

28  
2 ej



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales  
"ZARAGOZA"

**"Estudio Preliminar para Optimizar las  
Condiciones de Liberación Sostenida de Esteroides  
para Suspensión Inyectable".**

## TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de:

### QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

Presentan:

**LAURA PATRICIA LAISECA SOTO  
PATRICIA GONZALEZ AGUILAR**

MEXICO, D. F.

Noviembre de 1989.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## C O N T E N I D O

	Página
INTRODUCCION .....	1
CAPITULO I FUNDAMENTACIÓN DEL TEMA	
1.    Procesos de liberación prolongada .....	4
1.1 Concepto .....	4
1.2 Diseño de formas de liberación controlada .....	6
1.3 Tecnología de liberación controlada .....	7
2.    Caracterización de los esteroides -- hormonales inyectables de acción controlada .....	10
3.    Bases teóricas relacionadas con el desarrollo experimental llevado a cabo en este estudio .....	13
CAPITULO II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	18
CAPITULO III. OBJETIVO .....	20
CAPITULO IV. HIPOTESIS .....	21
CAPITULO V. MATERIALES Y METODOS .....	22
CAPITULO VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL	
1.    Estudios preliminares con Alcohol <u>eg</u> tearílico .....	24
2.    Tratamiento del Colesterol .....	26
3.    Tratamiento de esteroides hormonales.....	27
4.    Control de Temperaturas .....	28
5.    Sistema de Disco Rotatorio .....	28
6.    Sistema de enfriamiento con Nitrógeno líquido .....	30
7.    Sistema de Esferulización .....	31
CAPITULO VII. RESULTADOS .....	33
CAPITULO VIII. DISCUSION .....	103
CAPITULO IX. CONCLUSIONES .....	109
SUGERENCIAS .....	111
BIBLIOGRAFIA .....	112

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura No. 1: Perfil de concentración de fármaco en sangre para comparación de la administración de dosis múltiple de una forma de dosificación oral contra dosis única del fármaco de liberación sostenida.....	4
Figura No. 2: Modelo farmacocinético general de una forma de dosificación de liberación sostenida.....	7
Figura No. 3: Estructura química del Acetato de medroxiprogesterona (MPA).....	10
Figura No. 4: Estructura química del Enantato de noretisterona (NET-EN).....	10
Figura No. 5: Estructuras químicas del Acetofénido de dihidroxiprogesterona y Enantato de estradiol.....	12
Figura No. 6: Estructuras químicas de Noretisterona y Mestranol.....	12
Figura No. 7: Estructuras químicas del Acetato de medroxiprogesterona y Cipionato de estradiol.....	12
Figura No. 8: Estructuras químicas del Caproato de 17-alfa-hidroxiprogesterona y Valerato de estradiol.....	12
Figura No. 9: Estructuras químicas del Enantato de Noretisterona y Valerato de estradiol.....	12
Figura No. 10: Esquema del Disco Rotatorio.....	29
Figura No. 11: Diagrama de bloques del equipo esferulizador.....	31
Figura No. 12: Gráfico del Infrarrojo de Colesterol sin tratamiento.....	46
Figura No. 13: Gráfico del Infrarrojo de Colesterol tratado.....	46
Figura No. 14: Gráfico del Infrarrojo de Noretindrona sin tratamiento.....	47
Figura No. 15: Gráfico del Infrarrojo de Noretindrona tratada.....	47
Figura No. 16: Gráfico del Infrarrojo de Mestranol sin tratamiento.....	48

	Página
Figura No.17: Gráfico del Infrarrojo de Mestranol tratado.....	48
Figura No.18: Gráfico del Infrarrojo de Valerato de Estradiol sin tratar .....	49
Figura No.19: Gráfico del Infrarrojo de Valerato de Estradiol tratado .....	49
Figura No.20: Distribución del tamaño de partícula de la muestra de Colesterol tratada retenida en malla no. 150.....	53
Figura No.21: Distribución del tamaño de partícula de la muestra de Colesterol tratada retenida en malla no. 180 .....	53
Figura No.22: Distribución del tamaño de partícula de la muestra de Colesterol tratada retenida en malla no. 200 .....	54
Figura No.23: Distribución del tamaño de partícula de la muestra de Enantato de noretindrona tratada retenida en malla no. 35 .....	58
Figura No.24: Distribución del tamaño de partícula de la muestra de Enantato de noretindrona tratada retenida en malla no. 80 .....	58
Figura No.25: Distribución del tamaño de partícula de la muestra de Enantato de noretindrona tratada retenida en malla no. 120 .....	59
Figura No.26: Distribución del tamaño de partícula de la muestra de Enantato de noretindrona tratada retenida en malla no. 180 .....	59
Figura No.27: Distribución del tamaño de partícula de la muestra de Enantato de noretindrona tratada retenida en malla no. 200 .....	60
Figura No.28: Perfil de disolución de la muestra de Progesterona cristalizada en hielo seco .....	68
Figura No.29: Perfil de disolución de la muestra de Progesterona cristalizada en Nitrogeno liquido..	71
Figura No.30: Perfil de disolución de la muestra de Progesterona con diferente medio de disolución .....	73
Figura No.31: Distribución del tamaño de partícula para la muestra sin tratamiento de 17-B-estradiol retenido en malla No. 150 .....	76

	Página
Figura No.32: Distribución del tamaño de partícula para la muestra tratada de 17-B-estradiol retenido en malla No. 150.....	76
Figura No.33: Distribución del tamaño de partícula para la muestra tratada de 17-B-estradiol retenido en malla No. 180.....	77
Figura No.34: Perfil de disolución de la muestra - de 17-B-estradiol.....	79
Figura No.35: Perfil de disolución de la muestra - de 17-B-estradiol.....	81
Figura No.36: Barrido Calorimétrico Diferencial -- (DSC) para la muestra de Progesterona materia prima sin tratamiento.....	83
Figura No.37: Barrido Calorimétrico Diferencial -- (DSC) para la muestra tratada de Progesterona.....	84
Figura No.38: Barrido Calorimétrico Diferencial -- (DSC) para la muestra de 17-B-estradiol materia prima sin tratamiento.....	85
Figura No.39: Barrido Calorimétrico Diferencial -- (DSC) para la muestra tratada de 17-B-estradiol.....	86
Figura No.40: Distribución del tamaño de partícula para la muestra de alcohol estearílico retenida en malla no. 180.....	91
Figura No.41: Distribución del tamaño de partícula para esferas de alcohol estearílico retenidas en malla no. 200.....	91
Figura No.42: Distribución del tamaño de partícula para esferas de alcohol estearílico (fracción retenida en malla no. 200).....	92
Figura No.43: Distribución del tamaño de partícula para esferas de colesterol por observación al microscopio.....	94
Figura No.44: Distribución del tamaño de partícula para esferas de 17-B-estradiol retenido en malla 180.....	97
Figura No.45: Distribución del tamaño de partícula para esferas de 17-B-estradiol retenido en malla 200.....	98

	Página
Figura No. 46: Distribución del tamaño de partícula para esferas de 17-B-estradiol pasado - por malla 200 .....	99
Figura No. 47: Perfil de disolución de esferas de - 17-B-estradiol .....	102

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla No. I-III: Puntos de fusión del alcohol estearílico .....	33-35
Tabla No. IV : Puntos de fusión del Colesterol .....	36
Tabla No. V : Puntos de fusión del Enantato de noretindrona .....	40
Tabla No. VI : Puntos de fusión del Mestranol .....	40
Tabla No. VII : Puntos de fusión del Valerato de estradiol .....	41
Tabla No. VIII : Granulometría del Colesterol .....	51
Tabla No. IX : Distribución del Tamaño de Partícula del Colesterol .....	52
Tabla No. X : Granulometría de Enantato de - Noretindrona .....	55
Tabla No. XI : Distribución del Tamaño de Partícula de Enantato de Noretindrona .....	56
Tabla No. XII : Selección microscópica de partículas de Enantato de Noretindrona .....	57
Tabla No. XIII: Prueba de disolución para Enantato de Noretindrona .....	61
Tabla No. XIV : Sistemas de enfriamiento para colesterol .....	62
Tabla No. XV : Granulometría de la Progesterona .....	64
Tabla No. XVI : Distribución del Tamaño de Partícula para Progesterona .....	65
Tabla No. XVII : Prueba de disolución para Progesterona cristalizada con hielo seco .....	67
Tabla No. XVIII: Puntos de fusión de esteroides cristalizados con nitrógeno líquido .....	69
Tabla No. XIX : Prueba de disolución de Progesterona cristalizada en Nitrógeno líquido .....	70
Tabla No. XX : Prueba de disolución de progesterona con medio de Metanol-Agua .....	72
Tabla No. XXI : Granulometría de 17-B-Estradiol - sin tratamiento .....	74
Tabla No. XXII--XXIII: Distribución del tamaño de partícula por técnica microscópica para 17-B-estradiol tratado .....	74-75
Tabla No. XXIV--XXV : Prueba de disolución para 17-B-Estradiol .....	77-80
Tabla No. XXVI : Distribución del Tamaño de Partícula de esferas de alcohol estearílico por la técnica de microscopía .....	87

	Página
Tabla No. XXVII-XXIX : Distribución del tamaño de partícula de Alcohol estearílico utilizando la técnica de microscopía (mallas No. 180 y 200).....	88-90
Tabla No. XXX : Distribución del Tamaño de partículas esféricas de Colesterol por observación microscópica.....	93
Tabla No. XXXI-XXXIII: Distribución del Tamaño de Partículas esféricas para 17- $\beta$ -estradiol por técnica de microscopía .....	95-96
Tabla No. XXXIV : Prueba de disolución de esferas de 17- $\beta$ -Estradiol.....	101

#### INDICE DE FOTOGRAFÍAS

	Página
Fotografía No. 1: Colesterol sin tratamiento.....	37
Fotografía No. 2: Colesterol recristalizado en Etanol.....	38
Fotografía No. 3: Colesterol recristalizado en Acetona.....	39
Fotografía No. 4: Colesterol sin tratamiento .....	42
Fotografía No. 5: Colesterol tratado .....	43
Fotografía No. 6: Enantato de Noretindrona sin tratamiento.....	44
Fotografía No. 7: Enantato de Noretindrona tratada.....	45
Fotografías No. 8 y 9: Esferas de 17- $\beta$ -Estradiol.....	100



## I N T R O D U C C I O N

En 1984, México participó en la Segunda Conferencia de Población Mundial para discutir puntos importantes para la mejor implementación del Plan de Acción de Población Mundial (14). Esto trajo consigo la necesidad de brindar mayores recursos a la investigación biomédica en tecnología anticonceptiva, encaminada tanto a la seguridad como a la eficacia de los métodos anticonceptivos existentes como al desarrollo de nuevos métodos, es decir, modernizar los requerimientos oficiales para evaluar preclínica y clínicamente nuevos agentes reguladores de la fertilidad. Existen muchas razones para esto, pero una importante es, que los métodos y servicios disponibles actualmente para la regulación de la fertilidad ya no satisfacen las necesidades de países en desarrollo como el nuestro.

Durante la última década se han tenido resultados en el desarrollo de nuevos sistemas de liberación prolongada usando esteroides naturales y sintéticos. Entre ellos, el desarrollo de un anticonceptivo inyectable mensual a dosis baja fortificó una de las líneas de investigación dirigida al desarrollo de nueva tecnología anticonceptiva. El sistema está basado en la administración de una suspensión acuosa de esteroides controlando diversos parámetros como tamaño del cristal y recubrimiento con polímeros para proveer una disolución gradual del principio activo.

Esta tendencia ha evolucionado, teniendo en cuenta la aceptabilidad, que en diferentes culturas tienen estos métodos. Uno de -- los factores que condicionan esta aceptabilidad es la facilidad de uso de los métodos anticonceptivos de acción prolongada ya que, con poca intervención de la usuaria, se garantiza la anticoncepción durante varias semanas, meses inclusive años, durante este tiempo la usuaria no tiene que realizar ninguna actividad para asegurar la anticoncepción. Por otro lado, este tipo de sistemas de acción prolongada son particularmente eficaces, sin que se presenten diferencias significativas entre la eficacia teórica y la práctica como se observa con algunos otros métodos anticonceptivos. (22),(28).

Las dos formulaciones inyectables de mayor uso en la actualidad, conteniendo acetato de medroxiprogesterona y enantato de noretisterona, aseguran la presencia biológica de la progestina, pero esto solamente se logra por su administración excesiva. Evidentemente, esto redundo en la presencia inicial en sangre de concentraciones de hormonas que son mayores a la concentración mínima efectiva para lograr el efecto anticonceptivo y que sin duda acarrear mayor frecuencia e intensidad de efectos colaterales. Por tanto uno de -- los propósitos más importantes de los métodos de acción prolongada en desarrollo, es precisamente alcanzar concentraciones adecuadas del fármaco, ni excesivas ni insuficientes durante el periodo de -- duración del efecto anticonceptivo. Hasta el momento, no se ha obtenido este tipo de liberación o actividad biológica a base de modificaciones en la estructura química de las hormonas sintéticas. Por otro lado, el desarrollo de materiales plásticos biocompatibles y -- biodegradables ha permitido que puedan ser usados como vehiculos o reservorios para la liberación programada de hormonas. (4),(7),(13)

Uno de los objetivos de esta investigación es evitar el uso de materiales de recubrimiento o polímeros auxiliares, que en un momento dado pueda implicar problemas en la estabilidad de la formulación, en la biodisponibilidad del activo, en la toxicidad, eliminación y rechazo del organismo, así como incrementar su costo. Por lo que se pretende controlar el tamaño y forma de la partícula para regular de mejor manera el proceso de liberación del principio activo sin necesidad de material externo como plásticos biocompatibles o biodegradables para lograr la liberación controlada, pretendiendo lograr el control de tamaño y forma por fusión y rápida solidificación de los activos de interés, considerando como parte de la investigación el fenómeno de polimorfismo, entendiéndose por este concepto, la capacidad de una sustancia sólida para existir en más de una forma cristalina. Tales variaciones cristalinas, pueden tener serios cambios fisicoquímicos importantes cuando los compuestos son utilizados como agentes farmacéuticos.

La presente investigación fué diseñada considerando los aspectos fisicoquímicos involucrados en el proceso de liberación del activo en preparaciones macrocristalinas de esteroides. Esto también fué planeado previendo las posibilidades industriales de escalamiento para la producción de formulaciones esteroidales para un futuro uso humano. (5)

CAPITULO I  
FUNDAMENTACION DEL TEMA

1. Procesos de liberación controlada

1.1 Concepto

El término "liberación controlada" ha sido asociado con esos sistemas en los cuales los principios activos pueden ser automáticamente distribuidos en rutas predefinidas bajo un periodo de tiempo largo. Los productos de este tipo han sido formulados para uso oral, tópico, inyectable e incluye también implantes para su colocación en cavidades del cuerpo. (20)

Las características de liberación controlada minimizan la necesidad de la frecuente toma del medicamento, asegurando así el mejor rendimiento con el régimen de medicación prescrito (Fig. 1). El anillo vaginal prescrito para anticoncepción ciclica, por ejemplo, elimina la necesidad de una diaria administración oral de píldoras anticonceptivas. (26)

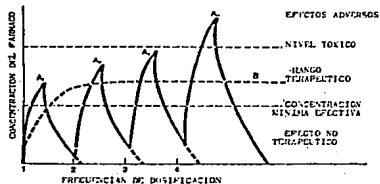


FIG. 1 Perfil de concentración de fármaco en sangre para comparación de la administración de una forma de dosificación oral (A1, A2, A3, ...) y una dosis única de un sistema de distribución del fármaco de liberación controlada (B).

Se obtienen diversas ventajas terapéuticas prescribiendo formas de liberación controlada, ya que disminuyen la frecuencia del intervalo de dosificación del fármaco porque se mantiene un nivel sanguíneo más uniforme. Una ventaja menos obvia, implícita en el diseño de formas de liberación controlada, es que la cantidad total de fármaco administrado puede disminuirse. En resumen, puede alcanzarse un mejor control sobre la absorción de un fármaco, ya que los picos altos de los niveles sanguíneos que pueden observarse después de la administración de una dosis de un fármaco de alta disponibilidad pueden disminuirse si se lleva a cabo su formulación para un proceso de liberación controlada. En suma, esta administración facilita el aumento en la confiabilidad de la terapia.

En la evaluación de fármacos como candidatos para formulaciones de liberación gradual a tiempo prolongado, pueden considerarse las siguientes desventajas (14 y 15) :

- (1) La administración de medicamentos de liberación controlada no permite que la terapia finalice pronto y por tanto que no se pueda eliminar el medicamento cuando se presentan los efectos adversos.
- (2) Los médicos tienen menos flexibilidad en ajustar los regímenes de dosificación. Esto se controla por el diseño de las formas de dosificación.

- (3) Las formas de este tipo de liberación son diseñadas para la población normal, es decir, en base al promedio de vida media. Consecuentemente, no se toma en cuenta el tipo de enfermedad que altera la biodisponibilidad del fármaco y su variación significativa de un paciente a otro.
- (4) Pueden considerarse también los factores económicos, ya que se involucran los procesos y equipos más costosos en la producción de muchas formas de liberación controlada.

Antes de proceder con el diseño de una forma de liberación controlada de un fármaco, el formulador debe tener conocimiento de la farmacocinética del fármaco candidato, asegurándose de que los efectos farmacológicos pueden ser correlacionados con los niveles sanguíneos de éste, para conocer los intervalos de dosificación terapéutica, incluyendo las dosis de seguridad máxima y mínima efectiva.

#### 1.2 Diseño de formas de liberación controlada

Para establecer un procedimiento para el diseño de formas de liberación controlada, es útil examinar las propiedades del perfil característico de niveles sanguíneos/tiempos de la terapia de múltiple dosificación de formas de liberación inmediata (35).

Para diseñar una forma farmacéutica de liberación controlada que sea eficaz, se debe tener un completo conocimiento de la farmacocinética del fármaco seleccionado para esa formulación. La figura 2, muestra un modelo farmacocinético general para una forma farmacéutica ideal de liberación controlada. Para los propósitos de esta discusión, las mediciones de los niveles sanguíneos del fármaco-

se correlacionan con el efecto terapéutico y la cinética del fármaco tiende a ser adecuadamente aproximada a un modelo de un solo compartimento. Esto es, la distribución del fármaco es suficientemente rápida, de modo que un estado uniforme se alcanza inmediatamente entre los compartimentos central y periférico, es decir, - las constantes de velocidad  $k_{12}$  y  $k_{21}$  de transferencia sangre-tejido son grandes. (20),(22)

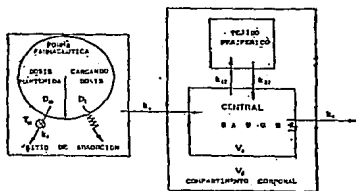


FIG. 2 Modelo farmacocinético general de una forma de dosificación de liberación controlada.

Un sistema de distribución de un fármaco de liberación controlada bien diseñado, puede disminuir significativamente la frecuencia de dosificación del fármaco y también mantener una concentración de fármaco más uniforme en la circulación sanguínea y en células de tejido efector, por ejemplo, la liberación controlada de acetato de medroxiprogesterona de anillos vaginales.

### 1.3 Tecnología de liberación controlada

Las formas de dosificación de liberación controlada son diseñadas para liberar el fármaco in vivo de acuerdo a velocidades prede-

cibles que pueden ser verificadas por mediciones in vitro. La tecnología de liberación controlada implica un entendimiento cuantitativo de los mecanismos fisicoquímicos de la disponibilidad del fármaco en toda la extensión a que la velocidad de liberación de la forma farmacéutica especifique. (2)

Con esta tecnología se han desarrollado sistemas anticonceptivos tales como (19), (29):

- (a) Implantes no biodegradables.- Colocados bajo la piel en la cara interna del brazo de la mujer, seis cápsulas van descargando la progestina levonorgestrel a un ritmo lento y constante. Durante cinco años se evitan así casi todos los embarazos. Luego se reemplazan las cápsulas.
- (b) Implantes biodegradables.- También se colocan debajo de la piel pero terminan por disolverse y desaparecen. Existen dos tipos, 1) el Capronor, que consiste en una sola cápsula con levonorgestrel y 2) tres o cuatro gránulos de la hormona noretindrona combinada con cantidades pequeñas de colesterol. Se prevé que el Capronor evitará el embarazo durante 18 meses por lo menos, los gránulos durante al menos 12 meses.
- (c) Microesferas y Microcapsulas.- Suspendidas en una solución, se administran con una aguja hipodérmica. Las diminutas partículas, de diferente tamaño y compuestas de hormona en un polímero portador, se disuelven y van liberando la hormona a distinto ritmo, con lo que suministran una dosis casi constante que evita el embarazo durante uno a seis meses.



- (d) **Inyectables mensuales.** - Añaden un estrógeno a la progestina para reducir al mínimo las irregularidades menstruales. Es el método más utilizado en China y América Latina.
- (e) **Anillo vaginal.** - Puede ser colocado por la mujer en la vagina, donde libera la hormona en forma gradual. Este sistema modifica el moco cervical, haciéndolo más espeso e impidiendo así -- que los espermatozoides penetren en el útero y la mujer puede extraerlo en cualquier momento.

2. Caracterización de los esteroides hormonales inyectables de liberación controlada

Con respecto a los anticonceptivos de liberación controlada, ya sean píldoras mensuales, inyectables mensuales, bi o trimestrales, implantes subdérmicos, sistemas intrauterinos o intracervicales, hay que mencionar que, por el momento, tales agentes utilizados en gran escala pertenecen a la clase de anticonceptivos esteroides. Los dos compuestos de liberación controlada más ampliamente utilizados son el acetato de medroxiprogesterona de depósito (DMPA) y el enantato de noretisterona ó noretindrona (NET-EN), sus estructuras químicas se muestran en las figuras 3 y 4 (26).

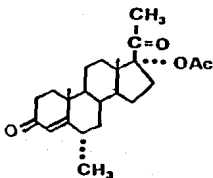


FIG. 3: ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA (MPA)

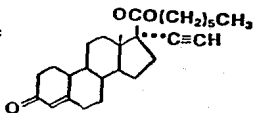


FIG. 4: ENANTATO DE NORETISTERONA (NET-EN)

Estos compuestos se derivan de las investigaciones efectuadas en los últimos años y actualmente se encuentran disponibles para los programas de planificación familiar como sigue (14):

2. Caracterización de los esteroides hormonales inyectables de liberación controlada

Con respecto a los anticonceptivos de liberación controlada, ya sean píldoras mensuales, inyectables mensuales, bi o trimestrales, implantes subdérmicos, sistemas intrauterinos o intracervicales, hay que mencionar que, por el momento, tales agentes utilizados en gran escala pertenecen a la clase de anticonceptivos esteroideos. Los dos compuestos de liberación controlada más ampliamente utilizados son el acetato de medroxiprogesterona de depósito (DMPA) y el enantato de noretisterona ó noretindrona (NET-EN), sus estructuras químicas se muestran en las figuras 3 y 4 (28).

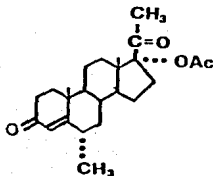


FIG. 3: ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA (MPA)

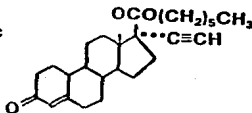


FIG. 4: ENANTATO DE NORETISTERONA (NET-EN)

Estos compuestos se derivan de las investigaciones efectuadas en los últimos años y actualmente se encuentran disponibles para los programas de planificación familiar como sigue (14):

- a) Cada tres meses: 150 mg de acetato de depomedroxiprogesterona (DMPA).
- b) Cada dos meses: 200 mg de enantato de noretisterona (NET-EN)

Entre las ventajas de los anticonceptivos inyectables, se puede mencionar que son altamente eficaces: independientes del coito, de efecto prolongado, de fácil administración y que aseguran el contacto regular con el personal que proporciona los servicios de salud. La mayor desventaja de las formulaciones constituidas exclusivamente por una progestina es la alteración del sangrado endometrial.

La mayoría de las progestinas sintéticas que se usan cotidianamente en la clínica son esencialmente derivados químicos de la 19-nortestosterona (por ejemplo: noretisterona, noretinodrel, levonorgestrel) o de la 17-acetoxiprogesterona (por ejemplo: acetato de medroxiprogesterona).

La administración de progestinas sintéticas en combinación con estrógenos como anticonceptivos inyectables mensuales, parece ser el único método de administración de esteroides anticonceptivos que permite un periodo bien definido de sangrado endometrial cada mes. Aunque no se conoce con detalle si se trata de un sangrado menstrual "normal", o bien si éste se debe a la disminución en las concentraciones de estradiol y/o de progestina en el suero, el sangrado endometrial inducido por anticonceptivos inyectables mensuales es previsible, y aparece en seguida de un periodo libre de sangrado. Este patrón regular, no ocurre con ningún otro método anticonceptivo hormonal de acción prolongada.

En las figuras 6 - 9 se muestran las estructuras de las --

progestinas y estrógenos más representativos en las formulaciones de administración mensual y en la figura 5 se muestra la estructura del colesterol, el cual constituye un modelo comparativo

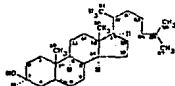


FIGURA Nº 5 COLESTEROL

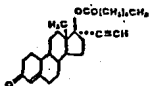


FIGURA Nº 6

ENANTIATO DE NORETISTERONA

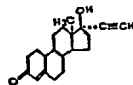


FIGURA Nº 8

NORETISTERONA

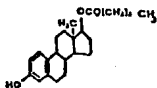


FIGURA Nº 7

VALERATO DE ESTRADIOL

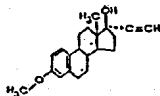


FIGURA Nº 9

MESTANOL

3. Bases teóricas relacionadas con el desarrollo experimental llevado a cabo en este estudio.

En general se han desarrollado dos métodos generales para la implementación del diseño de formas prácticas de dosificación de liberación controlada y sostenida: métodos basados en la modificación de las propiedades físicas y/o químicas del fármaco y métodos basados en la modificación de las características de liberación del fármaco de la forma farmacéutica que afecten la biodisponibilidad (21 y 29). Las propiedades fisicoquímicas de un fármaco pueden ser alteradas mediante la formación de complejos, formación de un polímero, preparación de fármaco-adsorbato o por síntesis de profármacos. Estas técnicas son posibles solo con la mitad de los fármacos conteniendo grupos funcionales apropiados (por ejemplo, ácido o básico).

Disolución.- Dado que se relaciona éste proceso con la biodisponibilidad de fármacos en el organismo, es de sumo interés estudiar la disolución, así como, la correlación de resultados in-vitro con parámetros in-vivo. Si bien no es posible simular en un solo sistema de prueba in-vitro el intervalo de variables que afectan la liberación de un fármaco, sí ofrecen dos importantes funciones. Primero, los datos de tales pruebas son requeridas como guía para la formulación durante la etapa de desarrollo, antes que la prueba clínica. Segundo, la prueba in-vitro es necesaria para asegurar la uniformidad de lote a lote en la producción de la forma farmacéutica probada.

Dentro de la metodología contemporánea para las pruebas de disolución, se ha hecho mucho énfasis en el método llamado " Agitador de boca ancha". Sin embargo durante los últimos --- años se han descrito métodos que dependen de alguna alternativa aprovechable para la agitación del fluido de disolución, - (sobre todo para simular la disolución a largo tiempo ). Uno - de estos es, un aparato que hace girar un matraz balón en un baño de temperatura constante; otro es un aparato de disolu--- ción con flujo continuo, esto es por medio de una bomba, que - origina un movimiento oscilante, que también recircula el me- dio y cada fracción de tiempo arrastra el líquido hacia un es- pectrofotómetro para realizar la lectura de absorvancia y lo - regresa nuevamente al aparato de disolución (22).

Con respecto a los aparatos de disolución U.S.P. existen muchas variaciones en este sistema, pero se han reconocido oficialmente los métodos USP, ó NF, como son:

- a).- Método de la canasta rotatoria.
- b).- El uso de una canasta estacionaria y un agitador de paletas.
- c).- Método usado para determinar tiempos de desintegración.

Después de muchos estudios se recomendó que el método de la canasta agitadora y los aparatos de desintegración, pueden utilizarse para determinar las características de disolución - de un número seleccionado de artículos descritos en la USP, y - el NF. Para este estudio se utilizaron estos métodos de disolu- ción (22).

Polimorfismo.- Con este nombre se le denomina a la habilidad de varios compuestos que cristalizan en más de una forma, cada una - teniendo un rearrreglo de empaque único.

Los cambios de forma en las dos o más estructuras cristalinas son debido a cambios en la resonancia de las estructuras.

Cuando el medio ambiente de un cristal en crecimiento se modificar también la apariencia externa del cristal, sin que esto signifique un cambio en la estructura o red cristalina interna, con esto se obtiene un nuevo hábito. Esta alteración o cambio es debida a una interferencia en la disponibilidad normal de las moléculas que cristalizan sobre diferentes superficies del cristal. Los factores que pueden cambiar el hábito de los cristales, son los mismos que pueden cambiar la estructura cristalina ó orden interno, por ejemplo: " velocidad de enfriamiento, agitación de la solución, el solvente empleado para la cristalización y material extraño a la cristalización. (17).

El que un fármaco posea o no solvente de cristalización, debido a que ello puede depender la velocidad de disolución. El tipo del solvente de cristalización da en sí claras diferencias en la velocidad de disolución.

Para distinguir entre solvatos y polimorfos, los últimos de los cuales no son complejos moleculares se utiliza comúnmente la designación de pseudo polimorfos para los solvatos, estos solvatos de diferentes compuestos pueden presentar también polimorfismo.



Si bien algunos pueden detectarse por microscopía también existen otros métodos para identificar el polimorfismo, que a continuación se mencionan (34).

**Análisis Térmico:** La Calorimetría Diferencial (DSC) y el Análisis Térmico Diferencial (DTA) miden la pérdida de calor o ganancia resultante de los cambios físicos y químicos de una muestra como función de la temperatura. Ejemplos de procesos endotérmicos (absorción de calor) son la fusión, ebullición, sublimación, vaporización, desolvatación, transiciones sólido-sólido y degradación química. La cristalización y la degradación son comúnmente procesos exotérmicos. Mediciones cuantitativas de esos procesos tienen mucha aplicación en los estudios de preformulación incluyendo pureza, polimorfismo, solvatación, degradación y compatibilidad con otros excipientes. Para caracterizar las formas de cristal, el calor de fusión  $H_f$  puede obtenerse por el área bajo la curva del DSC para la endotérmica de fusión.

**Análisis termogravimétrico (TGA):** mide los cambios en el peso de la muestra como función del tiempo (isotermal) o de la temperatura. Los procesos de desolvatación y descomposición son frecuentemente controlados por TGA. Comparando datos de TGA y DSC anotados bajo condiciones idénticas, pueden ayudar en la interpretación de los procesos térmicos.

Tanto DSC como TGA son microtécnicas y dependen del equilibrio térmico de la muestra. Variables significativas implican homogeneidad de la muestra, tamaño de la muestra, tamaño de partícula, velocidad de calentamiento, atmósfera y preparación de la muestra.

Difracción de Rayos X: La difracción de rayos X del cristal -- provee la más completa información acerca del estado sólido. -- Es una prueba rápida y relativamente simple y es el método más común. Los modelos de difracción de rayos X de polvos son únicos para cada forma polimórfica; los materiales amorfos no muestran cualquier modelo o muestran uno o dos picos anchos atribuibles a la presencia de rangos cortos. La Difracción de Rayos X no siempre indica si el material cristalino es un verdadero polimorfo o un solvato.

Otros métodos tales como espectrofotometría infrarrojo, dilatación, resonancia magnética nuclear y microscopía de exploración de electrón tienen adicionales aplicaciones para el estudio del polimorfismo y solvatación. (37)

## CAPITULO II

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad existen diferentes tipos de anticonceptivos - hormonales de acción sostenida que están comercialmente disponibles o bien sometidos a pruebas de evaluación clínica en fases avanzadas. El problema principal que comparten estos métodos de acción sostenida es la alteración imprevisible del ciclo menstrual. Los métodos que utilizan dosis más altas de progestinas solas, tienden a causar las alteraciones más severas del patrón menstrual.

Los efectos adversos establecidos de los anticonceptivos inyectables combinados (especialmente en dosis altas), incluyen la alteración del ciclo menstrual, amenorrea, náuseas, mareo y vaginitis, - muchos si no todos, parecen atribuibles al componente estrogénico, - ocasionando así que gran parte de las usuarias ( un 30X aproximadamente) abandonen el tratamiento, debido principalmente a los problemas ocasionados en la menstruación, ya que los demás efectos secundarios pueden ser tolerados.

Ahora bien, parece ser que es biológicamente difícil lograr un método anticonceptivo que asegure la inhibición de la ovulación durante un tiempo prolongado, que no contenga estrógenos y que no afecte el patrón de sangrado, al menos con esteroides sintéticos, por lo que conviene modificar la liberación del fármaco. (liberación controlada), alterando la disolución del fármaco, esto es, controlar la forma y el tamaño de la partícula, factores que se encuentran directamente asociados a la velocidad de disolución y por tanto también alcanzar niveles sanguíneos adecuados, tales que cubran su acción farmacológica sin tantos efectos colaterales.

Un problema especial de la regulación de la fertilidad a base de esteroides es que la anticoncepción se logra sólo con su administración continua ó excesiva. En el presente trabajo se trata de innovar un método experimental que logre la obtención de partículas esféricas que presenten una adecuada liberación controlada.

## CAPITULO III

## O B J E T I V O

Realizar los estudios preliminares para la obtención de un sistema de liberación controlada de esteroides vía parenteral con posibilidad de escalamiento, con fines de regular la fertilidad en humanos.

Actividades propuestas para lograr el objetivo:

1. Estudiar los cambios fisicoquímicos, y alteración en la disolución, que ocurran cuando los esteroides se someten a procesos de fusión y rápido enfriamiento.
2. Desarrollar tecnología, condiciones y procesos experimentales que permitan crear microesferas de tamaños homogéneos y estudiar así la disolución que presenten éstas - partículas para su posterior perfeccionamiento como preparaciones parenterales reproductibles, con posterior referencia de datos clínicos.

## CAPITULO IV

## H I P O T E S I S

Si dentro de la velocidad de liberación del --- principio activo se encuentra que depende de su velocidad de disolución y ésta a su vez depende de parámetros como son: el estado cristalino, la forma, y el tamaño de partícula ; mejorando y controlando con cierta precisión estos parámetros podrá modularse la velocidad de disolución y por tanto tener cierto control en la velocidad de liberación del fármaco, para su acción terapéutica a un mes o más tiempo.

CAPITULO V  
METODOLOGIA Y MATERIALES

5.1 METODOLOGIA:

5.1.1 Investigación bibliográfica

- Características físicas y químicas de los principios activos.
- Métodos anticonceptivos de liberación sostenida.
- Formas cristalinas.
- Técnicas de identificación de polimorfos.
- Tecnología de microesferulización.

5.2.1 Modificación de la estructura cristalina de la partícula mediante choque térmico.

- Placa metálica.
- Hielo seco.
- Disco rotatorio.
- Sobre Nitrógeno líquido.

5.3.1 Dependiendo de los resultados anteriores, se intentará el diseño de un equipo prototipo que permita controlar tamaño y forma de partícula.

5.4.1 Determinar los parámetros necesarios para verificar las posibles modificaciones de los productos tratados y que servirán para los futuros controles de calidad del producto final.

5.5.1 Obtención de partículas esféricas, con rangos de tamaños controlados, comprobando una lenta velocidad de disolución.

NOTA: El manejo de hormonas esteroidales requiere de una adecuada protección física del usuario para evitar cualquier contacto con la piel o mucosa, puesto que pueden ser absorbidas rápidamente.

## 5.2 MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS:

5.2.1 Materias Primas

Proveedor

- Sólidos	
Alcohol estearílico.....	Alquimia Mexicana, S. de RL.
Colesterol.....	Vita Drog, S.A.
Enantato de Noretindrona.....	Carimar Mexicana, S.A.
17-B-estradiol.....	Syntex Cuernavaca.
Lauril Sulfato de Sodio.....	Alquimia Mexicana S. de RL.
Mestranol.....	Carimar Mexicana, S.A.
Progesterona.....	Carimar Mexicana, S.A.
Valorato de estradiol.....	Syntex Cuernavaca.
Cápsulas de gelatina dura.....	Laboratorios Lilly.
Hielo seco.....	Liquid Carbonic, S.A de C.V.

- Líquidos	
Acetate mineral.....	Baker Analyzed Reactive.
Acetona.....	Baker Analyzed Reactive.
Cloroformo.....	Baker Analyzed Reactive.
Etanol.....	Merck Darmstad.
Metanol.....	Merck Darmstad.
Nitrógeno líquido.....	Provisto por el INN

- Gases	
Nitrógeno gaseoso.....	A.G.A de México S.A de C.V.

5.2.2 Equipo

Marca Comercial.

Balanza analítica.....	Mettler AE 260.
Balanza granataria.....	Ohaus.
Disolutor.....	Beckman Hanson (USP método 2).
Equipo de infrarrojo.....	Acculab 10, Beckman.
Equipo para punto de fusión.....	Thomas Hoover provisto con termómetro de -10 a 250°C. que mide por intervalos la temperatura de fusión.
Microscopio.....	Laborlux K, Leitz, con dispositivo para medición de tamaños de partícula y cámara fotográfica.
Parrilla de calentamiento.....	Nuova II, Termolyne.
Tamizador.....	Dbovine, Electric Company.
Espectrofotómetro UV.....	Beckman.

5.2.3 Materia

Materia de vidrio necesario.	
Equipo de seguridad.....	(quantas de asbesto y de plástico, lentes de seguridad, careta, cubre boca, overol)
Varios.....	(espátulas, tamices, frascos - de PVC, mangueras, termómetros de -100 a 30°C y de -20° a --- 350°C, gradillas, etc.)



## CAPITULO VI

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

Para llevar a cabo esta investigación se tomaron como base los estudios realizados con anterioridad por el grupo de investigadores del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de la Nutrición "Dr. Salvador Zubirán" en la Cd. de México en colaboración con el Departamento de Farmacología de la U.N.A.M., utilizando esteroides naturales y sintéticos, distribuidos en tamaños de partícula homogéneos, para así proporcionar una disolución controlada de los esteroides con un proceso de liberación lento e igualmente controlado del principio activo.

## 6.1 SERIE DE EXPERIMENTOS

Se procedió a realizar los primeros ensayos con alcohol estearílico como modelo experimental, ya que éste es un material accesible de manejar por su bajo punto de fusión, su bajo costo y por no presentar toxicidad, buscando el enfriamiento brusco de la muestra.

## 6.1.1 Ensayos preliminares con Alcohol Estearílico.

- ROCÍO CON PISTOLA DE AIRE: fundir la muestra de alcohol estearílico ( las cantidades de muestra a utilizar no fueron pesadas con exactitud), en un vaso de precipitado de 250 ml, sobre una parrilla de calentamiento, adicionar el material fundido al contenedor de una pistola o aspersor, cerrar y rociar sobre una placa metálica que fué previamente enfriada dentro de un refrigerador a 5°.

Al observarse que la muestra no podía ser rociada en mayores proporciones puesto que se solidificaba con el aire del sistema de rociamiento, se procedió a desarrollar otro sistema de aplicación de la siguiente manera:

- INYECCION CON JERINGA HIPODERMICA: fundir la muestra de alcohol estearílico, en un vaso de precipitado de 250 ml. y transferir el material fundido a la jeringa. Utilizar para la inyección agujas del # 20 y 22 y jeringas con capacidad para 10 y 20 ml., aplicando sobre una placa metálica previamente enfriada dentro de un baño de hielo a 5°.

Al encontrarnos con el mismo problema de solidificación de la muestra a temperatura ambiente y obstruirse la salida de la aguja, únicamente se logró aplicar muy poca muestra, por lo tanto se buscaron otras alternativas que proporcionarían la posibilidad de modificar la forma cristalina, aplicando un choque térmico, esto es, un sistema que permitiera temperaturas tan bajas como  $-70^{\circ}$  ya que con ésta se reportaron las primeras investigaciones para lograr un enfriamiento brusco de la muestra fundida.

- ENFRIAMIENTO SOBRE HIELO SECO: fundir la muestra de alcohol estearílico en un tubo de ensayo. Vertir el contenido del tubo de ensayo sobre una charola de papel aluminio colocada sobre el hielo seco.

Con el objeto de verificar un posible cambio tanto en los 2 métodos anteriores, como en este punto de la estructura cristalina, se procedieron a realizar las siguientes pruebas:

- Determinación del punto de fusión de las muestras tratadas y sin tratamiento, utilizando el equipo "Thomas Hoover".
- Observaciones físicas de las muestras tratadas y sin tratamiento.

Nota: Las muestras que son fundidas y de alguna manera enfriadas son denominadas, muestra tratada.

## 6.2 TRATAMIENTO DEL COLESTEROL.

Se decidió trabajar con el colesterol como modelo, por presentar el anillo ciclo penteno-perhidro-fenantrono, que contienen en su estructura química las hormonas esteroideas a utilizar y por ser también el punto de fusión aproximado al intervalo de fusión que presentan las hormonas, eliminando el riesgo que se presenta con el manejo de material hormonal, y abatiendo el costo de experimentación. Con el tratamiento anterior se trató de averiguar una modificación en la estructura del cristal, pues se aplicarán choques térmicos entre  $150^{\circ}$  y  $-80^{\circ}$ , las determinaciones del punto de fusión sugirieron que este parámetro por sí solo no es suficiente para evaluar el cambio estructural.

- 6.2.1 LA TECNICA DE CHOQUE TERMICO: consiste en fundir una pequeña muestra de colesterol aproximadamente 2g, a una temperatura de  $150^{\circ}$ , en un tubo de vidrio sobre un baño de aceite y bajo atmósfera de nitrógeno. Enseguida que funde la muestra, colocar el tubo sobre una mezcla de hielo seco-acetona y dejarlo en la mezcla frigorífica aproximadamente 20 minutos a que cristalice.

Por las características de la recristalización se encuentra como una segunda alternativa factible de realizar para modificar la estructura cristalina, esto se realizó de la siguiente manera:

### 6.2.2 RECRISTALIZACION CON SOLVENTES

- ETANOL: adicionar 0.1 g de Colesterol a 2 ml de Etanol contenidos en un tubo de ensayo, calentar la mezcla hasta que solubilize el colesterol, posteriormente enfriar en baño de hielo seco a  $-80^{\circ}\text{C}$ .
- ACETONA: adicionar 0.1 g de colesterol a 2 ml de Acetona contenidos en un tubo de ensayo, calentar la mezcla hasta lograr una solución, enseguida se coloca el tubo en hielo seco, para cristalizar más rápidamente.

### 6.2.3 A los cristales obtenidos se les realizaron las siguientes pruebas:

- Determinación del punto de fusión.
- Observaciones al microscopio.

Se consideró conveniente incluir algunos esteroides hormonales, a los cuales se les realizaron análisis más específicos para comprobar la existencia de polimorfismo o bien un retardo en la solubilidad de estas muestras.

### 6.3 TRATAMIENTO DE ESTEROIDES

Mestranol, Valerato de estradiol, Enantato de noretindrona, incluyendo Colesterol, que seguirá siendo el modelo de control; éstos fueron tratados de la siguiente manera:

6.3.1 FUSION Y RAPIDA SOLIDIFICACION DE LOS ESTEROIDES: tomar una pequeña muestra de la hormona, colocarla en un tubo de vidrio bajo atmosfera de nitrógeno fundir la muestra e introducir el tubo contenedor en una mezcla de hielo seco/acetona, a  $-80^{\circ}$ .

6.3.2 Posteriormente al enfriamiento, la muestra cristalizada se fraccionó con un bisturi, para obtener partículas pequeñas, realizándoles las siguientes determinaciones:

- Punto de fusión: el cual nos puede indicar en un momento dado si el activo ha sufrido modificación en su estructura cristalina o bien si existiera una posible degradación.
- Observación al microscopio y fotografías microscópicas de algunos de los esteroides.
- Espectroscopia Infrarroja en KBr: como lo que se pretende es modificar las características estructurales del cristal, este ensayo nos podrá ayudar a verificar si se ha llevado a cabo algún fenómeno de polimorfismo.
- Distribución del tamaño de partícula: esta prueba se realizó en Colesterol y Enantato de noretindrona.
- Obtención de un perfil de disolución: efectuado para enantato de noretindrona y progesterona únicamente.

6.4 Con la finalidad de observar si afectaban las temperaturas y velocidades de enfriamiento en las propiedades medidas anteriormente del colesterol, se realizó la siguiente experimentación:

6.4.1 Preparación de la muestra: se colocaron en diversos tubos de vidrio pequeñas muestras de colesterol aproximadamente 50 mg. y se fundieron directamente sobre una parrilla de calentamiento entre (  $155$  y  $157^{\circ}$  ) Posteriormente los tubos se sometieron a diferentes condiciones experimentales de enfriamiento (mezclas frigoríficas).

#### 6.4.2 Preparación de mezclas frigoríficas.

- .- Hielo.
- .- Hielo + cloruro de sodio.
- .- Hielo seco.
- .- Hielo seco + acetona.
- .- Hielo seco + Alcohol.
- .- Hielo seco + Cloroformo.

#### 6.4.3 A las muestras tratadas se le realizaron las siguientes determinaciones:

- .- Observaciones al microscopio.
- .- Determinación de los puntos de fusión.

Al no encontrar evidencia clara de cambio de forma cristalina, por choque térmico se pensó en modificar la forma geométrica de la partícula, buscando la esfericidad, para disminuir la superficie de disolución y previendo la posibilidad de escalamiento industrial, se desarrollaron equipos que permitieran lograr este objetivo sin eliminar totalmente la posibilidad de choque térmico.

#### 6.5 ENFRIAMIENTO EN DISCO ROTATORIO.

Este equipo, diseñado en los Laboratorios Aplicaciones Farmacéuticas, S.A. de C.V., consta de un disco metálico con una salida circular por su parte inferior para ser adaptado al equipo motoreductor y un platillo en el centro donde se coloca la mezcla frigorífica con una tapa en forma de cono con un orificio en la parte superior para permitir la salida del gas CO<sub>2</sub> que desprende la mezcla frigorífica, sobre esta tapa se depositó la muestra fundida.

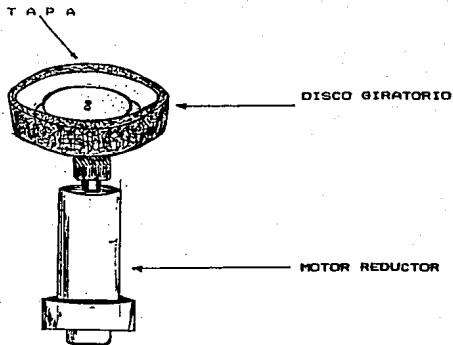


FIGURA No. 10: Esquema del Disco Rotatorio.

El objetivo de utilizar este equipo, fue lograr un brusco enfriamiento sobre la placa rotatoria, así como obtener partículas (esféricas y con una solubilidad más lenta debido a la menor superficie con respecto a otro cuerpo de dimensiones similares) tratando de evitar que se presentará adherencia a la superficie de la placa, el procedimiento se menciona a continuación:

- 6.5.1 Colocar en un vaso de precipitado de 100 ml, una cantidad apropiada de colesterol, colocar el vaso a un baño de aceite para fundir la muestra a una temperatura de 150 a 155°.
- 6.5.2 Preparar en el disco la mezcla frigorífica a base de hielo seco y acetona, colocar la tapa sobre esta mezcla, dejar enfriar hasta disminuir la temperatura a -80°.

- 6.5.3 Dejar caer la muestra fundida lentamente sobre el disco cuando éste se encontraba girando.
- 6.5.4 Recuperación de la masa solidificada y realización de los siguientes determinaciones:
- Mediciones del punto de fusión .
  - Observación microscópica .

Los resultados anteriores no sugirieron ninguna modificación en la estructura cristalina y no se logró una forma esférica, se procedió a realizar un enfriamiento más brusco para verificar la posibilidad de lograr retardar la solubilidad, mediante cambios en la forma cristalina.

#### 6.6 CONDICIONES DRÁSTICAS DE ENFRIAMIENTO CON NITRÓGENO LÍQUIDO, PARA DIVERSOS ESTEROIDES.

- 6.6.1 Se seleccionaron los esteroides a trabajar (Mestranol, valerato de estradiol, 17- $\beta$ -estradiol, enantiato de noretisterona y progesterona y colesterol como referencia); se colocaron en un crisol de níquel.
- 6.6.2 Se fundieron las muestras en un baño de aceite bajo atmósfera de nitrógeno, se retiraron los crisoles del baño de aceite rápidamente y se sumergieron en un recipiente que contenía nitrógeno líquido dejándolas sumergidas durante 5 minutos a una temperatura de  $-190^{\circ}$ .
- 6.6.3 Posteriormente las muestras se dejaron a temperatura ambiente por espacio de 10 minutos aproximadamente y se procedió a reducir las placas a polvos los cuales fueron sometidos a los siguientes análisis:
- 6.6.4 Clasificación de tamaños de partícula y separación de finos por las siguientes técnicas:
- Tamizado, empleando los siguientes números de mallas: 80, 120, 150, 180 y 200
  - Microscópicamente
  - Por decantaciones sucesivas.
  - Por cargas electrostáticas:  
(rotación de la muestra en frasco de PVC)

Utilizando como técnica auxiliar en todos los puntos anteriores, el dispositivo para medición de tamaño de partícula del microscopio.

- 6.6.5 Observación al microscopio de las estructuras cristalinas.
- 6.6.6 Prueba de disolución (ver página no. 68) realizadas en progesterona y 17-B-estradiol.
- 6.6.7 Mediciones del puntos de fusión.
- 6.6.8 Análisis Térmico Diferencial: llevada a cabo únicamente para las muestras de Progesterona y 17-B-Estradiol.

6.7 Siguiendo en la búsqueda de tecnología y procesos que permitieran retardar la disolución fué diseñado un equipo para obtener partículas de forma esférica basándose en el principio de tensión superficial y aspersión, con un tubo similar a un rociador de cromatografía que consta de los siguientes elementos.

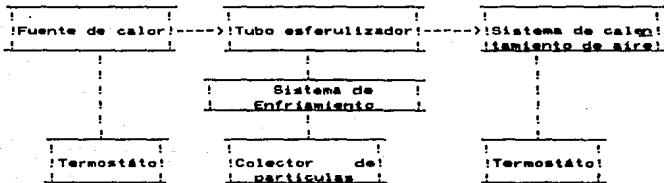


FIGURA 11: Diagrama del equipo esferulizador.

- 6.7.1 Prueba de funcionamiento del equipo: adicionar alcohol estérilico al tubo esferulizador de vidrio especialmente diseñado para este proyecto.
- 6.7.2 Este tubo con muestra es colocado en el horno o fuente de calor para su fusión.
- 6.7.3 Colocar en el orificio del tubo aspersor la válvula activadora del rocío.
- 6.7.4 Abrir el paso del aire caliente, controlando ambos termostatos a temperaturas arriba de los puntos de fusión de cada muestra mediante el uso de un termómetro.



- 6.7.5 Bloquear la válvula activadora del rocío y esperar a recibir las partículas en una bolsa de polietileno al final del tubo aspersor.

Dado que se trata de un equipo diseñado para pruebas, fué necesario realizar modificaciones.

#### 6.8 MODIFICACIONES AL EQUIPO PARA SU MEJOR FUNCIONAMIENTO.

- 6.8.1 Diseño y acondicionamiento de un equipo colector de partículas.
- 6.8.2 Implementación de un sistema de enfriamiento para el equipo colector de partículas, con la finalidad de evitar la adherencia del material caliente a las paredes del tubo colector.
- 6.8.3 Las partículas obtenidas con el equipo fueron sometidas a las siguientes pruebas ó determinaciones
- Determinación del tamaño de partícula por la técnica de tamizado.
  - Observación al microscopio de la estructura cristalina.
  - Prueba de disolución.

Dado el avance experimental, se realizó una selección más específica de los esteroides a utilizar, como lo son el 17- $\beta$ -estradiol y la progesterona, utilizando antes como modelos el alcohol estearílico y el colesterol.

## CAPITULO VII

## R E S U L T A D O S

Los resultados se muestran por separado para cada una de las etapas que abarcó la investigación.

7. Estudio preliminar de la posible modificación fisicoquímica del alcohol estearílico.

- 7.1 El rocío de Alcohol estearílico se realizó con Pistola de aire BINKS el resultado no fue satisfactorio pues se logró rociar muy poco sobre la placa fría debido a que solidificaba antes de tocar la placa.

Las muestras que fueron fundidas y de alguna manera enfriadas, son denominadas muestras tratadas.

Las muestras denominadas sin tratamiento, son los productos que no se sometieron a ningún proceso, se tomó el punto de fusión con el equipo "Thomas Hoover", por triplicado y se compararon contra el reportado en literatura y el proporcionado en el análisis por el proveedor, como se muestra en la siguiente tabla.

TABLA No. I

## PUNTOS DE FUSION DEL ALCOHOL ESTEARILICO

Materia Prima	Intervalo de Fusión
reportado	55° - 60° C.
proveedor	57° - 60° C.
sin tratamiento	57° C.
tratada (1)	58° C.
tratada (2)	57° C.
tratada (3)	57° C.

En el punto de fusión de la muestra (1), se colocó un poco más de muestra, lo cual puede ser la causa de la alteración del resultado.

- 7.2 Cuando se depositó alcohol estearílico fundido con jeringa hipodérmica sobre la placa metálica enfriada a  $-5^{\circ}$  sometida a refrigeración previa. Se presentan problemas similares a los indicados en el punto anterior. La tabla N° II nos muestra los puntos de fusión .

TABLA No. II.

## PUNTOS DE FUSION DEL ALCOHOL ESTEARILICO

Materia Prima	Intervalo de Fusión
reportado	$55^{\circ} - 60^{\circ}$ C.
proveedor,	$57^{\circ} - 60^{\circ}$ C.
sin tratamiento	$58^{\circ}$ C.
tratada (1)	$60^{\circ}$ C.
tratada (2)	$59^{\circ}$ C.

La variación que presentan los puntos de fusión, no indican alteración alguna en la estructura puesto que los puntos de fusión no salen de los intervalos establecidos para este producto.

- 7.3 Cuando se enfrió la muestra fundida de alcohol estearílico, sobre hielo seco los puntos de fusión con el equipo " Thomas Hoover " fueron los siguientes:

TABLA N° III.

## PUNTOS DE FUSION DE ALCOHOL ESTEARILICO

Materia Prima	Intervalo de Fusión
reportado	55° - 60° C.
proveedor	57° - 60° C.
sin tratamiento	58° C.
tratada (1)	57° C.
tratada (2)	57° C.
tratada (3)	58° C.

Con el alcohol estearílico como muestra, esta tabla, no se observan modificaciones significativas en el punto de fusión por lo que se cambia de modelo y se utiliza colesterol.

- 7.3.1 Las observaciones al microscopio tampoco indican ningún cambio en la apariencia de esta muestra.

## 7.4 Tratamiento experimental del Colesterol.

7.4.1 A la muestra fundida y enfriada sobre hielo seco, se le tomaron los puntos de fusión, medidos con el equipo " Thomas Hoover " .

TABLA N° IV.

## PUNTOS DE FUSION DE COLESTEROL

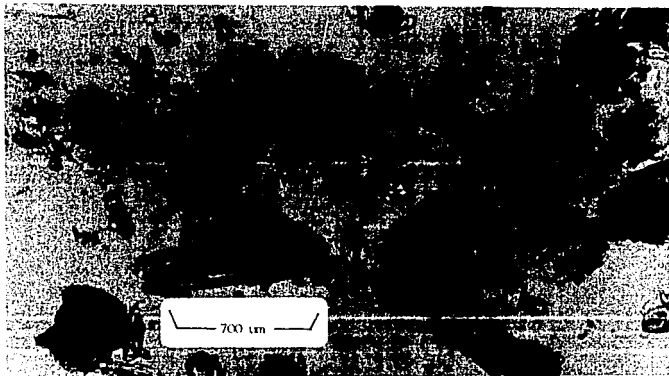
Materia Prima	Intervalo de Fusión
reportado	145°--150° C.
proveedor	147°--150° C.
sin tratamiento	147°--149° C.
tratada (1)	144°--147° C.
tratada (2)	145°--148° C.
tratada (3)	145°--147° C.

Los resultados obtenidos , no presentan alteraciones que pudieran indicar un cambio de hábito ó estructural.

7.4.2 La recrystalización del colesterol con diversos solventes fue analizada cualitativamente al microscopio para observar las posibles modificaciones cristalinias, comparando con la estructura del producto sin tratamiento, tales estructuras pueden ser observadas en las fotografías tomadas al microscopio.

## FOTOGRAFIA MICROSCOPICA No. 1

COLESTEROL SIN TRATAMIENTO.



Colesterol muestra sin tratamiento

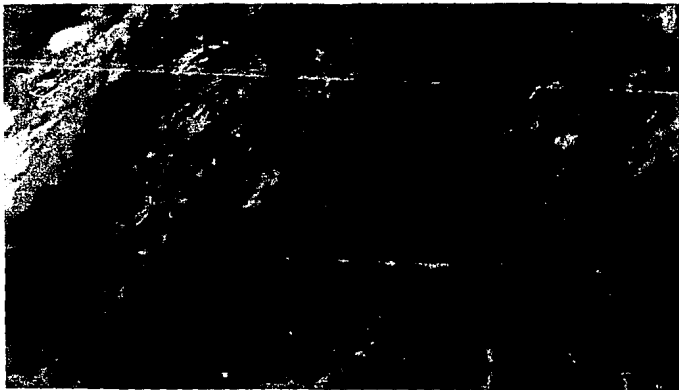
En el objetivo 10X

Filtro de luz polarizada.

Amplificación: 120 veces

FOTOGRAFIA MICROSCOPICA No. 2

COLESTEROL RECRISTALIZADO EN ETANOL.



En el objetivo 10X

Filtro de luz polarizada.

Amplificación: 120 veces

FOTOGRAFIA MICROSCOPICA No. 3  
COLESTEROL RECRISTALIZADO EN ACETONA



Objetivo 10X.  
Filtro de luz polarizada.  
Amplificación : 120 veces

En estas fotografías se puede apreciar la  
modificación en el hábito cristalino.



7.5 Los esteroides fundidos y enfriados sobre hielo seco, presentan los siguientes puntos de fusión, mostrados en las tablas N° (5, 6 y 7) .

7.5.1 Punto de Fusión.

TABLA N° V.

ENANTATO DE NORETINDRONA

Materia Prima	Intervalo de Fusión
reportado	68° - 73° C.
proveedor	68° - 70° C.
sin tratamiento	65° - 67° C.
tratada (1)	69° - 71° C.
tratada (2)	68° - 70° C.
tratada (3)	69° - 72° C.

TABLA N° VI

MESTRANOL

Materia Prima	Intervalo de Fusión
reportado	150° - 153° C.
proveedor	150° - 152° C.
sin tratamiento	148° - 150° C.
tratada (1)	146° - 149° C.
tratada (2)	146° - 148° C.
tratada (3)	147° - 147° C.

TABLA N° VII.

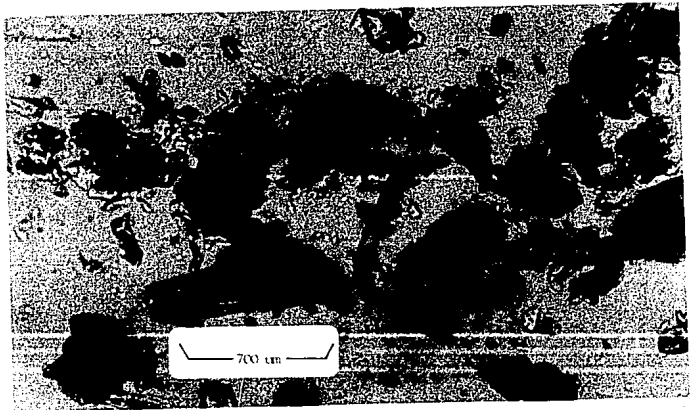
## VALERATO DE ESTRADIOL

Materia Prima	Intervalo de Fusión
reportado	143° - 150° C.
proveedor	143° - 146° C.
sin tratamiento	142° - 145° C.
tratada (1)	143° - 146° C.
tratada (2)	141° - 145° C.
tratada (3)	142° - 145° C.

Los resultados mostrados en estas tablas, no indican realmente algún cambio importante en los puntos de fusión, puesto que se sabe que el punto de fusión no es una prueba suficiente para indicar un cambio estructural se busca analizar otras técnicas y otros esteroides.

7.5.2 En las siguientes fotografías se puede comparar la estructura de los esteroides tratados y sin tratamiento.

FOTOGRAFIA MICROSCOPICA No. 4  
COLESTEROL SIN TRATAMIENTO



Objetivo 10 X

Filtro de Luz polarizada

Amplificación: 120 veces

## FOTOGRAFIA MICROSCOPICA No. 5

COLESTEROL DESPUES DE SER TRATADO



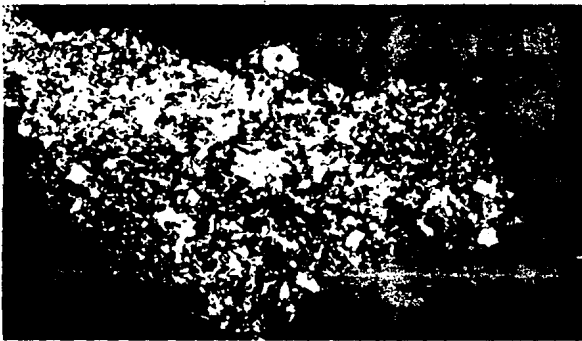
Objetivo: 10 X

Lente de luz polarizada

Amplificación: 120 veces

La muestra pierde birrefringencia.

FOTOGRAFIA MICROSCOPICA No.6  
ENANTATO DE NORETINDRONA SIN TRATAMIENTO.



Objetivo: 10 X

Lente de luz polarizada.

Amplificación: 120 veces

FOTOGRAFIA MICROSCOPICA No.7  
ENANTATO DE NORETINDRONA TRATADA



Se observa una masa de consistencia pegajosa.

Objetivo: 10 X

Lente de luz polarizada

Amplificación: 120 veces

7.4.3 Adicionalmente se realizaron análisis por Espectrofotometría Infrarroja, a los siguientes esteroides : Colesterol, Enantato de noretindrona, Mestranol y Valerato de estradiol ; los espectrogramas se muestran en las siguientes páginas.

FIGURA No. 12

ESPECTROGRAMA AL INFRAROJO DEL COLESTEROL SIN TRATAMIENTO

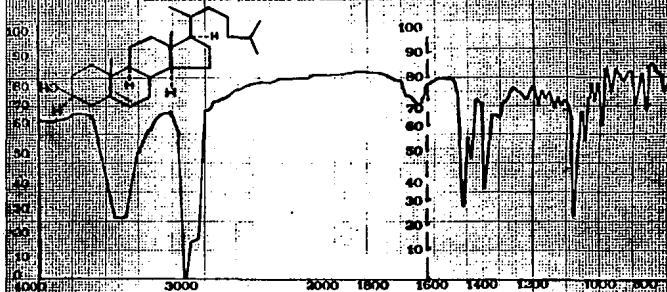
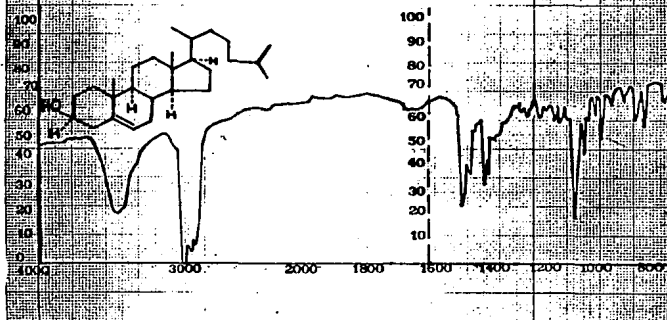
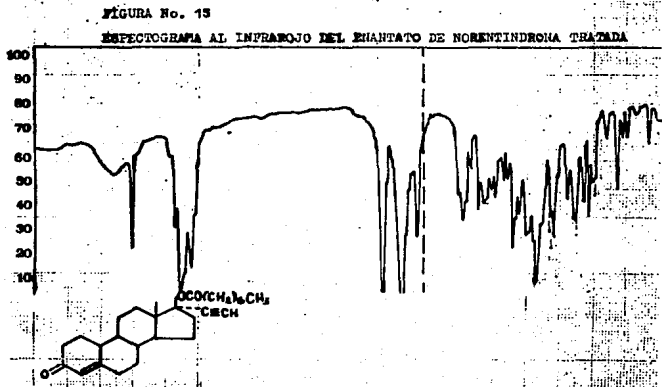
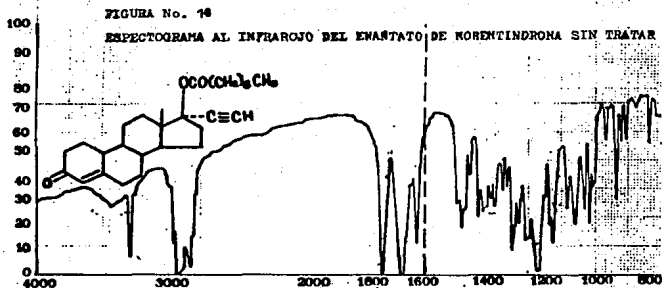


FIGURA No. 13

ESPECTROGRAMA AL INFRAROJO DEL COLESTEROL TRATADO







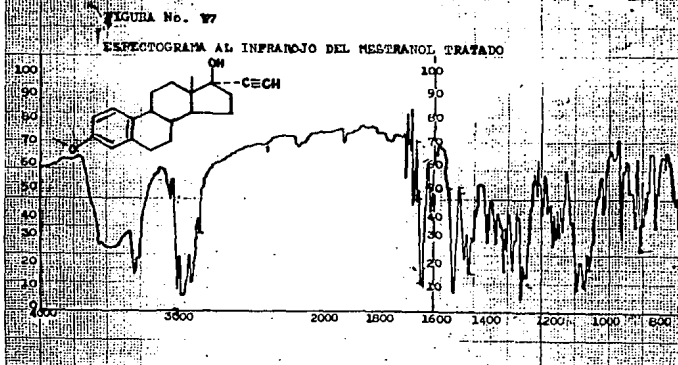
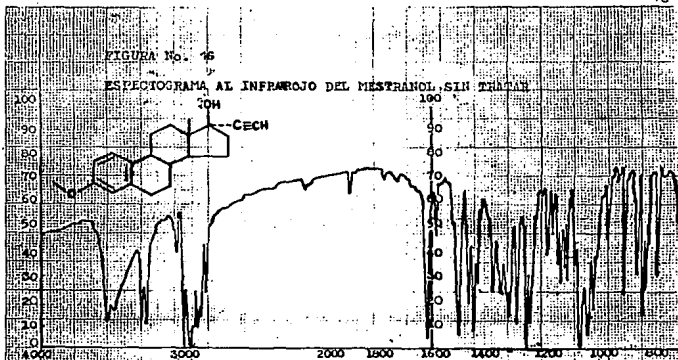


FIGURA No. 18  
ESPECTOGRAMA AL INFRAROJO DEL VALERATO DE ESTRADIOL SIN TRATAR

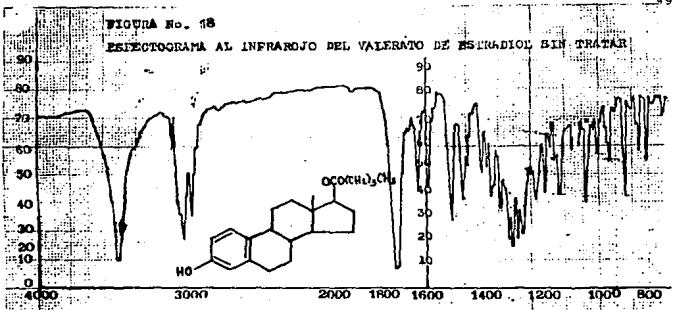
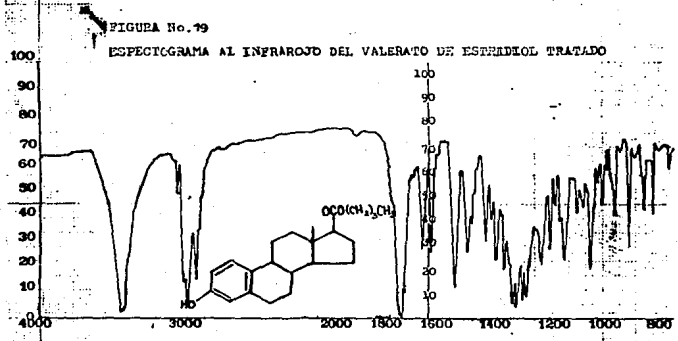


FIGURA No. 19  
ESPECTOGRAMA AL INFRAROJO DEL VALERATO DE ESTRIDROL TRATADO



Con respecto a los espectrogramas obtenidos en los Infrarrojos, se esperaba que las huellas de los productos tratados presentaran desplazamiento en los picos de absorción, a comparación de los productos sin tratamiento sin embargo los espectros son iguales. Lo que nos indica, que por medio de este análisis no se identifican cambios estructurales en los esteroides tratados.

7.4.4 Como paso fundamental para el control en la liberación del fármaco, debía controlarse el tamaño de partícula, procediendo a realizar diferentes técnicas, que permitan mejorar la distribución en el tamaño.

Entre estas técnicas se encuentran:

- .- Tamizado
- .- Decantaciones sucesivas en tinajas (Ley de Stokes)
- .- Separación por cargas electrostáticas.
- .- Utilizando como técnica auxiliar en todas éstas la medición al microscopio

Por la Técnica de Tamizado:

COLESTEROL

En la siguiente tabla se muestra la granulometría obtenida en esta prueba.

TABLA N° VIII.

PESO RETENIDO EN CADA N° DE MALLA.

CANTIDAD DE MUESTRA ANALIZADA : 5.0 g.

No. de Malla	Peso (g)
35	1.8022
60	1.3440
80	1.2049
120	0.9578
150	0.4002
180	0.0560
200	0.0450
charola	0.0018

Tabla N° IX.

## DISTRIBUCION PESO-TAMAÑO DE Sg. DE COLESTEROL TRITADO.

No. de Malla	Medio Aritmética de la Pasado/Retenido (apertura de la malla)	Peso retenido (g)	Porcentaje retenido (%)	Tamaño Promedio A X B
35 / 60	0.8625 um	1.3400	27.05 X	1.7425
60 / 80	0.8221 um	1.2049	22.10 X	0.9754
80 / 120	0.8110 um	0.9570	19.15 X	0.2110
120 / 150	0.9045 um	0.4002	8.00X	0.3525
150 / 180	0.0043 um	0.0560	1.13 X	0.0049
180 / 200	0.8038 um	<u>0.8150</u>	<u>0.16 X</u>	<u>0.0027</u>
		2.9875	97.90 X	2.9898

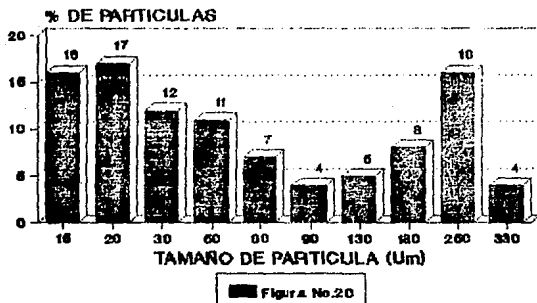
Fórmula para determinar tamaño promedio de partícula de la muestra analizada

$$d_{av} = \frac{(\% \text{ retenido}) (\text{tamaño promedio})}{100}$$

$$d_{av} = \frac{(97.90\%) (2.9898)}{100} = 2.89 \text{ um}$$

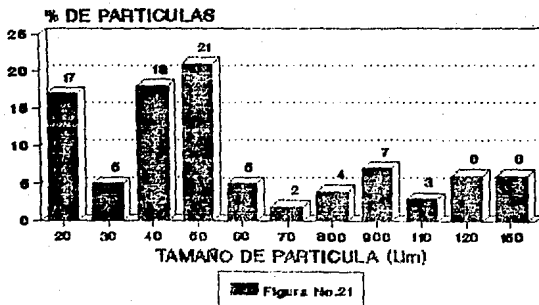
Posteriormente, a cada fracción obtenida se le realizó una medición de tamaño de partícula, por el método microscópico, los resultados se muestran en las siguientes figuras.

**DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULAS  
COLESTEROL TRATADO**

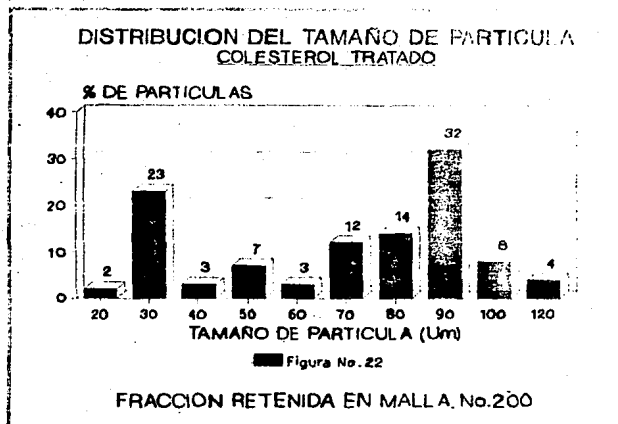


**FRACCION RETENIDA EN MALLA 150**

**DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULAS  
COLESTEROL TRATADO**



**FRACCION RETENIDA EN MALLA 180**



LA DISTRIBUCION EN TAMAÑOS DE PARTICULA PRESENTADA EN ESTAS GRAFICAS, ES MUY HETEROGENEA, PERO COMO TECNICA AUXILIAR PARA REALIZAR UNA PRIMERA SEPARACION RESULTA DE UTILIDAD.

Selección del tamaño de partícula por la técnica de tamizado para :

ENANTATO DE NORETINDRONA

TABLA N° X

PESO RETENIDO EN CADA N° DE MALLA.

CANTIDAD DE MUESTRA ANALIZADA: 5g.

No. de Malla	Peso (g)
35	0.1506
80	1.9206
120	0.5529
180	0.2152
200	0.0525
charola	0.0425

Nota: Debido a pérdidas durante el procedimiento de tamizado no se llega a completar la cantidad de muestra analizada que era de 5 g.



TABLA N° XI.

DISTRIBUCION PESO-TAMAÑO DE PARTICULA DE 5g. DE ENANTATO DE NORETINDRONA

No. de Malla	Media Aritmética de la	Peso retenido	Porcentaje retenido	Tamaño Promedio
Pasado/Retenido	abertura de la malla(A)	(g)	(%)	A X B
35 / 80	0.5885 um	1.9206	70.04 X	41.21
80 / 120	0.2395 um	0.5529	20.16 X	4.82
120 / 180	0.1665 um	0.2152	7.85 X	1.307
180 / 200	0.1200 um	0.0525	1.915X	0.22
		2.7412	99.96 X	47.55

Fórmula para determinar tamaño promedio de la cantidad total de muestra utilizada:

$$d = \frac{(\% \text{ retenido}) (\text{tamaño promedio})}{100}$$

$$d = \frac{(99.96\%) (47.55)}{100} = 47.55 \text{ um.}$$

En la siguiente tabla se muestran la distribución del tamaño de partícula de Enantato de Noretindrona, retenido en cada malla siendo seleccionados los tamaños de partícula al microscopio.

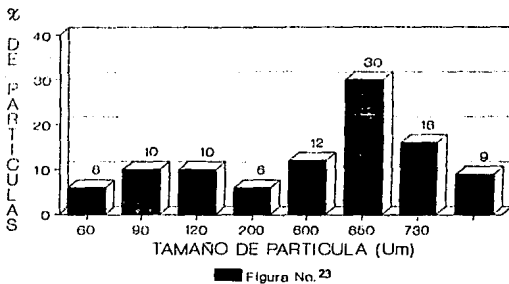
TABLA N° XII.

Selección del tamaño de partícula por medición al microscopio.

## ENANTATO DE NORETINDRONA

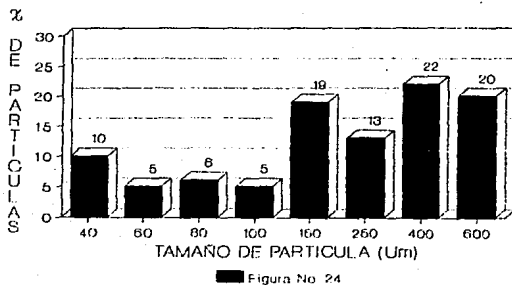
No. MALLA	MICRONES	No. PARTICULAS	TAMARO OBSERVADO
			( um )
35	500	5	80
		8	90
		8	120
		5	200
		10	500
		24	600
		13	650
		7	730
80	177	8	40
		4	60
		5	80
		4	100
		15	180
		10	280
		17	400
		16	600
120	125	9	50
		19	80
		22	130
		20	160
		10	240
180	81	11	< 50
		10	70
		11	80
		22	100
		25	150
200	74	10	30
		17	50
		13	60
		18	80
		16	100
		3	150
charola	--	8	20
		13	35
		9	45
		22	55
		19	80

**DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA**  
**ENANTATO DE NORE TINDRONA TRATADA**



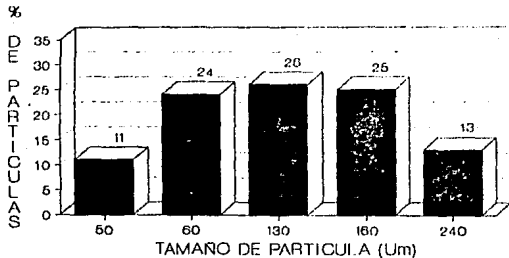
FRACCION RETENIDA EN MALLA No.35

**DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA**  
**ENANTATO DE NORE TINDRONA TRATADA**



FRACCION RETENIDA EN MALLA No.80

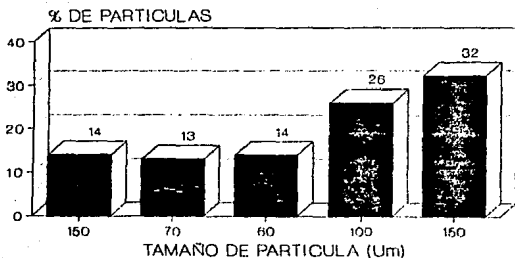
**DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA  
ENANTATO DE NORETINDRONA TRATADA**



■ Figura No. 25

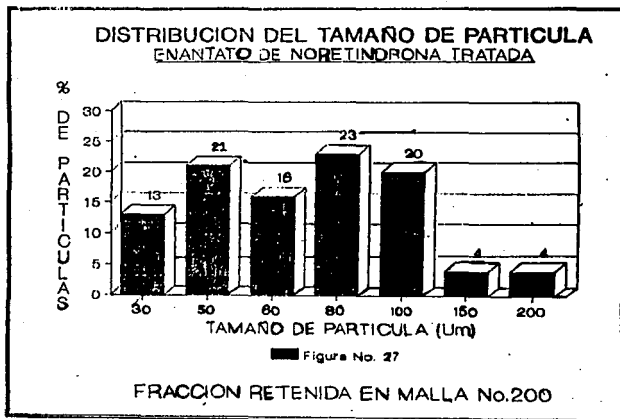
FRACCION RETENIDA EN MALLA No.120

**DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA  
ENANTATO DE NORETINDRONA TRATADA**



■ Figura No. 26

FRACCION RETENIDA EN MALLA No.180



Por medio de estas gráficas se puede observar una distribución muy amplia, esto es que en cada malla predomina un tamaño de partícula pero éste se encuentra rodeado de muchos más tamaños diferentes; por tal motivo esta técnica resulta ineficaz para realizar una buena separación de los tamaños de partícula, sobre todo porque se tienen diferentes cortes cristalinos. Esta técnica se utilizará como auxiliar para lograr una primera separación y posteriormente obtener una adecuada selección de los tamaños de partícula por medio de otras técnicas.

### 7.5 PRUEBA DE DISOLUCION

7.5.1 Método USP 1 (canastillas) de acetato de noretindrona utilizandolo para ENANTATO DE NORETINDRONA:

Condiciones de operación:

Longitud de onda = 240 nm.

rpm = 30

Medio = HCl 0.1 N + 2X de Lauril sulfato

Volúmen = 1000 ml.

Tiempo de disolución = 1 hora.

TABLA N° XIII

MUESTRA	TAMAÑO DE PARTICULA	ABSORBANCIA		% DISOLUCION
		1	2	
Referencia	-----	0.054	---	
sin tratam.	<u>150 um -- 300 um</u>	0.011	---	20.37
tratada (1)	74 um -- 100 um	0.016	---	29.62
tratada (2)	81 um -- 120 um	0.024	---	44.44
tratada (3)	125 um -- 180 um	0.012	---	22.22
tratada (4)	<u>170 um -- 200 um</u>	0.010	---	18.51
tratada (5)	500 um -- 570 um	0.006	---	11.11

La tendencia que presentan los resultados, muestran que las partículas de menor tamaño presentan un porcentaje de disolución mayor, si bien no es notorio un cambio significativo entre la muestra sin tratamiento y la muestra tratada (4).

7.6 SISTEMAS DE ENFRIAMIENTO PARA COLESTEROL

TABLA N° XIV.  
Puntos de fusión

SISTEMAS	TEMPERATURAS °C	P. de F. °C
Hielo seco	-80	143 - 145
Hielo seco + acetona	-80	143 - 146
Hielo seco + alcohol	-79	142 - 145
Hielo seco + cloroformo	-80	141 - 145
Hielo	11	142 - 145
Hielo + NaCl	1	143 - 146

2 Los puntos de fusión fueron medidos con el equipo Thomas Hoover.

Las temperaturas de enfriamiento no alteran de manera significativa la fusión del colesterol, someramente se pensaría que tampoco afecta su estructura.

La adición de un solvente al hielo seco abate la temperatura de la mezcla.

## 7.7 RESULTADOS DEL DISCO ROTATORIO

- La temperatura alcanzada sobre la superficie del disco fué de  $-50^{\circ}\text{C}$ .

- La aplicación de colesterol sobre la placa fué muy pobre ya que éste, a temperatura ambiente, cristaliza de inmediato.

-La recuperación de cristales fué muy poca debido a la pequeña cantidad aplicada, además al girar el disco aproximadamente a 75 rpm, la muestra aplicada salía del disco.

- Al observar visualmente los cristales obtenidos, estos tenían apariencia de hojuelas de maíz, color blanquesino, la observación al microscopio : muestra cristales de diversas formas geométricas, muy poco colorido y de apariencia cristalina.

- Los puntos de fusión se encontraron entre  $144 - 147^{\circ}\text{C}$ .

Por lo que se eliminó la posibilidad, de originar esferas y producir un enfriamiento brusco en este sistema.



## 7.8 Medición del tamaño de partícula para Progesterona:

## 7.8.1 Separación del tamaño de partícula por la técnica de tamizado.

TABLA N° XV

Cantidad de muestra analizada: 5.0 g.

Peso retenido en cada N° de malla:

No. de Malla	Peso (g)
35	0.4127
60	0.9205
80	0.3502
120	0.6296
150	0.1644
180	0.1437
200	0.7782
charola	1.8000

NOTA: Posteriormente sólo se trabajó con Progesterona y 17-Beta-estradiol por ser estos de mayor interés clínico, incluyendo los modelos Alcohol Estearílico y Colesterpi.

TABLA N° XVI

DISTRIBUCION PESO-TAMAÑO DE PARTICULA DE 5a. DE PROGESTERONA TRATADA

No. de Malla	Medio Aritmética de la Pasado/Retenido*abertura de la malla(μ)	Peso retenido (g)	Porcentaje retenido (%)	Tamaño Promedio μ
35 / 60	0.0625 μ	0.9205	18.41 %	0.3150
60 / 80	0.0221 μ	0.3507	7.00 %	0.4070
80 / 120	0.0110 μ	0.6296	12.59 %	0.0770
120 / 150	0.0065 μ	0.1444	3.28 %	0.0820
150 / 180	0.0043 μ	0.1437	3.05 %	0.0140
180 / 280	0.0030 μ	<u>0.7782</u>	<u>15.34 %</u>	<u>0.0470</u>
		2.9846	59.89 %	1.1420

Fórmula para determinar tamaño promedio de la muestra total utilizada:

$$d = \frac{(\% \text{ retenido}) \cdot (\text{tamaño promedio})}{100}$$

$$d = \frac{(59.89 \%) \cdot (1.1420)}{100} = 0.6839 \mu$$

### 7.8.2 Separación de partículas por la ley de "Stokes"

#### PROGESTERONA

Se logró la mayoría de las partículas se encontraron entre 80 y 200 micras, pero estaban rodeadas de muchísimos finos, lo cual indica que no hubo una buena separación.

### 7.8.3 Separación de partículas por formación de cargas electrostáticas.

#### PROGESTERONA Y 17-B-ESTRADIOL

Se logra una mejor separación de los finos y las partículas del tamaño deseado, aunque realmente no fue la separación esperada. Además al transvasar de un frasco a otro, las partículas se quedan adheridas a las paredes del frasco o tapa, por lo que hubo pérdida de material.

## 7.9 PRUEBA DE DISOLUCION:

## 7.9.1 PROGESTERONA (cristalizada sobre hielo seco).

Método de disolución USP XXI ( I ), para Acetato de Noretindrona.

Los resultados obtenidos en esta disolución, fueron muy variables, por lo que no se podía determinar con ellos, un perfil de disolución adecuado, que nos permitiera verificar diferencia entre las partículas tratadas y sin tratamiento.

Utilizando un nuevo medio de disolución, con un solvente donde presentará, una ligera solubilidad la progesterona. Las condiciones de trabajo y los resultados obtenidos se muestran a continuación.

## 7.9.2 PRUEBA DE DISOLUCION PARA PROGESTERONA.

Método USP ( II ).

Medio de disolución: Etanol/Agua 1:1 vol/vol.

Volúmen del medio: 900ml

Temperatura del medio:  $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$

Tiempo de la prueba: 60 min. (muestreando cada 15 min.)

r.p.m.: 100

Longitud de onda: 241 nm.

Los resultados obtenidos en esta prueba se muestran en la siguiente tabla.

TABLA No. XVII

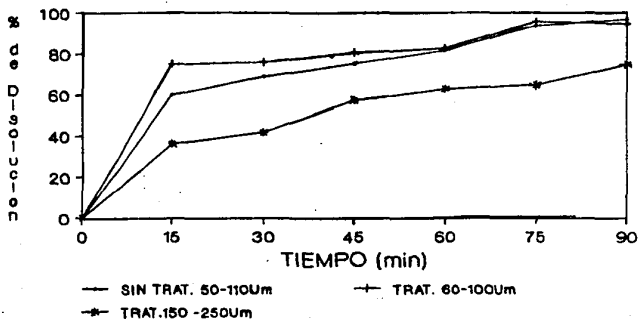
## % DE DISOLUCION DE PROGESTERONA

MUESTRA	TAMAÑO DE PARTICULA	SUSTRACIAS					DISOLUCION							
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5			
Referencia	-----	0.542												
sin tratam.	50 um -- 110 um	0.331	0.406	0.439	0.485	0.532	0.566	65.36	73.05	79.0	88.00	94.36	96.41	
tratada (1)	60 um -- 100 um	0.653	0.621	0.656	0.666	0.520	0.520	11.0	21.30	27.5	30.10	95.91	95.51	
tratada (2)	150 um -- 250 um	0.207	0.232	0.329	0.357	0.371	0.420	32.2	50.10	55.5	99.91	68.21	79.23	

En esta tabla se comparan tamaños de partícula iguales entre las muestras tratadas y sin tratamiento, para verificar si existe efecto en la velocidad de disolución.

## PERFIL DE DISOLUCION PROGESTERONA

FIGURA No. 28



MEDIO: ETANOL/AGUA

7.9.3 TRATAMIENTO DE ESTEROIDES CRISTALIZADOS CON NITROGENO LIQUIDO

TABLA N° XVIII

Puntos de fusión determinados con dos equipos.

Muestras tratadas	Puntos de fusión THOMAS HOOPER	Puntos de fusión METTLER
Colesterol	1) 142-143-146°C 2) 143-144-146°C	1) 145.3°C 2) 145.9°C
Noretisterona	1) 70-71-73°C 2) 68-69-70°C	1) 71.0°C 2) 71.2°C
Valerato de estradiol	1) 142-143-146°C 2) 141-144-146°C	1) 148.9°C 2) 149.1°C
Mestranol	1) 145-148-150°C 2) 145-148-151°C	1) 152.2°C 2) 152.3°C
17-B-estradiol	1) 171-173-175°C 2) 172-174-176°C	1) 175.1°C 2) 177.6°C
Progesterona	1) 118-122-125°C 2) 118-123-126	1) 131.0°C 2) 129.4°C

- \* En la progesterona se pueden encontrar modificaciones polimórficas alrededor de 121°C. (37), ésta y el Enantato de Noretindrona presentan características similares cuando se funden y enfrían bruscamente, formándose una melasa que no cristaliza inmediatamente, esto podría indicarnos que se logra un cambio o modificación estructural, que se verificará mediante otras técnicas. En cuanto a los demás esteroides las variaciones observadas, pueden deberse a el empaquetamiento que se realizó en unas muestras y en otras no dentro de los capilares y a la cantidad de muestra en cada uno.

7.9.4 PROGESTERONA (cristalizada con Nitrógeno líquido)

Método USP II (paletas)

Medio de disolución: Metanol/ Agua 1:1 v/v

Volumen total de medio: 900 ml

Temperatura del medio de disolución:  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ .

r.p.m.: 75

Tiempo total de la prueba: 60 min. (muestreando a los 30 y 60 min.)

Longitud de onda: 240 nm.

TAMAÑO DE PARTICULA - % de DISOLUCION:

TABLA N° XIX

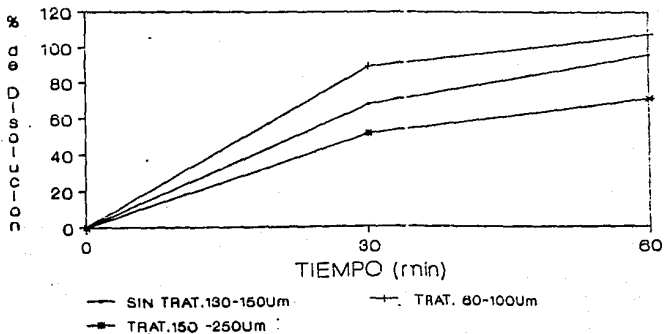
MUESTRA	TAMAÑO DE PARTICULA	ABSORBANCIA		% DISOLUCION	
		t = 1	t = 2	t = 1	t = 2
Referencia	-----	0.566	---		
sin tratam.	130 um -- 150 um	0.374	0.543	67.72	95.93
tratada (1)	60 um -- 100 um	0.496	0.606	89.21	107.67
tratada (2)	150 um -- 250 um	0.287	0.315	51.62	71.04

Nota: La muestra denominada de referencia es la progesterona USP.

La tabla nos muestra que no hay un efecto muy marcado entre las muestras tratadas y sin tratamiento, el % de disolución parece más afectado por el tamaño de partícula.

## PERFIL DE DISOLUCION PROGESTERONA

FIGURA Nº 29



MUESTRA ENFRIADA SOBRE NITROGENO LIQUIDO



## 7.9.5 PRUEBA DE DISOLUCION PARA PROGESTERONA

Método USP ( II ).

Medio de disolución: Metanol/Agua 1:1 vol/vol.

Volumen del medio: 900ml

Temperatura del medio:  $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 

Tiempo de la prueba: 75 min. (muestreando cada 15 min.)

r.p.m.: 75

Longitud de onda: 241 nm.

Se realiza una nueva disolución con tamaños de partícula más pequeños para cerciorarse del comportamiento de las muestras tratadas y sin tratamiento en la disolución.

Los resultados obtenidos en esta prueba se muestran en la siguiente tabla.

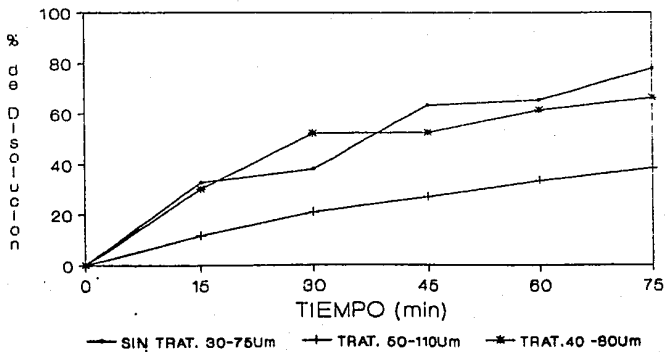
TABLA No. XX

X DE DISOLUCION DE PROGESTERONA

MUESTRA	TAMANO DE PARTICULA	ABSORBENCIAS					% DISOLUCION						
		t=1	t=2	t=4	t=5	t=7	t=2	t=3	t=4	t=5			
Referencia:	-----	0.329											
sin tratar:	30 um -- 75 um	0.174	0.203	0.324	0.345	0.412	32.04	38.35	63.1	65.28	77.04		
tratado (1):	50 um -- 110 um	0.062	0.111	0.143	0.177	0.305	11.7	20.38	27.5	33.48	38.18		
tratado (2):	40 um -- 80 um	0.161	0.270	0.277	0.309	0.313	52.2	52.10	52.34	61.11	66.41		

## PERFIL DE DISOLUCION PROGESTERONA

FIGURA Nº 30



100 r.p.m

## 7.9.6

## DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA POR LA TECNICA DE MICROSCOPIA

TABLA No. XXI

## 17-B-ESTRADIOL SIN TRATAMIENTO

NUMERO DE PARTICULAS	TAMAÑO EN MICRAS
6	70
9	80
14	120
7	180
3	150

RETENIDO EN MALLA No. 150

TABLA No. XXII

## 17-B-ESTRADIOL TRATADA

NUMERO DE PARTICULAS	TAMAÑO EN MICRAS
7	60
11	100
17	80
12	120
5	130

RETENIDO EN MALLA No. 150

**7.9.7 DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA POR LA TECNICA DE MICROSCOPIA**

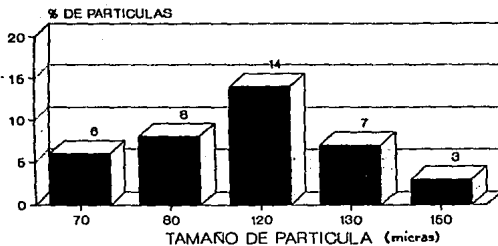
**TABLA No. XXIII**  
**17-B-ESTRADIOL TRATADO**

<b>NUMERO DE PARTICULAS</b>	<b>TAMAÑO EN MICRAS</b>
5	120
9	150
13	180
10	350
8	350

**RETENIDÓ EN MALLA No.1 60**

La distribución presentada por estas partículas de estradiol tratado y sin tratamiento, se representan gráficamente en las siguientes figuras.

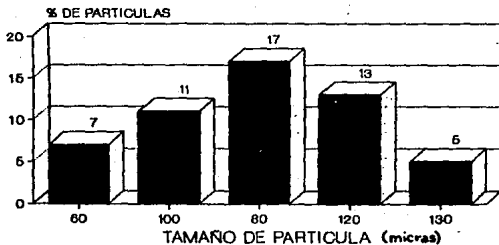
**DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA**  
**17 - B - ESTRADIOL SIN TRATAMIENTO**



■ Figura N° 31

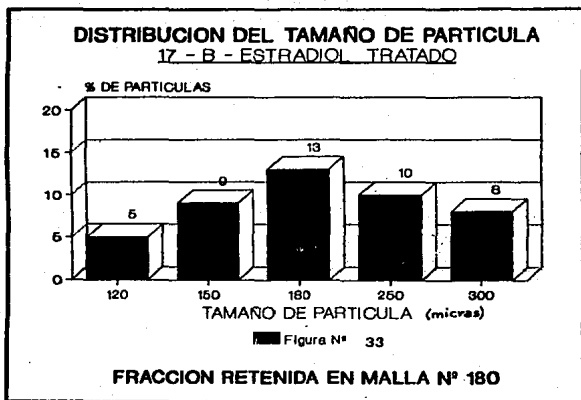
**FRACCION RETENIDA EN MALLA N° 150**

**DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA**  
**17 - B - ESTRADIOL TRATADO**



■ Figura N° 32

**FRACCION RETENIDA EN MALLA N° 150**



Para realizar la distribución de estas partículas se procuró más homogeneidad en cuanto a sus tamaños por ser este uno de los principales factores que influyen en la velocidad de disolución.

## 7.9.8 % DE DISOLUCION DEL 17-B-ESTRADIOL.

## CONDICIONES DE OPERACION:

Medio: Metanol/Agua 1:1 Vol/Vol

Método: U.S.P (Paletas)

Volumen: 900 ml.

Temperatura: 37  $\pm$  0.5°C

Agitación: 100 r.p.m.

Longitud de Onda: 281nm

TABLA N° XXIV

RELACION TAMAÑO DE PARTICULA - ABSORBANCIA.

MUESTRA	TAMAÑO DE PARTICULA:	ABSORBANCIA					DISOLUCION							
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5			
Referencia:	-----	0.053												
sin tratar:	50 $\mu$ -- 120 $\mu$	0.023	0.030	0.040	0.040	0.049	0.052	43.39	71.69	74.07	80.00	90.70	106.29	
tratada (1):	60 $\mu$ -- 120 $\mu$	0.024	0.030	0.035	0.040	0.043	0.054	45.20	56.60	60.01	74.07	79.62	102.59	
tratada (2):	120 $\mu$ -- 230 $\mu$	0.019	0.025	0.037	0.030	0.040	0.044	35.85	66.02	60.51	79.37	74.07	101.00	

Los efectos del tamaño de partícula tienen una relación inversa con la absorbancia, puesto que a menor tamaño de partícula mayor absorbancia, mejor disolución.

## PERFIL DE DISOLUCION 17 -B- ESTRADIOL

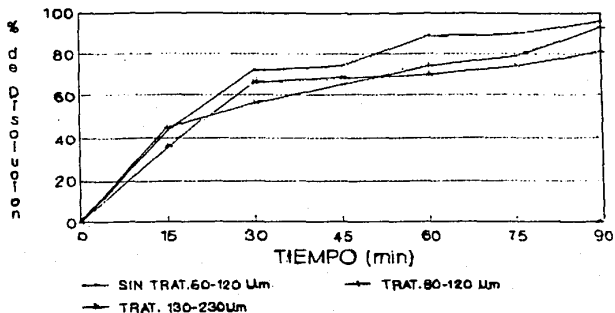


FIGURA No. 34



TABLA N° XXV

PORCIENTO DE DISOLUCION PARA EL 17- $\beta$ -ESTRADIOL.

RELACION TAMAÑO DE PARTICULA - ABSORBANCIA.

MUESTRA	TAMAÑO DE PARTICULA	ABSORBANCIA				DISOLUCION			
		t = 1	t = 2	t = 3	t = 4	t = 1	t = 2	t = 3	t = 4
Referencia:	-----	0.057							
sin tratam.:	60 $\mu$ m -- 150 $\mu$ m	0.009	0.015	0.026	0.029	15.70	26.31	43.6	50.07
tratada (1):	60 $\mu$ m -- 150 $\mu$ m	0.005	0.012	0.021	0.020	6.77	21.05	37.3	49.20
tratada (2):	110 $\mu$ m -- 230 $\mu$ m	0.002	0.008	0.011	0.020	3.58	14.03	19.29	35.01

Las condiciones de operación son las mismas de la tabla anterior exceptuando las revoluciones por minuto que fueron 75.

Sólo se intentó igualar las condiciones de los tamaños de partícula, para lograr realmente realizar una comparación equivalente entre la muestra tratada y sin tratamiento.

## PERFIL DE DISOLUCION 17 -B- ESTRADIOL

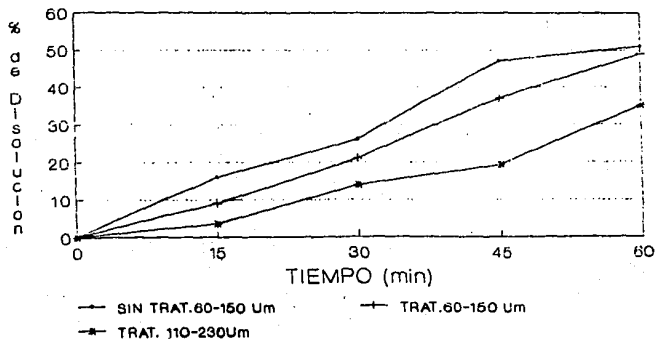


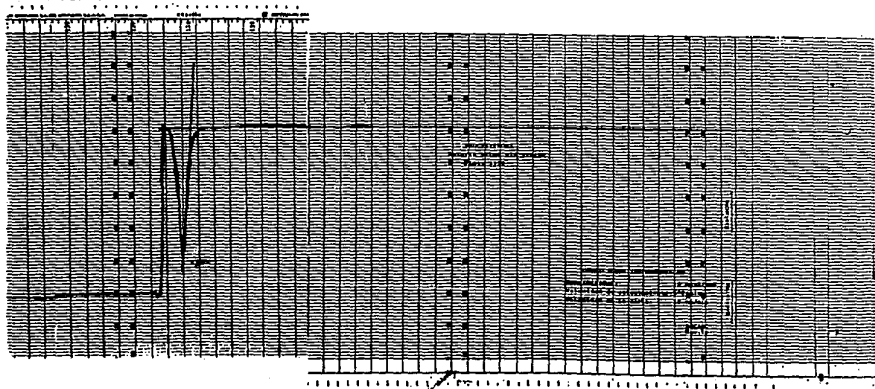
FIGURA No. 35

En las pruebas de disolución para ambos esteroides (Progesterona y 17-B-estradiol), es marcado el efecto del tamaño de partícula sobre el % de disolución, más que el tratamiento llevado a cabo en estas hormonas.

Como último análisis para definir realmente la existencia de polimorfismo en los esteroides hormonales (Progesterona y 17-B-estradiol), se realizó un Barrido Calorimétrico Diferencial (DSC), el cual se muestra a continuación:

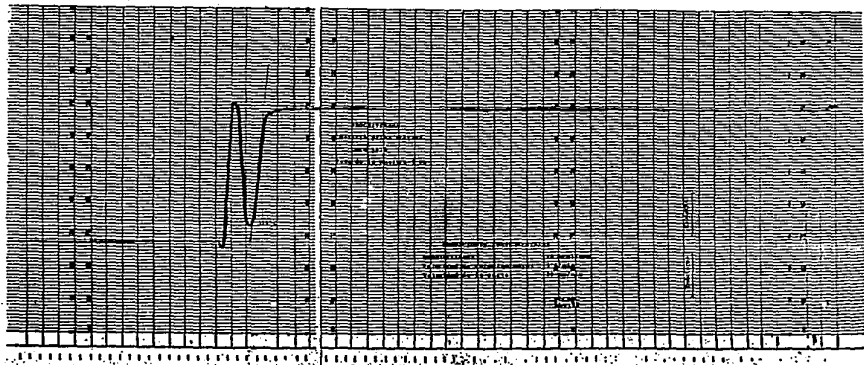
DSC DE PROGESTERONA MATERIA PRIMA SIN TRATAMIENTO

FIGURA No. 6'



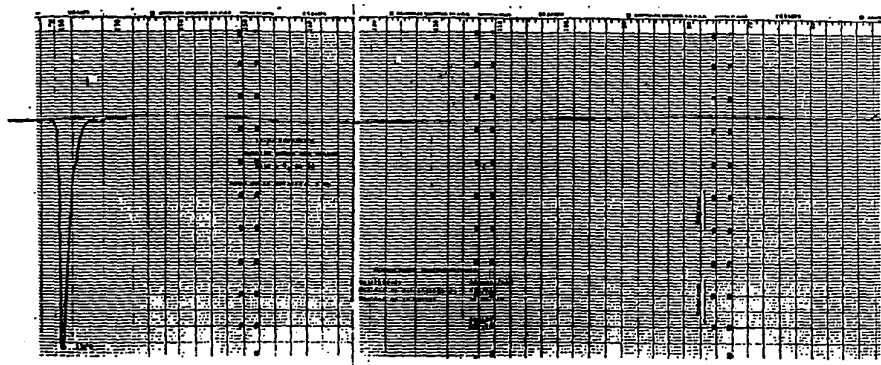
DSC DE PROGESTERONA TRATADA

FIGURA No. 37



DSC DE 17- B - ESTRADIOL MATERIA PRIMA SIN. TRATAMIENTO

FIGURA No. 38





Al no encontrar evidencias de polimorfismo o modificación estructural en las muestras tratadas por medio de la técnica antes mencionada, se realiza un cambio en la metodología para modificar la velocidad de disolución, controlando forma y tamaño de partícula por medio del equipo (ver Figura No. 10):

El primer modelo con el cual se realizó el ensayo para diseñar el equipo esterilizador fue con el alcohol estearílico, la distribución en tamaños de esferas obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

#### 7.10 TAMAÑO DE PARTICULAS ESFERICAS DE ALCOHOL ESTEARILICO

TABLA N° XXVI

UTILIZANDO LA TECNICA DE MICROSCOPIA

! NUMERO DE PARTICULAS !	! TAMANO EN MICRAS !
! ESFERICAS !	! !
! 9 !	! 30 !
! 14 !	! 35 !
! 4 !	! 40 !
! 4 !	! 45 !
! 28 !	! 50 !
! 17 !	! 60 !
! 16 !	! 70 !
! 4 !	! 80 !
! 2 !	! 95 !
! 2 !	! 110 !

La distribución del tamaño de partícula es más homogéneo evitando las partículas finas.



TABLA No. XXVII

TAMARO DE PARTICULAS DE ALCOHOL  
ESTEARILICO UTILIZANDO LA TECNICA  
DE TAMIZADO Y MICROSCOPIA

NUMERO DE PAR- TICULAS ESFERI- CAS	TAMARO DE MICRAS
17	20
5	30
16	40
20	50
5	60
3	70
4	80
8	90
3	110
5	120
5	150
2	170

RETENIDO EN MALLA No. 180

\* Utilizando tubo aspersor de diferente diámetro de orificio por donde se rocía la muestra fundida.

TABLA No. XXVIII

TAMAÑO DE PARTICULAS ESFERICAS DE ALCOHOL  
ESTEARILICO UTILIZANDO LA TECNICA  
DE MICROSCOPIA

NUMERO DE PARTICULAS ESFERICAS	TAMAÑO DE PARTICULA EN MICRAS
2	20
12	30
3	40
4	50
3	60
12	70
14	80
28	90
6	100
5	120

RETENIDO EN MALLA No. 200

TABLA No. XXIX

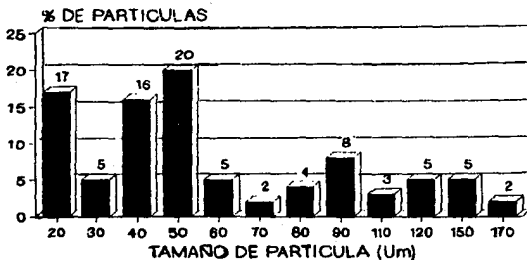
TAMAÑO DE PARTICULAS ESFERICAS DE ALCOHOL  
ESTEARILICO UTILIZANDO LA TECNICA  
DE MICROSCOPIA

NUMERO DE PARTICULAS ESFERICAS	TAMAÑO EN MICRAS
10	10
12	20
13	30
20	40
13	50
8	60
7	70
10	80

PASADO POR MALLA No. 200

Las gráficas que reflejan estos resultados se muestran a continuación:

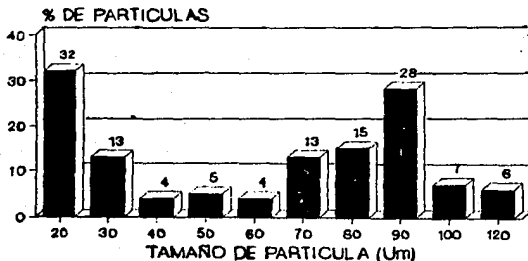
**DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA  
ESFERAS DE ALCOHOL ESTEARILICO**



■ Figura No.40

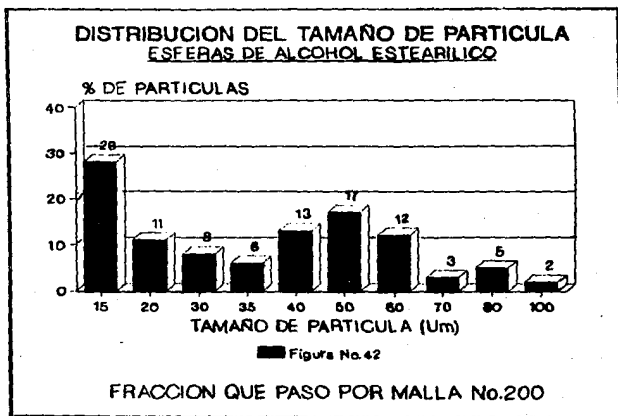
**FRACCION RETENIDA EN MALLA No.180**

**DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA  
ESFERAS DE ALCOHOL ESTEARILICO**



■ Figura No. 41

**FRACCION RETENIDA EN MALLA No.200**



Al observar el buen funcionamiento del equipo en la formación de esferas, se sometió el colesterol a la misma prueba utilizando como modelo, para partir de él a tratar las hormonas, por su alto punto de fusión, las esferas obtenidas así, muestra también una distribución de tamaño que a continuación se define:

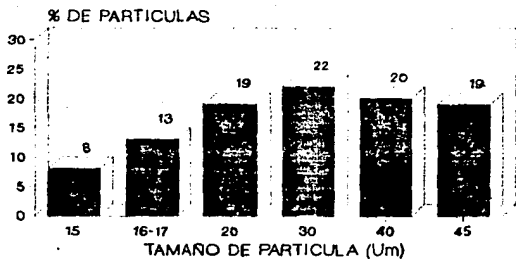
7.10.1 DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULAS  
ESFERICAS DE COLESTEROL

TABLA No. XXX

NUMERO DE PARTICULAS ESFERICAS	TAMAÑO EN MICRAS
8	15
6 - 12	16 - 17
20	20
23	30
21	40
20	45

OBSERVACION MICROSCOPICA

### DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA ESFERAS DE COLESTEROL



■ Figura No. 43

OBSERVACION MICROSCOPICA

TABLA No. XXXI

7.10.2 DISTRIBUCION DE TAMAÑO DE PARTICULAS  
ESFERICAS POR TECNICA MICROSCOPICA

## 17-BETA-ESTRADIOL

NUMERO DE PARTICULAS ESFERICAS	TAMAÑO EN MICRAS
9	30
15	50
6	60
10	80
18	90
7	100
5	130

RETENIDO EN MALLA No. 180

TABLA No. XXXII

DISTRIBUCION DE TAMAÑO DE PARTICULAS ESFERICAS  
17-BETA ESTRADIOL

NUMERO DE PARTICULAS ESFERICAS	TAMAÑO EN MICRAS
3	20
10	50
20	70
14	90
8	100
3	110

RETENIDO EN MALLA No. 200



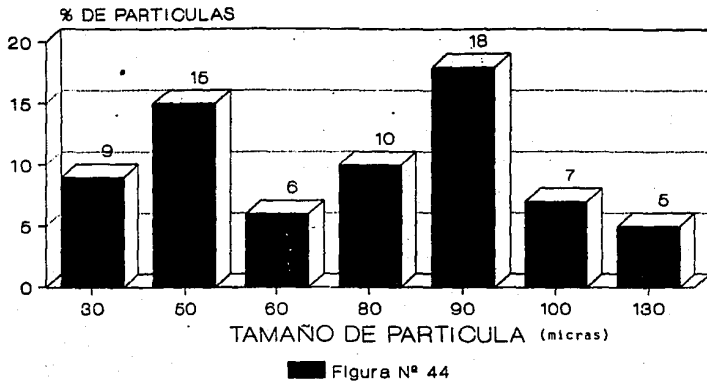
## TABLA No. XXXIII

7.10.3 DISTRIBUCION DE TAMARO DE PARTICULAS  
ESFERICAS  
17-BETA ESTRADIOL

NUMERO DE PARTICULAS ESFERICAS	TAMARO EN MICRAS
10	10
15	30
10	50
5	60
7	70

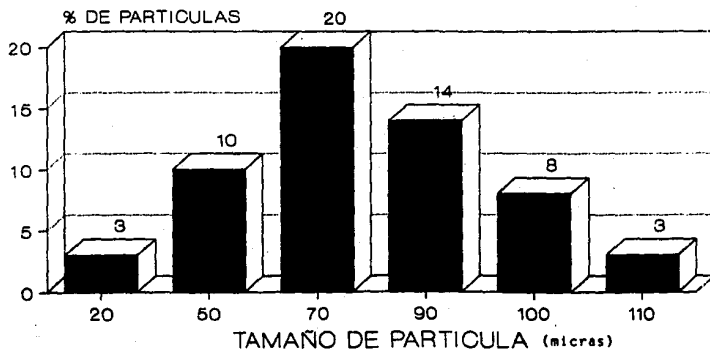
PASADO POR MALLA No. 200

## DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA ESFERAS DE 17-BETA ESTRADIOL



**RETENIDO EN MALLA No. 180**

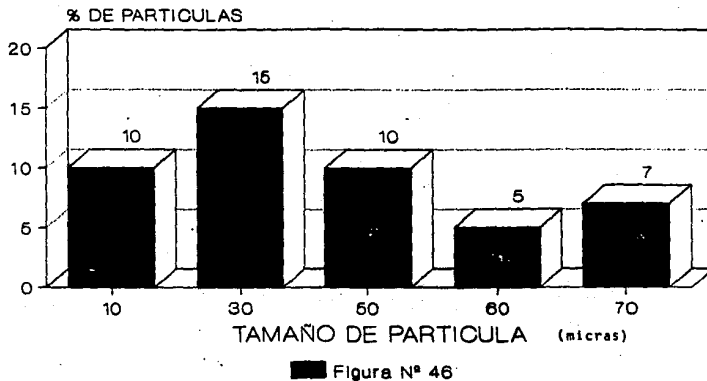
## DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA ESFERAS DE 17-BETA ESTRADIOL



■ Figura N° 45

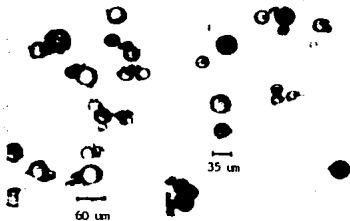
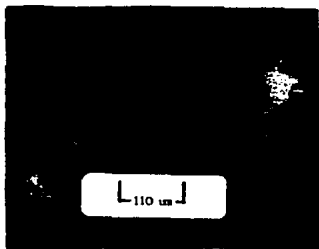
**FRACCION RETENIDA EN MALLA N° 200**

## DISTRIBUCION DEL TAMAÑO DE PARTICULA ESFERAS DE 17-BETA ESTRADIOL



**FRACCION RETENIDA EN MALLA N° 200**

## FOTOGRAFÍAS MICROSCÓPICAS No. 8 y 9

ESFERAS DE 17- $\beta$ -ESTRADIOL

EN EL OBJETIVO: 10X

FILTRO DE LUZ AZUL

AMPLIFICACION: 120 veces

## 7.11 DISOLUCION DE ESFERAS DEL 17-B ESTRADIOL

## CONDICIONES DE OPERACION:

Método U.S.P II (Paletas)

Medio: Metanol/Agua, Vol/Vol.

Volumen del medio: 900 ml.

Temperatura: 37 ± 0.5°C.

Tiempo: 90 min. (muestreando cada 15 min)

Agitación: 75 r.p.m

Longitud de Onda: 298 nm.

Vehículo: Cápsulas Transparentes de gelatina blanda

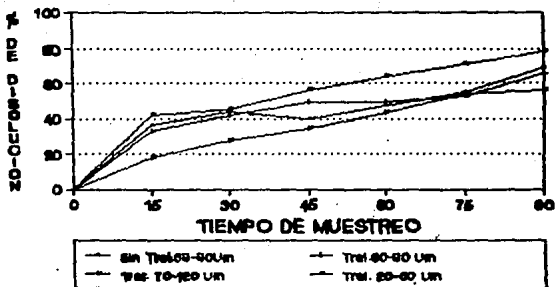
TABLA No. XXXIV

## TAMANO DE PARTICULA - % DE DISOLUCION.

MUESTRA	TAMANO DE PARTICULA	CONCENTRACIONES										DISOLUCION									
		0.005	0.010	0.020	0.040	0.080	0.160	0.320	0.640	1.280	2.560	5.120	10.240	20.480	40.960	81.920	163.840	327.680	655.360		
Referencia	-----	0.005																			
soln tratm.	60 um -- 90 um	0.020	0.024	0.022	0.056	0.030	0.030	36.360	42.624	48.0	47.272	54.543	49.09								
filtrado (1)	60 um -- 90 um	0.010	0.023	0.027	0.027	0.029	0.036	32.727	41.011	49.092	49.092	52.72	45.45								
filtrado (2)	70 um -- 100 um	0.010	0.010	0.019	0.024	0.030	0.030	10.101	27.232	34.623	43.370	50.201	54.24								
filtrado (3)	80 um -- 90 um	0.023	0.025	0.031	0.033	0.039	0.043	41.011	40.434	56.345	43.456	70.912	70.10								

Se observa una velocidad de disolución más constante que con las partículas que no presentaban forma definida.

**PERFIL DE DISOLUCION  
ESFERAS DE 17- B- ESTRADIOL**



**DIFERENTES TAMAÑOS DE ESFERAS**

FIGURA No. 47

## DISCUSION DE RESULTADOS

En base a los trabajos reportados (8) y (20), la experimentación se inició buscando modificar la estructura cristalina de los esteroides hormonales, ya que al modificar tal estructura, puede -- verse afectada la solubilidad y por ende la velocidad de disolución al originar una forma polimórfica más estable que el cristal original. Tal idea condujo a tratar las muestras mediante una fusión y rápida solidificación, suponiendo un efecto de la velocidad de enfriamiento sobre la modificación estructural de un cristal, en base a los estudios reportados anteriormente. (35)

En los dos primeros experimentos se intentó reproducir el sistema de choque térmico y observar mediante la medición del punto de fusión alguna posible diferencia en la estructura cristalina, que -- al no obtener resultados satisfactorios puesto que el proceso de enfriamiento en la placa era poco efectiva y el rocío de la muestra -- fundida ineficaz, se encaminó la experimentación hacia la implementación de un proceso de enfriamiento más efectivo sobre hielo seco con el que se alcanzaron temperaturas de  $-80^{\circ}\text{C}$ , con lo cual se esperaba un cambio en la conformación cristalina de los esteroides, no encontrándose con los análisis hasta ese momento realizados, ningún cambio significativo que indicara polimorfismo o degradación del -- producto relacionado con el efecto de la temperatura y velocidad de enfriamiento.

Con respecto al diseño de los equipos (13), en el caso del disco rotatorio se contemplaba la posibilidad de provocar tanto un -- choque térmico como la obtención de partículas de forma más defini-



da (esféricas) y la recuperación de éstas, rociando la muestra sobre la placa giratoria fría.

Se presentó la misma dificultad de pasos anteriores para lograr el rocío de la muestra, ya que el colesterol a temperatura ambiente solidifica de inmediato, por lo que no se pudo rociar como en las técnicas anteriores y se utilizó un agitador de vidrio sumergido en la muestra fundida, y al sacarla se sacudió rociando sobre la placa giratoria, sin embargo, uno de los inconvenientes para seguir este procedimiento de rocío fue que la muestra debía de mantenerse en calentamiento durante todo el proceso con la posibilidad de provocar con esto una descomposición por calentamiento excesivo. Otro inconveniente fue que la muestra se adhería a la superficie -- del disco, por tanto ésta no resbalaba ni se formaban esferas, además de que no se logró bajar la temperatura más allá de  $-50^{\circ}\text{C}$ . Hasta aquí los resultados no indicaban la presencia de modificaciones estructurales ni alteración en la solubilidad de las muestras tratadas.

Como los estudios realizados por el grupo de investigación del Instituto Nacional de Nutrición, atrajeron el interés de la empresa, se prosiguió con la idea de provocar un estado polimórfico a los cristales de las hormonas esteroidales tratándolas con un choque térmico más drástico aún, como lo fue el enfriamiento con Nitrógeno líquido que alcanzó una temperatura de  $-190^{\circ}\text{C}$ . A las muestras obtenidas de este tratamiento, se les realizaron análisis más específicos para detectar polimorfismo, como lo fue el análisis por Barrido de Calorimetría Diferencial (DSC), el cual solo se realizó para Progesterona y 17- $\beta$ -Estradiol por los siguientes motivos: los e-

tudios clínicos del Departamento de Nutrición se enfocaron más al estudio de hormonas naturales, al observar que disminuían un poco los efectos colaterales, principalmente el sangrado endometrial, en comparación con las hormonas sintéticas, además, un análisis de esta naturaleza implica un costo elevado.

Para progesterona se observa que tanto la gráfica del Infrarojo de la muestra sin tratamiento y la tratada son iguales, esto es, que en la muestra tratada no se abate el punto de fusión, no hay cambio en los picos endotérmicos ni señal de otra cristalización y fusión a otra temperatura que no fuera el punto de fusión de la muestra (ver figuras 37 y 38).

Para el 17-B-Estradiol, se visualiza aparte de la endoterma de fusión un pequeño pico desfasado del punto de fusión, el cual no se podría definir como un polimorfo, sino más bien como una impureza de la muestra. (ver figuras 39 y 40)

Otra prueba de importancia para la finalidad de este estudio es la disolución, que a su vez está relacionada con la distribución del tamaño de partícula. Es aquí donde se presenta la mayor limitante de este procedimiento, ya que al fraccionar la placa cristalizada después del enfriamiento brusco de los esteroides inevitablemente se formaron polvos finos y cristales amorfos que se adherían a las partículas de mayor superficie, impidiendo homogeneidad en los tamaños y alterando así los resultados de disolución, por lo que se valió de las técnicas mencionadas en el desarrollo experimental para separar los finos de las partículas de mayor tamaño (ver página 31, 6.6.4); de todas ellas ninguna técnica permitió la separación óptima, puesto que en menor cantidad pero existentes y adheridos a los cristales, se encontraban estos polvos.

Otra desventaja fué que al no haber una forma definida de partícula, la medición al microscopio y por tamizado era errónea, ya que al tener partículas en forma de aguja se medían a lo largo o a lo ancho en el microscopio y cualquiera de estas medidas no son representativas.

Por tamizado, podían pasar por mallas más finas si pasaban en posición vertical ó retenerse en mallas más abiertas si se quedaban en posición horizontal. Otra desventaja es no tener un área de superficie igual en todos sus lados.

Las disoluciones fueron realizadas por tanto para la Progesterona y 17-B-Estradiol, en los cuales se había fijado mayor interés clínico por ser esteroides naturales, sin tener un método de disolución farmacopeico u oficial, se decidió realizar un ensayo sólo como modelo experimental de la prueba de disolución en un medio compuesto por agua y un solvente orgánico miscible, donde se solubilizara la muestra, se controlaron los tamaños de partícula, al concluir la prueba y evaluar los resultados se determinó que no hay cambio significativo entre la muestra tratada y sin tratamiento, que si bien se observa un cambio en la disolución, éste solo es probable debido al tamaño de partícula, por lo que finalmente se consideró que no hay cambios en la velocidad de disolución de los cristales por el choque térmico, así es recomendable continuar investigaciones en este sentido con métodos de disolución más apropiados para descartar totalmente esta posibilidad.

En resumen, se consideró no tener resultados significativos entre las muestras expuestas a diferentes condiciones experimentales de enfriamiento. Todos estos datos se consideraron para diseñar un

equipo que permitiera el rocío o aspersión de la muestra fundida -- con la finalidad de controlar la forma y el tamaño de partícula originando formas esféricas con una menor variación en los tamaños de partícula.

Las observaciones en la disolución nos muestran un perfil de disolución variable, esto es, para las partículas de menor tamaño -- la velocidad de disolución es mayor y viceversa.

El logro al desarrollar tal equipo llamado dentro del proyecto "Esferulizador", dió la posibilidad de obtener realmente formas esféricas de las partículas así como una variación pequeña entre -- los tamaños de partícula con este equipo, se presupone un gran avance para las formas farmacéuticas de liberación controlada, ya que a diferencia de otros métodos no requiere material externo o de recubrimiento (6.7 y 8), logrando esferulizar todos los esteroides utilizados en este proyecto desde el material de ensayo como lo fueron alcohol estérilico y el colesterol hasta el 17-B-estradiol, el cual se pensaba presentaría mayor problema de operar por su alto punto de fusión, se espera por tanto que esta investigación brinde la posibilidad de contar con un método alternativo para formas farmacéuticas de liberación a largo plazo, esto es la utilización de otros activos que requieran ser diseñadas para formas farmacéuticas de liberación controlada.

Sin embargo, se presentó el problema de que la Progesterona no logró recuperarse mediante el equipo colector debido a su adherencia a las paredes del tubo colector, pese a que se tenían las mismas condiciones de enfriamiento con las que se recuperaron los demás principios activos sometidos a experimentación. La Progesterona

na, así como el Enantato de Noretindrona, presentan una fase de --- transición líquido-sólido muy particular, ya que a temperaturas tan bajas como  $-80^{\circ}\text{C}$  no congelan si no que mantienen su estado líquido, después conforme van ganando temperatura, su estado tiene una consistencia de melasa y a temperatura ambiente solidifican pero aún - conservando características pegajosas o adherentes. Apareciendo sus características de cristal duro después de varios días, se conforma un problema que deberá resolverse posteriormente en el seguimiento de este proyecto.

## CAPITULO IX

## CONCLUSIONES

Dado el objetivo de este trabajo y lo extenso de la investigación, se obtuvo una base firme para proseguir con el proyecto hasta llegar a una adecuada formulación anticonceptiva de liberación controlada por vía parenteral.

I.) Los resultados obtenidos al realizar el choque térmico, indica un cambio en el hábito cristalino y no en la estructura interna de la partícula, lo que no modifica la disolución de las hormonas empleadas.

II.) La disolución de las hormonas se ve alterada principalmente por el tamaño de partícula, más que por tratamiento ó choque térmico efectuado en éstas.

III) El choque térmico, es decir el proceso de fusión y brusco enfriamiento, de los esteroides, no se vislumbra como un proceso fácilmente escalable a nivel industrial e implica un elevado costo mantener temperaturas de  $-190^{\circ}\text{C}$ .

IV.) Se logra el desarrollo de un equipo, que permitiera la perfecta esferulización de materia prima y principios activos aún de altos puntos de fusión, eliminando las partículas finas encontrados en la materia sin tratamiento y en la tratada, así como un intervalo más reducido en la distribución del tamaño de partícula.

V.-) La disolución de las partículas esféricas, a comparación de las que sufrieron choque térmico, muestran un perfil de disolución más uniforme y constante ; como no existe aún un método farmacopeico para liberación controlada en preparaciones inyectables, la disolución ensayada nos permite a groso modo, definir un comportamiento, que parece ser el esperado.

**SUGERENCIAS**

1.-Deberá estudiarse a fondo la posibilidad de simular un medio y técnica de disolución adecuados para una formulación parenteral y de liberación controlada.

2.-Desarrollar un sistema de mayor efectividad en el enfriamiento particularmente con la progesterona así como un mejor sistema de recolección para todos los esteroides utilizados.

3.-Mejorar el diseño del equipo para tener un control más exacto del tamaño de la partícula esférica.

4.-Deberá llegarse a proponer una formulación para estas partículas esteroidales, que logre la acción anti-conceptiva y la disminución de los efectos colaterales.



BIBLIOGRAFIA

- 1.- Asaji, K. "Microcapsule Processing and Technology". Ed. J.Wade van Valkenburg; Marcel Dekker, Inc. New York, 1979, pp. 2-4, 59-67, 142-169.
- 2.- Bakan, A.J.: Microencapsulation in the Theory and Practice of Industrial Pharmacy. (Eds. L. Lachman, H.A. Lieberman and J.L. Konong, 3er. Ed. Lea & Febiger 1986 Philadelphia, pp. 412-429.
- 3.- Beck S. W. "Fisiología Molecular Celular y Sistemática". Primera Edición. Publicaciones culturales, México 1977, pp. 681-714.
- 4.- Beck, R.L., Pope, Z.V., Flowers, E.CH., Cowser, R.D, Tice, R.TH., Lewis, H.D., Dunn, L.R., Moore, B.A. and Guilley, M.R., "Poly(DL-Lactide-co-Glycolide)/Norethisterone Microcapsule: An Injectable Biodegradable Contraceptive". Biology of Reproduction. 28, 186-195 (1983).
- 5.- Cartensen, J. Thuro. Solid Pharmaceuticals: Mechanical Properties and Rate Phenomena. Academic Press. 1980. pp 102-133.
- 6.- Cavalier, M. Benoit J.P., Thies C. The Formation and Characterization of Hydrocortisone Loads. ( Poly (±)-Lactide) Microspheres. J.Pharm. Pharmacol. 1986, 38: 249-253.
- 7.- Chang, K., Price, C.J. and Whitworth, W.C.: "Control of Release Rates Through the Use of Mixtures of Polycaprolactone and Cellulose Propionate Polymers". Pharmaceutical Technology. 24: 25-30, (1986).
- 8.- Chang, K., Price, C.J. and Whitworth, W.C.: "Disolution Characteristics of Polycaprolactone-Polilactide Microspheres of Chorpromazine". Drug Development and Industrial Pharm. 12: 2355-2380 (1986).
- 9.- Chang, K., Price, C.J. and Whitworth, W.C. Check, W.: " Enhancement of Dissolution Rate by Incorporation into a Water Insoluble Polymer, Polycaprolactone ". Drug Development and Industrial Pharmacy, 13 (2), 249-256 (1987).
- 10.- Check, W. A.: Special Features. New Drugs and Drug-Delivery Systems in the Year 200. American Journal of Hospital Pharmacy. Vol. 14, August 1984.
- 11.- Chien, W.C. "Drugs and the Pharmaceutical Sciences". Vol. 14 Novel Drug Delivery Systems: Fundamentals, Developmental Concepts, Biomedical Assessments. Marcel Dekker, Inc. New York 1982, pp. 97-142.
- 12.- Desoize, B., Jardillier, C.J., Kanoun, K., Guéphy, D., Levy, C.M.: "In Vitro Cytotoxic Activity of Cross-Linked Protein Microcapsules". J.Pharm. Pharmacol. 38: 8-13 (1986).
- 13.- Eskilson, C. Microencapsulado para Liberación Controlada. Ufg. Chem. Vol. 56, 3, Marzo, 1985. INFOTEC.
- 14.- Garza F.J. " Improved Design of Injectable Contraceptive Delivery Systems for Steroids. México, 1988.
- 15.- Garza, F.J., Díaz, V.S., Jiménez S.Th. and Rudel, W.H. Development of a Low-Dose Monthly Injectable Contraceptive System: I. Choice of compounds, dose and administration route. Contraception, Vol. 30, No. 4 1984

- 16.- Goodman, G.A., Goodman, L.S. y Gilman, A. "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica", Sexta Edición. Medica Panamericana. Buenos Aires, Argentina 1982. pp. 1199-1217.
- 17.- Guerasimov, V. Dreving. "Cursos de Química Física I". 2nd. Ed. MIR, México. 1981, pp. 360-369.
- 18.- "Guía de la Industria Química 86-87. Productos Químicos", Editado por Litoimpresores, S.A. México, D.F. 1987.
- 19.- Hall E.P., Bialy G., Blye P.R., Crabbe P.: "Development of Certain Levonorgestrel Esters as Long-Acting Injectable Contraceptive" In Long Acting Contraceptive Delivery Systems, Zatuchni, I.G., Goldsmith, A., Shelton, D.J., Sciarra, I.J. Ed. Harrper & Row, Publishers. Philadelphia 1983. pp.169-200
- 20.- Liu, C. J., Tan, L.E. and Chien, W. Y.: Dissolution Kinetics and Rate-Controlling Mechanisms. Drug Development and Industrial Pharmacy. Marcel Dekker Inc. 1986. 12(8 & 9), 1357-1379.
- 21.- Lachman, L and Lieberman, H.A. (Eds). "The Theory and Practice of Industrial Pharmacy". Tercera Edición. Lea and Febiger. Philadelphia, U.S.A., 1986, pp. 1673-1678.
- 22.- Leeson, L. J. and Cartensen, J. T. "Dissolution Technology. The Industrial Pharmaceutical Technology". Section of the Academy of Pharmaceutical Science. 1974 pp. 29-53.
- 23.- Lordi, G. N.: "Sustained, Release Dosage Forms". In the Theory and Practice of Industrial Pharmacy. (Eds. L. Lachman, H.A. Lieberman, J.L. Koning), 3er Ed. Lea & Febyer 1986 Philadelphia, pp. 430-442.
- 24.- Manual del Laboratorio de Hormonas. Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán". Departamento de Biología de la Reproducción. México, D.F., 1983. pp 43-61.
- 25.- Martindale: "The Extra Pharmacopoeia". Twenty-Sixth edition. The Pharmaceutical Press, London, G.B. 1972, pp.1286 y 1661-11673.
- 26.- Muramatsu, M. and Iwashashi, M. "Thermodynamic Relationship between - Alfa and Beta- Forms of Crystalline Progesterone". J. Pharm Sci., 68 (2), pp. 175-176, 1975.
- 27.- Mesley, R.J., Johnson, C.A. Research Papers. Infrared identification of Pharmaceutically Important Steroids with Particular Reference to the Occurrence of Polymorphism. J. Pharm. Pharmacol., 17, 329-340, 1965.
- 28.- Nwaysey, S.E., Williams, L.D., Kerrigan, H.J., Nucifora, A.W., Armstrong, C.I.: "Microencapsulation of Contraceptive Steroids" in Long Acting Contraceptive Delivery Systems, Zatuchni, I.G., Goldsmith, A., Shelton, D.J., Sciarra, I.J. Ed. Harrper & Row, Publishers. Philadelphia 1983. pp 64-76.
- 29.- Parrott L.E. " Pharmaceutical Technology", Burgess Publishing Company., Alpha Editions. Minneapolis, Minnesota 1970, pp. 12-13, 124-129.
- 30.- Pérez P.G., Garza F. J. and Hall P.E. "Avances Recientes en la Regulación de la Fertilidad". Vol. I, Métodos Anticonceptivos de Acción Prolongada. Editorial Piensa. México, 1987. pp. 57-167.

- 31.- Population Reports. Inyectables e Implantes. La Anticoncepción Hormonal: nuevos métodos de acción prolongada. Population Information Program. The Johns Hopkins University, Hampton House, 624 North Broadway, Baltimore, Maryland, U.S.A. Serie K, No. 3, Febrero 1988.
- 32.- Rosenstein, E. "Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. ED. G.G. Bada, 35a Ed. 1988, Ediciones PLM. México, pp. 286,382,450,736,749,905 y 1050.
- 33.- Solole, G.E." Estradiol in Analytical Profiles of Drug Substances". (Ed. Florey, K. Academic Press, Inc. 1986, N.York. pp. 283-310.
- 34.- "The Merck Index. An Encyclopedia of Chemical and Drugs". Ninth edition. Merck & CO, INC. Rahway, N.J.,U.S.A. 1976, pp. 1286y 1354.
- 35.- "United States Pharmacopea".Official Monographs. 1985, pp. 744-745.
- 36.- Villafuerte R. L.: "Diseño de Medicamentos", Ed. COSNET-ENCB-IPN. 1984, pp. 64-84.
- 37.- Wall, G. Michael. "Pharmaceutical Applications of Drug Crystal Studies". Pharm. Mfg. Vol. 3, Núm. 2, Feb. 1986, p. 32-42.
- 38.- Ziyar, H. and Ruiqitu, X. "Clinical Evaluation of Intramuscular Injection of Microencapsulated Compound Megestrol Acetate", Int.J. Gynaecol Obstet.,pp. 319-323, (1984).