

Treball de Fi de Grau

Grau en Enginyeria Química

Estabilització del compost farmacèutic Stiripentol mitjançant excipients polimèrics

MEMÒRIA

Autor: Guillem Pascual Herencia

Director: Roberto Macovez

Convocatòria: Juny 2017



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Industrial de Barcelona



Resum

Gran part dels fàrmacs que en l'actualitat es poden trobar al mercat estan generats per dos grups de substàncies clarament diferenciades. El primer d'aquests components es el principi actiu i es l'encarregat de l'acció farmacològica del medicament. L'altre grup de substàncies es el que es coneix com a excipient, que es una el component auxiliar que aporta estabilitat al principi actiu i que assegura una acció eficaç i segura sobre el receptor del fàrmac. Tradicionalment, tan el principi actiu com els compostos que formen l'excipient es troben en la fase sòlida cristal·lina d'equilibri, donat que la seva alta estabilitat termodinàmica assegura la fiabilitat dels protocols industrials per la producció de grans quantitats de medicaments. Un desavantatge de la fase cristal·lina es la seva baixa solubilitat. Per contra, es sap que els principis actius amorfs son notablement més solubles en compostos amb base aquosa, i també tenen una major dispersió i biodisponibilitat que les fases cristal·lines.

Una d'aquestes substàncies recentment desenvolupades a principi actiu es el Stiripentol, un fàrmac anticonvulsivant novell, estructuralment diferent als antiepilèptics actuals. Tot i ser utilitzat en tractaments contra el síndrome de Dravet, el Stiripentol cristal·lí te una dispersió lenta pel plasma sanguini, i es pràcticament insoluble en aigua i fluids aquosos.

En aquest projecte es pretén estudiar el comportament dinàmic del Stiripentol amb un excipient polimèric bioactiu i biodegradable com ara l'àcid polilàctic. Mitjançant tècniques com la calorimetria dielèctrica d'escaneig, la espectroscòpia dielèctrica i la difracció de Raigs-X s'ha obtingut la temperatura de transició vítria per diferents concentracions de Stiripentol amb PLA, i s'han estudiat els diversos processos físics observats en els anàlisi, per determinar l'efecte del PLA com excipient sobre la dinàmica del Stiripentol.

Sumari

RESUM	3
SUMARI	4
GLOSSARI	8
1. INTRODUCCIÓ	11
2. OBJECTIUS	12
3. PRINCIPIS DEL COMPORTAMENT D'UN MATERIAL DIELÈCTRIC	13
3.1 Comportament d'un dielèctric sota la influència d'un camp elèctric DC	13
3.2 Mecanismes de Polarització	15
3.3 Resposta dielèctrica dependent de la freqüència	16
3.4 Models per relaxacions dielèctriques d'orientació	17
3.5 Relaxació dielèctrica en fases desordenades: Transició vítria	20
4. TÈCNiques ANALÍTIQUES	23
4.1 Tècniques d'anàlisi tèrmiques	23
4.1.1 Calorimetria tèrmica d'escombrat	24
4.1.1.1 Interpretació d'un termograma	25
4.2 Espectroscòpia dielèctrica	27
4.2.1 Anàlisis de la resposta dielèctrica	28

4.3	Difracció de raigs X en fase policristal·lina.....	30
4.3.1	Anàlisi d'un patró de difracció	31
5.	INTRODUCCIÓ DELS COMPOSTOS ANALITZATS	33
5.1	Descripció del compost Stiripentol.....	33
5.2	Descripció del polímer Àcid Polilàctic.....	36
6.	MESURES I DETERMINACIONS	40
6.1	Calorimetria tèrmica d'escombrat.....	40
6.2	Espectroscòpia dielèctrica	42
6.3	Difracció de raigs X	46
7.	ANÀLISIS DELS RESULTATS	48
7.1	Hipòtesi de partida.....	48
7.2	Anàlisi de resultats obtinguts	48
8.	COST DEL PROJECTE	55
9.	ESTUDI DE SOSTENIBILITAT	57
9.1	Impacte mediambiental	57
9.2	Impacte social	58
9.3	Impacte econòmic	58
	CONCLUSIONS	60

FUTURES LÍNIES D'INVESTIGACIÓ _____ **61**

AGRAÏMENTS _____ **62**

BIBLIOGRAFIA _____ **63**

Annexos

Resum

- A. Preparació de les mostres
 - A.1. Preparació mostres de DSC
 - A.2. Preparació mostres de BDS
 - A.3. Preparació mostres de Difracció de Raigs-X

- B. Fitxes de seguretat
 - B.1. Fitxa de seguretat del Stiripentol
 - B.2. Fitxa de seguretat de l'Àcid Polilàctic
 - B.3. Fitxa de seguretat del Nitrogen
 - B.4. Fitxa de seguretat del Heli
 - B.5. Fitxa de seguretat del Oxigen

Glossari

PLA	Àcid polilàctic
PLLA	Poli(L-àcid làctic)
PDLA	Poli(D-àcid làctic)
PDLLA	Poli(L,D-àcid làctic)
C₀	Capacitància al buit [F]
ε₀	Permitivitat del buit
ε_r	Permitivitat del medi amb dielèctric
P	Camp de Polarització [C/m ²]
E	Camp Elèctric [N/C]
D	Camp de Desplaçament [C/m ²]
ε'	Permitivitat real
ε''	Pèrdua dielèctrica

σ	Conductivitat [S/m]
$\Delta\varepsilon$	Strenght [V/m]
τ	Temps característic de relaxació [s]
τ_d	Temps característic de relaxació de Debye [s]
HN	Equació de Havriliak-Negami
τ_{HN}	Temps característic de relaxació de Havriliak-Negami [s]
VFT	Equació de Vogel-Fulcher-Tammann
τ_{HN}	Temps característic de relaxació de Vogel-Fulcher-Tammann [s]
T_g	Temperatura de transició vítria [°C]
T_c	Temperatura de cristal·lització [°C]
T_m	Temperatura de fusió [°C]
DSC	Calorimetria tèrmica d'escaneig
BDS	Espectroscòpia dielèctrica

DRXP

Difracció de Raigs-X

1. Introducció

Aquest projecte s'ha realitzat dins del marc d'investigació del Grup de Caracterització de Materials, del Departament de Física de la UPC. Aquest grup d'investigació està especialitzat en l'estudi de les propietats de diferents materials, majoritàriament orgànics, mitjançant diverses tècniques que permeten obtenir informació sobre les propietats termodinàmiques, estructurals i dinàmiques que presenten els materials en fases desordenades.

En aquest projecte s'han aplicat diverses tècniques d'anàlisi tèrmica amb l'objectiu d'estudiar l'estabilitat de les diferents fases de l'Stiripentol en una mescla amb un excipient polimèric. Aquesta investigació s'ha realitzat en les instal·lacions que el Grup de Caracterització de Materials disposa en la segona planta de l'edifici C del Campus Universitari del Besós, on està ubicada l'Escola de Enginyeria de Barcelona Est (EEBE).

2. Objectius

L'objectiu d'aquest treball es determinar els efectes que té un excipient polimèric sobre la dinàmica molecular del compost farmacèutic Stiripentol, així com la estabilitat de les mescles en estat amorf.

Com excipient polimèric s'ha escollit l'àcid polilàctic (PLA), ja que té una temperatura de transició vítria bastant més alta que la del Stiripentol, i a més es tracta d'un biopolímer, pel que realment es podria utilitzar com excipient d'un futur fàrmac.

Per dur a terme l'objectiu principal, s'han plantejat diversos objectius específics, que són els següents:

- Mesurar el temps de relaxació estructural de les mescles per tal de estudiar la dinàmica conjunta del Stiripentol i el polímer, i així determinar els efectes d'un excipient polimèric sobre la dinàmica molecular del Stiripentol.
- Determinar la temperatura de transició vítria de les mescles per diferents concentracions de PLA.
- Estudiar els diversos fenòmens fisico-químics que poden patir les mescles de Stiripentol i PLA, per tal de determinar el rang d'estabilitat de les mescles en funció de la concentració i temperatura.
- Determinar si el PLA seria realment un bon excipient per fàrmacs de Stiripentol.

3. Principis del comportament d'un material dielèctric

3.1 Comportament d'un dielèctric sota la influència d'un camp elèctric DC

Considerem un condensador pla paral·lel format per dues plaques metàl·liques col·locades una en front de l'altre, al buit i separades per una distància d . Quan s'aplica un voltatge V entre les plaques, aquestes adquireixen càrregues lliures $+Q$ i $-Q$ respectivament. Aleshores el condensador al buit té una capacítància de:

$$C_0 = \frac{Q}{V} = \frac{\epsilon_0 A}{d} \quad (\text{Eq. 3.1})$$

On C_0 es la capacítància al buit, ϵ_0 es la permitivitat del buit (sense dielèctric) i A l'àrea de les plaques del condensador.

Al omplir l'espai entre ambdues plaques amb un material dielèctric, sota el mateix potencial V , les plaques del condensador adquireixen una càrrega Q' major que en el buit, ja que les càrregues de polarització a la superfície del dielèctric produeixen un camp que va en sentit contrari al camp elèctric produït per les càrregues lliures. Dit d'un altre forma, es requereix més càrrega a les plaques metàl·liques (Q') per tal d'obtenir el mateix camp elèctric total dins del dielèctric. La nova capacítància amb material dielèctric és:

$$C = \frac{Q'}{V} = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r A}{d} \quad (\text{Eq. 3.2.})$$

On ϵ_r es la permitivitat del medi amb dielèctric.

Des d'una perspectiva microscòpica, un material dielèctric sota la influència dels efectes d'un camp elèctric produït al situar el material entre les dues plaques d'un condensador a un voltatge constant, es polaritza amb una orientació dels dipols permanents paral·lela a les plaques del condensador, així com també apareixen moments induïts. Aquests dos fenòmens provoquen l'aparició d'una polarització, es a dir, d'una distribució macroscòpica de dipols elementals. El camp de polarització (P) es defineix com a la mitjana del moment dipolar per unitat de volum. Aquest efecte de polarització es pot veure esquematitzat en la figura 3.1.

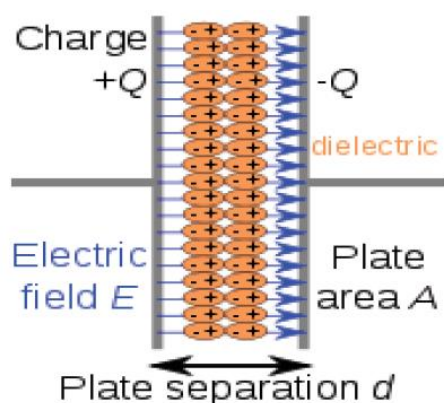


Figura 3.1.: Polarització d'un dielèctric entre les plaques d'un condensador

Assumint que el camp elèctric aplicat no es gaire gran, i que el material dielèctric es lineal, homogeni i isotròpic, es troba una relació lineal entre P i el camp elèctric aplicat (E), i a la seva vegada una relació entre E i el camp de desplaçament (D):

$$P = \chi \varepsilon_0 E \quad (\text{Eq. 3.3.})$$

$$D = \varepsilon_0 E + P = \varepsilon_0 \varepsilon_r E \quad (\text{Eq. 3.4.})$$

On $\chi = \varepsilon_r - 1$ s'anomena susceptibilitat elèctrica del dielèctric, i es un paràmetre que depèn només del material i descriu la resposta lineal d'un material en front un camp elèctric. En un condensador pla i paral·lel amb una separació d petita comparada amb

l'arrel de l'àrea A, omplert amb un material dielèctric homogeni, el camp de desplaçament D es produeix només de les càrregues lliures, i l'equació 3.4 descriu la relació entre aquest camp "parcial" i el camp elèctric macroscòpic total al dielèctric.

3.2 Mecanismes de Polarització

A nivell macroscòpic, es poden donar els següents mecanismes:

- Fenòmens de conducció i relaxació de càrrega espacial. Les càrregues lliures, com poden ser electrons de conducció o valència, o com poden ser els ions en materials iònics, es desplacen per el material dielèctric resultat del camp aplicat, donant lloc a la conductivitat elèctrica o iònica. Si el medi es no homogeni, aquesta càrrega lliure pot acumular-se a les discontinuïtats del medi, donant lloc a una polarització addicional anomenada relaxació de càrrega espacial o en el cas de medis amb coexistència de fases diferents, polarització de Maxwell-Wagner.
- Polarització electrònica o Deformació atòmica. L'aplicació d'un camp elèctric sobre una substància no polar causa un desplaçament del nucli atòmic dels electrons. A més a més, si el material està compost de molècules amb àtoms que poden compartir la seva càrrega de forma asimètrica, aquests àtoms adquireixen càrregues de polaritat oposada quan s'aplica el camp elèctric, resultant en un canvi d'equilibri de la posicions dels nuclis atòmics
- Polarització iònica. Els materials iònics contenen enllaços iònics que només es poden moure molt lleugerament en la posició d'equilibri. La aplicació d'un camp elèctric desplaça els ions en direccions oposades depenent del tipus de càrrega, formant una distribució d'enllaços iònics que es pot descriure com a polarització deguda als dipòls produïts per els ions de signe contrari.
- Polarització d'orientació: A diferència dels tres fenòmens anteriors, on els dipòls locals eren induïts pel camp elèctric aplicat, la polarització d'orientació, o polaritat dipolar) es creada pels dipòls permanents que formen la mostra (molècules dipolars), que existeixen sense necessitat de la presència d'un

camp elèctric. Un cop s'aplica el camp elèctric, apareix un moment de rotació sobre els dipols, que tendeixen a orientar-se en el sentit del camp. Aquesta orientació dels dipols amb el camp aplicat es veu afectada de forma important per un desordre derivat del moviment tèrmic, motiu pel qual aquesta polarització depèn molt de la freqüència del camp aplicat i de la temperatura.

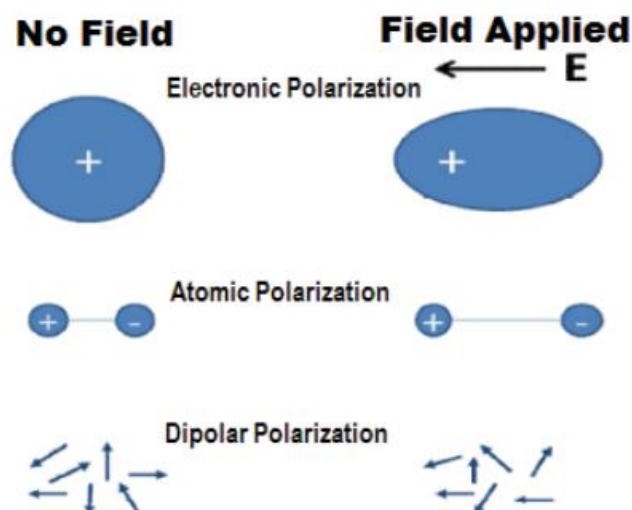


Figura 3.2.: Fenòmens de polarització

Tan la polarització iònica com la electrònica tenen lloc a causa de la formació de moments dipolars moleculars induïts. Degut que els electrons i ions són molt més lleugers que les molècules poden seguir els canvis del camp elèctric a major velocitat, es a dir, a molt altes freqüències.

3.3 Resposta dielèctrica dependent de la freqüència

Quan un camp elèctric extern es aplica de cop sobre un material dielèctric, la polarització d'aquest no assoleix l'equilibri de manera immediata, sinó que necessita un determinat temps. El mateix succeeix al desconnectar el camp elèctric, quan la polarització no decau de manera immediata. Aquest retard, tan a l'accionar com al desconnectar el camp elèctric, es coneix com a temps característic de relaxació τ .

L'existència d'aquest temps característics provoca que, en el cas d'un voltatge aplicat sinusoide, la resposta de la polarització no estigui en fase amb el camp elèctric, sinó que estigui retardada. En aquest cas, les equacions 3.3. i 3.4. es poden reescriure, en el domini de les freqüències, com a:

$$P(\omega) = \chi(\omega)\varepsilon_0 E(\omega) \quad (\text{Eq. 3.5.})$$

$$D(\omega) = \varepsilon_0 \varepsilon_r(\omega) E(\omega) \quad (\text{Eq. 3.6.})$$

On en aquest cas ε_r no es només funció de la freqüència, sinó que es a més complexa, anomenant-se funció dielèctrica complexa del material dielèctric, que normalment s'escriu com:

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon'(\omega) - i\varepsilon''(\omega) \quad (\text{Eq. 3.7.})$$

En l'expressió anterior, $\varepsilon'(\omega)$ es la part real de la permitivitat (ja que en el límit DC es converteix en permitivitat real), que es una mesura de l'energia emmagatzemada en les oscil·lacions de les unitats dipolars, i $\varepsilon''(\omega)$ es la part imaginària, que s'anomena pèrdua dielèctrica, ja que esta relacionada amb l'energia dissipada en el material a causa de la fricció interna que actua en contra dels moviments moleculars.

3.4 Models per relaxacions dielèctriques d'orientació

Per els dipols permanents, el procés de reorientació d'un dielèctric sota influència d'un camp elèctric AC es pot caracteritzar per el que s'anomena temps de relaxació dipolar τ .

Debye va desenvolupar un model matemàtic basat en els dipols no interactius de les

molècules, tots ells caracteritzats pel mateix temps de relaxació τ_d . Per un dielèctric, la formula del model de Debye es la següent:

$$\frac{\epsilon(\omega) - \epsilon_\infty}{\epsilon_s - \epsilon_\infty} = \frac{1}{1 + \omega i \tau_d} \tag{Eq. 3.8.}$$

On ϵ_s es la permitivitat estàtica, el límit inferior de la freqüència on els dipols tenen el suficient temps per reorientar-se amb el camp elèctric actiu, i on $\epsilon_s - \epsilon_\infty$ s'anomena strength $\Delta\epsilon$ i es proporcional al nombre de molècules que participen del moviment de reorientació. La strength dona informació de la quantitat de material cristal·lí present en la mostra, ja que com més material cristal·lí hi ha, menys molècules es mouen i més petit es aquest paràmetre. La figura mostra la dependència de la permitivitat real ϵ' i la perda d'energia ϵ'' amb la freqüència segons el model de Debye:

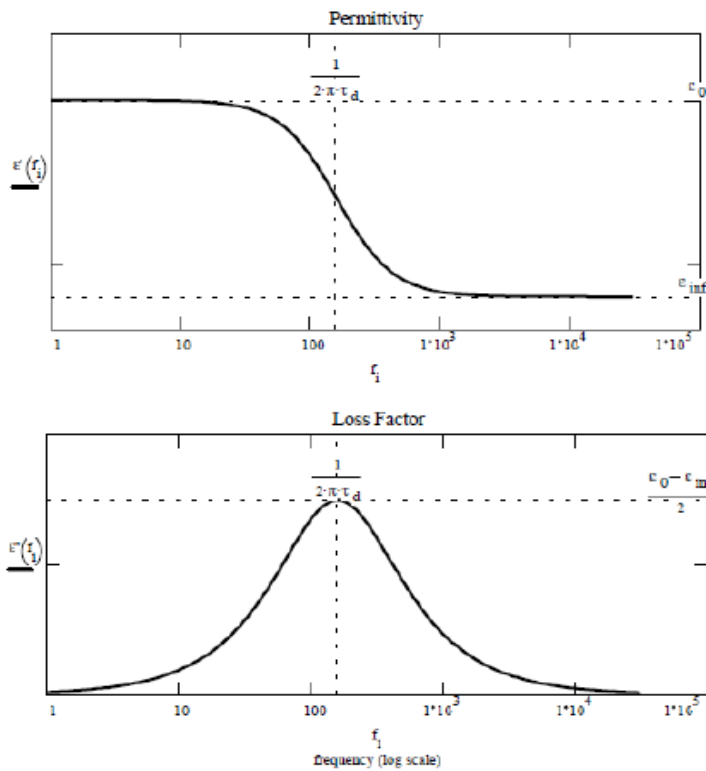


Figura 3.3.: Dependència de ϵ' i ϵ'' en front la freqüència

El model de Debye, desenvolupat per dipols no interactius preveu un pic de ϵ'' simètric amb una amplada de 1.4 dècades (amplada a la meitat del valor màxim). En materials reals, en el dielèctric hi ha interaccions intermoleculares que provoquen que l'espectre de pèrdua d'energia presenti pics asimètrics o amb una amplada major que el previst pel model de Debye.

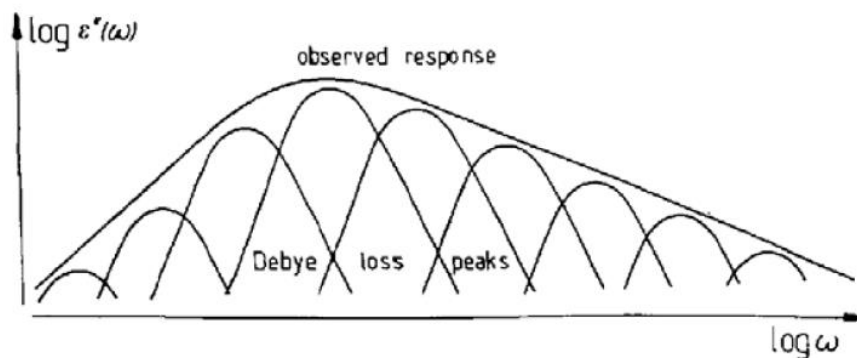


Figura 3.4.: Resposta de Debye comparada amb la resposta real del material

Diversos models matemàtics fenomenològics s'han desenvolupat per modelar els espectres de pèrdua dielèctrica, sent el més utilitzat el model de Havriliak-Negami (HN). La funció de HN de la permitivitat complexa es la següent:

$$\frac{\epsilon(\omega) - \epsilon_{\infty}}{\epsilon_s - \epsilon_{\infty}} = \frac{1}{(1 + (i\omega\tau_{HN})^{\beta})^{\gamma}} \quad (\text{Eq. 3.9.})$$

On β i γ són els paràmetres de forma, amb valors entre 0 i 1 i que descriuen l'amplada i la asimetria del pic de pèrdua. Com es pot observar, el model de HN reproduïx un comportament de Debye per $\beta = \gamma = 1$. Mentre que en el model de Debye τ_D és el (únic) temps característic de relaxació, en el model de HN no hi ha un únic temps característic (veure figura 3.4), però es pot definir el temps τ_{MAX} on la pèrdua dielèctrica (la funció $\epsilon''(\omega)$) és màxima. Aquest τ_{MAX} depèn, degut a la asimetria de la funció HN, tan del paràmetre τ_{HN} com dels paràmetres de forma, i té la següent expressió:

$$\tau_{MAX} = \tau_{HN} \left(\sin \frac{\beta\pi}{2+2\gamma} \right)^{-1/\beta} \left(\sin \frac{\beta\gamma\pi}{2+2\gamma} \right)^{1/\beta} \quad (Eq. 3.10.)$$

El pic de ε'' en l'espectre de pèrdua es mou a altes freqüències segons s'incrementa la temperatura, ja que el temps de relaxació decreix al haver-hi un moviment molecular tèrmic més ràpid. L'evolució de τ amb la temperatura dona informació sobre la dependència de la dinàmica molecular amb l'energia tèrmica.

3.5 Relaxació dielèctrica en fases desordenades: Transició vítria

En un líquid, les molècules que el formen tenen una dinàmica, tan d'orientació com de posició, desordenada, en el sentit que estan en constant moviment i no tenen cap posició o orientació definida. Quan aquest líquid es refreda per sota del punt de fusió, normalment s'observa una transició de primer ordre a una fase sòlida cristal·lina. No obstant, si el líquid es refreda molt ràpidament, la cristal·lització pot ser evitada obtenint el que es coneix com a líquid subrefredat, que es el mateix líquid inicial, amb idèntica estructura i dinàmica, però que es ara metastable al ser fase cristal·lina d'equilibri a la mateixa temperatura. Al igual que en l'estat líquid, en l'estat líquid subrefredat el moviment molecular es alentit segons decreix la temperatura. A una temperatura T_g , anomenada temperatura de transició vítria, les molècules es mouen tan lentament que ja no tenen temps suficient de rejuntar-se abans que la temperatura del fluid disminueixi més. Un refredament mes enllà de la T_g força al sistema a un estat de desordre estàtic on les diferents parts del fluid no son en equilibri les unes amb les altres, anomenat estat vítric (veure *figura 3.5*), i que s'obté sense cap transició de fase, sinó amb un alentiment de la dinàmica molecular. L'estat vítric es defineix com un estat on la viscositat del líquid subrefredat es de l'ordre de 10^{13} Poise, o de forma equivalent un estat amb temps característic τ per la relaxació molecular col·lectiva de 100s. Aquesta relaxació es coneguda com a relaxació estructural o primària (α), i la seva freqüència decreix amb quan es disminueix la temperatura.

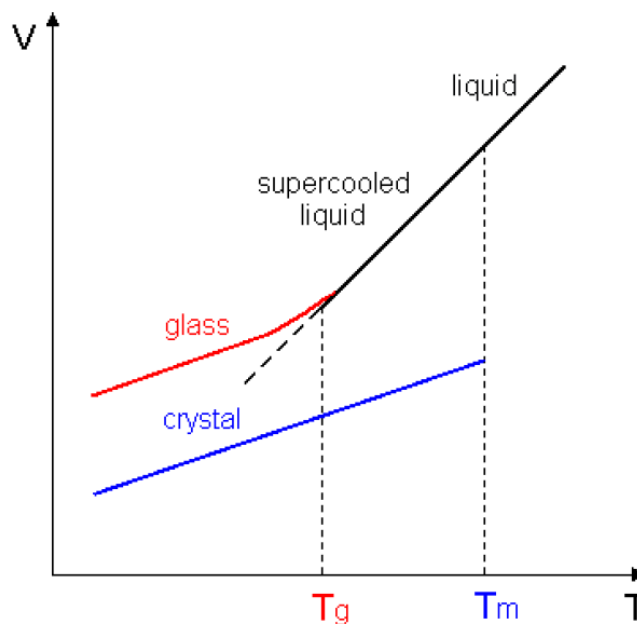


Figura 3.5.: Procés de transició vítria

El vidre obtingut així obtingut (refredant ràpidament per sota de T_g) s'anomena vidre estructural, i manté el desordre molecular del líquid del qual deriva, però ara el desordre és més bé estàtic i no pas dinàmic. La majoria de polímers normalment només mostren aquests tipus d'estat vítrics, degut a que la llargada de les cadenes polimèriques dificulta la cristallització.

Tot i que no sempre es compleix, normalment a prop de la temperatura de transició vítria el temps de relaxació τ es veu incrementat per la temperatura més ràpidament del que sosté la llei d'Arrhenius, que preveu una dependència lineal entre $\log(\tau)$ i l'inversa de la temperatura $1/T$. En la majoria de casos, aquest temps característic es pot descriure amb l'equació empírica de Vogel-Fulcher-Tammann (VFT):

$$\tau_{VFT} = \tau_0 \exp\left[\frac{DT_{VF}}{T - T_{VF}}\right] \quad (\text{Eq. 3.11.})$$

On T_{VF} és el paràmetre anomenat temperatura fenomenològica de Vogel-Fulcher, τ_0 és el temps característic en el rang de l'oscil·lació atòmica ($10^{14} \text{ Hz} = 10^{-14} \text{ s}$) i D és el

coeficient de strength.

4. Tècniques analítiques

4.1 Tècniques d'anàlisi tèrmiques

Les tècniques tèrmiques d'anàlisi són tècniques experimentals que permeten mesurar els canvis que una determinada propietat física de la mostra analitzada pateix al variar la temperatura.

Les principals aplicacions de les tècniques d'anàlisi tèrmica són:

- Determinació de la T_g de polímers i de mescles amb polímers.
- Determinació de temperatures i entalpies de transició de fase.
- Estudis de descomposició i estabilitat tèrmica.
- Estudis de la cinètica de cristal·lització i de reacció química.
- Estudis de contingut d'humitat i matèria orgànica en mostres.
- Estudis de composició.
- Caracterització de les propietats tèrmiques de la mostra, com ara capacitats calorífiques.

Els aparells moderns d'anàlisi tèrmica solen constar de cinc parts principals:

- Compartiment o suport on es diposita o fixa la mostra.
- Sensors per la mesura de la propietat física a estudiar i per a la temperatura.
- Actuadors per transformar les ordres en accions sobre la mostra a estudiar.
- Recinte tancat on es poden controlar els diversos paràmetres experimentals.
- Ordinador més software per recollir les dades i introduir les variables necessàries.

Existeixen diverses tècniques d'anàlisi tèrmica. A la *taula 4.1* es mostra la classificació

d'aquestes tècniques segons la magnitud física que mesuren:

Tècnica d'anàlisi tèrmica	Propietat mesurada
Termogravimetria	Massa
Calorimetria diferencial d'escombrat (DSC)	Entalpia
Anàlisi tèrmic diferencial (DTA)	Diferència de temperatura
Anàlisi Electrotèrmica	Conductivitat elèctrica

Taula 4.1. Tècniques d'anàlisi tèrmiques (Rouquerol, 2012).

En aquest projecte s'han realitzat anàlisi de DSC de les diferents mostres, per tal d'obtenir la temperatura de transició vítria de les diferents mostres, i per monitoritzar les diferents transicions físiques de les mostres analitzades.

4.1.1 Calorimetria tèrmica d'escombrat

El DSC es una tècnica d'anàlisi tèrmica que te com a principal objectiu la caracterització i determinació dels canvis d'estat termodinàmics, com poden ser cristal·litzacions, transicions vítries, transicions sòlid-sòlid o altres canvis de fase. Existeixen diversos models de DSC. L'utilitzat per aquest projecte es un aparell del fabricant TA instruments, model Q100 DSC, que permet treballar a pressió atmosfèrica.

El model amb el que s'ha treballat es un DSC de flux, on la mostra a analitzar i la referència es troben situades de forma simètrica, una al costat de l'altre, dins d'un forn i sobre uns discs metàl·lics que condueixen la calor, cada un connectat al seu corresponent termoparell. El termoparell lligat a la referència mesura la temperatura absoluta, mentre que el corresponent a la mostra mesura la diferència de temperatura entre totes dues càpsules (ΔT). S'utilitza una sola font de calor. A la *figura 4.1* es pot veure un esquema comparatiu del DSC de flux:

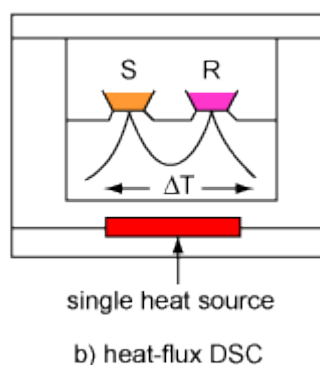


Figura 4.1. Esquema d'un DSC de flux.

4.1.1.1 Interpretació d'un termograma

Els resultats que s'obtenen en una mesura de DSC son representats en un diagrama anomenat *Termograma*, que aporta informació sobre les temperatures a la que la mostra varia la seva estructura, així com la corresponent variació d'entalpia.

Els conceptes bàsics que s'han de tenir en compte a l'hora d'analitzar el termograma obtingut en una mesura DSC son els següents:

- Línia de base: Línia recta (normalment) que es produeix quan la mostra analitzada no pateix cap transformació.
- Pic: Quan la mostra pateix una transformació termodinàmica, en el termograma apareix un pic amb una certa amplada, ja que la mostra absorbeix

o cedeix energia tot i mantenint una temperatura de forma constant. El valor extret de la intersecció entre la línia de base i el pendent màxim del pic es la temperatura de transició T_o .

- Entalpia associada (H): És l'àrea compresa sota el pic.
- Segons si la direcció del pic es per sobre o per sota de la línia base, la transició pot ser:
 - Exotèrmica: La mostra allibera calor (T_c). Es pot representar cap amunt (sentit Exoup) o cap avall (sentit Exodown).
 - La mostra absorbeix calor (T_m). Es pot representar cap avall (sentit Exoup) o cap amunt (sentit Exodown).
- Transició vítria: Quan la mostra té una transició vítria, hi ha un salt en la línia base degut a que el calor específic del vidre es inferior al calor específic del líquid. La temperatura de transició vítria T_g s'obté de la intersecció entre la línia de base i el màxim pendent de la transició.

Tots aquests conceptes es poden veure representats en la *figura 4.2*:

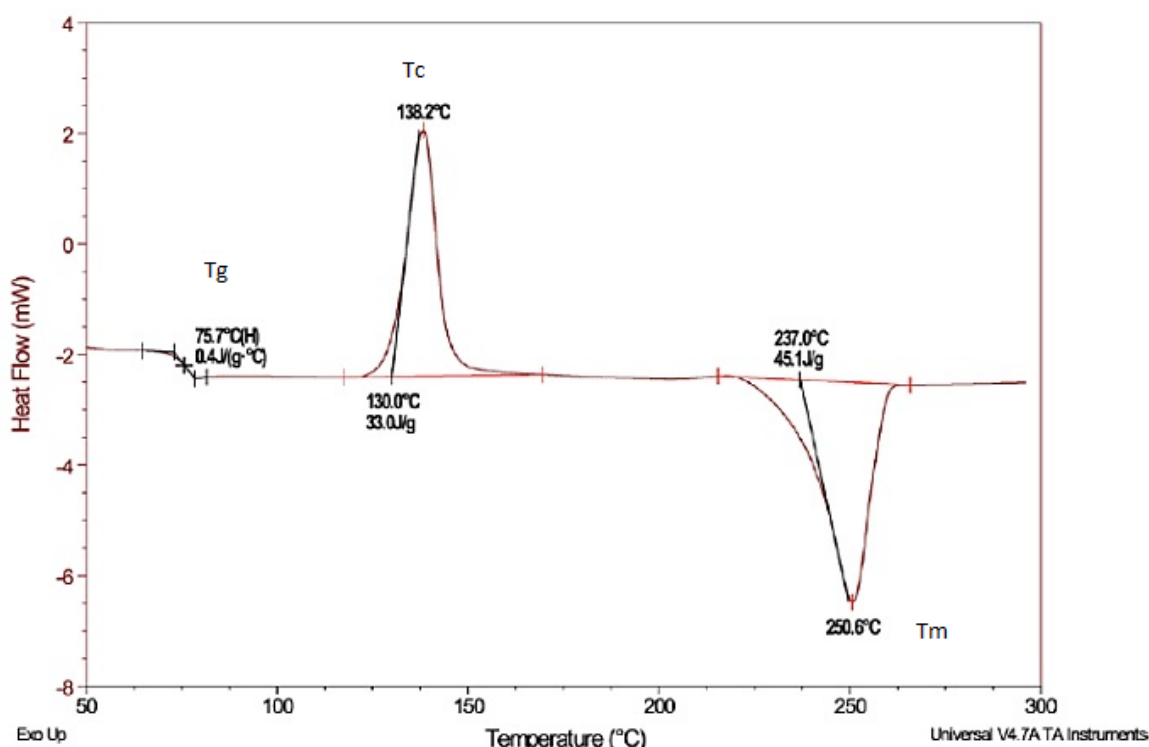


Figura 4.2. Termograma Exoup.

En l'Annex A es descriu el procediment de preparació de les diferents mostres analitzades per DSC.

4.2 Espectroscòpia dielèctrica

L'espectroscòpia dielèctrica (BDS) es una tècnica d'anàlisi de gran utilitat per estudiar les propietats estàtiques i dinàmiques de substàncies polars, mesurant les propietats dielèctriques de la mostra en funció de la freqüència del camp elèctric aplicat. La BDS es basa en el comportament dels materials dielèctrics sota els efectes d'un camp elèctric, que s'ha explicat en aquesta memòria al *capítol 3*.

En aquest projecte només s'ha mesurat en un rang de 10^{-2} Hz a 10^7 Hz amb un control de temperatura que permet mesurar de -150 °C a 300 °C (als experiments només s'ha fet servir un rang de temperatures de 0 °C a 145 °C).

Al laboratori s'ha disposat d'un espectròmetre dielèctric amb control de temperatura amb gas de nitrogen obtingut per evaporació de nitrogen líquid, que principalment està format per les següents parts:

- Xassís principal, on es troben la majoria de controls i pantalles per fer funcionar l'aparell. Està connectat a un ordinador, amb el qual mitjançant un software s'entren els rangs de freqüència i temperatura a mesurar i els paràmetres geomètrics de la mostra, i recullen els resultats.
- Dipòsit de la mostra. Suport on es col·loca la mostra (condensador), connectat a l'entrada de nitrogen i que també està connectat tan al sensor de temperatura com als cables que surten de l'electrònica que mesura la resposta dielèctrica en freqüencial.
- Dipòsit de nitrogen líquid. Conté el nitrogen líquid que es fa bullir per obtenir gas nitrogen a -195 °C que es tan per refredar la mostra com, mitjançant una resistència, per escalfar-la, i així controlar la temperatura de la mostra.

En l'Annex A es presenta el procés de preparació de les diferents mostres analitzades per BDS.

4.2.1 Anàlisi de la resposta dielèctrica

D'un anàlisi d'espectroscòpia dielèctrica es poden extreure multitud de resultats, tan com propietats dielèctriques es poden mesurar. La espectroscòpia dielèctrica permet mesurar la permitivitat complexa $\varepsilon(\omega) = \varepsilon'(\omega) - i\varepsilon''(\omega)$, definida al capítol anterior. Per a la realització d'aquest projecte, s'han tingut en compte a més dels espectres de ε' i ε'' , també l'espectre de la conductivitat $\sigma'(\omega)$, definida amb l'expressió:

$$\sigma'(\omega) = \omega\varepsilon_0\varepsilon''(\omega) \quad (\text{Eq. 4.1})$$

El valor a baixa freqüència de $\sigma'(\omega)$ es la conductivitat en corrent continu σ_{dc} , que es mesura en [S/m] i que es la capacitat d'un material per deixar passar la corrent elèctrica a través seu. Una major conductivitat pot suposar tenir major cristal·linitat en la mostra analitzada, ja que els cristalls són millors conductors de càrregues electròniques (electrons i forats) que no pas els vidres. A la *figura 4.3* es pot veure un espectre de ε' i de σ' , i a la *figura 4.4* un espectre de ε'' .

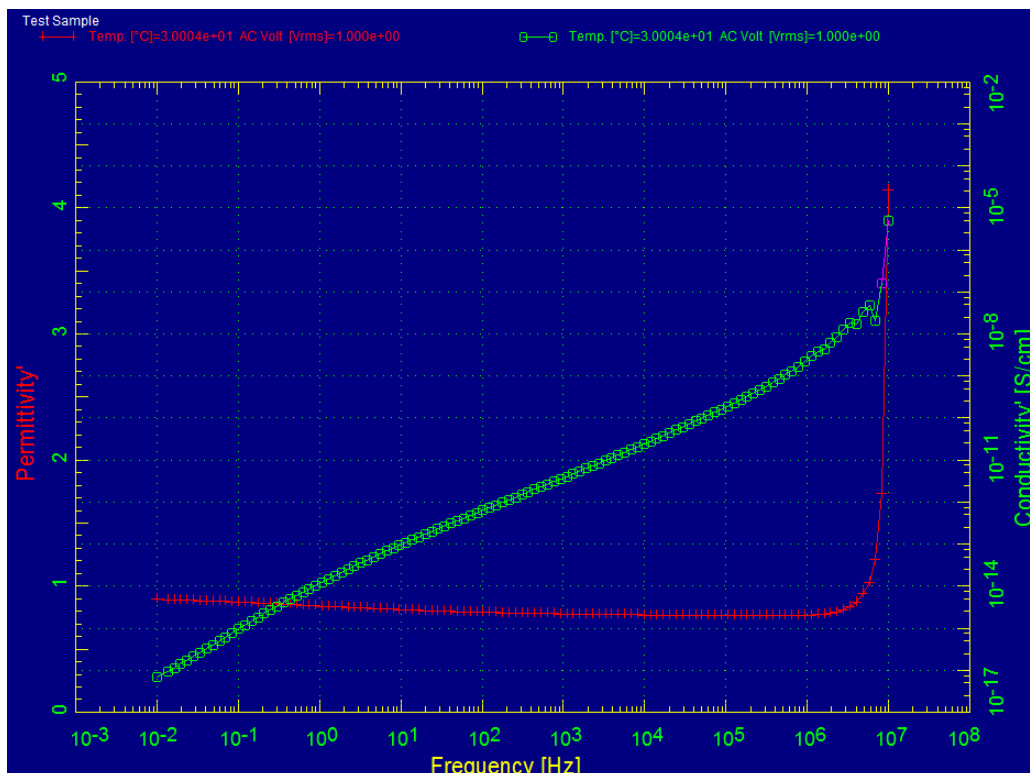


Figura 4.3 Espectre de ϵ' (verd) i de σ' (vermell) en funció de la freqüència.

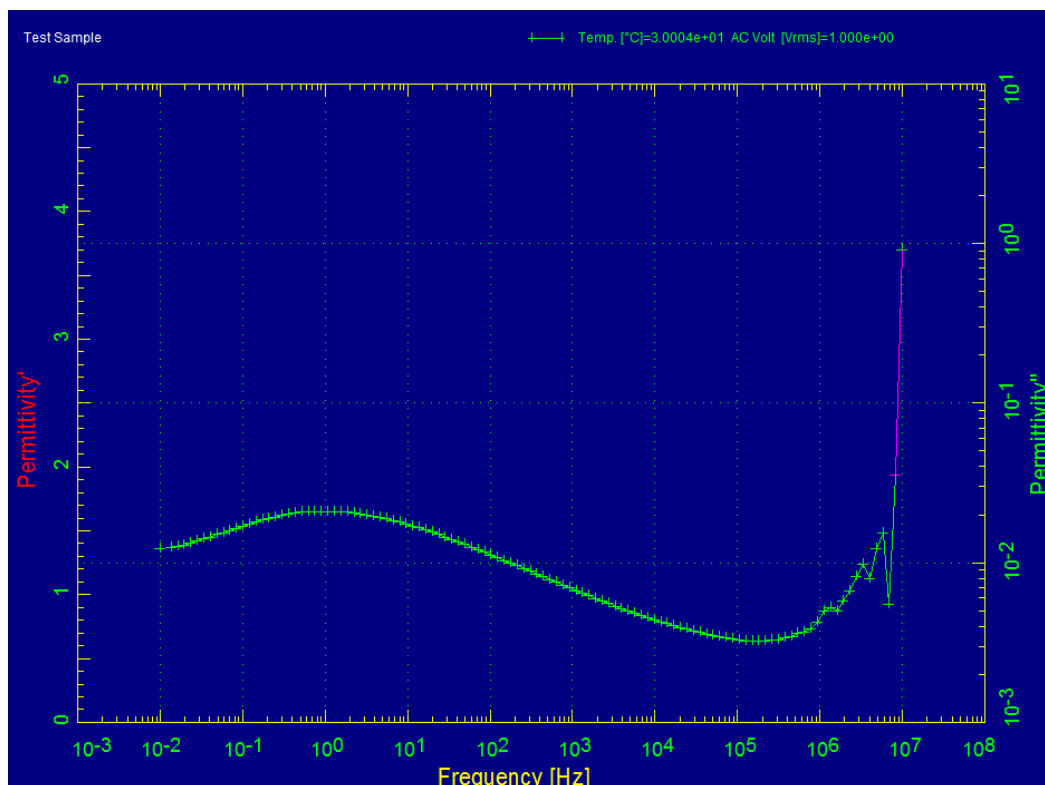


Figura 4.4. Espectre de ϵ'' en funció de la freqüència.

Tan de l'espectre de ε' com de l'espectre de ε'' es pot treure informació sobre els processos de polarització descrits al capítol 3. En l'espectre de pèrdua $\varepsilon''(\omega)$ cal parar atenció als pics que es poden veure. En el cas de la *figura 4.4* es tracta d'un pic de relaxació primària o estructural (α), tot i que en general poden aparèixer altres pics corresponents a altres tipus de relaxacions. Del pic de relaxació se n'extreu la posició en freqüència. Com més a la dreta (alta freqüència) estigui situat el pic, més ràpid es el procés de relaxació. Mitjançant un diagrama d'Arrhenius es representa el logaritme en base 10 del paràmetre $\tau_{HN Max}$ en front de l'invers de la temperatura T [K], i posteriorment fer un altre ajust amb l'equació d'Arrhenius o la Vogel-Fulcher-Tammann (VFT, veure *capítol 3*). Trobant la intersecció de la corba d'ajust amb la recta $y=2$ es pot obtenir la temperatura de transició vítria T_g .

En l'espectre de la permitivitat real ε' cal fixar-se en el nombre d'esglaons que presenta l'espectre, ja que equivalen al número de processos dinàmics en l'espectre ε'' . Aquest fet es molt útil, ja que en determinats casos l'alçada dels pics de transicions en l'espectre ε'' son dèbils i costen d'identificar.

4.3 Difracció de raigs X en fase policristal·lina

La difracció de Raigs X es un dels fenòmens físics que es produeixen al interaccionar un feix de raigs X amb una substància cristal·lina. Quan els raigs X es troben amb un àtom de matèria interactuen amb els seus electrons més externs. Aquests remetent la radiació electromagnètica dels raigs X en diferents direccions i amb la mateixa freqüència. Aquests raigs remesos interfereixen entre ells, creant noves ones destructives o constructives. D'això se'n diu fenomen de Difracció.

Es pot dir que una interferència es constructiva quan la diferència de fase entra la radiació emesa pels diferents àtoms es proporcional a 2π . La Llei de Bragg prediu la direcció en que es dona la interferència constructiva entre raigs X dispersats per una sèrie de plans

crystal·lins, i té la següent equació:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (\text{Eq. 4.2})$$

On n es un nombre enter, λ la longitud d'ona [m], d la distància entre els plans de la xarxa cristal·lina i θ l'angle entre els raigs incidents i els plans de dispersió.

En aquest estudi s'ha fet servir la difracció de Raigs-X en fase policristal·lina (DRXP). Aquesta tècnica es més senzilla que no pas la difracció de monocristalls. Ambdues permeten identificar les fases cristal·lines, ja que les diferents xarxes cristal·lines tenen un diagrama de difracció (diffractogrames) característic. Per contra, un vidre no té un patró de difracció amb pics de Bragg, només presenta un fons més o menys ampli. En alguns casos, com en aquest projecte, es interessant realitzar un estudi de l'evolució tèrmica dels diffractogrames, per conèixer l'evolució de la cristal·linitat de la mostra.

4.3.1 Anàlisi d'un patró de difracció

Els resultats obtinguts en un anàlisi DRXP es recullen en un diffractograma, on es representen les intensitats dels pics en front de la seva posició, expressada com 2θ . Es pot veure un exemple de diffractograma típic en la *figura 4.5*.

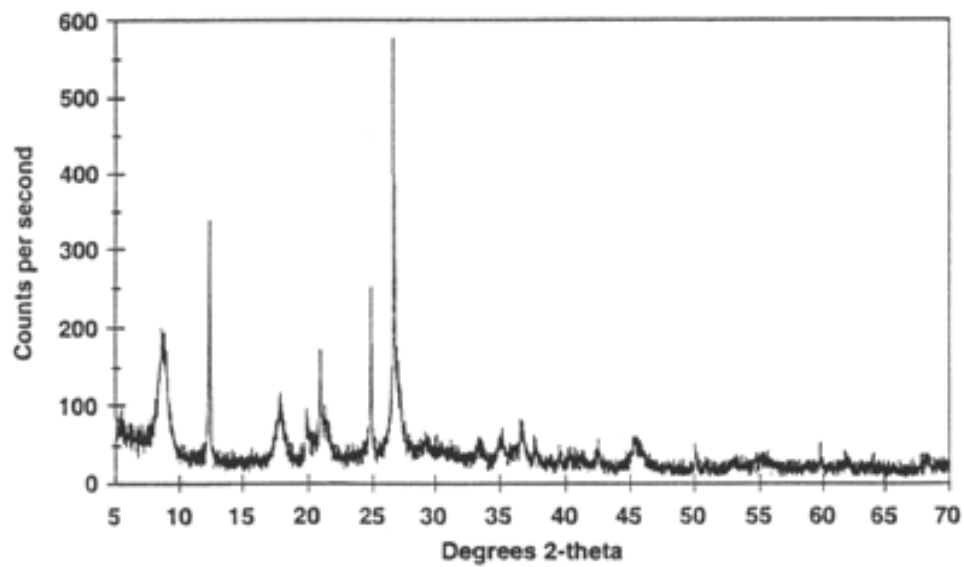


Figura 4.5. Difractograma.

5. Introducció dels compostos analitzats

En aquest apartat es presenta un resum de les dades bibliogràfiques dels compostos estudiats durant la realització del projecte.

5.1 Descripció del compost Stiripentol

L'Stiripentol o 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4,4-dimethyl-1penten-3-ol (veure figura 5.1), registrat com *Diacomit* per l'empresa *Laboratories Biocodex*, es un compost amb fórmula molecular $C_{14}H_{18}O_3$ que s'utilitza com a fàrmac anticonvulsionant en tractaments contra el síndrom de Dravet o en episodis de epilèpsia severa en la infància (Tran et al., 1996). Es un compost pràcticament insoluble en aigua o fluids aquosos.

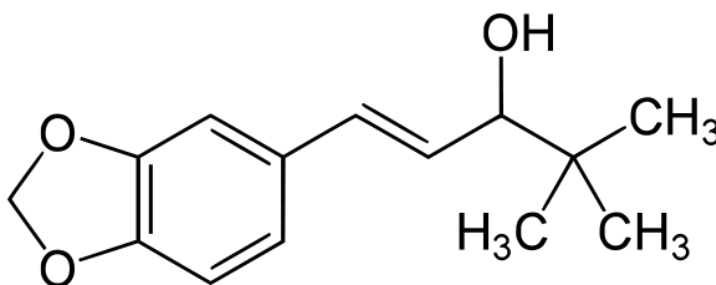


Figura 5.1. Forma molecular del Stiripentol.

Les dades bibliogràfiques del Stiripentol més importants per la realització del projecte son :

- Temperatura de transició vítria: -26.8 ± 0.5 °C (Ruiz et al., 2017).
- Temperatura de fusió: 82 °C. (Afifi, 2015)
- Pes molecular: $234,29$ g·mol⁻¹.
- Estat estable a temperatura ambient (Ruiz et al., 2017).
- Els espectres de ϵ'' del Stiripentol subrefredat es poden veure en la figura 5.2. S'observa una relaxació estructural (α) i dos secundàries (β i γ) bastant

menys intenses que la primera. La relaxació estructural es cooperativa i es associada a la transició vítria. La relaxació secundària β es, segons l'estudi previ del grup de recerca (Ruiz et al., 2017), la reorientació Johari-Goldstein del Stiripentol, o sigui, una dinàmica de relaxació no cooperativa de les molècules de Stiripentol aïllades, que és el precursor de molècula aïllada de la dinàmica cooperativa. Finalment, la relaxació γ es una dinàmica intramolecular deguda al moviment d'un o més grups polars de la molècula del compost farmacèutic (Ruiz et al., 2017).

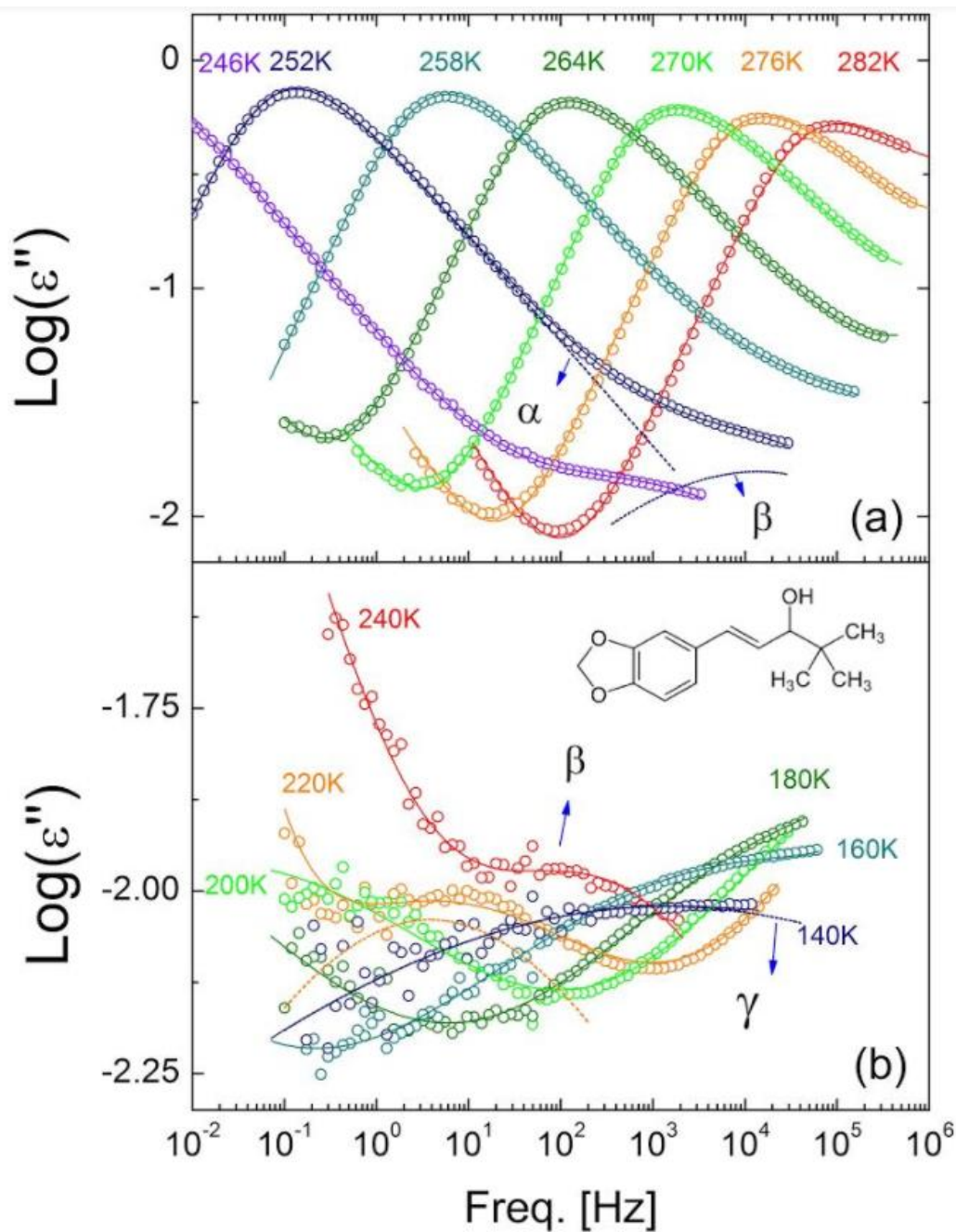


Figura 5.2. Espectres de ϵ'' de la relaxació primària α (a) i d'una relaxació secundària β (b) del Stiripentol per temperatures entre 140K i 282K. Les línies sòlides indiquen els ajustos realitzats (Ruiz et al., 2017).

- El difractograma del Stiripentol es pot veure en la figura 5.3. S'observa que el Stiripentol cristal·litza des de el líquid cristal·litzat directament a la fase

crystal·lina d'equilibri, sense indici, al menys a pressió ambient, de cap polimorfisme.

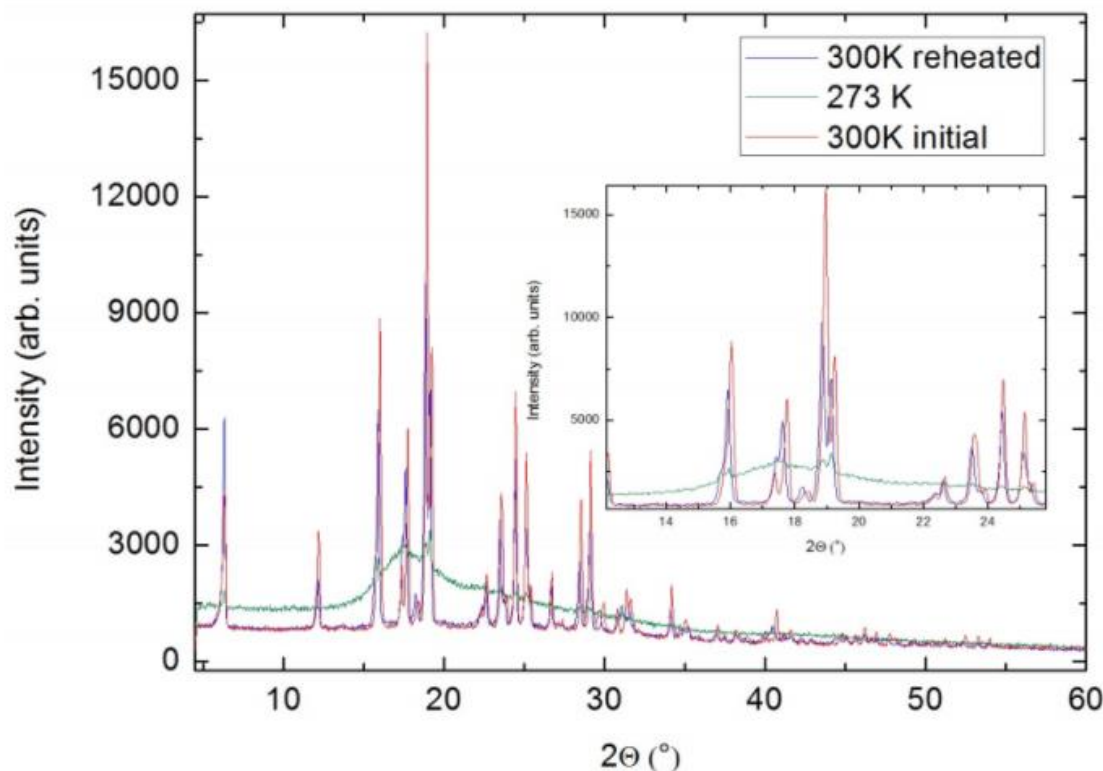


Figura 5.3. Difractograma del Stiripentol cristal·lí a temperatura ambient (mostra rebuda del fabricant, blau), comparat amb els difractogrames obtinguts fonent el material i subrefredant-lo per sota de la seva T_g (verd) i després de la recristal·lització (vermell) (Ruiz et al., 2017).

5.2 Descripció del polímer Àcid Polilàctic

L'àcid polilàctic es un polímer termoplàstic del grup dels polièsters, de propietats semblants al PET però que a més es biodegradable com bioactiu, pel que es àmpliament utilitzat en l'indústria farmacèutica i alimentaria.

El monòmer de partida per la síntesi del PLA es l'àcid làctic, que es una molècula quiral, pel que pot existir en dos enantiòmers diferents: l'àcid D-làctic o l'àcid L-làctic. Per tan, existeixen tres tipus d'àcid polilàctic: El poli(L-àcid làctic) (PLLA) pur, el poli (D-àcid làctic)

(PDLA) pur i el copolímer (PDLLA). Tan el PLLA com el PDLA son semicristal·lins, mentre que el PDLLA es amorf (Arnoult et al., 2007). En la *figura 5.4* es pot veure l'estructura tan del PLLA com del PDLA:

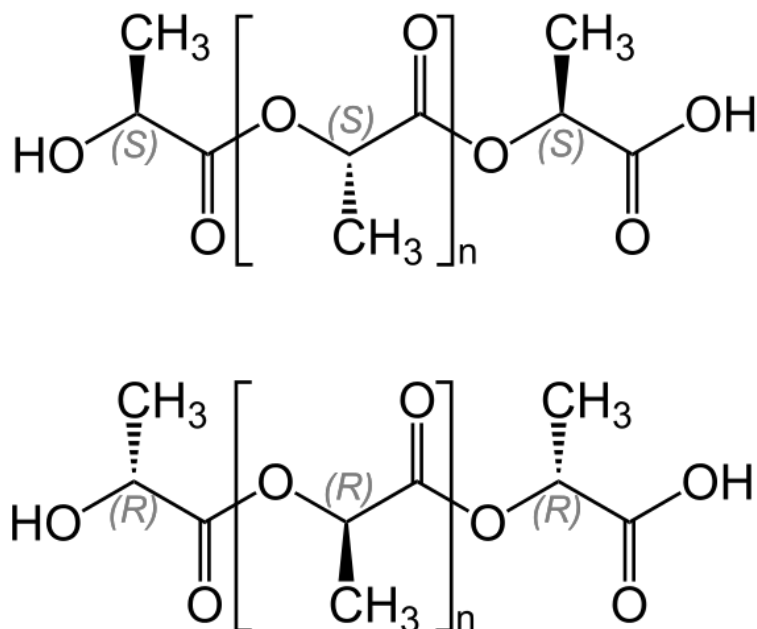


Figura 5.4. Estructura del PDLA (superior) i PLLA (inferior).

Tan el PLLA, que està format per l'enantiòmer més comú (R), com el PDLA son cristal·lins i tenen les mateixes propietats a paritat de pes molecular i temperatura, però no això amb el PDLLA. Es considera que es parla de PLLA si el contingut de PLLA es major al 90%. A continuació es pot veure una taula comparativa entre les propietats del PLLA i PDLA en front el PDLLA (Celli i Scandola, 1992). L'enantiòmer analitzat en aquest projecte ha estat el PLLA. En la *taula 5.2* es mostren les propietats del PLLA depenent del seu pes molecular. El pes molecular del PLA analitzat es de 181 kDa.

\bar{M}_v	T_m^a (°C)	ΔH_m^a (J g ⁻¹)	T_g^b (°C)	ΔC_p^b (J g ⁻¹ K ⁻¹)
5300	156	61	55	0.60
20 000	174	68	59	0.54
691 000	186	59	64	0.54

Taula 5.1. Propietats del PLLA segons el seu pes molecular (Celli i Scandola, 1992).

En les figures 5.5, 5.6, i 5.7 es poden veure, per el PLLA, els espectres de ϵ'' , el termograma de DSC i el difractograma de raigs X.

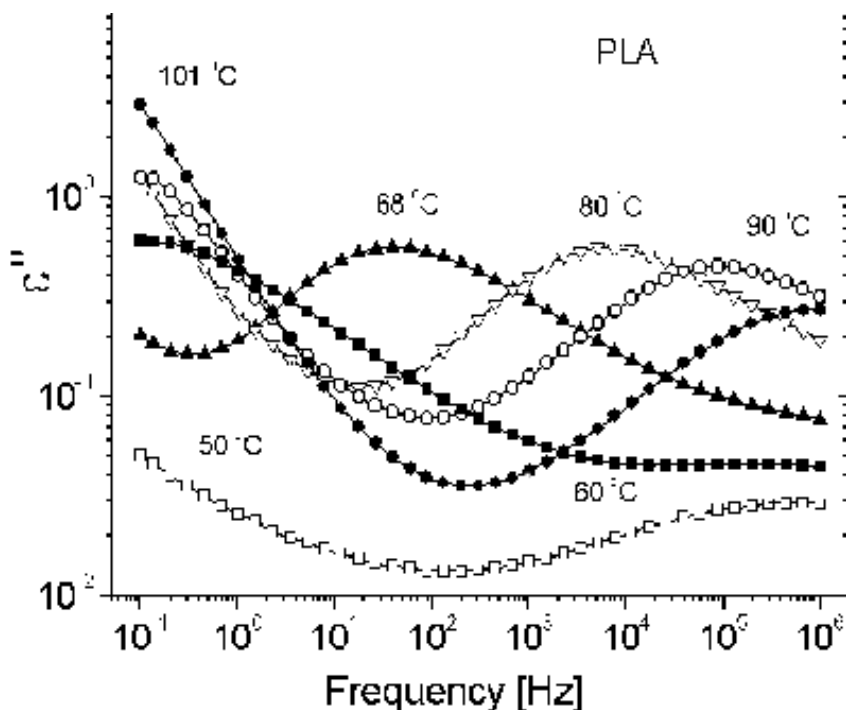


Figura 5.5.. Espectres de ϵ'' del PLLA. (Pluta et al., 2007).

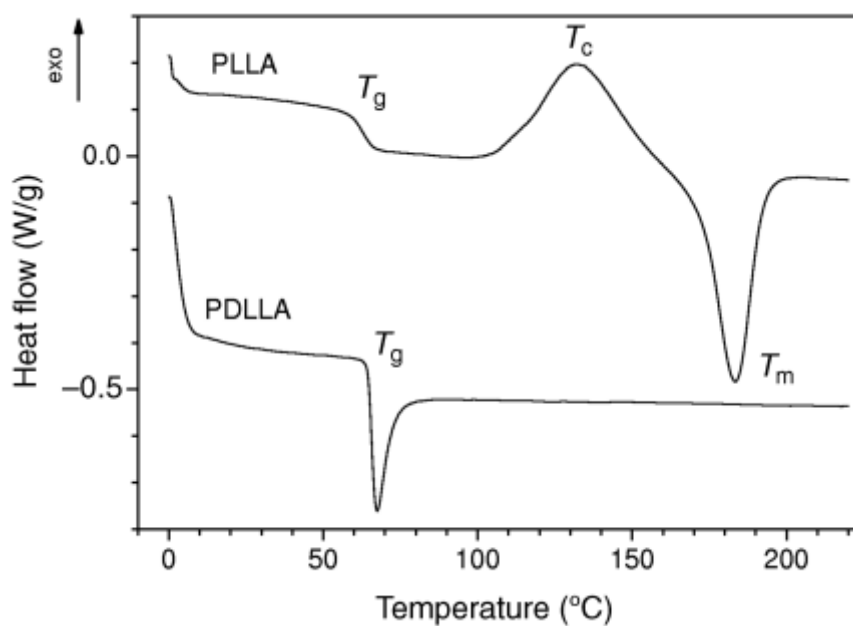


Figura 5.6.. Termograma de PLLA i de PDLLA. (Celli i Scandola, 1992).

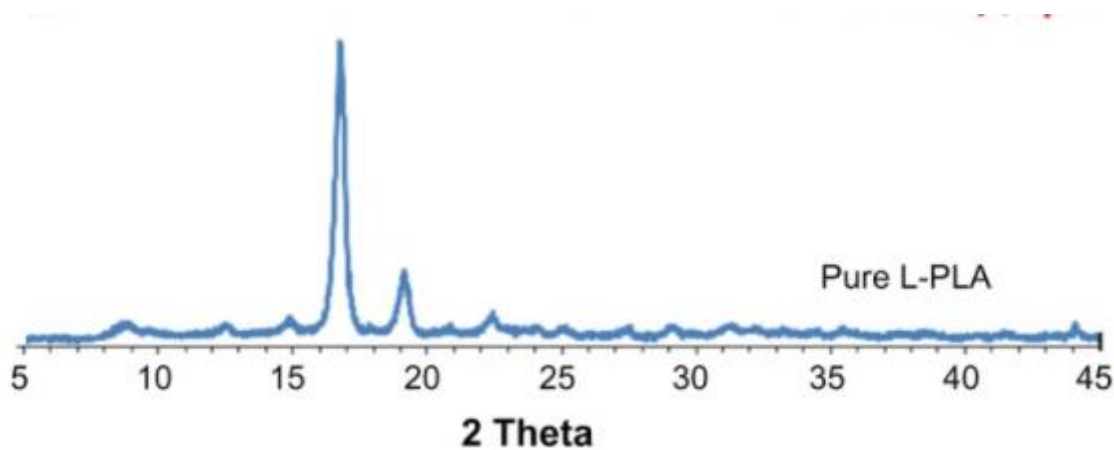


Figura 5.7. Diffractograma PLLA (Kalani i Yunus, 2012).

En el termograma de la figura 5.6 es pot observar que no hi ha cap pic de recristal·lització ni cap pic de fusió en el termograma del compost tàctic.. Això es degut al caràcter amorf del copolímer PDLLA.

6. Mesures i determinacions

L'objectiu d'aquest treball és estudiar el comportament estructural del Stiripentol amb el PLA com excipient. Per aquest motiu, s'han realitzat diferents mostres de concentració de Stiripentol al 0%, 5%, 7.5%, 10%, 20% i 30%. No s'ha realitzat cap mesura del Stiripentol pur (concentració del 100%) degut que en el grup de Caracterització de Materials recentment s'havia realitzat un estudi sobre aquest material (Ruiz et al., 2017).

Amb aquestes mostres s'han dut a terme mesures tan de calorimetria tèrmica d'escombrat (DSC), d'espectroscòpia dielèctrica (BDS) com de difracció de raigs X. En aquest apartat es detallaran els resultats obtinguts mitjançant aquestes tècniques.

6.1 Calorimetria tèrmica d'escombrat

Per a cada concentració s'ha realitzat el mateix procés. Un cop preparades les mostres, com s'explica en l'*Annex A*, aquestes s'han equilibrat a temperatura ambient (20 °C), i posteriorment s'han refredat fins -70 °C, a un ritme de 10 °C/min. A continuació s'han escalfat les mostres fins a 200 °C, també a un ritme de 10 °C/min. L'objectiu dels anàlisis per DSC ha estat estudiar les transicions físiques de les diferents mostres (com ara transicions de fase o transicions vítries) en funció de la temperatura.

A continuació, en la *figura 6.1* es poden consultar els diferents termogrames obtinguts, en sentit Exoup, per cada concentració de Stiripentol en un rang de temperatures de 0°C a 130 °C, on succeeixen les transicions físiques més importants per la investigació realitzada en aquest projecte.

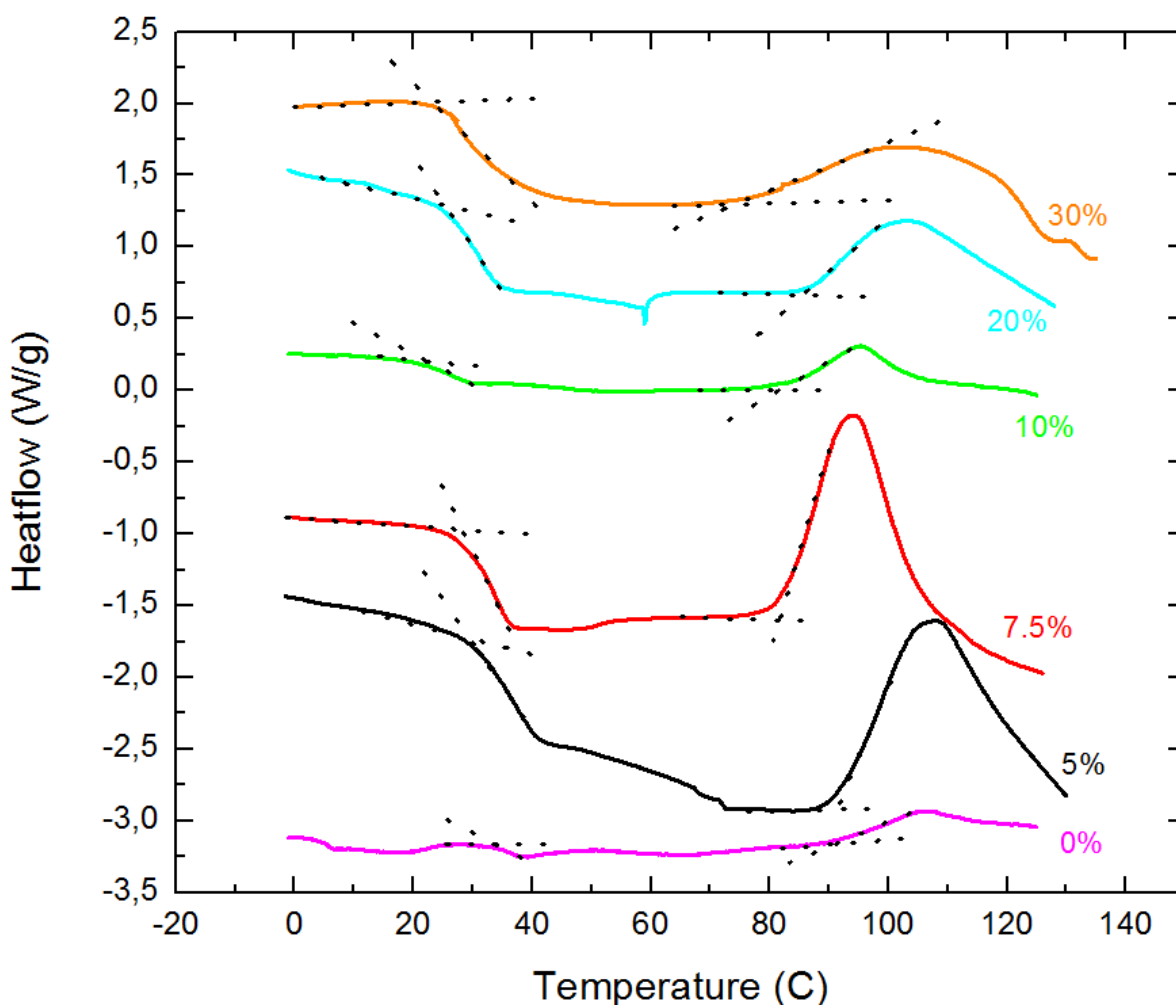


Figura 6.1. Termogrames obtinguts per diferents concentracions de Stiripentol.

Es pot observar com entre els 15 °C i els 35 °C per totes les concentracions hi ha un salt en la capacitat calorífica de la mescla, d'on es pot deduir la temperatura de transició vítria per cada concentració. També per totes les concentracions es pot veure al voltant dels 90 °C i els 110 °C un pic exotèrmic, que fa pensar una possible recristal·lització a aquesta temperatura. A continuació, a la *Taula 6.1* es poden veure els valors de T_g , T_c i T_m extrets d'aquests termogrames tal com s'explica en l'*apartat 4.1.1.1*, comparant-los també amb les dades bibliogràfiques de les que es disposa:

Concentració (% Stiripentol)	$T_g (\pm 1.0 \text{ }^\circ\text{C})$	T_g bibliografia ($^\circ\text{C}$)	$T_c (\pm 1.0 \text{ }^\circ\text{C})$
0%	34.4	50-60 \pm 1 (Celli i Scandola, 1992)	92.1
5%	29.6	-----	91.5
7.5%	28.4	-----	82.3
10%	21.7	-----	81.7
20%	25.6	-----	85.7
30%	24.1	-----	77.1
100%	-----	-26.8 \pm 0.5 (Ruiz et al., 2017)	-----

Taula 6.1: Valors de T_g i T_c obtinguts experimentalment per DSC i comparats amb les dades bibliogràfiques.

6.2 Espectroscòpia dielèctrica

Per a cada concentració s'ha dut a terme el mateix procés. Amb una primera mostra es feia un escombrat de freqüència entre 10^{-1} i 10^7 Hz en un rang de temperatures entre 0°C i 145°C , prenent mesures cada 5°C . Un cop vist en global la dinàmica molecular de la mostra per aquestes temperatures, es mesura una segona mostra, per un rang de freqüència de 10^{-2} a 10^7 Hz i un rang de temperatures de 0°C a 80 (depenent de la mostra), mesurant per increments de 2°C , amb l'objectiu de centrar-se més en el procés de relaxació α i d'obtenir dades més exhaustives de l'evolució d'aquesta relaxació primària a prop de la temperatura de transició vítria.

A la figura 6.2 es mostren espectres de pèrdua típics de les mescles, en el cas concret de la mostra amb una concentració del 10% de Stiripentol. La relaxació estructural (α) es clarament visible a sobre de la temperatura de transició vítria, que per aquesta mescla es

a prop de la temperatura ambient. Es pot veure que el valor de màxim de pèrdua inicialment augmenta significativament amb la temperatura, per després disminuir a partir de 65 °C. A prop d'aquesta temperatura s'observa un canvi important al fons de conductivitat, que podria indicar una recristal·lització parcial o canvi de fase parcial de la mostra. L'augment del màxim de pèrdua (o equivalentment, de la strength dielèctrica) a prop de T_g es un fenomen que no s'observa al Stiripentol ni al polímers purs, i que sembla per això característic de les mescles. Aquest augment de strength indica que, escalfant, cada cop més molècules de Stiripentol participen a la dinàmica estructural, com si el fet que la mescla (el polímer) es fa menys viscosa facilités la participació de més i més molècules a la relaxació cooperativa.

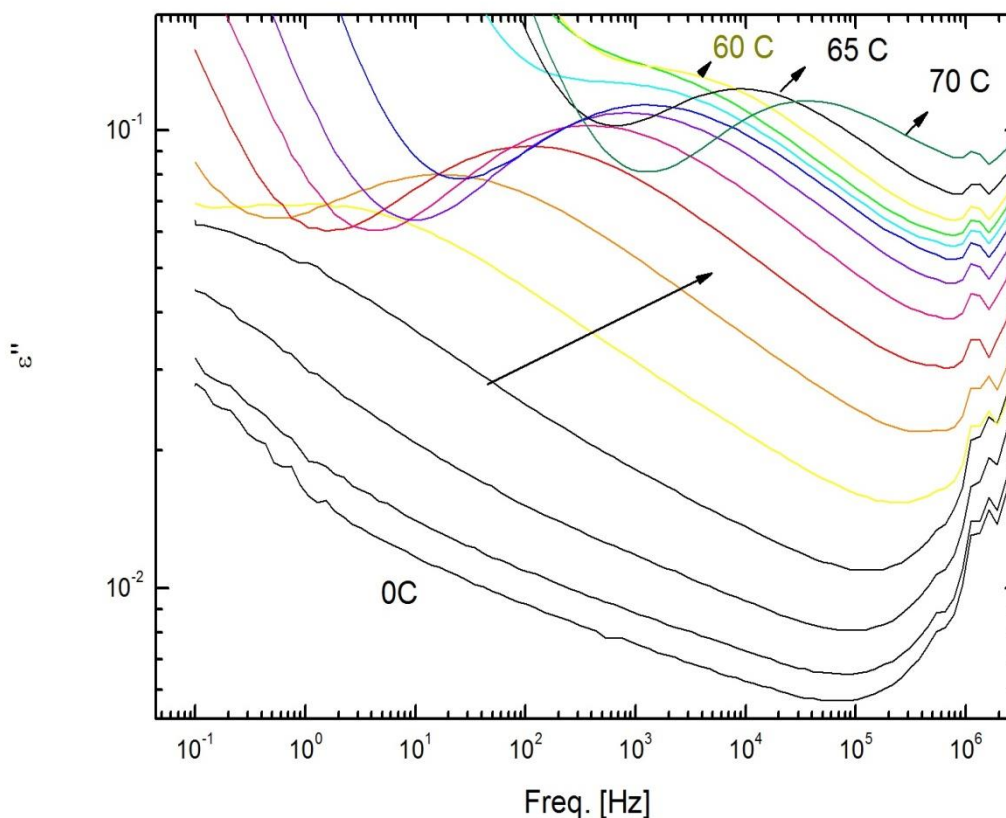


Figura 6.2: Espectres de ϵ'' per la concentració del 10% de Stiripentol a diferents temperatures, cada 5 °C.

A continuació, a la figura 6.3 es mostra el diagrama d'Arrhenius obtingut a partir dels ajusts

de les dades experimentals per l'equació de Havriliak-Negami (*Equació. 3.9*), on s'ha afegit també les dades del Stiripentol pur provinents del estudi previ (Ruiz i altres, 2017); a la *taula 6.2* els resultats de T_g obtinguts comparats amb els valors bibliogràfics, a la *figura 6.4* es mostren els espectres de ε'' per una mateixa temperatura (40 °C) per les diferents concentracions analitzades.

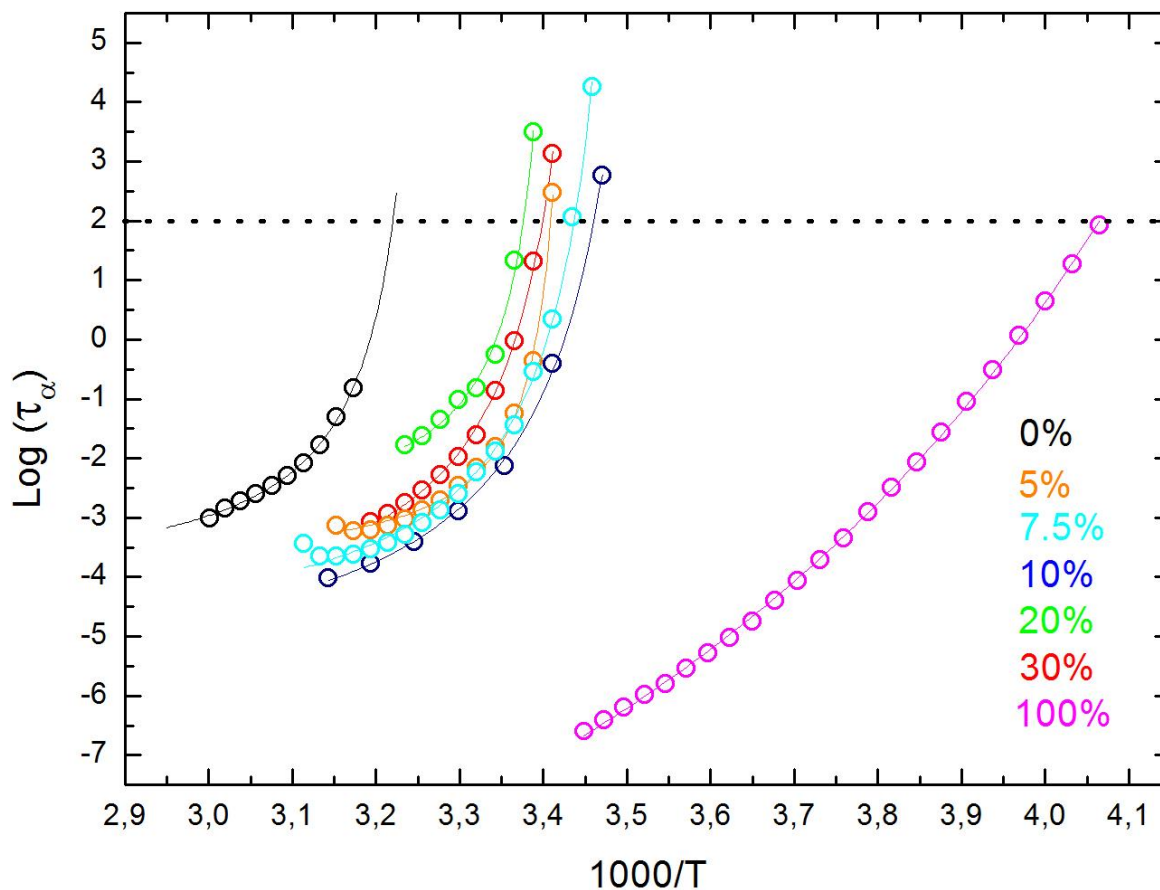


Figura 6.3. Diagrama Arrhenius obtingut amb les dades de BDS per diferents concentracions de Stiripentol. El diagrama Arrhenius de la concentració 0% ha estat extret de Ruiz et al., 2017.

Concentració (% Stiripentol)	T _g BDS ±0.5 (°C)	T _g Bibliografia (°C)
0%	37.4	50-60 ± 0.5 (Celli i Scandola, 1992)
5%	20.4	-----
7.5%	18.0	-----
10%	16.0	-----
20%	23.2	-----
30%	21.2	-----
100%	-----	-26.8 ± 0.5 (Ruiz et al., 2017)

Taula 6.2: Valors de T_g obtinguts per BDS i comparats amb les dades bibliogràfiques.

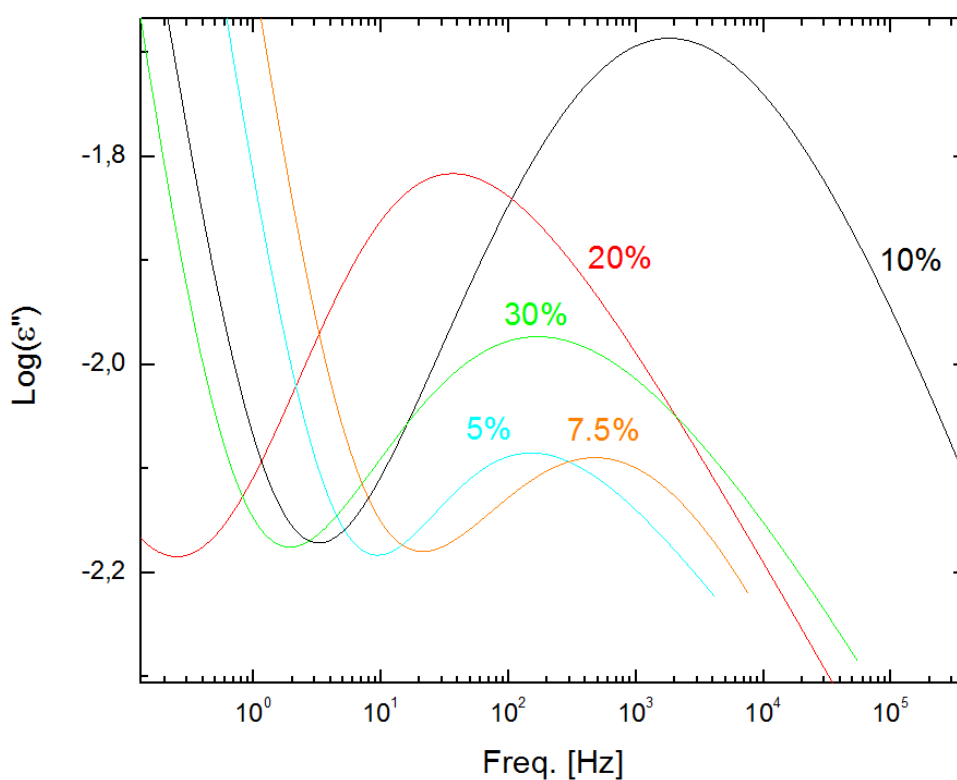


Figura 6.4: Espectres de ϵ'' a 40°C per diferents concentracions de Stiripentol

A les figures anteriors es pot veure que el comportament de les mescles segueix un patró diferent per concentracions de Stiripentol inferiors o superiors al 10%. En concret, partint del polímer pur, es veu que la Tg va disminuint i la strength dielèctrica va augmentant a mesura que s'afegeix més Stiripentol, i això es cert al menys fins a una concentració del 10%. A partir de concentracions superiors, la Tg de la mescla torna a pujar, i la strength dielèctrica es molt més baixa del que caldria esperar. Això indica que, per a concentracions superiors al 10%, una bona part de les molècules de Stiripentol no participen a la relaxació estructural, fet que suggereix que hi ha una cristal·lització parcial del Stiripentol en les mescles amb 20% i 30% de principi actiu, amb una separació de fase entre dominis amorfs i cristal·lins, molt probablement amb diferents concentracions de Stiripentol. És a dir, les dades semblen indicar que el límit de solubilitat de Stiripentol al PLLA es entre el 10 i 20%, com es discutirà al capítol 7.

6.3 Difracció de raigs X

S'han dut a terme, per les concentracions de 5% i 10% de Stiripentol, assaigs amb mostres a temperatura ambient (20°C) tant després de sintetitzar com amb mostres prèviament escalfades a 120 °C per tal de comprovar la cristal·linitat o amorfisme de les mostres per sota i per sobre dels pics exotèrmics (recristal·lització) obtinguts per DSC. A la *figura 6.5* es poden consultar els difractogrames obtinguts per les concentracions del 5% i 10% de Stiripentol a temperatura ambient (20°C), abans i després de escalfar a 120 °C.

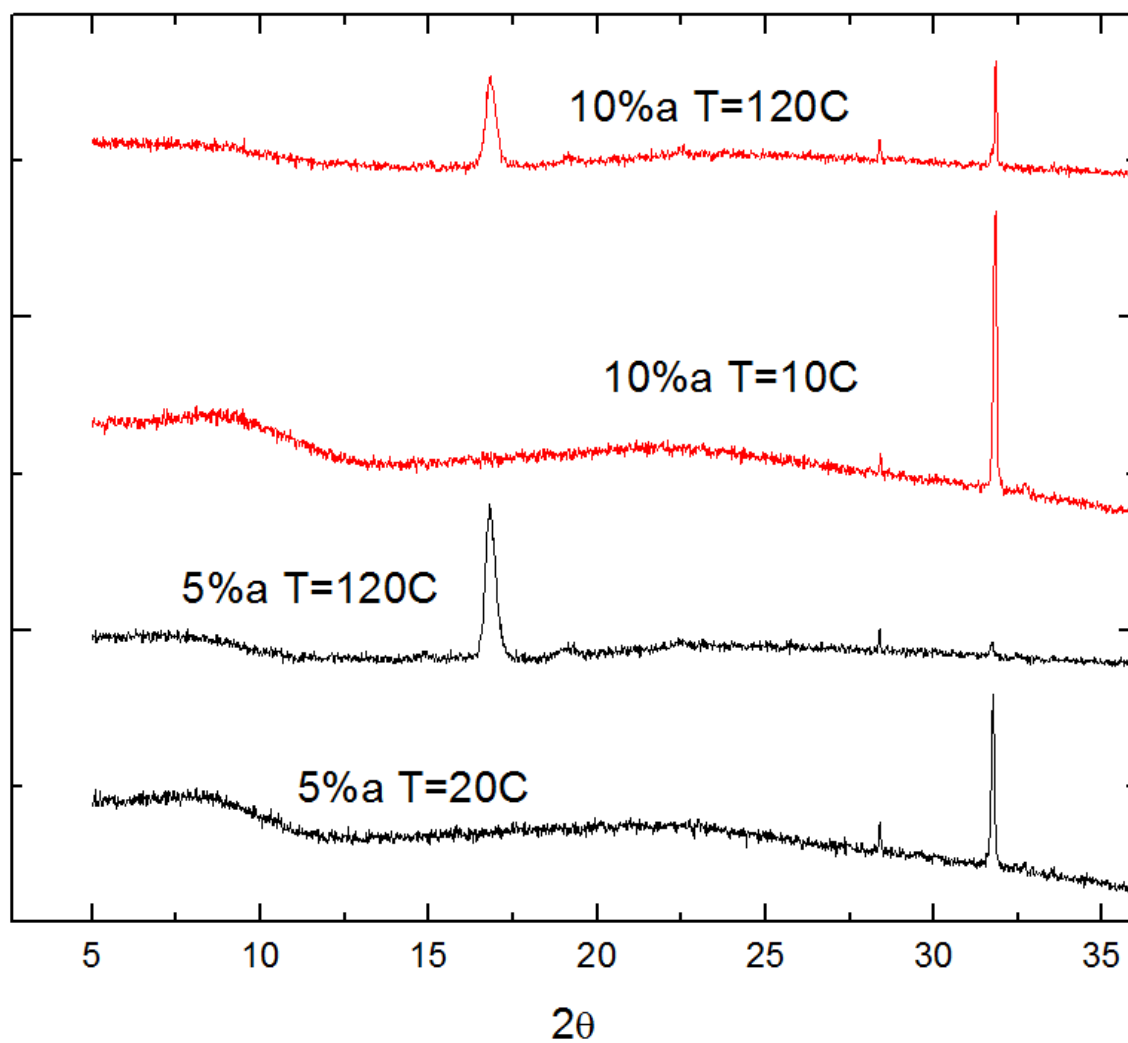


Figura 6.5: Comparativa entre els valors difractogrames obtinguts per les concentracions de 5% i 10% de Stiripentol abans i després de escalfar a 120 °C.

7. Anàlisi dels resultats

Un cop realitzada la part experimental, es procedeix a analitzar els resultats obtinguts, i a comparar-los amb els valors bibliogràfics. Cal dir que han sorgit alguns punts conflictius, diferents als resultats hipotetitzats, com ja explicat al apartat 6.2.

7.1 Hipòtesi de partida

Ruiz et al. han reportat que el Stiripentol té una temperatura de transició vítria de -26.8°C , temperatura bastant més baixa que la temperatura de transició vítria del PLA, que es troba en un rang de temperatures entre 50°C i 60°C (Celli i Scandola, 1992). Per tan, es d'esperar que les mostres de concentracions amb més quantitat de Stiripentol siguin aquelles amb una T_g inferior.

El Stiripentol es una substància cristal·lina a temperatura ambient, i el polímer utilitzat (PLLA) es semi-cristal·lí, pel que s'espera que per sobre de la T_g ambdues substàncies cristal·litzin o puguin fer-ho.

7.2 Anàlisi de resultats obtinguts

En aquest apartat es presenta una comparativa entre les dades experimentals obtingudes per DSC, per BDS i per difracció de raigs X. A continuació, en la *taula 7.1* es tornen a presentar les dades vistes en l'*apartat 6: Mesures i determinacions*:

Concentració (% Stiripentol)	T_g DSC ± 1.0 (°C)	T_g BDS ± 0.5 (°C)	T_c DSC ± 1.0 (°C)
0%	34.4	37.4	92.1
5%	29.6	20.4	91.5
7.5%	28.4	18.0	82.3
10%	21.7	16.0	81.7
20%	25.6	23.2	85.7
30%	24.1	21.2	77.1

Taula 7.1: Comparativa entre els valors de T_g i T_c obtinguts per DSC i BDS.

Com es pot observar, tan els resultats obtinguts per DSC com els obtinguts per BDS no compleixen els resultats que s'esperaven tenint en compte la literatura consultada (Ruiz et al., 2017 i Celli i Scandola, 1992), ja que la T_g obtinguda per les concentracions del 20% i 30% de Stiripentol no de fet son les mes baixes obtingudes a totes les mescles. A més, la T_g obtinguda per el PLA pur dista entre 13 i 15°C de les dades bibliogràfiques consultades.

Tot i això, tan les dades referent a la T_g obtingudes per DSC com les obtingudes per BDS segueixen la mateixa tendència, pel que es donen com a bones. El fet que, excepte en el cas de concentració 0%, les temperatures obtingudes en DSC son menors que les obtingudes per BDS es degut al diferent ritme d'escalfament que s'ha produït en els anàlisis. El DSC s'ha fet escalfant a un ritme de 10°C per minut, per contra les mesures de BDS s'han dut a terme amb salts de temperatura de 2°C, pel que la temperatura de la mostra augmenta molt més lentament. Això provoca probablement que el procés de desvitrificació tingui lloc a temperatura més baixa en el BDS i, per tan, s'obtinguin temperatures experimentals de vitrificació inferiors (la T_g no és una temperatura crítica definida de forma unívoca, si no que depèn del ritme al que escalfa i refreda la mostra). A més, cada mesura de BDS a cada temperatura suposa un temps de escaneig en freqüència a més d'estabilització tèrmica, que es tradueix en un major envelliment del

vidre per sota de T_g (o sigui, el vidre te més temps per relaxar-se en una mesura BDS que en un escombrat DSC).

El fet que la temperatura de transició vítria obtinguda per el polímer pur disti de la reportada en la bibliografia es pot explicar amb el fet que el PLA analitzat no tingui el pes molecular indicat per fabricant, o que sigui parcialment atàctic. En el primer cas, les cadenes polimèriques serien més curtes i tindrien una mobilitat major, i per tant una T_g menor. En el segon, el polímer no seria realment PLLA pur (amb només l'enantiòmer R), sinó que contindria també l'altre enantiòmer. Aquest fet provocaria obtenir una T_g més propera a la del polímer atàctic PDLLA, que es més baixa. Donat que el polímer s'ha de conservar sempre a baixa temperatura per tal d'evitar la seva descomposició parcial, sembla més probable la primera hipòtesis.

De fet, podem descartar que el polímer contingui una fracció important de PDLLA comprovant els dades obtinguts per DSC i difracció de raigs X. Els termogrames presenten pics de recristal·lització en un rang de temperatures de 77 a 92 °C que s'atribueixen al PLLA, ja que el Stiripentol te una temperatura de fusió de 82 °C, i que també apareixen en el termograma obtingut de la literatura consultada (*figura 5.6*).

Al mateix temps, als difractogrames obtinguts, adjunts altre cop en la *figura 7.1*, tan per la concentració de 5% de Stiripentol com de 10% de Stiripentol es pot veure com a la mostra escalfada a 120 °C apareix un pic de material cristal·lí que no era present a la mostra no escalfada, amb un angle de 2θ igual a 17.8°. Aquest pic es pot atribuir al PLA comparant-lo amb el difractograma del PLLA obtingut a la literatura. Es descarta que sigui un pic produït per el Stiripentol ja que a més concentració de Stiripentol, menor es l'àrea sota el pic.

Per contra, el pic situat a una posició 2θ igual a 31.8° es una senyal produïda per el Stiripentol, ja que el PLA no produeix cap pic en aquesta posició. A més, es l'àrea d'aquest pic augmenta amb la concentració de Stiripentol. Aquest pic disminueix molt després de escalfar a 120 °C, possiblement degut a evaporació del Stiripentol o a formació de

Stiripentol amorf després de escalfar.

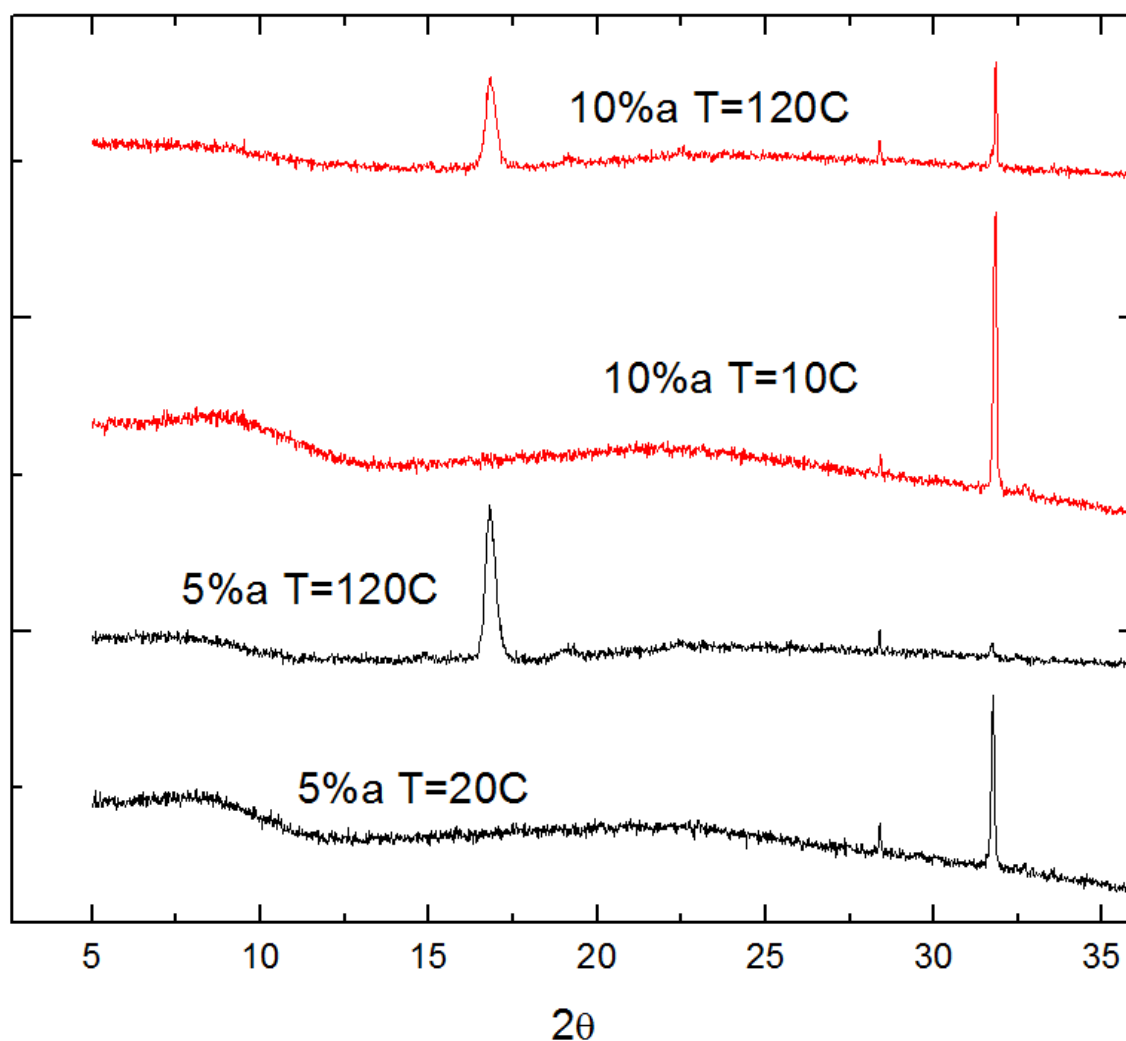


Figura 7.1: Comparativa entre els difractograms obtinguts per les concentracions de 5% i 10% de Stiripentol a 20°C i 120 °C.

La figura 7.1 mostra que, al principi, la major part de la mostra es amorfa. Això es pot comprovar també amb el resultats de BDS. Observant els espectres de ϵ'' obtinguts per el polímer pur (concentració del 0% de Stiripentol), que es mostren en la figura 7.2, s'observa com hi ha un salt en el fons de conductivitat, es a dir, una relaxació Maxwell-Wagner produïda per un efecte de càrrega espacial, per acumulació de càrregues en la separació entre dominis amorfs i cristal·lins de PLLA. Aquesta relaxació de càrrega

espacial no es present en cap mescla, al menys a prop i just per sobre de T_g .

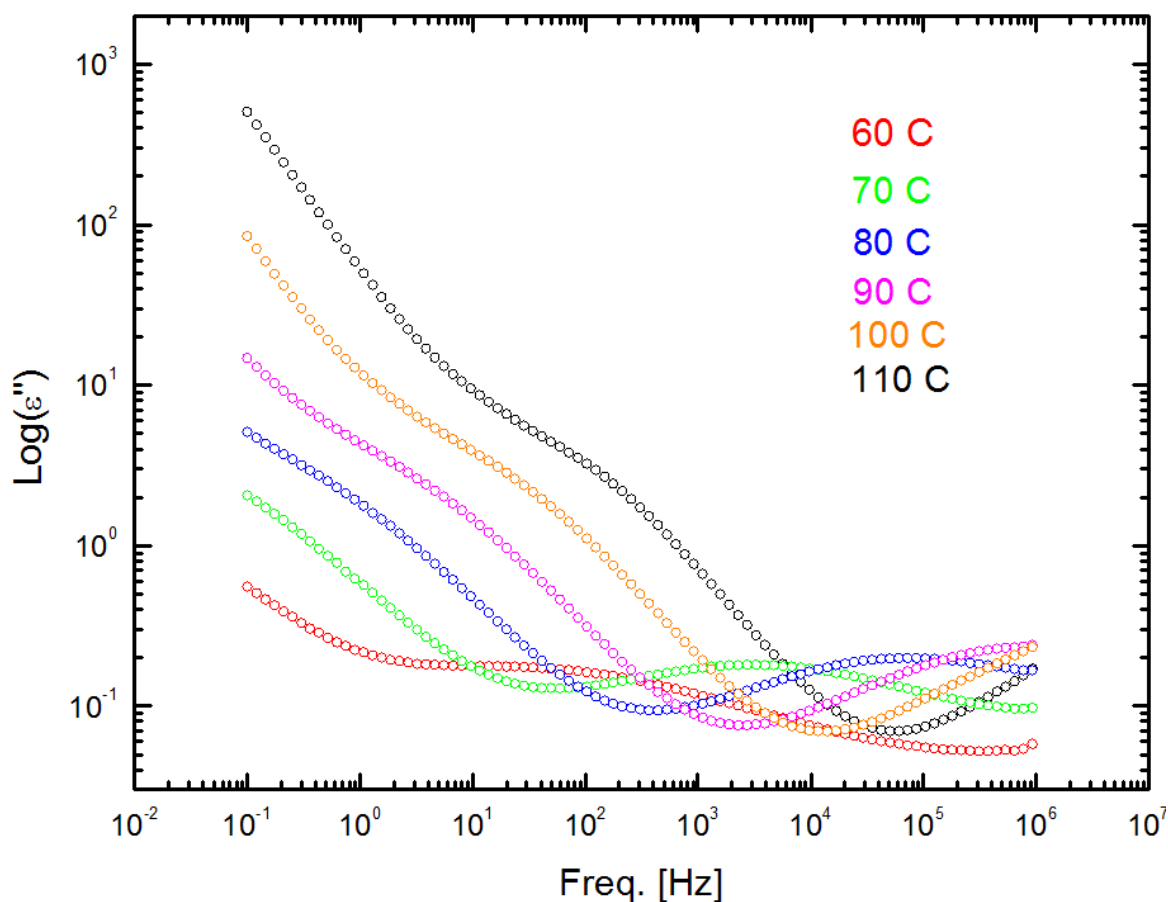


Figura 7.2.: Espectres de ϵ'' per el PLLA pur, a diferents temperatures.

Com ja explicat al apartat 6.2, els resultats obtinguts de T_g per les concentracions de 20% i 30% de Stiripentol difereixen de la hipòtesis d'unes mescles homogènies. Per aquestes concentracions s'esperaria obtenir les temperatures de transició vítria mes petites, però per contra s'han obtingut unes temperatures semblants a les del 5% i 7.5%, però superiors. En canvi, les temperatures de transició vítria obtingudes per les concentracions del 5%, 7.5% i 10% de Stiripentol segueixen la tendència esperada, es a dir, la temperatura de transició vítria decreix a major concentració de Stiripentol.

Aquest fet es deu a que per concentracions del 20% o superiors, el Stiripentol ha arribat

al límit de solubilitat amb el PLA, i s'han format dos dominis de Stiripentol: el Stiripentol no dissolt i present en fase cristal·lina, i dominis amorfs de Stiripentol dissolt amb el PLA. El Stiripentol cristal·lí no dona cap senyal en el anàlisi BDS i, per tan, només s'obté senyal dels dominis amorfs. El fet que només una part del Stiripentol estigui de fet barrejat amb el polímer implicaria que la part amorfa d'aquestes mesclures realment conté una concentració de Stiripentol bastant menor del 20% i 30%, fet que explicaria perquè donen un temps de relaxació i una strength comparables amb la mostra del homogènia de concentració del 5%. Al tenir realment més concentració de PLA del que es pensava, les T_g de les mostres amb concentració mitjana del 20% i 30% de Stiripentol tenen de fet una T_g més alta de l'esperada. Aquest fet es consistent amb el que mostra la *figura 7.3* (mateixa figura que la 6.4), on es veu que per una concentració del 10%, l'àrea sota la corba de ϵ'' es més gran que en les concentracions del 20% i 30%, es a dir, per una concentració del 10% de Stiripentol hi ha més quantitat de fase amorfa.

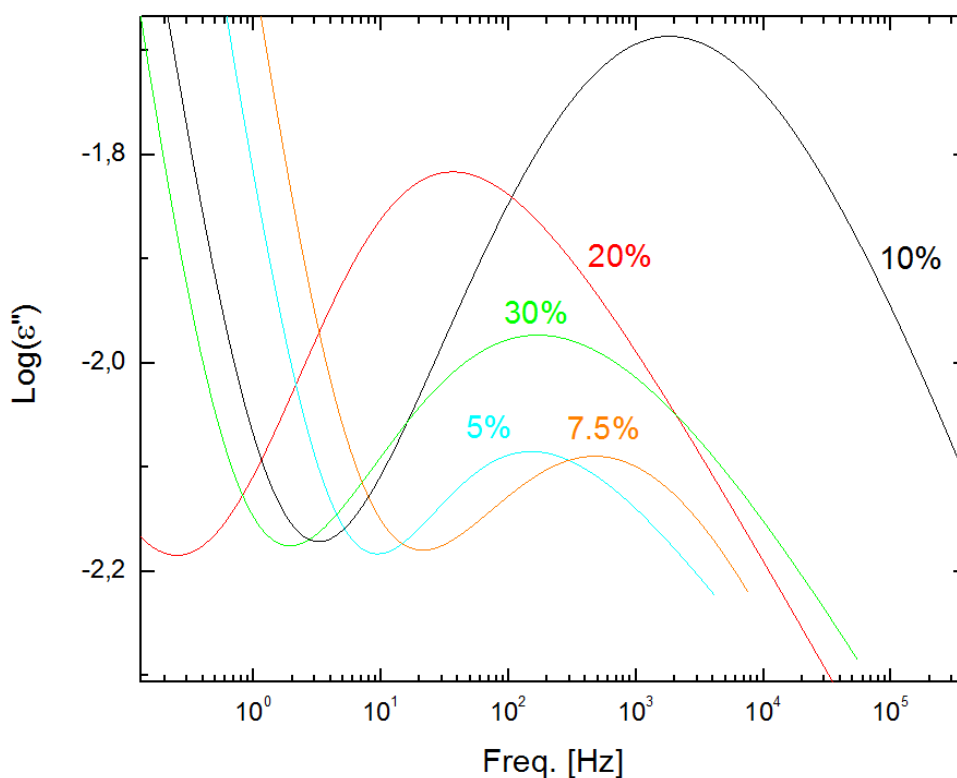


Figura 7.3: Espectres de ϵ'' a 40°C per diferents concentracions de Stiripentol

De fet, en un primer lot de mostres, es va observar que, tot i que les mostres es van

conservar en nevera, les mostres del 20% i 30% van patir un canvi de color, de transparent a groc i rosa respectivament. Aquest fet seria consistent amb de dos dominis de Stiripentol, ja que els dominis cristal·lins no dissolts podrien reaccionar amb els grups carboxílics terminals de les cadenes d'àcid polilàctic.

8. Cost del projecte

El projecte s'ha dut a terme en els laboratoris dels que disposa el Grup de Caracterització de Materials, del departament de física i enginyeria nuclear, mitjançant les diferents màquines d'anàlisi tèrmica disponibles en aquests laboratoris.

Per comptabilitzar el cost que suposa aquest projecte, s'ha deixat de banda la possible depreciació dels equips utilitzats, i s'ha realitzat una aproximació de les hores que han estat en ús, així com l'amortització per hora que se'ls hi atribueix (*taula 8.1*). Per tota la maquinaria s'ha considerat un període d'amortització de 5 anys. A més, s'ha de tenir en compte el cost dels consumibles utilitzats durant l'execució dels anàlisis (*taula 8.2*), i els recursos humans que s'han destinat al projecte (*taula 8.3*). No es té en compte cap cost d'adquisició de mostres, ja que aquestes han estat cedides de forma gratuïta al G.C.M.

A continuació es mostren desglossats els diferents costos del projecte:

Equip	Preu [€]	Amortització [€/h]	Temps d'ús [h]	Cost associat [€]
BDS	180000	36	120	4320
DSC	19700	7	8	56
Difracció	220000	50	5	250
Altres				30
TOTAL				4626

Taula 8.1 Amortització dels equips utilitzats.

Producte	Preu unitari [€]	Nº unitats	Cost associat [€]
Bombona Nitrogen Líquid (60L)	90	10	900
Bombona Nitrogen Comprimit (20L)	134	1	134
Bombona Heli comprimit (20L)	80	1	80
Elèctrodes Plata	5	4	20
TOTAL			1134

Taula 8.2 Cost dels consumibles.

Personal	Salari [€/h]	Temps invertit [h]	Cost associat [€]
Projectista	25	500	12500
Personal Investigador	25	500	12500
TOTAL			25000

Taula 8.3 Cost de personal.

Finalment, agrupant els conceptes anteriors, més els costos de llum, aigua i material d'oficina s'obté el cost total del projecte:

Partida	Cost associat [€]
Amortització dels equips	4626
Consumibles	1134
Personal	25000
Electricitat i aigua	125
Material oficina i laboratori	20
	30905

Taula 8.4 Cost total del projecte.

9. Estudi de sostenibilitat

9.1 Impacte mediambiental

Les mostres analitzades durant la realització d'aquest projecte (PLA i Stiripentol) no presenten cap risc ni perill contaminant envers les persones que manipulen aquestes substàncies. L'únic risc que es pot presentar és la ingesta de Stiripentol, però es un cas molt poc probable, especialment amb les concentracions de les mostres analitzades. Es pot dir que les mostres analitzades son innòcues, per la qual cosa no es requereix d'un anàlisi de riscos i perills en profunditat.

En canvi, el risc potencial augmenta al parlar dels fluids que utilitzen els aparells de mesura utilitzats. El nitrogen líquid utilitzat per les mesures del Espectròmetre, al trobar-se a temperatures inferiors a 195.5 °C, comporta riscos de congelació i cremades criogèniques. A més, una fuga de nitrogen, en un espai reduït sense ventilació, desplaça l'oxigen present en l'aire, provocant insuficiències respiratòries. Per aquest motiu, cal emprar sistemes de ventilació en les sales d'anàlisi, i per transportar el oxigen cal evitar estar en espais tancats, com per exemple un ascensor.

La bombona d'oxigen utilitzada en el DSC, tot i que es molt poc probable, presenta un risc de deflagració en cas de fuga, pel que cal fer un bon manteniment de la vàlvula de seguretat de la bombona. Tan en el cas dem les bombones d'oxigen com les d'heli utilitzades en les mesures de DSC hi ha present un risc, també molt improbable degut a la temperatura de treball, d'explosions provocades per altes temperatures.

Totes les fitxes de seguretat dels composts emprats en el projecte (tan mostres com fluids de refrigeració) es poden trobar adjuntes en l'*Annex B*.

Un estudi termodinàmic, produeix un elevat consum energètic, degut a la potencia

elèctrica dels aparells de mesura, i del temps que comporta realitzar una mesura completa, ja que les mesures realitzades per BDS tenen una duració de mes de 10h.

Tot i l'impacte ambiental que provoca un estudi termodinàmic, aquest sempre es un pas essencial en el procés de recerca i producció d'un fàrmac, pel que es considera necessari realitzar el procés. Per disminuir en tot el possible l'impacte mediambiental, una nova tecnologia de refrigeració basada en substàncies sòlides seria positiva, ja que es reduiria el risc d'emissions nocives dels gasos refrigerants.

9.2 Impacte social

Un projecte de recerca científica te sobre la societat un impacte positiu, retornant a la població coneixement amb un alt valor científic i cultural. Tan l'estudi realitzat en aquest projecte com altres estudis en l'àmbit farmacèutic contribueixen al desenvolupament de nous fàrmacs dels quals es podrà beneficiar la societat, poden suposar una millora en l'eficàcia dels composts farmacèutics ja presents en el mercat, i fins i tot a detectar possibles perills en fàrmacs que provoquin la retirada d'un producte del mercat. Per tan, es considera que l'impacte social d'aquest projecte es positiu.

9.3 Impacte econòmic

La indústria, com normalment passa amb qualsevol tipus d'indústria, es mou en la cerca dels majors beneficis econòmics possibles. Un punt clau en aquest àmbit son les patents, que permeten a una empresa gaudir dels drets exclusius de comercialització durant un temps limitat del seu descobriment, obtenint uns beneficis que permeten autofinançar les investigacions i permetre'n de noves.

Es evident que durant el desenvolupament de nous fàrmacs hi hagi conflictes entre diferents empreses per poder identificar, i posteriorment patentar, noves formes polimòrfiques, ja que les diferents formes cristal·lines d'un mateix compost presenten



propietats més o menys interessants per una determinada aplicació.

Cada polimorf es potencialment patentable, per aquest motiu abans de fer públic un nou producte cal identificar, estudiar i caracteritzar tots els possibles polimorfs en els quals un mateix compost pugui cristal·litzar. No realitzat el procés previ d'estudi permetria a altres empreses avançar-se i introduir al mercat tots aquests polimorfs abans que la patent original expiri, amb les conseqüències econòmiques que això suposa.

L'estudi de identificació i caracterització dels possibles polimorfs d'un compost, així com les condicions que influeixen en l'aparició d'un o altre polimorf, permet evitar aquestes condicions durant el transport i emmagatzematge d'un determinat fàrmac. Es poden arribar a comercialitzar productes que, al patir transformacions, no només passin a ser ineficaços, sinó inclús poden produir efectes antagònics o tòxics. Aquest fet provocaria retirar el producte del mercat, que es tradueix en grans pèrdues econòmiques derivades de retirar un producte ja fabricat, de la pèrdua de ventes d'aquest producte i de la mala imatge pública a ulls dels consumidors.

Conclusions

Un cop fet l'anàlisi dels resultats obtinguts, es poden extreure les següents conclusions:

- El Stiripentol, en concentracions inferiors al límit de solubilitat (entre 10 i 15 % en pes), conforma amb l'àcid polilàctic com excipient una mescla amorfa, amb una temperatura de transició vítria (T_g) que, depenent de la concentració, es troba entre 19°C i 30°C.
- Les mescles amb una concentració en pes de Stiripentol igual o inferior al 10% es mantenen estables fins a uns 40 °C per sobre de la T_g de la mescla.
- Per sobre del límit de solubilitat, el Stiripentol forma dominis cristal·lins, que poden arribar a reaccionar amb el PLA.
- El PLA no es un excipient ideal per el Stiripentol, ja que presenta un baix límit de solubilitat que limita el contingut de Stiripentol que conformaria el fàrmac, i a més la possibilitat de reaccionar amb Stiripentol en concentracions altes es un problema important per a la estabilitat no només física si no química del fàrmac.

Futures línies d'investigació

Es proposen els següents projectes en base a aquesta línia, per millorar els resultats obtinguts:

- Estudiar més en detall el límit de solubilitat del Stiripentol amb l'àcid polilàctic com excipient.
- Determinar exactament l'estabilitat química tant del PLLA pur com de les mescles amb alta concentració de Stiripentol.
- Estudiar el comportament dinàmic del Stiripentol amb altres excipients biopolimèrics.

Agraïments

En primer lloc, agrair al meu tutor Roberto Macovez l'oportunitat que m'ha donat de realitzar aquest treball en el seu grup d'investigació, que m'ha permès descobrir un altre costat de l'industria farmacèutica, i per la seva gran ajuda.

També agrair a Guadalupe, tota la paciència que ha tingut i tota l'ajuda que m'ha proporcionat des de el primer moment, i d'igual forma a Michela Romanini per la seva ajuda en tot el relacionat amb els anàlisi de difracció de Raigs-X.

Bibliografia

A continuació es mostren les referències bibliogràfiques citades al projecte:

A. ZHACHARIAH, S. THOMAS, R. THOMAS, R. MISHRA. *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization, volume 2*. Elsevier, 2017, p. 237-249.

SZABO, J.P. AND I.A. KEOGUH, *Method for analysis of dynamic mechanical thermal analysis data using the Havriliak-Negami model*. Proceedings of the NATAS Annual Conference on Thermal Analysis and Applications, 2000, p. 623-628.

BHADESHIA, H. K. D. H. *Differential Scanning Calorimetry*. University of Cambridge, Materials Science & Metallurgy, 2010.

A. OZOLS. *Aplicaciones de la difracción de rayos X*. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ingeniería, 2009.

ROUQUEROL, J. Nomenclature of Thermal Analysis. IUPAC, 2012.

G.N. RUIZ, M. ROMANINI, M. DEL BARRIO, L.C. PARDO, R. MACOVEZ, J.L. TAMARIT. *On the physical stability of drugs in the amorphous State: the case of Stiripentol*. Universitat Politècnica de Catalunya, Grup de Caracterització de materials, 2017.

A. TRAN, F. VAUZELLE KERVRODEAN, E. REY, *Effect of Stiripentol on carbamazepine plasma concentration and metabolism in epileptic children*. European journal of clinical pharmacology, 1996.

S. AFIFI. *Solid dispersion approach improving dissolution rate of Stiripentol: a novel antiepileptic drug*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2015.

ARNOULT, M. DARGENT, E. MANO, J.F. *Mobile amorphous phase fragility in semicrystalline polymers: Comparison of PET and PLLA*, Polymer 2007, p. 1012–1019.

M. PLUTA, J. KRZYSTOF, G. BOITEUX. *Poly(lactide)/montmorillonite nanocomposites: Structure, dielectric, viscoelastic and thermal properties*. European Polymer Journal, 2007.

PICCIOCHI, R. WANG, Y. ALVES, N.M. MANO, J.F. COLLOYD. *Glass transition of semi-crystalline PLLA with different morphologies as studied by dynamic mechanical analysis*, Polym. Sci. 2007, p. 575–580.

A. CELLI, M. SCANDOLA. *Thermal-Properties and physical aging of Poly(L-Lactid Acid)*, Polymer 1992, p. 2699–2703.

M. KALANI, R. YUNUS. *Effect of supercritical fluid density on nanoencapsulated drug particle size using the supercritical antisolvent method*. International Journal of Nanomedicine, 2012.