  
Unibertsitatea**

**Facultad de Química/Kimika Fakultatea**

***KIMIKA GRADUA***

GRADU AMAIERAKO LANA

3D inprimatze bitartez garatutako polipildoren diseinua eta osagai aktiboen  
askapena UV-Vis espektroskopia eta PLS bidez

**Egilea:** Maddi Martin Lema

**Zuzendariak:** Miren Ostra Beldarrain eta Kizkitza Gonzalez Munduate

Donostia, 2023ko uztaila.



LABURPENA .....	1
ABSTRACT .....	2
1. SARRERA .....	3
1.1 Medikamentuak.....	3
1.1.1 Medikamentuen egonkortasuna .....	4
1.1.2 Produktuen aldatzea edo zahartzea.....	4
1.2 Medikuntza pertsonalizatua eta 3D inprimaketa .....	6
1.3 Almidoia .....	9
1.1.2 Gelatinizazioa.....	11
1.4 Ultramore-ikuskor espektroskopia.....	11
1.5 Kimiometria.....	13
1.5.1 Osagai nagusien analisisa ( <i>Principal Component Analysis, PCA</i> ).....	14
1.5.2 Minimo karratu partzial bidezko erregresioa ( <i>Partial Least Squares Regression, PLS</i> ) .....	14
2. HELBURUAK.....	15
3. ATAL ESPERIMENTALA.....	17
3.1 Erreaktiboak.....	17
3.2 Ekipamendua eta softwareak.....	17
3.3 Prozedura esperimentalta .....	19
3.3.1 Ultramore-ikuskor espektroskopia bidezko neurketak.....	19
3.3.2 Matrizea eta kalibrazio zuzena .....	19
3.3.3 Pastillen lorpena.....	19
3.4 Karakterizazioa .....	20
3.4.1 Piezen dimentsioak .....	20
3.4.2 Piezen masak.....	20
3.4.3 Osagai aktiboen askapena .....	21
3.4.4 Metodoaren balidazioa.....	21
4. EMAITZAK ETA EZTABAIDA.....	23

4.1 Pastillen karakterizazioa .....	23
4.1.1 Piezen dimentsioak .....	23
4.1.2 Piezen masak.....	25
4.2 Matrizea eta kalibrazioa.....	26
4.2.1 Ultramore-ikuskor espektroskopia bidezko neurketak.....	26
4.2.2 Matrizea eta kalibrazioa.....	27
4.2.3 Metodoaren balidazioa.....	33
4.3 Osagai aktiboen askapena.....	35
4.3.1 Uraren eragina .....	40
5. ONDORIOAK.....	43
CONCLUSIONS.....	44
6. ERREFERENTZIAK.....	45

# LABURPENA

---

Ikerketa lan honetan azido azetilsalizilikoaz eta parasetamolaren polipilulak sortu dira 3D imprimaketa teknikaren bitartez. Teknika honek eskaintzen dituen metodologia guztietatik, estrusio zuzena izeneko metodoa aukeratu da pastillak garatzeko, jatorri botaniko desberdineko almidoiak erabiliz eszipiente modura. Jarraian, sortutako polipilularen karakterizazioa egin da; horretarako, piezen dimentsioak eta masa neurtu da, eta osagai aktiboen askapena burutu da. Askapenaren zinetika aztertzeke eta osagai aktiboak kuantifikatzeko ultramore-ikuskor espektroskopia erabili da. Horrez gain, almidoian oinarritutako pastillen askapenean emandako azido azetilsalizilikoaren degradazioa aztertu da. Erabilitako metodo analitiko guztiak parametro desberdinen bitartez balidatu dira.

Ultramore-ikuskor espektroskopia eta PLS erregresioaren konbinazioa azido azetilsaliziliko, azido saliziliko eta parasetamolaren aldibereko determinaziorako aukera egokia dela frogatu da.

Jatorri botaniko desberdineko almidoiekin garatutako polipilularen askapena aztertu da. Askapeneko emaitzak behatuta, frogatu da almidoien jatorri botanikoak eragina duela osagai aktiboen askapen denboran, eta beraz, hauen absortzioan giza gorputzean. Horrez gain, osagai aktiboen arteko desberdintasunak antzeman dira. Horrela, almidoien mota egokia aukeratu polipilularen osagai aktiboen askapena kontrolatu daitekeela baieztatu da, 3D imprimaketa medikuntza pertsonalizatuan erabili daitekeen teknika egokia dela berretsiz.

Bestalde, konfirmatu egin da azido azetilsalizilikoaren degradazioa azido salizilikoan, eta honen presentzia ere aztertu ahal izan da.

# ABSTRACT

---

In this research work, polypills consisting of acetylsalicylic acid and paracetamol was developed through 3D printing technology. Among different 3D methodologies, direct extrusion method was chosen to produce the pills, using starches from different botanical origin as excipients. Subsequently, the characterization of the resulting polypills was carried out. For this purpose, firstly the dimensions and mass of the pills was measured, and then the release of the active ingredients was evaluated. Ultraviolet-visible spectroscopy was used to analyze the release kinetics and to quantify the amount of released active ingredients. Additionally, the degradation of acetylsalicylic acid provided in the starch-based pills was examined. The employed analytical methods was validated by different parameters.

The combination of UV\_Visible spectroscopy and PLS regression has been shown to be a good alternative for the simultaneous determination of acetylsalicylic acid, salicylic acid and paracetamol.

The release of polypillars developed with starches from different botanical was studied. According to the results, it was demonstrated that the botanical origin of the starch influenced the release time of the active ingredients and, therefore, their absorption in the human body. In addition, differences between the active components were detected. Thus, it was confirmed that selecting the appropriate starch type, the release of the active components could be adjusted, demonstrating that 3D printing is an useful correct technique that can be used in personalized medicine.

Furthermore, it was confirmed that the degradation of acetylsalicylic acid leads to salicylic acid, and its release was also studied.

# 1. SARRERA

---

## 1.1 Medikamentuak

Nazioarteko Farmazia Federazioak, 2017an 74 herrialdetan egindako inkestaren arabera, 4.067.718 medikamentu daude mundu osoan, horietatik 2.824.984 erabiltzen dira zaintza medikorako zein albaitaritzarako<sup>1</sup>. Medikamentuen helburu nagusia gaitzen sintomak arintzea edo gaixotasunak tratatzea eta diagnostikatzea da, besteak beste. Baina garrantzitsua da medikamentu eta farmakoen arteko desberdintasunak ondo ulertzea.

Medikamentua osagai aktibo eta eszipiente bat edo gehiagoz osatutako sustantzia da, merkaturatua izan baino lehen kontrol analitiko eta farmakologiko-toxikologiko ugari gainditu behar izan dituen. Farmako edo osagai aktiboa, aldiz, iturri naturaletatik edo laborategian sintetizatutako substantzia purua da. Bere helburu nagusia da produktuaren aktibitate farmakologikoa edo produktuaren aktibitate farmakologikoa eragitea<sup>2</sup>.

Produkzioaren eta merkaturatzearen arabera, hiru motako medikamentuak bereizten dira: jatorrizkoa, lizentziapekoa eta kopia. Jatorrizko medikamentua, laborategi berritzaile batek erregistratu eta merkaturatu duena da. Laborategi horrek ikerketa- eta garapen-ahaleginak egiten ditu molekula jakin bat aurkitzeko, gero gaixotasunen diagnostikoan edo tratamenduan erabiltzeko. Lizentziapeko medikamentua, aldiz, jatorrizko medikamentua da baina beste laborategi desberdin batean produzitua. Kopia, jatorrizko molekula aurkitu ez duen beste laborategi batek egindako eta merkaturatutako medikamentu originala da. Azken hau patenterik ez dagoenean edo honen irautze-data bukatu denean bakarrik sintetizatu eta komertzializa daiteke<sup>3</sup>.

Sendagai bat diseinatzerakoan, honako helburu hauek erdietsi behar dira: aktibitate ona izatea, propietate farmakozinetiko aproposak izatea osagai aktiboa behar den gunera heltzeko, eta toxikotasuna minimoa izatea. Horretarako, kontuan hartu behar dira hainbat faktore, hala nola, administrazioa, xurgapena, banaketa, irautze eta konposatu aktiboen egonkortasuna eta toxikotasuna.

### 1.1.1 Medikamentuen egonkortasuna

Medikamentuen egonkortasun kontzeptuak osagai aktiboaren edukiaren iraunkortasunean eta forma farmazeutikoen aurkezpenean aldaketa ezan oinarritzen da. Orokorrean, sendagai bat iraungi dela, edo kontsumitzeko egokia ez dela kontsideratzen da, molekulen jatorrizko kantitatearen frakzio jakin bat desagertu denean. Hala ere, eta modu zabalagoan, sendagai baten egonkortasunak bere kalitateari eustea esan nahi du, fabrikatzaileak ezarritako iraupen-data arte<sup>4</sup>.

Egonkortasunaren kontzeptuaren garapenak, tradizioz, medikamentuen ezaugarri organoleptikoen konstantzia (itxura, usaina, zaporea) eta osagai aktiboaren edukia barne hartu izan ditu. Osagai aktiboaren edukiari dagokionez, farmakopeetan medikamentua egonkorra izateko honek eduki dezakeen osagai aktibo kontzentrazio minimo adierazgarria adierazten da. Ikuspegi praktikotik, medikamentuen egonkortasuna osagai aktiboaren edukia % 10-ra gutxitzen den denbora da; horregatik, sendagaia osagai aktiboaren % 90ean aldaketarik gabe dagoen denbora gisa deskribatzen da iraungitze-data<sup>4</sup>.

Degradazio-produktuei dagokienez, hauek identifikatu eta beraien kontzentrazioak mugatu behar dira, bereziki prestakin farmazeutikoaren toxikotasunean eraginik izango ez dutela ziurtatuz. Propietate organoleptikoei, fisiko-kimikoei eta mikrobiologikoei dagokienez, produktuaren kalitatea mantendu egiten dela esaten da, egonkortasun-azterketen emaitzek zehaztapenak betetzen badituzte, produktua adierazten den bezala erabili baldin badaiteke, eta produktuan gertatzen diren aldaketak pazientearentzat kaltegarriak eta arriskutsuak ez badira.

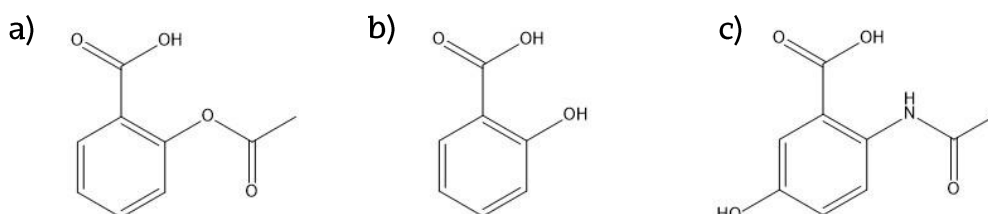
### 1.1.2 Produktuen aldatzea edo zahartzea

Medikamentuen propietateak kanpo faktoreen menpekoak dira, hala nola, tenperatura, hezetasuna, argia eta atmosfera (oxigeno atmosferikoa). Medikamentuetan aldaketa hauek eragiten dituzten prozesu multzoari zahartzea deritzogu. Sendagaiak erabiltzeko baldintza egokietan kontserbatu ahal izateko, beharrezkoa da zahartzea maila onargarrien barruan murriztea. Horrek, batzuetan, ingurumen hori babesteko edo isolatzeko neurriak hartzera garamatza, tenperatura baxuak, iluntasuna eta atmosfera geldoak erabiliz<sup>4</sup>.



Ingurumenaz gain, produktu beraren osagaien arteko elkarreraginek zahartzea bultzatu dezakete. Interakzio horiek osagai partikularren artean edo multzoan gertatzen dira. Elkarreraginak osagai aktiboaren eta eszipienteen artean agertzen dira nagusiki.

Zentzu honetan, ikerketa lan honetan bi osagai aktiboren askapena aztertu da; zehazki, parasetamolarena eta azido azetilsalizilikoarena. Parasetamola (1. irudia b)) propietate analgesikoak eta antipiretikoak dituen farmakoa da, sukarra eta min arina nahiz moderatua tratatzeko erabiltzen da<sup>5</sup>. Bestetik, azido azetilsalizilikoa, aspirina bezala ere ezaguna (1. irudia a)), mina, sukarra edota hantura murrizteko erabiltzen den antiinflamatorio ez-esteroidea da<sup>6</sup>. Ahotik hartzeko aspirina-konprimituak, erraz hidrolizatzen dira uraren edo aire hezearen eraginean daudenean, eta, beraz, beren bilgarrietan gordeta egon behar dute kontsumitu arte. Aspirinaren degradazioaren ondorioz azido salizilikoa eta azido azetikoak sortzen dira (2. Irudia), non azido azetilsalizilikoak proteina plasmatikotik lotura-guneak asetzeko eragiten duen eta salizilato askeen kontzentrazio handiagoa eragiten duen<sup>7</sup>. Azido salizilikoa (1. irudia c)), agente keratolitiko izeneko aktibo mota bat da, ezpurutasunak saihesten eta zaldarrak kentzen laguntzen du<sup>8</sup>.



1. Irudia. a) Azido azetilsaliziliko, b) parasetamol eta c) azido salizilikoaren egitura kimikoa.



2. Irudia. Azido azetilsalizilikoaren degradazioa.

Aspirinaren degradazioak toxikotasun-arriskua eta urdailaren narritadura sor dezake. Horregatik, medikamentuaren egonkortasuna eta eraginkortasuna bermatzeko, medikamentua pazientei ematen zaien unean produktuak zehaztapen guztiak bete behar.

## 1.2 Medikuntza pertsonalizatua eta 3D inprimaketa

Medikuntza pertsonalizatuaren oinarria tratamendu medikoak paziente bakoitzaren ezaugarri, behar eta lehentasunetara egokitzea da. Medikuntza pertsonalizatuaren ideia, azken urteetan asko ikertutako kontzeptua izan arren, ez da ideia berri bat. Jakina da antzeko sintomak dituzten pazienteek gaixotasun desberdinak izan ditzaketela; eta aldiz, gaixotasun berdina duten pazienteek oso sintoma desberdinak izan ditzaketela. Horrela, tratamendu mediko batek gaixo batzuegan funtziona dezake, baina eraginkorra ez izan gaixotasun bera duten beste paziente batzuegan.

Gaur egun, medikuntzan eta biologian egindako aurrerapenei esker, paziente bakoitzaren tratamendu eta kontrola, pertsonaren ezaugarri eta beharrei egokitu daitezke. Horren baitan, bi medikamentu edo gehiago biltzen dituzten pastillen beharra sortzen da, horiei polipildora deritzo. Polipildora medikamentu ugari konbinatzen dituen pilula da. Polipildorak tresna terapeutiko erabilgarriak dira hainbat gaixotasun dituzten pazienteentzat, pildora bakar batekin beren baldintzetarako behar dituzten sendagai guztiak hartu ditzaketelako<sup>9</sup>. Polipildorak, pastilla bakar batean osagai aktibo eta eszipiente desberdinak dituzten geruzak konbinatuz diseina daitezke. Modu honetan, eszipiente motaren arabera, osagai aktibo horien askapen-denbora kontrola daiteke, eta, ondorioz medikamentuen absortzioa denbora desberdinetan emango da giza gorputzean. 3D inprimaketa teknikak medikamentu konbinazio hauen fabrikazio erraza ahalbideratzen du.

Polipildoren abantaila nagusia da egun bateko beharrezko sendagai guztiak hartualdi bakarrean hartu daitezkeela. Hori dela eta, egunean zehar ez dira pilula gehiagorik hartu behar, eta, beraz, ez da hain probablea sendagaia hartzea ahaztea. Ondorioz, medikamentuaren eta tratamenduaren eraginkortasuna handitu egiten da.

3D inprimaketa funtsezkoa izan liteke polipildorak produzitu eta dosi bakarrean oinarritutako farmakoen fabrikazio metodo tradizionalak ordezkatzeko, eta banaka garatutako eta diseinatutako sorta txikiak fabrikatzeko. Horrek aukera emango luke produktu medikoak momentuan egokitze eta, behar litzatekeen kasuetan, medikamentuak osasun zentroetan produzitzeko<sup>10, 11</sup>.

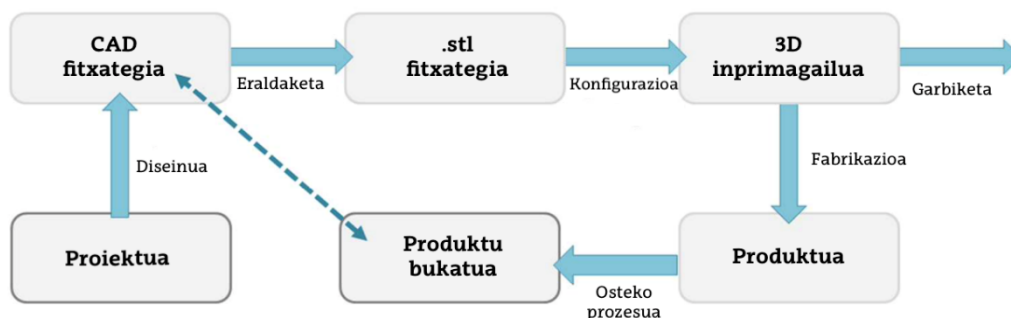
3D-ko inprimaketa edozein formako objektu solidoak sortzeko aukera ematen du, eredu digital batetik abiatuz eta geruzaz-geruza materiala gehituz<sup>12</sup>. Ohiko fabrikazio metodoak ez bezala, teknika honek materialak xahutu gabe eta hondakinik sortu gabe ekoizteko aukera ematen du; horrek hondakinen kudeaketa eta fabrikazio kostuak murriztea dakar.

3D inprimaketak (substratuaren izaeragatik, deposizio-moduagatik, geruzak eratzeko mekanismoagatik, erabilitako inprimagailuagatik eta azken produktuaren ezaugarriengatik) elkarren artean desberdinak diren teknika batzuk biltzen ditu, zazpi kategoriatan sailka daitezkeenak<sup>13</sup>:

1. Fotopolimerizazioa depositoan (*Vat photopolymerization, VP*)
2. Materialaren proiektzioa (*Material Jetting, MJ*)
3. Aglutinatzailearen proiektzioa (*Blinder Jetting, BJ*)
4. Hauts-ohearen fusioa (*Powder Bed Fusion, PBF*)
5. Materialaren estrusioa (*Material Extrusion, ME*)
6. Energiaren depositazio zuzena (*Direct Energy Deposition*)
7. Orrien ijezketa (*Sheet Lamination, SL*)

Ikerketa lan honetan, materialaren estrusioa erabili da polipildorak sortzeko. Metodo honen barruan, bi teknika desberdin bereizten dira pastillak produzitzeko erabilitako materialaren egoeraren arabera: material-urtzearen bidezko modelaketa (*Fused Deposition Modelling, FDM*) eta estrusio likidoa (*Direct Ink Writing, DIW*). FDM teknikan, materiala filamentu egoeran aurkitzen da; beraz, objektua eraikitzeke filamentua urtu eta bokilatik bideratzen da 3D inprimagailuaren ohera iritsi aurretik. DIW teknikan, aldiz, materiala likido likatsu (tinta izenaz ezaguna) egoeran dago eta xiringaren enbolotik bultzatzen da bokilatik atera eta ohean depositatzeko. Azken teknika hau erabili da polipildorak lortzeko, tinta bezala almidoi gelatinizatua erabili delarik.

Erabiltzen den teknika edozein dela ere, 3D inprimaketa-prozesuek urrats komunak izan ohi dituzte: Ordenagailuz lagundutako diseinuaren (*computer-aided design, CAD*) fitxategiaren sorrera, .stl fitxategira eraldaketa, fitxategiaren transferentzia ekipora, inprimagailuaren parametroaren optimizazioa eta objektuaren fabrikazioa eta garbiketa<sup>11</sup> (ikus 3. Irudia). Objektuaren azken diseinuan edozein aldaketa egiteko, dagokion CAD fitxategia aldatu behar da.



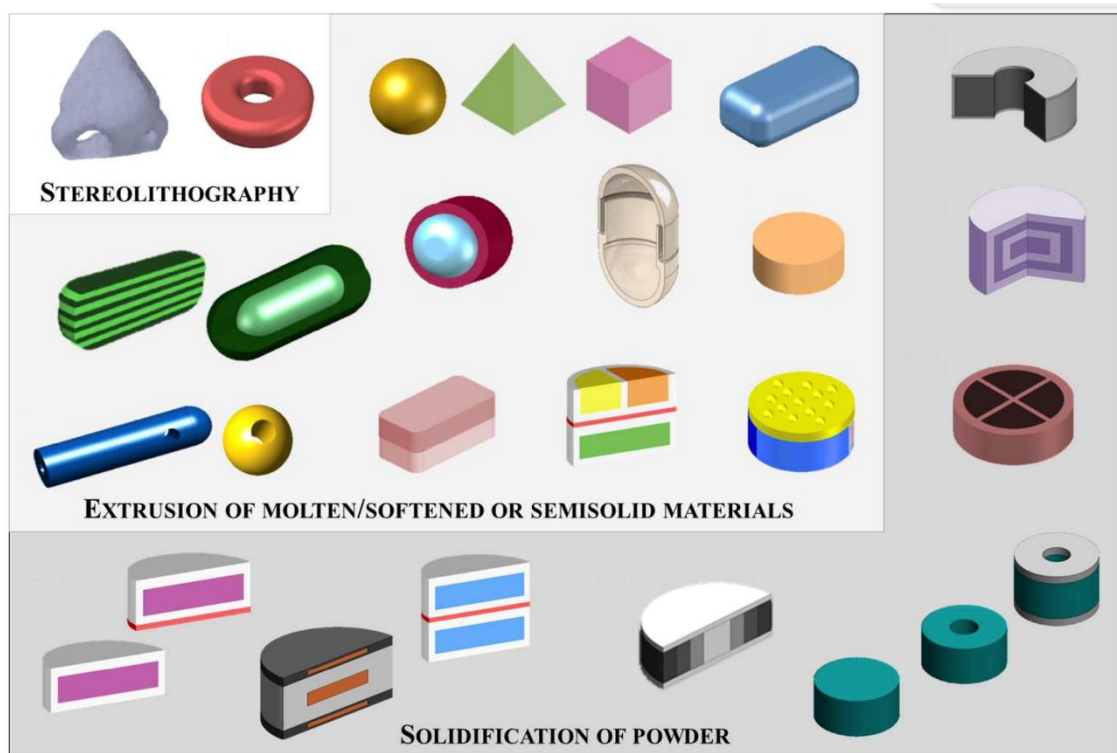
### 3. Irudia. 3D inprimaketa prozesuaren urrats arruntak.

Osasun arloan, 3D inprimaketa medikuntza pertsonalizatuaren kontzeptuarekin bat garatu da, gero eta arreta handiagoa erakarriz. Medikuntzaren esparruan, kirurgialariak izan ziren lehenak 3D inprimaketa teknika erabiltzen. Aditu hauek, teknika hau erabili ohi dute pazienteen eredu tridimentsionalak sortzeko, haien anatomia hobeto ikusteko eta ebakuntza konplexuak aldeztatik praktikatzeko<sup>14</sup>. Baina azken urteetan, 3D inprimaketa teknika medikuntzako beste esparruetara zabaldu da, esaterako pazienteei egokitutako farmazia-produktuak fabrikatzeko erabiltzen hasi da<sup>11, 15, 16</sup>.

Neurrira egindako farmakoen eskuragarritasuna, bereziki interesgarria da, farmakoaren dosia pertsonalizatzeko, terapia anitzetan sendagaiak batera emateko edo intolerantziatan inplikaturako eszipienteei espezifikoen erabilpena saihesteko. Pazienteari egokitutako produktuak haurrentzat eta adinekoentzat dira bereziki interesgarriak.

Ekonomiaren ikuspuntutik, medikuntza pertsonalizatua, eta batez ere 3D inprimaketa, osasun sistemaren gastuak murrizteko baliabide interesgarria da. Ekoizpen industrialaren ikuspuntutik, 3D inprimaketak etengabeko fabrikazioa ahalbideratzen du, gaur egun interes handikoa, ondorengo ekoizpena nabarmen sinplifikatuz. Teknika hau erraz molda daiteke lote txikien fabrikaziora ez ezik, lote handien fabrikaziora ere, inprimagailu gehiago paraleloan lan eginez edo inprimaketa-iturri anitz dituzten ekipamenduak diseinatuz<sup>14</sup>.

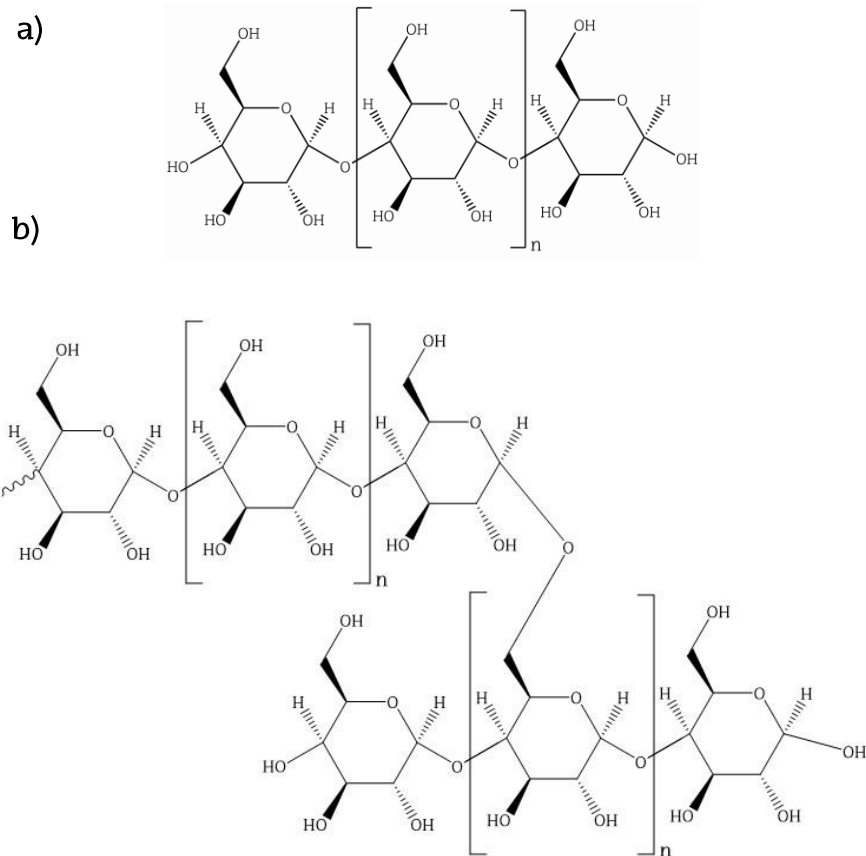
4. Irudian, 3D inprimagailu bidez literaturan proposatutako hainbat produktu farmazeutiko aurkezten dira. Bertan, argi ikus daiteke, diseinuaren eta konposizioaren aldetik lortu daitezkeen aukera ugariak<sup>15, 17, 18, 19</sup>.



4. Irudia. Literatura zientifikoa proposatutako 3D bidez inprimatutako droga-produktuak<sup>19</sup>.

### 1.3 Almidoia

Almidoia naturan aurkitzen den bigarren biomasa ugariena da; landareen sustraietan, zurtoinetan eta hazietan sortzen dena. Almidoia, naturan, granulu disolbaezin eta erdi-kristal gisa aurkitzen da. Bi dira bere osagai nagusiak: amilosa eta amilopektina. Amilosa (1-4)-d-glukopiranosita unitatez osatutako polisakarido lineala da (5. Irudia a)); eta amilopektina, aldiz, (1-4) eta (1-6)-d-glukopiranosil loturez eratutako polimeroa da (5. Irudia b)). Amilosa/amilopektina erlazioa almidoiaren jatorri botanikoaren menpekoa da. Ondorioz, almidoi mota bakoitzak berezko propietateak ditu; hala nola, amidoi-granuluen tamaina eta geometria, kristalinitate mota eta gelatinizazio tenperatura ( $T_G$ )<sup>20, 21</sup>.



5. Irudia. a) Amilosaren eta b) Amilopektinaren egitura kimikoak.

Ikerketa lan honetan arto almidoi normala, *waxy* arto almidoia eta patata almidoia erabili dira. 1. Taulan ikusten den bezala, arto almidoi normalak, % 10-30 amilosarekin, % 14-39ko kristalinitate maila du; eta *waxy* amidoiak, aldiz, % 23-25eko kristalinitate maila. Patata-almidoia, berriz, % 20-30eko amilosarekin, % 38ko kristalinitasun-maila du.

Almidoien portaera desberdinak alderatzeko orduan granuluen morfologia ere parametro garrantzitsua da. Arto almidoi normala eta *waxy* almidoien kasuan, granulak 10-20  $\mu\text{m}$ -koak dira, eta forma esferikoa dute. Patata almidoien kasuan, aldiz, granulak 20-80  $\mu\text{m}$ -koak dira eta forma elipsoidala dute. Granulu tamaina handiak eta forma irregularrak  $T_G$  balioaren txikitzea dakar, patata almidoia izanik  $T_G$  baxuena duen almidoia (64,0 °C), ondoren arto-almidoi normala (70,3 °C) eta azkenik *waxy* arto almidoia (74,6 °C).

## 1. Taula. Arto almidoi normalaren, waxy amidoiaren eta patata almidoiaren ezaugarriak.

Almidoi mota	Amilosa kopurua (%)	Kristalinitate maila (%)	T <sub>G</sub>	Granuluen forma	Granuluen tamaina (μm)
Arto normala	10-30 <sup>23</sup>	14-39 <sup>23</sup>	69,8-71 <sup>22</sup>	Esferikoa <sup>22</sup>	10-20 <sup>22</sup>
Waxy	Trazak <sup>22</sup>	23-25 <sup>23</sup>	72,2-74,4 <sup>22</sup>	Esferikoa <sup>22</sup>	10-20 <sup>22</sup>
Patata	20-30 <sup>23</sup>	~38 <sup>23</sup>	64,3-65,1 <sup>22</sup>	Elipsoidal <sup>22</sup>	20-80 <sup>22</sup>

### 1.1.2 Gelatinizazioa

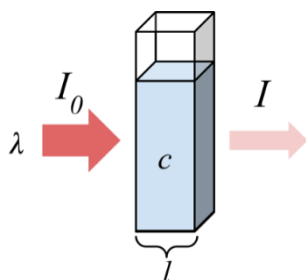
Almidoia polimero oso hidrofiliakoa da eta puzte-maila handia erakusten du ingurune urtsuan. Horrela, almidoia uraren presentzian berotzen denean, almidoi granuluek fase itzulezineko trantsizioa jasaten dute, gelatinizazioa izenekoa, zeinetan almidoiaren egitura ordenatua eraldatu egiten den. Berotzean, ura lehenik eskualde amorfoetan sartzen da, horiek hedatuz eta indar apurtzaileak igaroz eskualde kristalinoetara. Aldaketa hauekin batera, granulak puztu eta hautsi egiten dira, eta, horren ondorioz, likatasuna handitzen da. Erretrogradazioa deritzon prozesuan, aldiz, amilosa kateen birkristalizazioa elkarketa dakar hasierako faseetan, eta epe luzeagoan eta neurri txikiagoan amilopektinaren birkristalizazioa<sup>22</sup>.

### 1.4 Ultramore-ikuskor espektroskopia

Gaur egun, ultramore-ikuskor espektroskopia (UV-Vis espektroskopia) konposatu organikoen identifikaziorako eta kuantifikaziorako gehien erabiltzen den teknika espektroskopikoa da<sup>24</sup>.

UV-Vis espektroskopian, lagin batek argiari nola erantzuten dion aztertzen da. Argi-izpi bat substantzia edo disoluzio batetik igarotzean, argiaren zati bat laginak xurgatzen du eta gainontzekoa transmititu egiten da. Laginera sartzen den argiaren ( $I_0$ ) eta irteten den argiaren ( $I_t$ ) intentsitatearen arteko erlazioari

transmitantzia (T) deritzo (6. Irudia). Askotan, transmitantzia ehunekotan (%T) adierazten da (1. Ekuazioa)<sup>25</sup>.



### 6. Irudia. Transmitantzia eta Lambert-Beer legearen irudikapena.

$$\%T = \frac{I_0}{I_t} \cdot 100 \quad \text{1. Ekuazioa}$$

Laginaren absorbantzia (A), aldiz, transmitantziaren menpe honela kalkulatu daiteke (2. Ekuazioa):

$$A = -\log T \quad \text{2. Ekuazioa}$$

Absortzioa aztertzeko Beer-Lamberten legea erabili ohi da. Lege honek, disoluzio ideal jakin baterako, kontzentrazioaren ( $c$ ) eta absorbantziaren (A) artean erlazio lineala dagoela definitzen du (3. Ekuazioa)<sup>25</sup>.

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad \text{3. Ekuazioa}$$

non  $\varepsilon$ , absortibitate molarra, molekula bakoitzaren konstante bat den uhin-luzera bakoitzerako, eta  $l$  argiaren bidea edo erabilitako kubetaren zabalera den.

UV-Vis espektrofotometroetan, laginak absorbatu ez duen erradiazioa, hau da, transmitantzia detektatu eta erregistratzen da, eta absorbantzia balioak adierazten dira. Lortutako absorbantzia balioak erradiazioaren uhin-luzerarekiko irudikatuz, laginaren espektroa lortzen da. Ultramore-ikuskor espektroak 190-700 nm-koak dira; ultramore tarteak 190-400 nm-koa eta ikusgai tarteak 400-700 nm-koa izanik<sup>24</sup>. Irudikapen horretan oinarrituz, laginaren analitoak identifikatu eta kuantifika daitezke.



## 1.5 Kimiometria

Kimiometria matematikaz, estatistikaz eta logika formalaz baliatzen den kimikaren zatia da, prozedura esperimental optimoak diseinatzeko, informazio kimiko garrantzitsua emateko seinale analitikoaren analitiko abiaturata eta sistema kimikoen ezagutza eskuratzeko<sup>26</sup>. Beraz, kimiometria seinale analitikoak eta datu konplexuak informazio bihurtzen dituzten prozesu guztiei deritza<sup>27</sup>.

Ikerketa kimiko askotan, espezie baten edo gehiagoren kontzentrazioa sistemaren neurtutako sistemaren propietateetatik abiaturata kalkulatu behar da. UV-Vis espektroskopian, erradiazio elektromagnetikoaren xurgapena, uhin-luzera zehatz batean, Beer-Lambert legearen (3. Ekuazioa) bidez kontzentrazioarekin erlazionatzen da. Normalean, absorbitate molarrek ez daude ondo karakterizatuta, eta zuzenketak egin behar dira laginean dauden eta argia xurgatzen duten beste espezie batzuentzat. Hori dela eta, sistema kalibratzen da intereseko espezieak, kontzentrazio ezagunetan, dituzten lagin batzuen absorbantzia neurtuz. Horrela, neurtutako propietatearen eta kontzentrazioaren arteko erlazioa identifika daiteke.

Hainbat espezie dituzten laginen kasuan, arazoa areagotu egiten da, sisteman uhin-luzera jakin batean xurgatzen duten hainbat osagai egon daitezkeelako. Sistemaren propietateak, sistema horretan funtsezko efektuak adierazten dituen terminoen batuketara lineala da, haztapen-faktore egokiek biderkatuta (4. ekuazioa)<sup>28</sup>.

$$a(\lambda) = \varepsilon_1(\lambda)c_1l + \varepsilon_2(\lambda)c_2l + \dots + \varepsilon_p(\lambda)c_pl \quad 4. \text{ Ekuazioa}$$

4. Ekuazioak arrakasta handia du laginean osagai bakarra dagoenean; baina analito-espezie askotarako, arazo ugari daude, kolinealtasuna, aldameneko uhin-luzeren korrelazioa eta neurketa-erroreak, besteak beste. Beraz, osagaien predikzio hobek egiteko anitzeko kalibratze-metodoa erabili behar da.

Aldagai anitzeko kalibratze-metodoak oso erabiliak dira, metodo analitiko arrunt askok espezie anitzen analisia ematen dutelako. Metodo hauetan, osagai bakoitzaren kantitateak ezagutzen diren eta hainbat propietate neurtu diren nahasketa batzuk daude<sup>28</sup>. Metodo hauen artean, eta minimo karratu partziala bidezko erregresioa (*Partial Least Squares Regression*, PLS) dago, bere oinarria osagai nagusien analisia (*Principal Component Analysis*, PCA) izanik.

### 1.5.1 Osagai nagusien analisia (*Principal Component Analysis, PCA*)

Osagai nagusien analisia datu-multzo handiak aztertzeke dimentsio/ezaugarri ugari dituen teknika ezaguna da, datuen interpretagarritasuna areagotuz, informazio kopuru handiena gordez eta datu dimentsio anitzeko bistaratzea ahalbidetuz. Formalki, PCA datu multzo baten dimentsioa murrizteko teknika estatistiko bat da. Hau datuak koordenatu-sistema berri batean eraldatze linealaren bidez lortzen da, non datuen aldakuntz hasierako datuak baino dimentsio gutxiagorekin deskribatu daitekeen. Ikerketa askok lehen bi osagai nagusiak erabiltzen dituzte datuak bi dimentsiotan irudikatzeko eta lotura estua duten datu-puntuak multzoak bisualki identifikatzeko<sup>29</sup>.

### 1.5.2 Minimo karratu partzial bidezko erregresioa (*Partial Least Squares Regression, PLS*)

PLS osagai nagusien erregresioarekin erlazionatuta dagoen metodo estatistikoa da; baina erantzun aldagaiaren eta aldagai independenteen arteko bariantza maximoko hiperplanoak aurkitu beharrean, erregresio lineal bat aurkitzen du aurreikusitako aldagaiak eta aldagai behagarriak espazio berri batera proiektatuz. X eta Y datuak espazio berrietara proiektatzen direnez, PLS ereduak faktore eredu bilineal gisa ezagutzen dira.

Karratu txikiaren erregresio partziala bi matrizeen (X eta Y) arteko oinarritzko erlazioak aurkitzeko erabiltzen da. PLS eredu bat X espazioan dimentsio anitzeko zentzua aurkitzen saiatzen da, Y espazioan dimentsio anitzeko bariantza maximoaren norabidea azaltzen duena<sup>30, 31</sup>.

## 2. HELBURUAK

---

Ikerketa lan honek lau helburu nagusi ditu. Lehenengo helburua osagai aktibo desberdinekin kargatutako polipildorak garatzea izan da, 3D inprimaketa teknika bidez. Horretarako, jatorri botaniko ezberdineko almidoiak erabili dira eszipiente modura, zehazki arto almidoi normala, waxy arto almidoia eta patata almidoia; eta bi osagai aktibo desberdin, azido azetil salizilikoa eta paracetamol hain zuzen ere.

Bigarren helburua, garatutako polipildoretako osagai aktiboen askapena, kuantifikatzea izan da ultramore-ikuskor espektroskopiaren bitartez.

Hurrengo helburua azido azetilsalizilikoaren degradazioa aztertzea izan da ultramore-ikuskor eremuan duen absorbantziaren baliatuz.

Ikerketa lan honen azken helburua azido azetilsalizilikoa, azido salizilikoa eta paracetamol nahastean determinaziorako UV-Vis metodo bat optimizatzea izan da.



# 3. ATAL ESPERIMENTALA

---

## 3.1 Erreaktiboak

Ikerketa lan honetan, guztira sei erreaktibo desberdin erabili dira.

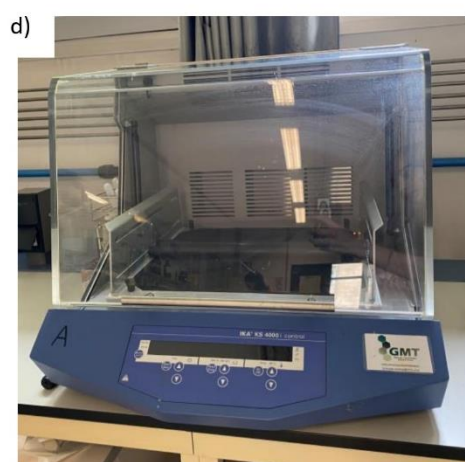
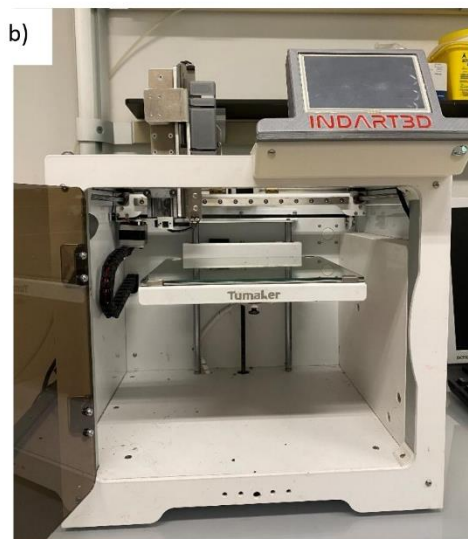
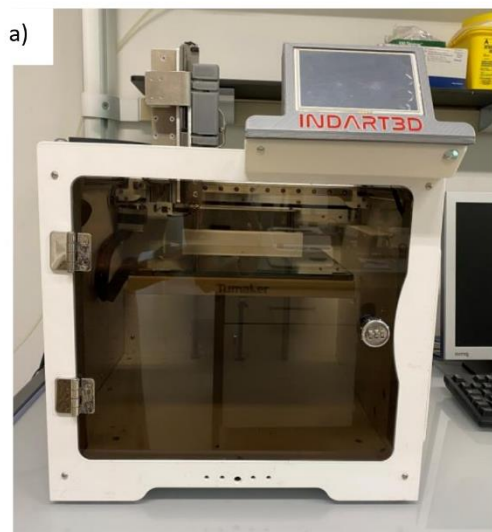
Alde batetik, eszipiente modura, hiru almidoi mota desberdin erabili dira, konkretuki arto almidoi normala (Sigma-Aldrich), patata almidoia (Sigma-Aldrich) eta waxy arto almidoia (Sigma-Aldrich). Eszipiente hauek kolore zuriko hautsak dira.

Bestetik, erabilitako osagai aktiboak azido azetilsalizilikoa (Panreac) eta paracetamola (Honeywell Fluka) izan dira. Bestalde, aspirinaren degradazioaren ondorioz sortutako azido saliziliko aztertu ahal izateko, azido salizilikoa (Panreac) ere erabili da ikerketa honetan. Hiru osagai hauek kolore zuriko hautsak dira eta disolbagarritasun altua dute PBS disoluzioetan.

Sei erreaktibo horiez gain, disoluzio guztiak prestatzeko eta medikamentuen askapen prozesua aurrera eramateko, fosfato gatz tanpoi (*Phosphate Buffered Saline*, PBS) pastillak (Panreac) eta ur distilatua erabili da.

## 3.2 Ekipamendua eta softwareak

Gelatinizazioa egiteko RET basic IKAMAG® plaka berogailua erabili da. Pastillak produzitzeko Voladora 3D printer inpresora (7. Irudia a) eta b)) eta Nx-Syringe programa erabili dira, eta lortutako pastillak liofilizatzeko Telester Lyoquest liofilizadorea (7. Irudia c)). Laginen karakterizaziorako, Fisherbrand kalibrea erabili da hauen dimentsioak neurtzeko, eta IKA® KS 4000 i control inkubadora (7. Irudia d)) medikamentuen askapena egiteko. Osagai aktiboen absorbantzia neurtzeko eta espektroak irudikatzeko T92+ UV spectrophotometer espektrofotometroa (7. Irudia e)), kuartzozko kubetekin, eta UVWin programa erabili da. Lortutako datu guztien tratamendua egiteko Microsoft® Excel® 2019 programa eta The Unscrambler-X softwarea erabili dira.



7. Iruia. a) Voladora 3D printer inpresora, b) Voladora 3D printer inpresora atea irekita, c) Telester Lyoquest liofilizadorea, d) IKA® KS 4000 i control inkubadora eta e) T92+ UV spectrophotometer espektrofotometroa.

## 3.3 Prozedura esperimentalak

### 3.3.1 Ultramore-ikuskor espektroskopia bidezko neurketak

Analisi kimikoa egin ahal izateko, lehenik, bi osagai aktiboen eta azido salizilikoaren absorbantzia neurtu da ultramore-ikuskor eremuko tarte zabal batean, hauek zein uhin-luzeretan absorbatzen duten ezagutzeko. Horretarako konposatu bakoitzeko  $10^{-2}$  M,  $10^{-3}$  M eta  $10^{-5}$  M-eko disoluzioak prestatu dira, disolbatzaile bezala ur destilatua erabiliz. Beraz, guztira, 9 disoluzio prestatu eta hauen absorbantzia neurtu dira 190-900 nm tartean, ultramore ikuskor espektrofotometroa erabiliz.

### 3.3.2 Matricea eta kalibrazio zuzena

Denbora konkretu bakoitzean askatutako osagai aktibo kopurua kuantifikatzeko, hiru osagaien PLS kalibrazio bat eraiki da. Horretako, azido azetil salizilikoa, parasetamol eta azido saliziliko osatutako 42 puntuko matrizea eraiki da, azido azetilsalizilikoaren eta parasetamolaren kontzentrazio tartekak  $1,5 \cdot 10^{-5}$ - $10 \cdot 10^{-5}$  M-ekoak izanik, eta azido salizilikoarenak  $0,5 \cdot 10^{-5}$ - $6 \cdot 10^{-5}$  M tartekoak. Matricearen puntu guztien absorbantzia neurtu da UV-Vis espektrofotometroan 190-400 nm tartean. 42 puntu horietatik 32 puntu erabili dira kalibrazioa egiteko, eta gainontzeko 10 puntuak kalibrazioa balidatzeko.

### 3.3.3 Pastillen lorpena

Pastillen fabrikazioa hiru urrats desberdinetan banatzen da: tintaren prestaketa, piezen 3D inprimaketa eta hauen liofilizazioa.

Lehenik, almidoi tinten prestaketa burutu da gelatinizazio bidez. Horretarako, 10,5 g almidoi eta 35 mL ur destilatu nahastu dira, eta nahastea dagokion gelatinizazio tenperatura optimoan berotu eta irabiatu da prozesua guztiz eman arte. Gelatinizazio tenperatura jatorri botanikoaren menpekoea denez, almidoi-granuluen domeinu kristalinoen suntsipena bermatzeko helburuz, almidoi mota bakoitzaren gelatinizazio tenperatura desberdin batean burutu da: arto almidoi normalarentzat eta waxy arto almidoiarentzat  $90$  °C-tan eta patata almidoiarentzat  $80$  °C-tan. Gelatinizazioa amaitzerakoan, lortutako

gelaren 8 g hartu, eta bi osagai aktiboak gehitu dira; azken hauen kontzentrazioa 5 mg/g gel izanik. Jarraian, 3D inprimagailuan piezak inprimatzeko erabiliko den xiringa osagai aktiboak dituen gelarekin betetzen da. Xiringa barruan materialak burbularik ez duela ziurtatu behar da.

Piezak 3D inprimaketa teknikaren bitartez lortzeko, lehenik Voladora 3D printer inprimagailuan xiringa dagokion tokian modu egokian kokatu behar da. Ondoren, ordenagailuko Nx-syringe aplikazioaren bitartez, inprimatu nahi den geometria aukeratu eta beharrezko aginduak inpresorara bidaltzen dira inprimaketa prozesua hasteko. Ikerketa lan honetan, geometria zilindrikoko piezak inprimatu dira; hauen diametroa 10 mm eta altuera 5 mm izanik. Pastillak inprimatzen hasi aurretik, bestelako arazoak saihesteko, xiringaren punta ondo beteta dagoela eta aire burbularik ez duela baieztatu behar da. Programa bukatzerakoan, lortutako pieza hozkailuan gorde dira liofilizatu aurretik.

Piezen fabrikazioaren atal esperimentalarekin bukatzeko, hozkailuan gordeta dauden piezak liofilizatu dira bi egunehi 0,1 mbar eta 80 °C-ko baldintzetan. Liofilizatutako pastillak lehorgailuan gorde dira karakterizazioa burutu arte.

## **3.4 Karakterizazioa**

### **3.4.1 Piezen dimentsioak**

Pastillen askapena egin aurretik, 3D inprimagailuaren bitartez lortutako pieza guztien dimentsioak neurtu dira Fisherbrand kalibrearekin; zehazki, hauen diametroa eta altuera.

### **3.4.2 Piezen masak**

Piezen dimentsioak neurtzeaz gain, liofilizatutako pastilla guztien masa neurtu da balantza analitiko batean, hauen askapena burutu aurretik.



### 3.4.3 Osagai aktiboen askapena

Pastillen askapena egin aurretik liberazio ingurunea prestatu da. Horretarako, almidoi pastilla bakoitzeko, 100 mL PBS disoluzio jarri dira matrize aforatu bakoitzean, eta matrize guztiak 37 °C-tan eta inkubadoran sartu dira 10 minutuz. Denbora hori igarotzerakoan, matrize bakoitzean almidoi pastilla bat sartu da osagai aktiboen askapena hasteko. Osagai aktiboen askapena ematen ari den bitartean, inkubadoraren baldintzak 37 °C-tan eta 150 rpm-ko abiadura mantendu dira.

Liberazioan zehar, 1 mL-ko hainbat alikuota hartu dira denbora desberdinetan. Patata almidoiez eta waxy arto almidoiez egindako pastillen kasuan, 0, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300, 360 eta 1440 min-etan hartu dira alikuotak; eta arto almidoi normalaz egindako pastilletan, aldiz, 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 eta 1440 min-etan. Liberazioa beti bolumen konstante batean emateko, ateratako alikuota bakoitzeko 1 mL PBS disoluzio gehitu dira. Alikuotetan azido azetilsalizilikoaren degradazioa ekiditeko, alikuota guztiak hozkailuan gorde dira hauen absorbantzia neurtu arte.

Bildutako alikuota guztien absorbantziak UV-Vis espektrofotometroan eta 190-400 nm tartean neurtu dira. Lortutako emaitzak PLS modeloetan sartu dira denbora konkretatu horietan osagaien kontzentrazioa ezagutzeko. Azkenik, denbora tarte guztietan metatutako osagaien askapena kalkulatu da 5. Ekuazioaren bitartez.

5. Ekuazioa

$$\text{Metatutako askapena (\%)} = \frac{m_t}{m_0} \cdot 100$$

non  $m_t$  t denboran askatutako osagaiaren masa metatua den eta  $m_0$  kargatutako osagaiaren masa totala.

### 3.4.4 Metodoaren balidazioa

PLS ereduaren prezisioa eta zehaztasuna kalkulatzeko, matrizearen hiru puntu desberdin aukeratu dira; konkretuki, 10, 18 eta 22. puntuak. Hiru puntu hauen hiru erreplika egin dira eta bi egunetara behin neurtu dira hauen absorbantzia, laginen eta PLS ereduko baldintza berdinetan. Disoluzio guztiak hozkailuan gorde dira neurketak egin aurretik.

Prezisiao neurketa errepikatuen arteko dispersioa da, eta Ikerketa lan honetan prezisiao hiru errepliken desbideratze estandar erlatiboaren (RSD) bitartez adierazi da. Errepliken RSD balioa kalkulatzeko, 6. Ekuazioa erabili da.

$$RSD(\%) = \frac{\sigma}{\bar{x}} \cdot 100 \quad 6. \text{ Ekuazioa}$$

Zehaztasuna, aldiz, hauen berreskurapenarekin. zehaztasuna neurtutako balioaren eta erreferentziako balioaren arteko adostasuna adierazten du. Kasu honetan, berreskurapenaren (7. Ekuazioa) bitartez adierazi da.

$$\text{Berreskurapena } (\%) = \frac{C_{\text{Experimental}}}{C_{\text{Teorikoa}}} \cdot 100 \quad 7. \text{ Ekuazioa}$$

Modeloen ezaugarriak determinatzeko erabiltzen den beste parametro bat detekzio-muga (*Limit Of Determination*, LOD) da. Hau metodo analitiko jakin baten bidez fidagarritasunez detekta daitekeen substantzia baten kuantitate edo kontzentrazio minimoa da. PLS erregresio bidezko modeloen kasuan hainbat proposamen daude detekzio muga kalkulatzeko moduari buruz eta gaur egun ez dago erabateko adostasunik erabili beharreko prozeduraren inguruan. Lan honetan proposamen horietako bat erabili da, hain zuzen ere modeloak auresandako kontzentrazioa eta kontzentrazio teorikoaren arteko irudiari dagokion erregresioaren parametroak erabiltzen dituen<sup>32</sup>. Prozedura honen arabera, PLS modeloarekin kalibratutako laginarentzat auresandako kontzentrazioa kontzentrazio teoriakoaren aurrean irudikatu eta lortutako erregresio zuzenaren parametroak erabiltzen dira detekzio muga kalkulatzeko (8. Ekuazioa).

$$C_{\text{LOD}} = \frac{3,3 \cdot S_{y/x}}{b_1} \quad 8. \text{ Ekuazioa}$$

non  $S_{y/x}$  eta  $b_1$  erregresioaren ohiko errorea eta malda diren.

Azkenik, metodo baten kuantifikazio muga, metodoarekin fidagarritasunez determina daitekeen kontzentrazio txikiena da eta  $3 \cdot C_{\text{LOD}}$  erlazioa aplikatuz kalkula daiteke.

## 4. EMAITZAK ETA EZTABAIDA

---

### 4.1 Pastillen karakterizazioa

#### 4.1.1 Piezen dimentsioak

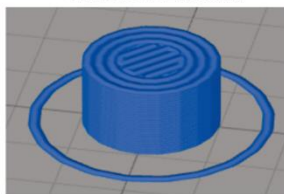
Kargatutako pastillen karakterizazioa egiteko, lehenik hauen dimentsioak neurtu dira. 8. Irudian pastillen lorpenerako erabilitako CAD diseinua eta almidoi mota desberdinekin lortutako pastillak aurkezten dira. Horrez gain, 2. Taulan ikusi daiteke almidoi mota bakoitzarekin egindako piezen diametro eta altuerak, eta hauen batz besteko balioak desbideratze estandarrekin erakusten dira.

8. Irudia eta 2. Taulako datuak aztertuz gero, ikus daiteke erabilitako almidoi motaren arabera, lortutako pastillen forma eta dimentsioak desberdinak direla. Hortaz, ondorioztatu daiteke almidoiaren jatorri botanikoak eragina duela tintaren inprimagarritasun eta formaren fideltasunean, eta ondorioz pastillen dimentsio eta forman.

Hiru almidoi motekin lortutako piezak aldaratuz gero, arto almidoi normalekin egindakoak dira CAD diseinura gehien hurbiltzen direnak forma eta tamaina aldetik. *Waxy* almidoiaren kasuan ere, jatorrizko forma zilindrikoa ondo mantentzen da, eta dimentsioak jatorrizko diseinuaren antzekoak dira; elkarren arteko desberdintasunak ez dira adierazgarriak. Baina patata almidoiaren kasuan, nahiz eta dimentsioak oinarritzko diseinuarekiko oso antzekoak izan, geometria zilindrikotik asko aldentzen da.

Aurretik burututako lanetan ikusi den bezala<sup>22</sup>, piezen forma aldaketa hori, gelatinizazio prozesuaren ondoren lortzen den gelaren propietate erreologikoekin du erlazioa. CAD diseinuari gehien hurbiltzen den piezak eraikitzeke, ezinbestekoa da gelaren likatasuna txikitzea zizaila abiadura handitzen den bitartean. Patata almidoiaren kasuan, likatasun eta izaera itsaskorra handiegiaren ondorioz, inprimaketa prozesua zailagoa da. Horrek eragiten du patata almidoiekin eraikitako piezek forma zilindrikoa galtzea. Era berean, arto almidoi normalaren eta *waxy* almidoiaren kasuan, zizaila abiadura handitzerakoan likatasuna txikitu egiten denez, hauek forma esferikoa mantentzen dute<sup>33</sup>.

**CAD DISEINUA**



**ARTO NORMALA**



**WAXY**



**PATATA**



8. Irudia. CAD diseinua eta almidoi mota desberdinekin lortutako pastillak.

2. Taula. CAD diseinuaren eta almidoi mota desberdinekin osatutako pastillen dimentsioak.

Almidoi mota	Lagina	Diametroa (mm)		Altuera (mm)	
Arto normala	1	9,69	9,71 ± 0,05	5,07	4,94 ± 0,13
	2	9,77		4,81	
	3	9,68		4,93	
Waxy	1	9,36	9,41 ± 0,14	4,97	4,89 ± 0,07
	2	9,30		4,86	
	3	9,56		4,84	
Patata	1	9,64	9,52 ± 0,11	5,72	5,3 ± 0,3
	2	9,44		5,12	
	3	9,48		5,16	
CAD diseinua		10		5	

#### 4.1.2 Piezen masak

Kargatutako pastillen karakterizazioa egiteko, ere, hauen masa neurtu da. 3. Taulan ikusi daiteke almidoi mota bakoitzarekin egindako pastillen masa eta hauen batz besteko balioa desbideratze estandarrekin.

Piezen masari dagokionez, kasu honetan ez dago erreferentziatzko baliorik; baina desbideratze estandarrek aldaratuz gero, ikusi egin daiteke patata almidoiaren kasuan osagai aktiboez kargatutako pastillak elkarren artean antzekoenak direla.

Osagai aktiboak dituen almidoi tinta homogeneoa dela suposatuz, pisu berdineko pieza guztiek osagai aktibo kopuru berdina dutela baieztatu daiteke. Ikuspuntu farmazeutiko batetik, oso garrantzitsua da lote berdinean produzitutako pastilla guztiek osagai aktibo kopuru berdina dutela ziurtatu ahal izatea. Horrela, medikamentuak eskakizunak betetzen dituela konfirma baitaiteke.

#### 3. Taula. Almidoi mota desberdinekin osatutako pastillen masa.

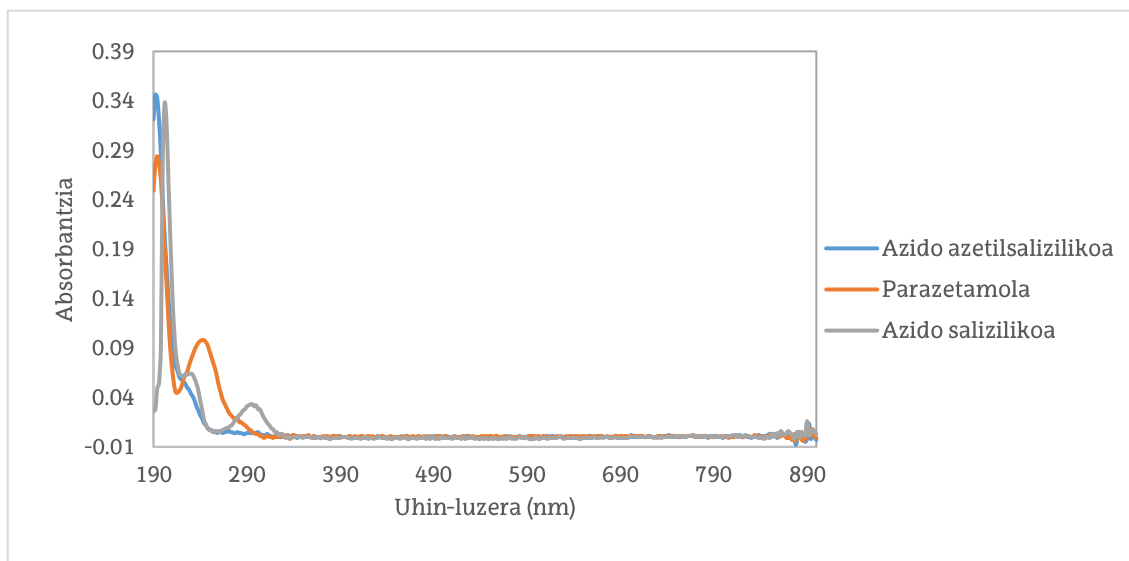
Almidoi mota	Lagina	Masa (g)	
Arto normala	1	0,08857	0,099 ± 0,011
	2	0,09744	
	3	0,10957	
Waxy	1	0,08699	0,090 ± 0,007
	2	0,09753	
	3	0,08522	
Patata	1	0,08570	0,082 ± 0,004
	2	0,07939	
	3	0,07968	

## 4.2 Matrizea eta kalibrazioa

### 4.2.1 Ultramore-ikuskor espektroskopia bidezko neurketak

Azido azetilsalizilikoak, paracetamola eta azido salizilikoak zein uhin-luzeratan absorbatzen duten ezagutzeko, osagai hauen disoluzioak prestatu eta beraien absorbantzia neurtu da ultramore-ikuskor eremuko tarte zabal batean. Hiru osagaien  $10^{-2}$  M eta  $10^{-3}$  M-eko disoluzioak kontzentratuegiak dira, eta T92+ UV spectrophotometer ekipoaren bitartez ezin dira aztertu.  $10^{-5}$  M-eko disoluzioak, aldiz, espektrofotometroaren absorbantzia tarte barruan sartzen dira. 8., 9. eta 10. Irudian ikusi daitezke hiru konposatuen  $10^{-5}$  M-eko disoluzioekin lortutako espektroak.

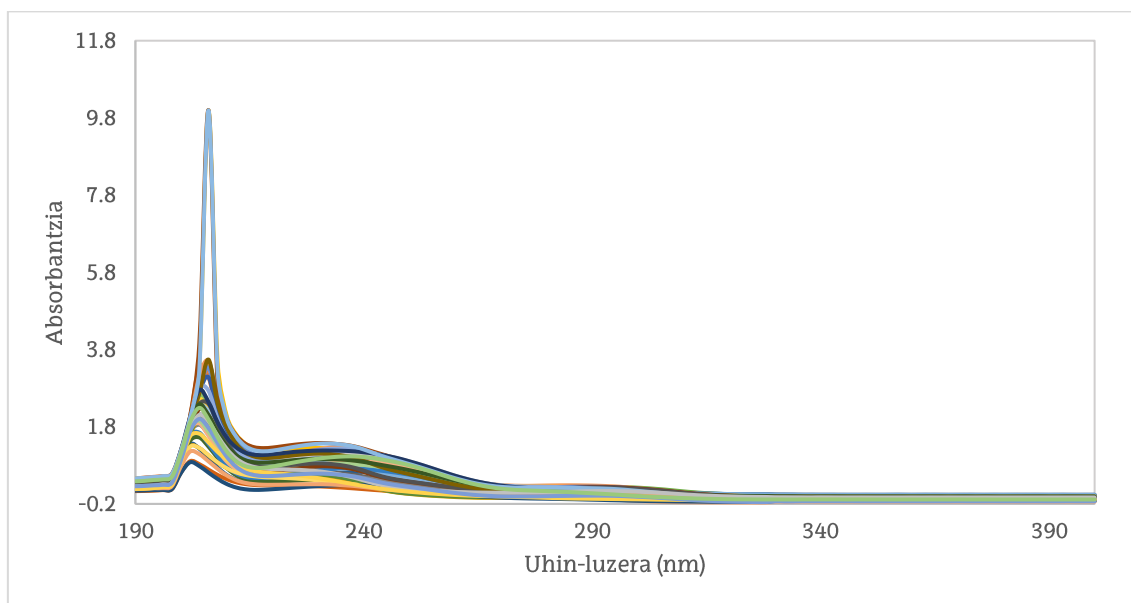
Espektroetan ikusten den bezala, osagai bakoitzak uhin-luzera batean ematen du absorbantzia maximoa: azido azetilsalizilikoak 222 nm-tan, paracetamola 242 nm-tan eta azido azetilsalizilikoak 232 eta 300 nm-tan. Hortaz, matrizea eta kalibrazioa egiteko 212-400 nm uhin-luzera tarte erabili da.



9. Irudia. Azido azetilsalizilikoaren, paracetamolaren eta azido salizilikoaren  $10^{-5}$  disoluzioen espektroa

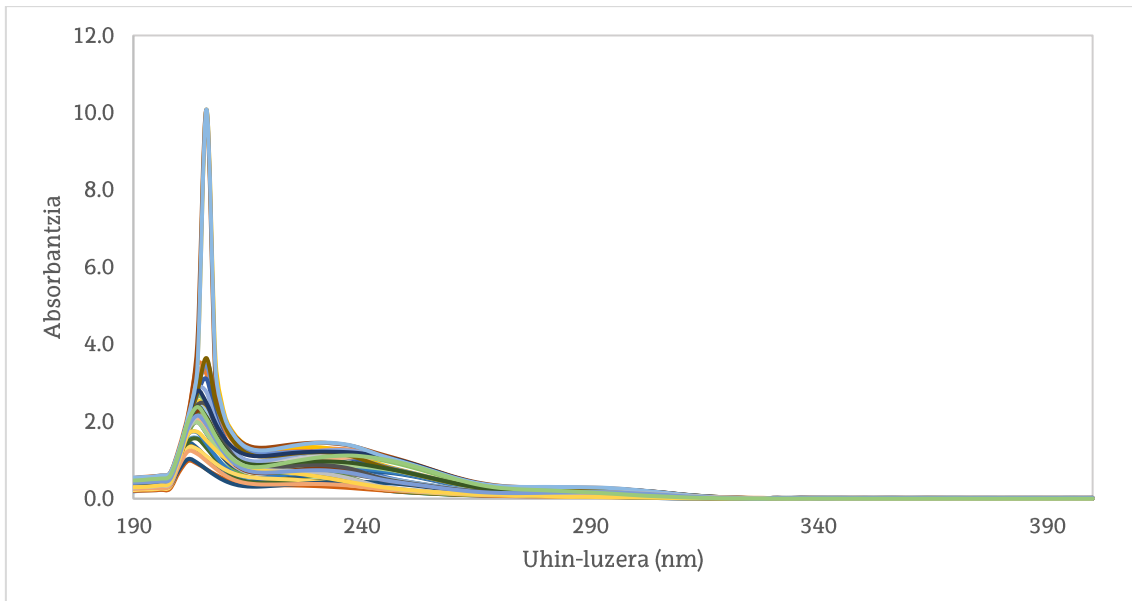
## 4.2.2 Matrizea eta kalibrazioa

Askapenean osagai aktiboen kontzertazioa kuantifikatzeko, azido azetilsalizilikoa, parasetamola eta azido saliziliko osatutako 42 puntuko matrizea eraiki da. 42 disoluzio horien absorbatzia neurtu da 190-400 nm uhin-luzera tartean, eta emaitza bezala 10. Irudiko espektroa lortu da.



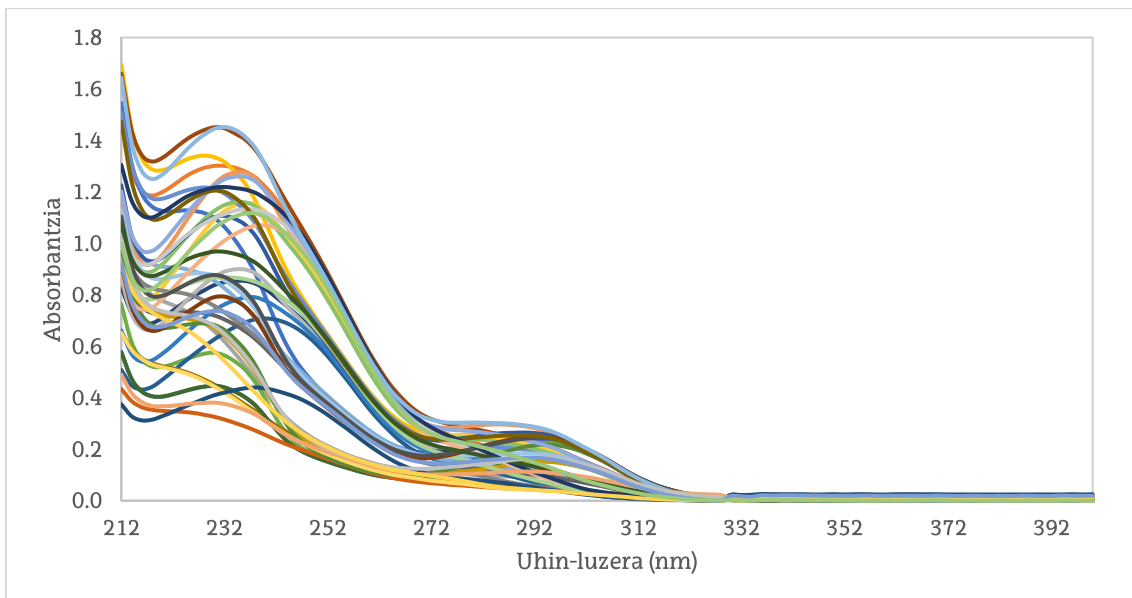
10. Irudia. Matrizearen espektroa oin lerro zuzendu gabe.

11. irudian ikusi daiteke matrizearen puntu guztien abiapuntua ez dela 0; puntu batzuk absorbatzia positiboa dute, eta beste batzuk, aldiz, absorbantzia negatiboa. Matrize efektu hori murrizteko, oin lerroa zuzendu egin da x. irudiko espektroa lortuz.



### 11. Irudia. Matrizearen espektroa oin lerroa zuzenduta.

190-200 nm uhin-luzera tartean hiru osagaiak seinalea ematen dutenez, elkarren artean sortu daitezkeen interferentziak saihesteko, uhin-luzera hauek analisiaren kanpo utzi dira. Hortaz, 12. Irudian ikusi daiteke matrizearen espektroa oin lerroa zuzenduta 212-400 nm uhin-luzera tartean.



### 12. Irudia. Matrizearen espektroa oin lerroa zuzenduta eta 212-400 nm uhin-luzera zuzenduta.



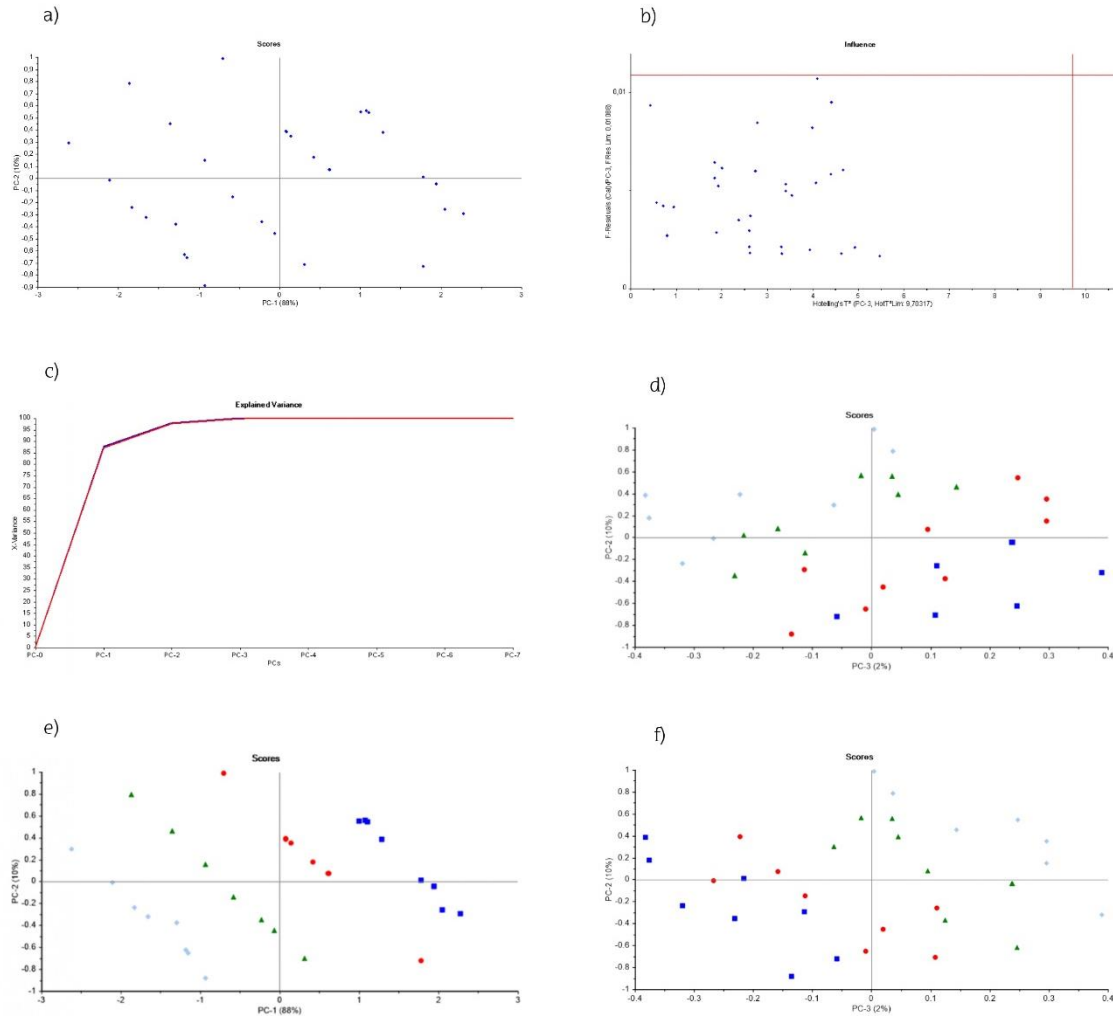
Behin, oin lerro zuzenduta eta 212-400 nm uhin-luzera tartea kontuan hartuta, matrizearen 42 puntuetatik 10 aukeratu dira metodoa balidatzeko, eta gainontzeko 32 puntuekin kalibrazioa egin da. Puntuen aukeraketa hausaz egin da. Kalibrazioaren 32 puntuekin PCA egin, eta x. Irudiko emaitzak lortu dira.

13. Irudia a) irudikapenean PCA-ren *scores* grafikoa ikusi daiteke hiru osagai aktiboak kontuan hartuta. Bertan antzeman daiteke irudikapenak matrizearen forma duela baino inklinatua.

13. Irudiko *Influence* diagrama aztertuz gero, ikusi egin daiteke kalibrazioarako aukeratutako puntu guztiak lauki gorriaren barruan daudela; hortaz, datu guztiak ondo egokitzen dira modelora, eta ez dira daturik ezabatu behar.

*Explained Variance* irudikapenean, aldiz, ikusi egin daiteke lehenengo hiru PC-kin modelo ia bere osotasunean azaltzen duela, gainontzeko PC-ak ekarpen txikiagoa dute.

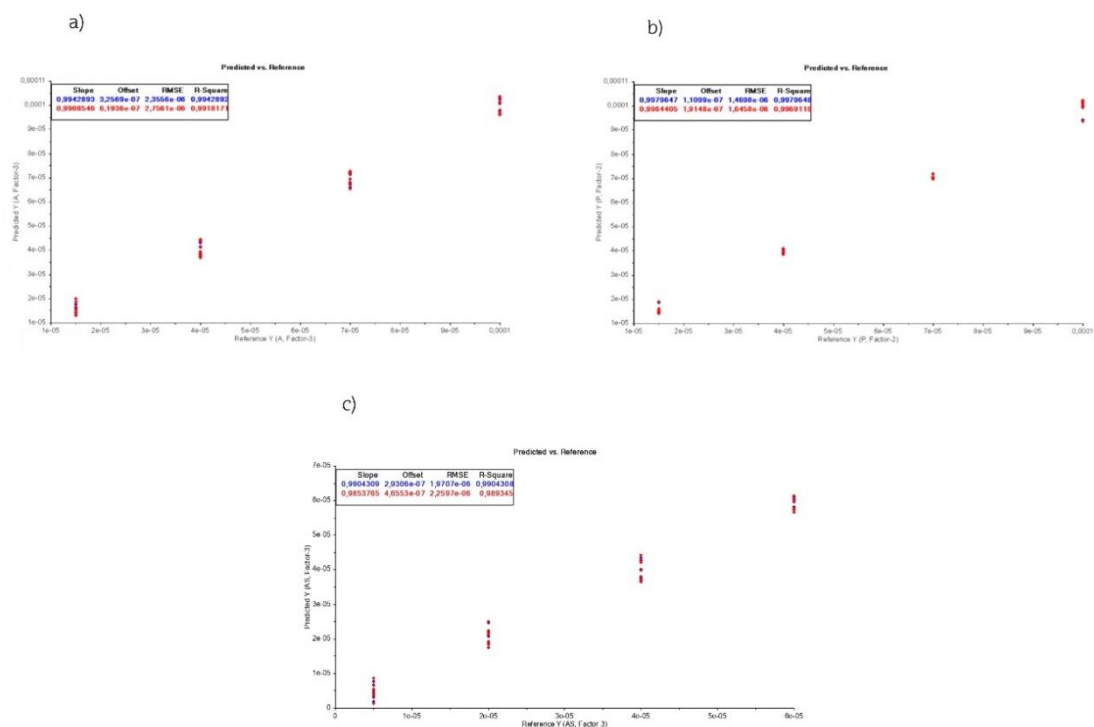
Horrez gain, 13. Irudia d), e) eta f) PCA-ren *scores* grafikoa ikusi daiteke baina azido azetilsaliziliko, parasetamol eta azido saliziliko osagaien arabera hurrenez hurren. Bertan, koloreek osagaiaren kontzentrazioa adierazten dute; beraz, kolore berdineko puntuak osagai horren kontzentrazio berdina daukate. Parasetamolaren kasuan, PC-1 PC-2-ren aurrean erakusten du osagai honen kontzentrazioen arteko erlazioa. Azido azetilsalizilikoaren eta azido salizilikoaren kasuan, aldiz, PC-2 PC-3-ren aurrean erakusten du osagai honen kontzentrazioen arteko erlazioa. Hori dela eta, hiru PC-rekin modeloaren %99-a definitzen da; beraz, bat dator *Explained Variance* irudikapenean lortutako informazioarekin.



13. Irudia. a) Scores orokorra, b) Influence, c) Explained variance, eta scores balioak analito kontzentrazioaren arabera koloreztatuak d) azido azetilsalizilikoa, e) paracetamola eta d) azido salizilikoa.

Jakinda matrizearen puntu guztiak modeloa ondo deskribatzen dutela, hauekin osagai aktibo bakoitzaren PLS egin da, eta emaitza bezala 14. Irudia lortu da. Irudikapen horietan ikusi daiteke irudikatua kalibrazio eta balidazio puntuen kontzertazio esperimentalak, modeloarekin lortutako kontzentrazioen aurrean. Irudikapen horien emaitzak 4. Taulan laburtuta ikusi daitezke. Slope eta  $R^2$  balioak batetik eta Offset zerotik zenbat eta gertuago egon, eta RMSE zenbat eta txikiagoa izan, modeloaren egokitasuna orduan eta hobetago da.

Horrez gain, 4. Taulan ere osagai bakoitzaren PLS modeloa egiteko erabilitako osagai nagusi kopurua agertzen da. Balio hau bat dator PCA-ko scores grafikoan PC konponentekin.



14. Irudia. a) Azido azetilsalizilikoaren b) parasetamolaren eta c) azido salizilikoaren PLS-ko Predicted vs. Reference irudikapenak kalibratio laginentzat.

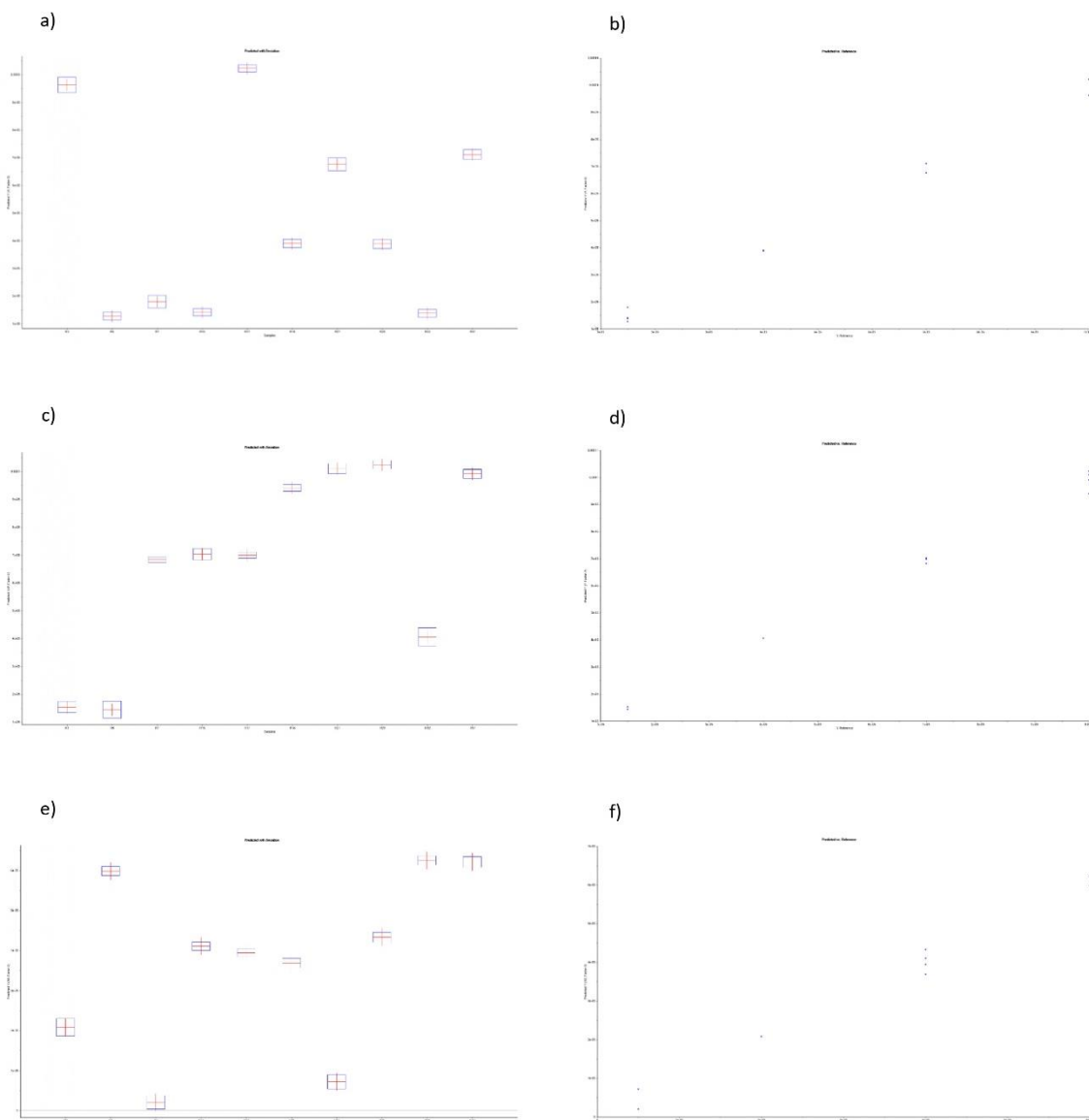
4. Taula. Hiru osagaien PLS-ko Predict vs. Reference irudikapenen emaitzak.

Osagaia		Azido azetilsaliziliko	Parasetamola	Azido saliziliko
<b>Osagai nagusi kopurua</b>		3	2	3
<b>Slope</b>	<b>Kalibratioa</b>	0,9943	0,9980	0,9904
	<b>Balidazio gurutzatua</b>	0,9909	0,9964	0,9854
<b>Offset</b>	<b>Kalibratioa</b>	3,26E-07	1,11E-07	2,93E-07
	<b>Balidazio gurutzatua</b>	6,19E-07	1,91E-07	4,66E-07
<b>RMSE</b>	<b>Kalibratioa</b>	2,36E-06	1,47E-06	1,97E-06
	<b>Balidazio gurutzatua</b>	2,76E-06	1,65E-06	2,26E-06
<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Kalibratioa</b>	0,9943	0,9980	0,9904
	<b>Balidazio gurutzatua</b>	0,9918	0,9969	0,9893

4. Taulako emaitzak aztertuz gero, hiru osagaien emaitzen arteko desberdintasun adierazgarririk ez dagoela ikusi daiteke. Bestalde, balidazioko emaitzak kalibrazioko emaitzekin konparatuz gero, azkeneko hauek balio idealetara gehiago hurbiltzen direla antzeman daiteke.

Horrez gain, balidazio puntuak PLS modeloan sartu dira kalibrazio puntuko aurretratamendu berdinarekin (oin lerroa doituta), eta hauen kontzentrazio esperimentalak lortu dira. 15. Irudian ikusi daiteke balidazioaren 10 puntuen predikazioa egiterakoan The Unscrambler-X softwarea emandako irudikapenak. 15. Irudiko a), c) eta e) irudikapenetan 10 puntuen azido azetilsalizilikoaren, parasetamolaren eta azido salizilikoaren kontzentrazio esperimentalak eta beraien desbideratze estandarrak hurrenez hurren. 15. Irudiko b), d) eta f) irudikapenetan, aldiz, puntuen kontzentrazio esperimentala teorikoaren aurrean grafikaturata agertzen da.

Azido azetilsalizilikoaren eta parasetamolaren kasuan, kontzentrazio esperimentalen eta teorikoen arteko desberdintasuna txikia denez, hauen desbiderazioa ere txikia da. Azido salizilikoaren kasuan, aldiz,  $4 \cdot 10^{-5} \text{M}$ -ko kontzentrazioa duten puntuek elkarren arteko desberdintasun nabariagoak erakusten dute kontzentrazio teoriko eta esperimentalaren artean. Ala ere, desbiderazioa handiegia ez denez, emaitza guztiak ontzat hartu dira.



15. Irudia. a) eta b) azido acetilsalzilikoaren, c) eta d) parasetamolaren, eta, e) eta f) azido salzilikoaren *Predicted with Deviation* eta *Predicted vs. Reference* irudikapenak hurrenez hurren.

#### 4.2.3 Metodoaren balidazioa

Metodoaren prezisioa ezagutzeko, hiru osagaien RSD portzentaiak kalkulatu dira, emaitza bezala 5. Taulako balioak lortuz. *Intra-day* RSD emaitzei dagokionez, hiru osagaientzat  $RSD < 10\%$  da; beraz, metodoa prezisioa da neurketak egun berean eginez gero. *Intra-day* RSD emaitzei dagokionez, aldiz, bakarrik azido acetilsalzilikoak du  $RSD > 10\%$  baino txikiagoko balioa;

gainontzeko bi osagaiak RSD > %10 dute. Hortaz, egun desberdineko neurketak eginez gero, metodo hau bakarrik prezisoa izango da azido azetilsalizilikoaren determinazioan.

#### 5. Taula. Osagai bakoitzaren RSD portzentaiak

RSD (%)			
	Azido azetilsaliziliko	Paracetamol	Azido saliziliko
<i>Intra-day</i>	8,1	7,3	5,8
<i>Inter-day</i>	5,7	14,1	13,7

Neurketak eta kalkuluak egin eta gero, ikusi egin da metodoa balidatzeko prestatutako 18. eta 22. erreplikak gaizki zeudela; kalibrazio ekuaziotik kanpo dagoen azido saliziliko kontzentrazioa dute. Azido salizilikoa gainontzeko bi osagaien absorbantzia eragiten duenez, bi puntu hauekin lortutako emaitzak ez dira guztiz fidagarriak. Ondorioz, 5. Taulako emaitzak metodoaren prezisioari buruzko informazio orientatiboa ematen dute.

Metodoaren zehaztasuna ezagutzeko, aldiz, hiru osagaien berreskurapen portzentaiak kalkulatu dira, emaitza bezala 6. Taulako balioak lortuz. Paracetamolaren kasuan, %101-%107 tarteko berreskurapena lortu da, balio hauek %88-%115 tartean barruan daudenez, metodoa zehatza da paracetamolaren determinazioan. Azido azetilsalizilikoaren eta azido salizilikoaren kasuan, aldiz, %107-%133 eta %111-%130 tarteko berreskurapenak lortu dira hurrenez hurren. Berreskurapen batzuk, azido azetilsalizilikoaren kasuan 18. puntua eta azido salizilikoaren kasuan 10. puntua, mugatik kanpo daudenez, metodoa ez litzateke zehatza izago bi osagai hauen determinazioan.

#### 6. Taula. Osagai bakoitzaren berreskurapen portzentaiak

Berreskurapena (%)			
Puntua	Azido azetilsaliziliko	Paracetamol	Azido saliziliko
10	107 ± 8	101 ± 10	130 ± 26
18	133 ± 16	107 ± 14	115 ± 13
22	111 ± 11	104 ± 22	111 ± 8

Kasu honetan ere, 18. eta 22. erreplikak kalibrazio ekuaziotik kanpo dagoen azido saliziliko kontzentrazioa dute. Hori dela eta, bi puntu hauekin lortutako berreskurapen balioak ezin dira metodoaren zehaztasuna definitzeko erabili. 10. puntuarekin lortutako emaitzetan oinarrituz gero, ondorioztatu daiteke metodoa zehatza dela azido azetilsalizilikoa eta parasetamola determinatzeko laginetan, baina ez azido salizilikoa; izan ere, azken osagai honekin lortutako berreskurapen portzentajea %88-%115 tartetik kanpo dago.

Hortaz, metodoaren prezisioa eta zehaztasuna konkretuki ezagutzeko, hiru erreplikak berriz ere prestatu beharko lirateke, eta hauei dagozkien nurketak eta kalkuluak errepikatu.

Bestalde, modeloaren ezaugarriak determinatzeko erabilitako beste parametro bat detekzio-muga izan da. 7. Taulan ikusi egin daiteke hiru osagaietako determinatu daitekeen kontzentrazio txikiena.

#### 7. Taula. Osagai bakoitzaren LOD balioak.

LOD (M)		
Azido azetilsalizilikoa	Parasetamola	Azido salizilikoa
$8,05 \cdot 10^{-6}$	$5,01 \cdot 10^{-6}$	$6,75 \cdot 10^{-6}$

### 4.3 Osagai aktiboaren askapena

Osagai aktiboaren askapenean zehar bildutako alikuota guztien absorbantziak neurtu dira, eta emaitza hauek PLS modeloetan sartu dira momentu oroko hiru osagaien kontzentrazioak ezagutzeko. Jarraian, denbora tarte guztietan metatutako osagaien askapena kalkulatu da, eta balio horiek alikuotak hatutako denboraren aurrean irudikatu dira. Emaitza bezala, 16. Irudia lortu da.

Parasetamolaren eta azido azetilsalizilikoaren irudikapenak aztertuz gero (16. Irudia a) eta b)), osagaien askapenean almidoiaren jatorri botanikoak duen eragina argi ikusi daiteke. Bi kasuetan, arto almidoi normalarekin lortu da askapen azkarrena; izan ere, almidoi mota hau oso denbora laburrean hautsi egiten da, disolbaturik dituen osagaien bat-bateko askapena eraginez. Beraz,

almidoi mota hau eraginkorra izan daiteke osagai aktiboen efektu azkarra behar den kasuentzako.

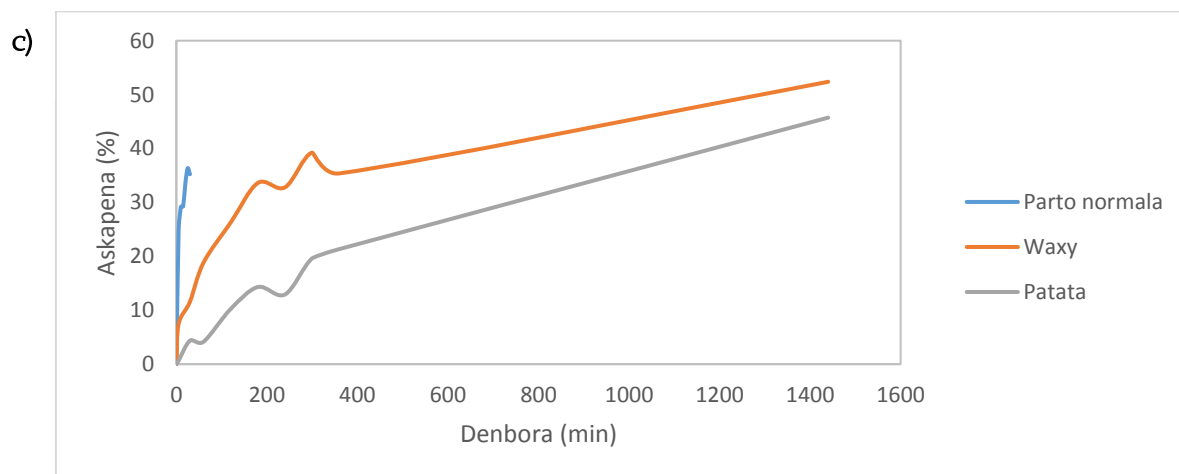
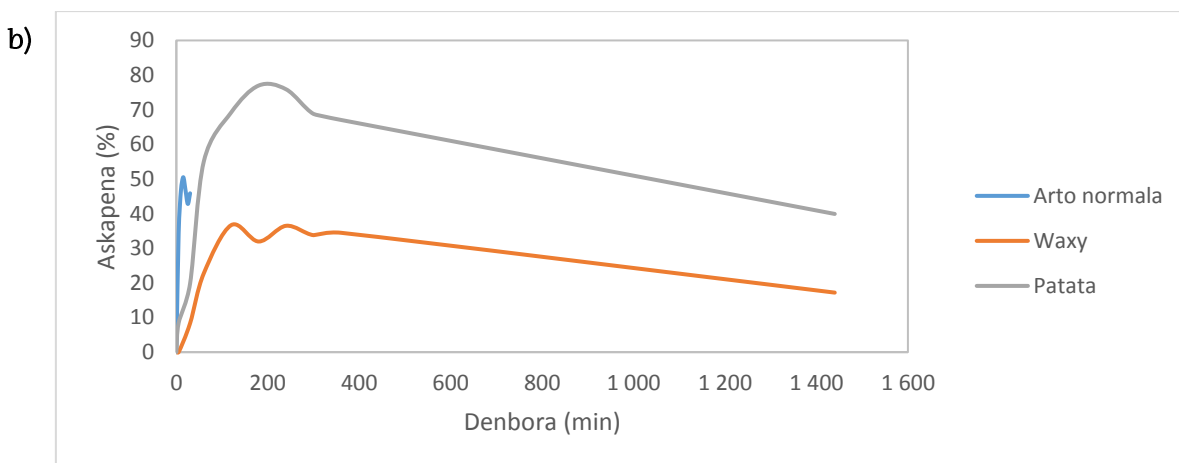
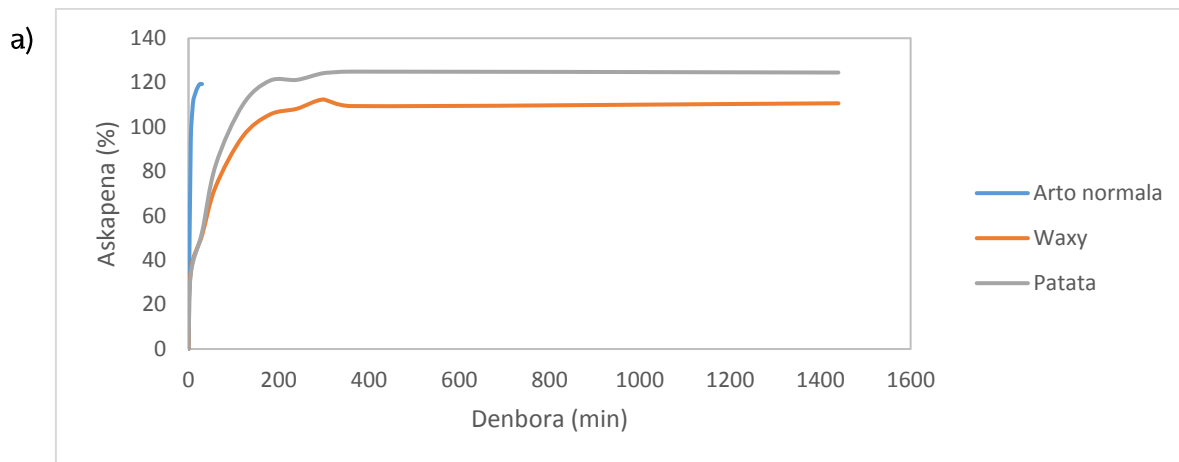
Horrez gain, *waxy* arto eta patata almidoiez egindako polipildorak, arto almidoi normalekin sortutako polipildorekin konparatuz, askapen kontrolatuagoa eta jarraitua erakusten dute. Bi almidoi mota hauek denbora luzeagoz mantentzen dutenez beraien egitura, osagai aktiboak mantsoago askatzen dira; eta ondorioz, hauen efektua ez da bat-batekoa. *Waxy* arto almidoia eta patata almidoia elkarren artean konparatuz gero, patataren kasuan askapenena azkarragoa ematen da, eta lortzen diren metaketa balioak ere altuagoak dira. Patata almidoiaren portaera hau polipildoren mikroegitura porotsuarekin erlaziona daiteke; izan ere, *patata almidoi pastillek waxy arto almidoi pastillek baino poro tamaina nabarmen handiagoa dute, ondorioz osagai aktiboen askapen abiadura azkartuz* <sup>22</sup>. Beraz, bi almidoi mota hauek osagai aktiboen askapen mantsoago, kontrolatuago eta jarraituagoa behar den kasuentzako erabilgarriak izan daitezke.

Bestetik, almidoien jatorri botanikoa alde batera utzita, bi osagai aktiboak elkarren artean konparatuz gero, ikusi egin daiteke bien artean ere desberdintasunak antzematen direla. Parazetamolaren kasuan, osagai aktibo honen disolbagarritasuna PBS disoluzioan handia denez, askapen totala eman da. 16. Irudiko b) irudikapenean, 100. min-tik aurrera %120-ko askapena eman dela irakur daiteke; emaitza hauek errore sistematikoen ondorio lortu daitezke. Azido azetilsalizilikoarekin, ordea, ez da askapen totala lortu. Aurretik azaldu den bezala, azido azetilsalizilikoa ingurune urtsu azido salizilikoan degradatzen da, horregatik askapen balioak denborarekin txikitzen direla ikusten da, askapen totala lortzen ez delarik. Kasu honetan, patata almidoiarekin lortzen da azido azetilsalizilikoaren askapen handiena.

16. Irudiko c) irudikapenean ikusi daitekeen bezala, azido azetilsalizilikoaren degradazioaren ondorioz, azido salizilikoa sortzen da. Gainontzeko bi osagaiak bezala, azido salizilikoaren askapenean ere almidoiaren jatorri botanikoak eragina izan du. Aurreko kasuetan ondorioztatu den bezala, arto almidoi normalak, hiru almidoietatik askapen azkarrena eta medikamentuaren bat-bateko efektua eragin du; *waxy* arto almidoiak eta patata almidoiak, aldiz, askapen kontrolatuago eta jarraituagoa erakutsi dute. Kasu honetan, azido azetilsalizilikoan eta parazetamolarekin ez bezala, *waxy* arto almidoiaren eta



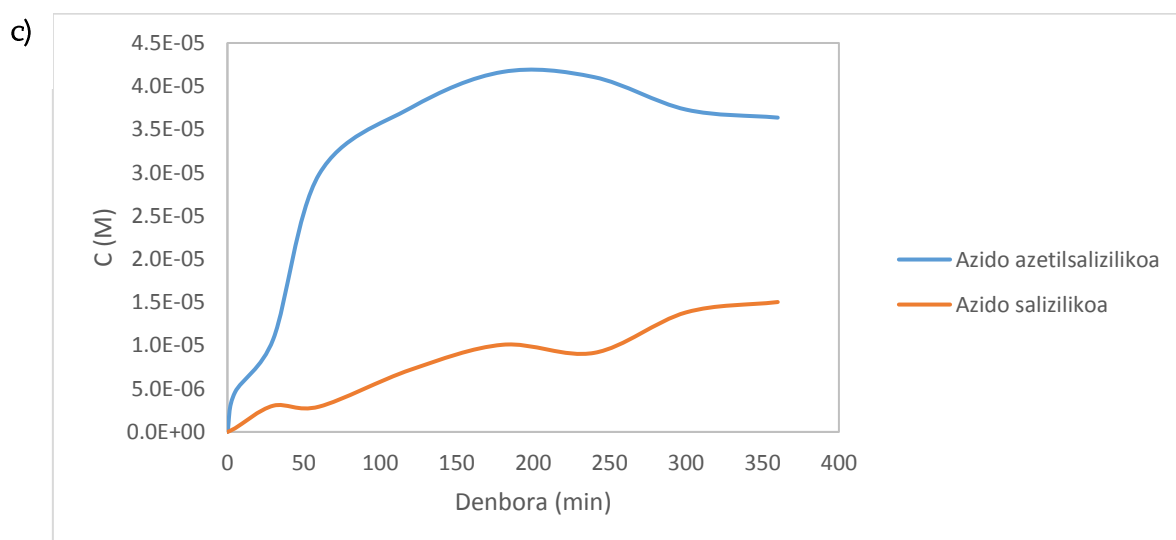
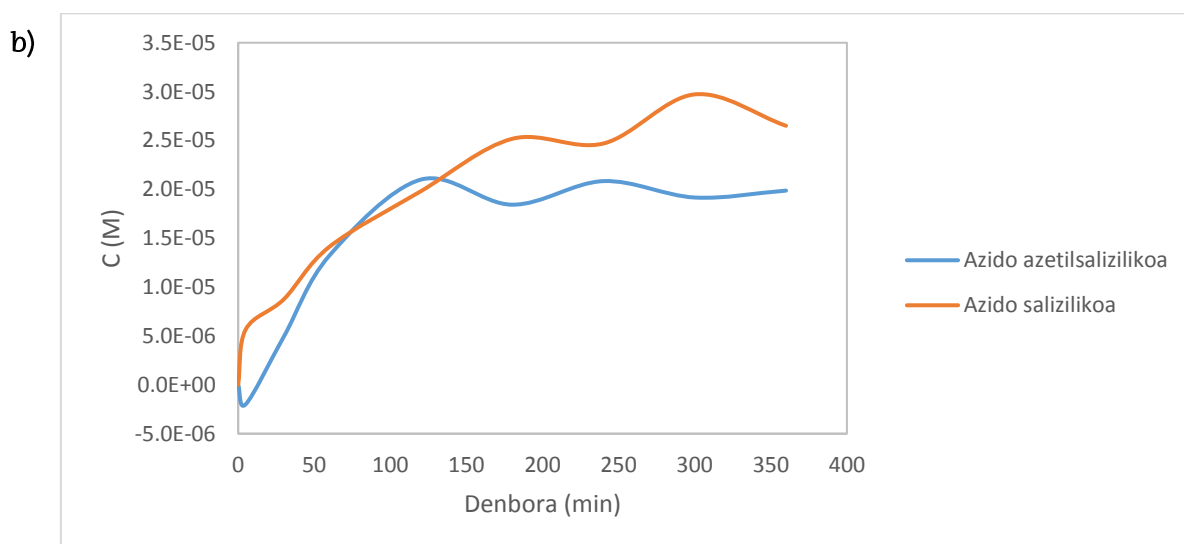
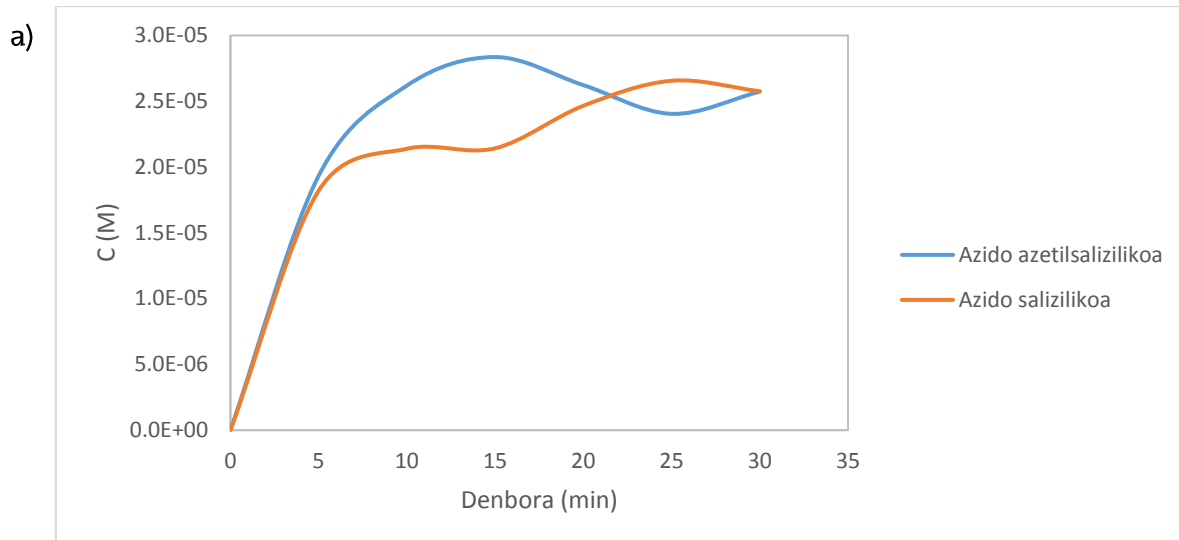
patata almidoiaren joera kontrakoa izan da; hau da, waxy arto almidoiarekin askapen azkarrago bat lortu da. Emaitza hauek azido salizilikoaren degradazioa patata almidoian atzeratzen dela iragarri dezakete.



16. Irudia. a) parasetamolaren, b) azido azetilsalizilikoaren eta c) azido salizilikoaren askapen profilak.

Horrez gain, azido azetilsalizilikoaren degradazioa azido salizilikora hobeto ulertzeko, askapenean zehar osagaiak izandako kontzentrazioak denboraren aurrean irudikatu dira. 17. Irudian ondorioztatu daitekeen bezala, azido azetilsalizilikoaren kontzentrazioa handitzean azido salizilikoarena txikitu egiten da, eta alderantziz. Hori gertatzen da azido azetilsalizilikoaren degradazioa azido salizilikora, erreakzio itzulgarri bat delako, 2. Irudian ikusi daitekeen bezala.

Hiru almidoi motekin, *waxy* arto almidoiarekin lortzen da azido saliziliko kontzentrazio handienak, eta patata almidoiarekin lortzen da azido azetilsaliziliko kontzentrazio handienak. Azken hau, bat dator 16. Irudia c) irudikapenarekin. Gainera, hiru almidoietatik bakarrik patata almidoiarekin lortzen da denbora guztietan azido azetilsaliziliko kontzentrazio azido salizilikoaren baino handiagoa izatea.



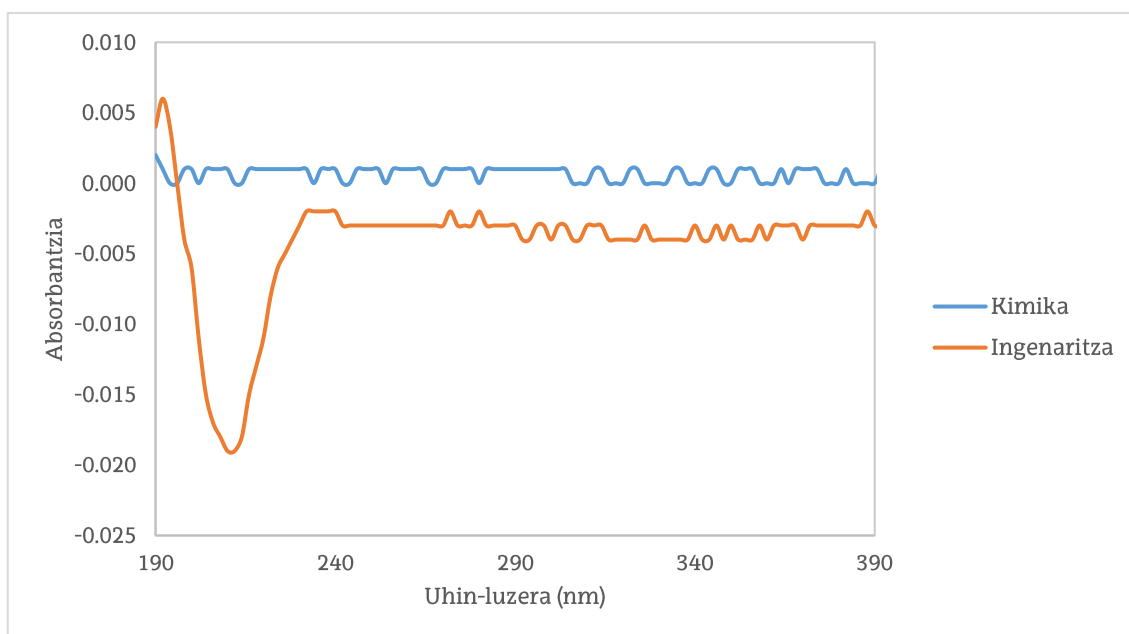
17. Irudia. Azido azetilsalizilikoaren eta azido salizilikoaren kontzentrazioak une oro a) arto almidoi normal, b) waxy arto almidoi eta c) patata almidoi polipildoretan.

### 4.3.1 Uraren eragina

Ikerketa lan honetan, atal esperimentalean, matrizeko puntuak Kimika Fakultateko urarekin prestatutako PBS disoluzioa erabiliz prestatu dira, eta osagai aktiboen askapena Ingeniaritza Eskolako urarekin prestatutako PBS disoluzioa erabiliz. Beraz, interes handikoa da hiru osagaien PLS ereduak erabilgarriak diren ezagutzea.

Horretarako, lehenik bi uren espektroak neurtu dira 190-400 nm uhin-luzera tartean, erreferentziatzeko disoluzioa Kimika Fakultateko ura izanik. Emaitza bezala, 18. Irudia lortu da. Irudikapen horretan argi ikusi daiteke Ingeniaritza Eskolako urak, Kimika Fakultateko urak ematen ez duen absorbantzia bat duela. Ur honek 212 nm-ko uhin-luzeran du absorbantzia maximoa; hortaz, uhin-luzera horren inguruan absorabantzia maximoa duten osagaietan eragin handia izango du. Kasu honetan, azido azetilsalizlikoak du uhin-luzera horretatik gertu bere absorabantzia maximoa, zehazki 222 nm-tan.

Beraz, ondorioztatu daiteke bi urak desberdinak direla, eta honek eragina izango duela neurketen emaitzetan.



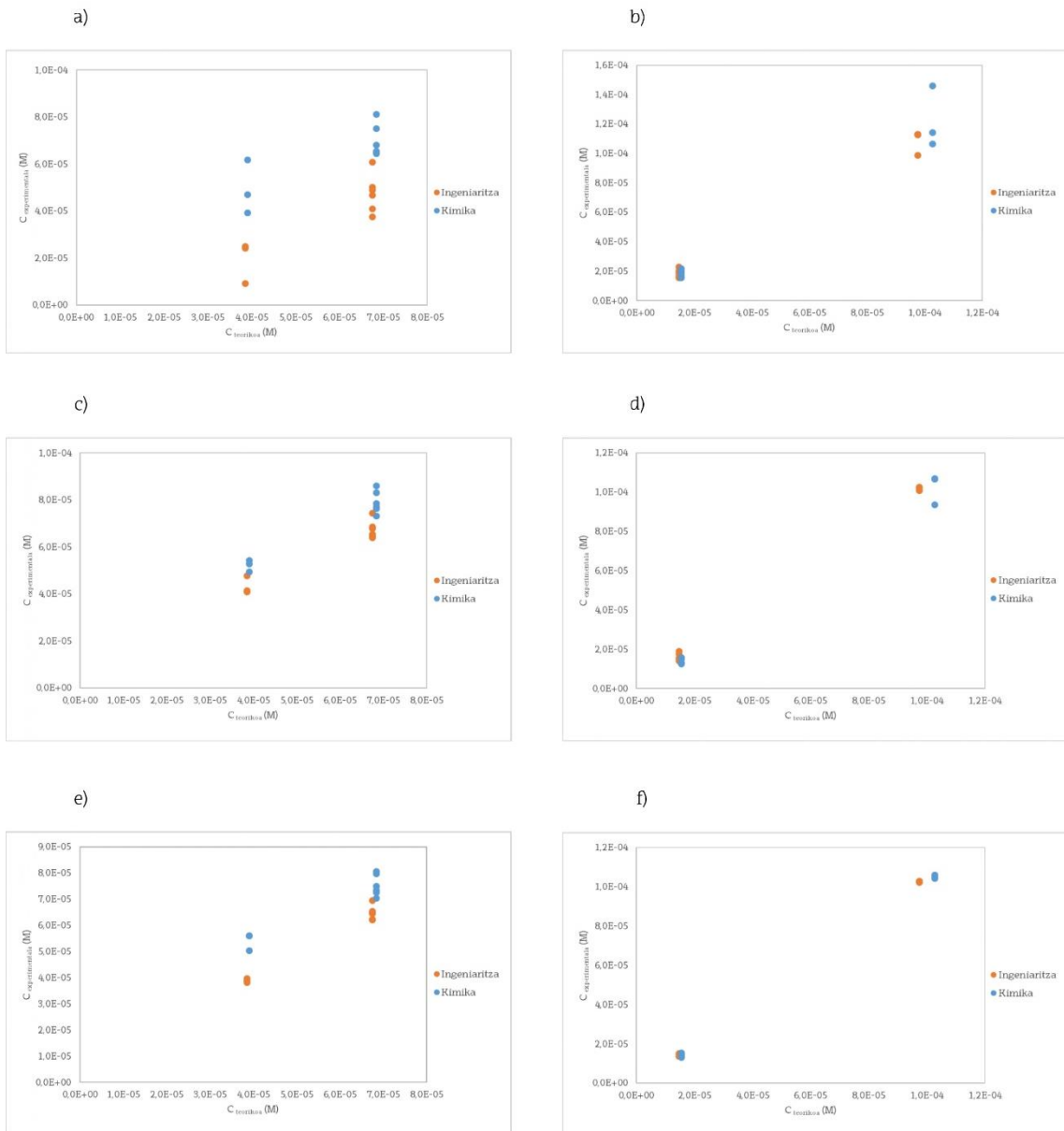
18. Irudia. Ingeniaritza eskolako eta Kimika Fakultateko uraren espektroak.

Horrez gain, metodoa balidatzeko Kimika Fakultateko urarekin prestatutako hiru puntuen (matrizearen 10., 18. eta 22. puntuak) erreplikak egin dira, baina oraingoan Ingeniaritza Eskolako ura disolbatzaile bezala erabiliz. Erreplika guztien absorbantzia neurtu da 190-400 nm-ko uhin-luzera taretan, Kimika fakultateko urarekin prestatutako errepliken baldintza berdinetan. Neurketan egiten ez diren bitartean, disoluzio guztiak hozkailuan gorde dira azido azetilsalizilikoaren degradazioa azido salizilikora moteltzeko. Espektrofotometroaren bitartez lortutako balioei, aurretratamendua aplikatu, eta emaitzak PLS modeloetan sartu dira Ingeniaritza Eskolako urarekin prestatutako errepliken kontzentrazio esperimentalak lortzeko. Lortutako kontzentrazio esperimentalak teorikoen aurrean irudikatu dira, emaitza bezala 19. Irudia lortuz.

19. Irudiko a), c) eta e) irudikapenak aztertuz gero, ikusi egin daiteke azido azetilsaliziliko kontzentrazio teoriko berdinentzako, kontzentrazio esperimental desberdinak lortzen direla Ingeniaritza Eskolako urarekin ta Kimika Fakultateko urarekin. Azken ur mota honekin lortzen diren azetilsaliziliko kontzentrazioak altuagoak dira, eta balio teorikoetara gehiago hurbiltzen dira. Hala ere, emaitza hauek interpretatzerako orduan bi faktore nagusi kontuan hartu behar dira. Alde batetik, 18. eta 22. puntuen gehiegizko azido azetilsaliziliko kontzentrazioa. Bi puntu hauek kalibrazio ekuaziotik kanpo dagoen azido azetilsaliziliko kontzentrazioa dutenez, lortutako kontzentrazio esperimentalak ez dira guztiz zehatzak. Kasu honetan, erreplikak ez dira ondo prestatu, Kimika Fakultateko urarekin prestatutako errepliken emaitzekin konparatu ahal izateko. Bestalde, azido azetilsalizilikoaren degradazioa. Gerta daiteke azido azetilsaliziliko ur mota bakoitzean abiadura zehatz batekin degradatzea, eta ondorioz, kontzentrazio esperimentalen arteko desberdintasuna honen ondorioa izatea.

19. Irudiko b), d) eta f) irudikapenak aztertuz gero, aldiz, ikusi egin daiteke bi ur moten arteko desberdintasunak ez direla hain nabariak. Parasetamolaren absorbantzia maximoa 242 nm-tan ematen duenez, eta Ingeniaritza Eskolako urak 212 nm-ko uhin luzeran duenez absorbantzia maximoa, elkarren arteko eragina txikiagoa da; eta horregatik, osagai aktibo honekin lortzen diren emaitzak prezisoagoak dira. Hala ere, Kimika Fakultateko urarekin prestatutako erreplikek, elkarren artean kontzentrazio desberdinagoak erakusten dituzte; hau da, preziso txikiagoa dute.

Hortaz, ikusi egin da ur motak eragina duela neurri batean lortutako emaitzetan. Nahiz eta espektroen aurretratatamendua aplikatzean eragin hau zuzentzea lortu den partzialki, gai honetan lan sakonago bat egin beharko litzateke edo ikerketa lan guztia ur berdina erabiliz burutu beharko litzateke.



19.Irudia. Erreplikak a) eta b) lehenengo, c) eta d) bigarren, eta, d) eta e) hirugarren eguneko azido azetilsaliziliko eta parasetamol kontzentrazio esperimentalak terokioen aurrean, hurrenez hurren.

## 5. ONDORIOAK

---

Ikerketa lan honetan, 3D inprimaketa teknika eta estrusio likidoa metodoaren bitartez, almidoi mota desberdinetan oinarritutako polipildorak garatzea lortu da, azido azetilsaliziliko eta parasetamol osagai aktibo bezala erabiliz. Bi osagai aktiboen aldi bereko determinazioa egiteko modelo egokia burutu da ultramore-ikuskor espektroskopia bidezko determinaziorako.

Gainera, askapena aztertzeko erabili den metodoa balidatu da parametro desberdinak erabiliz; baina atal esperimentalean burututako errore baten ondorioz ezin izan da frogatu metodoaren egokitasuna.

Osagai aktiboen askapenari dagokionez, almidoi moten arteko eta osagai aktiboen arteko desberdintasunak antzeman dira. Alde batetik, ikusi egin da almidoi motaren arabera osagai aktiboen askapen denbora egokitu daitekeela. Arto almidoi normalarekin garatutako polipildorekin, beste almidoi motekin garatutako polipildorak baino azkarrago hausten dira, osagaien bat-bateko askapena eraginez. Bestalde, osagai aktiboen arteko desberdintasunak ere antzeman dira. Parasetamolaren kasuan, askapen totala eman dela antzeman da. Azido azetilsalizilikoaren kasuan, aldiz, honen askapena partziala izan dela ikusi da. Horrekin batera, azido azetilsalizilikoaren degradazioa azido salizilikora baieztatu da.

Horrela, 3D inprimaketa almidoietan oinarritutako polipildorak garatzeko teknika egokia delabaieztatu da. Gainera, garatutako sistemak medikuntza pertsonalizatuan duten etorkizuna frogatu da, almidoi mota bakoitzaren propietateetan oinarrituz paziente bakoitzaren beharrei egokitutako polipildorak sortu daitezkelako.

# CONCLUSIONS

---

In this research work, polypills based on different types of starch were developed by 3D printing technique and direct extrusion method, using acetylsalicylic acid and paracetamol as active components. The suitable model for the simultaneous determination of two active components for the determination by ultraviolet-visible spectroscopy was realized.

In addition, the release method was validated using different parameters, but the suitability of the method could not be demonstrated due to an experimental error.

Regarding the release of the active components, significant differences were detected comparing the different starch type and both active components. On the one hand, it was observed that the release time of the active components could be tailored using different starch types. Polypills developed based on normal maize starch are rapidly disintegrated leading to the burst release of the active components. On the other hand, differences between the active components were also detected. In the case of paracetamol, a total release was detected. In contrast, for acetylsalicylic acid, did not occur completely. In addition, the degradation of acetylsalicylic acid to salicylic acid was confirmed.

Thus, it was demonstrated that 3D printing is a suitable technique for the development of starch-based polypills. Furthermore, it was confirmed the viability of developed systems for personalized medicine applications, since based on the properties of each type of starch the polypills could be adjusted to the requirements of each patient.



## 6. ERREFERENTZIAK

---

1. El orden mundial. (2023/06/01). *La densidad de farmacéuticos en el mundo*. <https://elordenmundial.com/mapas-y-graficos/cuantos-farmaceuticos-hay-mundo/>
2. del Pilar, C. M. M., M<sup>a</sup>, C. V. R., Consuelo, E. L., Antonio, J. G. J., & Dolores, S. M. G. (2015). *FÁRMACOS Y MEDICAMENTOS*. Editorial UNED.
3. Miranda, A. M., Sánchez, A. J., Domínguez, A. C. A., Pérez-Enriquez, L. A., & Vicente Domingo, E. M. (2018). *Medicamentos, productos sanitarios y protección del consumidor*. Editorial Reus.
4. Kumar, A. (2021). *Estudo de estabilidade de medicamentos*. Edicoes Nosso Conhecimento.
5. Fischerscientific. (2023/05/10). *Pacaretamol*. <https://www.fishersci.es/shop/products/4-acetamidophenol-98-thermo-scientific/10306310#?keyword=paracetamol>
6. PanReac AppliChem. (2023/05/10). *Ácido acetilsalicílico*. <https://itwreagents.com/iberia/es/product/acido-acetilsalicilico-usp-bp-ph-eur-puro-grado-farma/141045>
7. Hitachi High-Tech Corporation. (n.d.). *Analysis of decomposition products in aspirin by application of two-wavelength detection*. Hitachi High-Tech Corporation. <https://www.hitachi-hightech.com/global/en/knowledge/analytical-systems/hplc/chromaster-ultra/cm-data2.html>
8. PanReac AppliChem. (2023/05/10). *Ácido Salicílico*. <https://www.itwreagents.com/iberia/es/product/acido-salicilico-usp-bp-ph-eur-puro-grado-farma/141045>
9. Wise, J. (2023/06/05). Polypill holds promise for people with chronic disease. World Health Organization.
10. Kurzrock, R., & Stewart, D. J. (2016). Click chemistry, 3D-printing, and omics: the future of drug development. *Oncotarget*, 7(3), 2155–2158. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6787>
11. Norman, J., Madurawe, R. D., Moore, C. M. V., Khan, M. A., & Khairuzzaman, A. (2017). A new chapter in pharmaceutical manufacturing: 3D-printed drug

- products. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 108, 39–50.  
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.03.001>
12. Gibson, I., Rosen, D., & Stucker, B. (2014). *Additive manufacturing technologies: 3D printing, rapid prototyping, and direct digital manufacturing* (2nd ed.). Springer.
  13. "Additive manufacturing — General Principles — Overview of process categories and feedstock". ISO/ASTM International Standard. 17296-2:2015(E). 2015.
  14. Martelli, N., Serrano, C., van den Brink, H., Pineau, J., Prognon, P., Borget, I., & El Batti, S. (2016). Advantages and disadvantages of 3-dimensional printing in surgery: A systematic review. *Surgery*, 159(6), 1485–1500.  
<https://doi.org/10.1016/j.surg.2015.12.017>
  15. Sandler, N., & Preis, M. (2017). Printed drug-delivery systems for improved patient treatment. *Trends in Pharmacological Sciences*, 38(3), 317.  
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2017.01.002>
  16. Preis, M., & Öblom, H. (2017). 3D-printed drugs for children-are we ready yet? *AAPS PharmSciTech*, 18(2), 303–308. <https://doi.org/10.1208/s12249-016-0704-y>
  17. Goole, J., & Amighi, K. (2016). 3D printing in pharmaceuticals: A new tool for designing customized drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 499(1–2), 376–394.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.12.071>
  18. Yu, D. G., Zhu, L.-M., Branford-White, C. J., & Yang, X. L. (2008). Three-dimensional printing in pharmaceuticals: promises and problems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(9), 3666–3690. <https://doi.org/10.1002/jps.21284>.
  19. Zema, L., Melocchi, A., Maroni, A., & Gazzaniga, A. (2017). Three-dimensional printing of medicinal products and the challenge of personalized therapy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 106(7), 1697–1705.  
<https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.03.021>
  20. Chen, J., Chen, L., Xie, F., & Li, X. (2019). *Drug delivery applications of starch biopolymer derivatives* (1st ed.). Springer.
  21. Whistler, R. L., & Daniel, J. R. (1984). Molecular structure of starch. In R. L. Whistler, J. N. Bemiller, & E. F. Paschall (Eds.), *Starch: Chemistry and Technology* (pp. 153–182). Elsevier.

22. González, K., Larraza, I., Berra, G., Eceiza, A., & Gabilondo, N. (2022). 3D printing of customized all-starch tablets with combined release kinetics. *International Journal of Pharmaceutics*, 622, 121872. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121872>
23. Dome, K., Podgorbunskikh, E., Bychkov, A., & Lomovsky, O. (2020). Changes in the crystallinity degree of starch having different types of crystal structure after mechanical pretreatment. *Polymers*, 12(3), 641. <https://doi.org/10.3390/polym12030641>
24. Roberts, J., Power, A., Chapman, J., Chandra, S., & Cozzolino, D. (2018). The use of UV-Vis spectroscopy in bioprocess and fermentation monitoring. *Fermentation*, 4(1), 18. <https://doi.org/10.3390/fermentation4010018>
25. Upstone, S. L. (2006). Ultraviolet/visible light absorption spectrophotometry in clinical chemistry. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Ltd.
26. Massart, D. L. (Ed.). (1997). *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Volume 20A: Part A*. Elsevier Science.
27. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica. (2023/05/05). *QUIMIOMETRÍA, Una disciplina útil para el análisis químico*. <http://www.quimica.urv.es/quimio/general/quimio.pdf>
28. Hopke, P. K. (2003). The evolution of chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 500(1–2), 365–377. [https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(03\)00944-9](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(03)00944-9)
29. Jolliffe, I. T., & Cadima, J. (2016). Principal component analysis: a review and recent developments. *Philosophical Transactions. Series A, Mathematical, Physical, and Engineering Sciences*, 374(2065), 20150202. <https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0202>
30. Tenenhaus, M., Vinzi, V. E., Chatelin, Y.-M., & Lauro, C. (2005). PLS path modeling. *Computational Statistics & Data Analysis*, 48(1), 159–205. <https://doi.org/10.1016/j.csda.2004.03.005>.
31. Esposito Vinzi, V., Chin, W. W., Henseler, J., & Wang, H. (Eds.). (2010). *Handbook of partial least squares: Concepts, methods and applications* (2010th ed.). Springer.

32. M.C. Ortiz, L.A. Sarabia, A. Herrero, M.S. Sánchez, M.B. Sanz, M.E. Rueda, D. Giménez, M.E. Meléndez. *Capability of detection of an analytical method evaluating false positive and false negative (ISO 11843) with partial least squares*. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 69, 21– 33, 2003.
33. Mugica, A. L. (2022). *3D inprimatze bidez lortutako almidoi pastillen askatze pertsonalizatua*. Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Kimika Gradua. Donostia.