



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN FARMACÉUTICA

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA SOLUBILIDAD DE
POLIMORFOS DE GLIBENCLAMIDA EN SU CAPACIDAD DE
INCORPORACIÓN EN IMPLANTES FABRICADOS POR LA
TÉCNICA SOL-GEL

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA: JOSÉ IGNACIO VÁZQUEZ OLVERA

NO DE CTA. 307302342

DIRECTORA: DRA. ELIZABETH GUADALUPE SÁNCHEZ
GONZÁLEZ

ASESOR: DR. VICENTE JESÚS HERNÁNDEZ ABAD



CIUDAD DE MÉXICO

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

El desarrollo de esta tesis fue financiado en su totalidad con recursos del proyecto PAPIIT IT200815 “Diseño de matrices híbridas de liberación modificada preparadas mediante el proceso sol-gel, con actividad hipoglucemiante, aplicables en el tratamiento de la diabetes *mellitus* tipo 2”, por lo que se agradece el apoyo de la Universidad Nacional Autónoma de México, a través de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico.

*A todos quienes tocaron mi existencia. Me sé con
ustedes y los encuentro en mí.*

Dedicatoria

A Ignacio Vázquez Flores y Elvira Olvera Alcántara. Quienes por el amor me inclinan siempre a buscar la virtud.

A Alma, Carmen, Jonatan y Marce. Por su confianza, sus risas, su experiencia y su apoyo siempre.

A Julieta Vázquez Flores. Por quien entendí el coraje de amar a la familia.

A Andrés, Axel, Carlos, Diego, Erika, Hernán, Martín, Michelle y Pedro. Permitirme verlos crecer y hacerme crecer junto a ustedes es lo que nos une aún en la distancia y a través del tiempo.

A Ximena. Tú, pequeño incendio en mi corazón. Que el amor sea y nos haga.

A mis compañeros de generación Brenda, Carlos, Jairo, Verónica. Por rebasar la línea del compañerismo en nuestro tiempo juntos.

A Miguel, Anahí, Andrea, Ángel e Israel. Esperen todo de ustedes, el límite no existe, formen un futuro brillante para todos empezando por ustedes.

Agradecimientos

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la Universidad Nacional Autónoma de México por impulsar siempre mi crecimiento profesional, social y humano. Gracias por nunca cerrar sus puertas.

A los doctores Elizabeth Sánchez González y Vicente Hernández Abad y a la maestra Cynthia Espinosa Contreras quienes me brindaron la oportunidad de contribuir con su valioso trabajo y así poder entender el valor de la responsabilidad, por hacerme parte de las intensas discusiones y siempre mostrarme la medida justa de mi capacidad. Gracias por confiar, nunca ciegamente, siempre críticos, siempre abiertos, siempre en búsqueda de la verdad, máxima de nuestro ejercicio. Gracias por el valor de su amistad.

A mis compañeras en el Laboratorio de Investigación Farmacéutica, Brenda, Daniela, Jaqueline, Nancy, Yatziri. Compartir sus conocimientos, su experiencia, su perspectiva y hasta su discrepancia fueron sumamente importantes para el buen término de este trabajo.

Agradezco a la maestra Lourdes Castillo Granada, responsable del proyecto PAPIME PE206115 del Laboratorio de Espectroscopia, su valiosa enseñanza no solo sirvió a este trabajo, lo llevo para toda mi vida académica.

A los investigadores y funcionarios del Instituto de Investigaciones en Materiales, en especial a la maestra Celia Sanginés, por su asesoramiento y plena disposición para completar los resultados de este trabajo.

A la maestra Gloria Velásquez Vaquero. Sin su crítica abierta y profunda este trabajo carecería de la calidad con la que es presentado.

Abierto y crítico, paciente y perseverante, el investigador se abre paso a través de un sinfín de barreras a fin de hallar la verdad. Aquellas naturales e intrínsecas al objeto de estudio, ajenas a toda pretensión humana, existen. El investigador, por el contrario, corre el riesgo de crear barreras llenas de intereses personales, políticos e institucionales, lejanos a la búsqueda de la verdad y que suelen incluso retrasar el avance de la comunidad científica. Librar las barreras también requiere de un ejercicio personal e institucional que evite crearlas.

Así pues, como empresa humana, la ciencia no trasciende si la virtud de la verdad no encamina su avance y si la búsqueda de la verdad no gira en torno de lo humano pierde toda virtud.

"Por mi raza hablará el espíritu"

Contenido

1. Introducción	1
2. Marco Teórico	3
2.1 Formas farmacéuticas sólidas de liberación modificada	3
2.1.1 Sílice mesoporosa en matrices de liberación modificada	3
2.1.2 Incorporación de fármacos en matrices monolíticas de sílice mesoporosa	4
2.1.3 Dosis y liberación modificada de fármacos a partir de sílice mesoporosa	5
2.1.4 Fármacos incorporados en matrices de sílice mesoporosa	6
2.1.5 Glibenclamida	7
2.2 Sólidos	8
2.2.1 Amorfos	9
2.2.2 Cristalinos	9
2.2.3 Polimorfismo	11
3. Planteamiento del Problema y Justificación	20
4. Objetivo General	21
4.1 Objetivos Particulares.	21
5. Hipótesis	22
6. Metodología	23
6.1 Diagrama de flujo	23
6.2 Obtención de los polimorfos por técnicas de recristalización	24
6.2.1 Preparación de soluciones saturadas	24
A) Cristalización por enfriamiento	25
B) Cristalización por adición de antisolvente	25
6.2.2 Tratamiento de los productos obtenidos	25
6.3 Caracterización preliminar de los sólidos	25

6.3.1 Óptica	26
6.3.2 Térmica, calorimetría diferencial de barrido (CDB).....	26
6.3.3 Espectroscopía de Infrarrojo (E-IR)	26
6.3.4 Valoración.....	26
6.4 Escalamiento de la producción de sólidos	27
6.5 Caracterización del estado sólido de los productos escalados	27
6.5.1 Difracción de rayos X de polvos (DRX-P)	27
6.5.2 Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	28
6.6 Determinación de la solubilidad de los sólidos (por el método del SCB).....	28
6.7 Producción de monolitos sol-gel	29
6.7.1 Primera fase, generación del sol.	30
6.7.2 Segunda fase, incorporación del fármaco y gelación.....	30
6.8 Valoración de la glibenclamida presente en los monolitos sol-gel	31
6.8.1 Preparación de soluciones	31
6.8.2 Extracción	31
6.8.3 Diluciones	32
6.8.4 Análisis.....	32
6.9 Análisis térmico de los monolitos sol-gel	33
6.10 Análisis mecánico de los monolitos sol-gel	33
6.10.1 Análisis estadístico de la matriz de experimentos	33
7. Resultados y discusión.....	34
7.1 Productos obtenidos	34
7.1.1 Caracterización preliminar de los sólidos.....	35
7.2 Escalamiento	42
7.2.1 Caracterización del estado sólido de los productos obtenidos.....	43
7.3 Solubilidad	48

7.4 Producción de monolitos sol-gel	50
7.4.1 Apariencia.....	50
7.4.2 Valoración.....	52
7.4.3 Análisis térmico	54
7.4.4 Análisis mecánico	57
8. Conclusión	58
9. Referencias	59

1. Introducción

La meta de mejores terapias farmacológicas se torna especialmente urgente en padecimientos crónico-degenerativos, tales como la diabetes *mellitus*. Los fármacos hipoglucemiantes surgieron como una terapia eficaz en el tratamiento y control de la hiperglucemia de los pacientes diabéticos. Sin embargo, al ser en ocasiones fármacos empleados en dosis bajas, debido a su estrecha ventana terapéutica y a sus efectos secundarios, es de gran importancia el control en la administración de dosis múltiples diarias, para mantener los efectos terapéuticos durante los eventos hiperglucémicos sin que, por otro lado, se llegue a la hipoglucemia. La glibenclamida, un fármaco clase II, de acuerdo con el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB), representa el arquetipo de la familia de las sulfonilureas de segunda generación, ampliamente usadas en el control de la diabetes *mellitus*, cuya administración se realiza típica y generalmente en forma de tabletas con dosis bajas (5 mg), y con dosis máximas diarias de 20 mg, debido a los efectos secundarios que presenta.

El actual desarrollo de formas farmacéuticas de liberación modificada pretende cubrir muchas de las necesidades que exigen en la terapéutica de diversos padecimientos, algunas de las cuales corresponden a los efectos asociados a la toma de medicamentos de liberación inmediata (terapias multidosis). La finalidad es reducir los posibles efectos secundarios, mantener la concentración del fármaco dentro de la ventana terapéutica y evitar los riesgos por toxicidad de los fármacos, asegurando una concentración óptima tanto sistémica como local y manteniendo efecto terapéutico durante un periodo de tiempo prolongado. Los materiales de sílice mesoporosa fabricados por la técnica sol-gel, han emergido como un prometedor vehículo para fármacos, debido primordialmente a su estructura mesoporosa, la que mientras preserva un nivel de estabilidad química y biocompatibilidad, asegura la liberación modificada de diversos fármacos.

La fabricación de Monolitos de Sílice Mesoporosa (MSM) como formas farmacéuticas de liberación modificada, presenta diversos retos cuando se pretende incorporar en ellos fármacos con baja solubilidad, ya sea que la incorporación se logre mediante la solubilización de las especies químicas en una solución de carga que después se infiltra en los monolitos, o bien estos son incorporados durante el proceso de síntesis de los MSM.

En este trabajo se evaluó el efecto del polimorfismo de la glibenclamida, aprovechando las diferencias de solubilidad entre los diferentes polimorfos del fármaco, en su capacidad de incorporación a los MSM durante la síntesis de éstos. La evaluación se realizó aplicando una matriz factorial de experimentos. Se contempló la modificación de tres variables en sus niveles alto y bajo: la técnica de incorporación del fármaco al proceso de síntesis, la cantidad de fármaco y su solubilidad.

De los resultados de esta determinación se eligieron a los cristales de glibenclamida con mayor y menor solubilidad, dos cantidades de trabajo y dos técnicas de adición del fármaco al proceso. Se fabricaron las unidades experimentales (lotes) por duplicado y se obtuvo la respuesta de ellos para el correspondiente análisis estadístico de 3 variables: contenido (miligramos de fármaco por cada gramo de MSM), comportamiento térmico (obtenido por CDB) y mecánico (determinación de la dureza) de los MSM. El análisis estadístico del contenido de fármaco en los MSM arrojó diferencias significativas en los efectos de las variables de cantidad y técnica de adición del fármaco en la fabricación de los MSM, bajo las condiciones de estudio, mientras que el efecto de la variable de solubilidad no representó una diferencia estadísticamente significativa en los experimentos.

2. Marco Teórico

2.1 Formas farmacéuticas sólidas de liberación modificada

Una forma farmacéutica (FF) es la disposición física que se da a los fármacos y aditivos para constituir un medicamento y facilitar su dosificación y administración. La liberación de los fármacos, una vez administrada la FF en el organismo, puede ser inmediata o retardada una vez que entran en contacto con el sitio de administración, o bien, puede ser modificada para prolongar dicha liberación.

Un implante es un ejemplo de una forma farmacéutica de liberación modificada, el cual es una preparación sólida y estéril, de tamaño y forma apropiado para su implantación, generalmente subcutánea, cuya vía de administración es la parenteral.¹

2.1.1 Sílice mesoporosa en matrices de liberación modificada

La liberación modificada de fármacos en un sitio determinado dentro del organismo es un área de estudio importante en el desarrollo de nuevas formas farmacéuticas. Una forma farmacéutica implantable pretende reducir los potenciales efectos secundarios asociados a terapias multidosis con medicamentos de liberación inmediata o aquellos efectos involucrados desde la liberación y hasta la absorción y maximizar los efectos terapéuticos mediante la obtención de la concentración óptima en los sitios de acción o bien en la circulación sistémica.

En los materiales de sílice mesoporosa la liberación prolongada de diversas especies depende y se puede controlar a través de canales de poros estrechos, que permiten al proceso de liberación del fármaco llevarse a cabo con alta precisión.

Los materiales de sílice mesoporosa han emergido como un prometedor vehículo para fármacos, debido primordialmente a su estructura mesoporosa, la que mientras preserva un nivel de estabilidad química, funcionalización de superficie y biocompatibilidad, asegura la liberación controlada de diversos fármacos. Las propiedades de la forma mesoporosa del sílice permiten que puedan ser incorporados fármacos u otros agentes terapéuticos en grandes cantidades y ser consecuentemente liberados de manera controlada en el organismo.²

Generalmente, los materiales mesoporosos son derivados de arreglos supramoleculares de surfactantes, los cuales son la base de componentes inorgánicos (usualmente sílice) durante la síntesis. Después de que el surfactante es removido, comúnmente por pirólisis o disolución con un disolvente apropiado, las matrices de sílice mesoporosa son potenciales acarreadores de fármacos con las siguientes características:

- a) Una red ordenada de poros, la cual es homogénea en tamaño y permite un delicado control en la cinética de la carga y liberación de fármacos.

- b) Un gran volumen de poro para contener la cantidad requerida de fármacos.
- c) Una gran superficie de contacto, la cual implica un alto potencial para la absorción de fármacos.
- d) Una superficie compuesta por grupos silanoles que pueden ser funcionalizados para permitir un mejor control sobre la carga y liberación de fármacos.³

La uniformidad en los poros cilíndricos con diámetros ajustables entre 2 y 50 nm y, en consecuencia, la gran superficie de estos materiales (700-1.500 m²/g), junto con la alta estabilidad química y térmica y la fácil funcionalización de la sílice, los hacen ideales para su uso como soportes para la adsorción, catálisis, separaciones químicas, y para los dispositivos usados en biotecnología. Además, por la biocompatibilidad de la sílice y su asimilación eficaz por células de los mamíferos, se proponen como una base en nanodispositivos e implantes para la liberación controlada de fármacos y otras aplicaciones.⁴

La incorporación de fármacos (y de otras especies químicas) se logra por la simple adición de éstos durante el proceso de formación de la red del óxido a temperatura ambiente para generar el gel en composición con la molécula activa distribuida homogéneamente a través de él.⁵

2.1.1.1 Síntesis de sílice mesoporosa

Hay dos etapas principales en el proceso denominado sol-gel para la síntesis de sílice mesoporosa. La primera de ellas consiste en una reacción de hidrólisis y en la última etapa se lleva a cabo una reacción de condensación. En solución acuosa, las partículas coloidales de sílice (el denominado sol) se producen a través de la hidrólisis de alguna fuente de dióxido de silicio (silanos análogos de derivados del glicerol u otros polioles, ácido ortosilícico, metasilicato de sodio, ortosilicato de tetraetilo —TEOS— o tetrametoxisilano —TMOS). Posteriormente, la reacción de condensación origina una red tridimensional de tipo gel de partículas de sol unidas a través de enlaces siloxano. Después de secar a temperatura ambiente, las diferentes especies químicas incorporadas pueden ser liberadas de manera controlada, dependiendo de la estructura y la porosidad del gel (o xerogel) formado.²

2.1.2 Incorporación de fármacos en matrices monolíticas de sílice mesoporosa

La capacidad de la sílice mesoporosa para encapsular diferentes tipos de moléculas de fármacos dentro de sus canales de poros se logra debido a que las moléculas de fármaco son incorporadas por las partículas de sílice a través del fenómeno de adsorción en superficie.⁶

En las matrices de sílice mesoporosa, como sistemas acarreadores de fármacos, el estudio de los fenómenos de adsorción y disolución desde y hacia un medio circundante son de gran importancia durante la fabricación. Dichos fenómenos dependen de muchos factores, tales como las interacciones entre el

fármaco y la matriz, el tamaño, la interconectividad y geometría de los poros y las interacciones entre la matriz y el medio circundante.⁷

La incorporación de fármacos en las matrices puede lograrse de varias maneras. Una de ellas es la adición del fármaco durante el proceso de formación de la red del óxido (condensación del gel) a temperatura ambiente para generar el gel en composición con la molécula activa distribuida homogéneamente a través de él. Otro método comúnmente utilizado es la simple inmersión de las matrices en una solución de carga, en la que se disuelve el fármaco deseado en un disolvente adecuado y el volumen de la solución de carga es claramente mayor que el volumen de la muestra cargada. Un método similar consiste en la impregnación, donde se añade una cantidad controlada de solución de fármaco a las partículas o capas y se deja infundir a través de la acción capilar en los poros (método de humedad incipiente). Las ventajas comunes para estos métodos son que la incorporación se puede realizar a temperatura ambiente y además el fármaco no está expuesto a un ambiente químico agresivo.

A pesar de la simplicidad engañosa de la carga de fármaco, hay varios factores que intervienen en el proceso. Algunos de estos factores son: la dependencia del pH, la temperatura y el tiempo, la posible reactividad química de la solución de carga de fármaco con la matriz. Además, otras interacciones del tipo fármaco-partículas, fármaco-disolvente, y disolvente-partículas, pueden afectar el proceso de incorporación.⁸

Si bien el proceso se basa principalmente en las propiedades de adsorción de la sílice mesoporosa, tanto si se agrega la carga durante la reacción de condensación o mediante una solución de carga, la solubilidad del fármaco es el factor primordial a cuidar para lograr la mejor incorporación del mismo en la matriz.³

2.1.3 Dosis y liberación modificada de fármacos a partir de sílice mesoporosa

Un aspecto importante para los sistemas de liberación modificada es la cantidad de fármaco que puede ser liberada hacia el sitio indicado, es decir, la dosis entregada. Para el diseño de implantes, la dosis se calcula a partir de los datos previos de porcentaje máximo incorporado en ellos y de la dosis diaria necesaria para un grupo poblacional, de esta manera se asegura que la dosis incorporada cumpla con la máxima duración terapéutica posible del implante. Dicha aseveración debe estar sustentada con los datos de cinética de liberación y de solubilidad, ya que la duración terapéutica puede no depender únicamente de la cantidad de fármaco incorporado. Si se determina que la liberación depende principalmente de la cantidad de fármaco incorporado y de su solubilidad, entonces se esperaría que la liberación sea constante a través del tiempo. Los perfiles de liberación más comunes en materiales mesoporosos se muestran en la Figura 1. El perfil a se observa frecuentemente en matrices con superficies no funcionalizadas, las cuales

inicialmente presentan una alta velocidad de liberación, seguida de una muy lenta. El perfil b se asocia principalmente con las velocidades de difusión y de disolución, que generalmente siguen una cinética de primer orden con respecto a la concentración del fármaco. El perfil c corresponde a una cinética de orden cero, dependiente únicamente del tiempo, este tipo de perfil es el más buscado para los sistemas de liberación prolongada. El perfil d representa un ejemplo de sistemas de liberación bajo respuesta estimulada, que puede ser controlado por cambios externos (de pH, temperatura, magnetismo, etc.)³

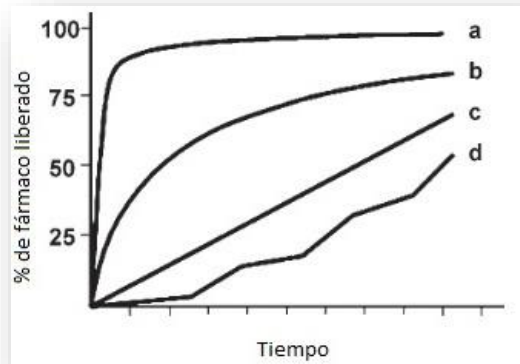


Figura 1. Cinéticas de liberación controlada de fármacos

Cuando se combina una cinética de liberación de orden cero con altos porcentajes de fármaco incorporado, se obtiene una mayor flexibilidad en el diseño de sistemas de liberación prolongada.

2.1.4 Fármacos incorporados en matrices de sílice mesoporosa

La sílice mesoporosa utilizada más a menudo para fármacos ha sido el tamiz molecular ordenado hexagonalmente, MCM-41, que típicamente posee grandes áreas de superficie ($>1000 \text{ m}^2/\text{g}$), altos volúmenes de poro ($>0,7 \text{ cm}^3/\text{g}$) y una estructura de canales de poro unidireccional muy uniforme (diámetro de poro de 2 a 3 nm). El MCM-41 se ha aplicado para diversos fármacos, tales como ibuprofeno, vancomicina, aspirina y para la inclusión de proteínas con uso terapéutico, tales como el citocromo C y la mioglobina.⁹

Otros fármacos propuestos y reportados como candidatos a implantes de liberación prolongada son la gentamicina, eritromicina, amoxicilina, alendronato, captopril³ y algunos anticancerígenos, como la camptotecina y el paclitaxel⁶

Actualmente se ha reportado la inclusión de glibenclamida en sílice mesoporosa SBA-15 en conjunto con indometacina mediante la técnica de impregnación. Ambos fármacos se liberaron dentro de los 10

minutos después de la transferencia a fluido intestinal en estado de ayuno simulado (estudio *in vitro*), además de confirmar una mayor absorción (cuatro veces más que el producto de referencia) por vía oral en un estudio *in vivo*¹⁰

2.1.5 Glibenclamida

La glibenclamida (Figura 2), es un agente antidiabético de la familia de las sulfonilureas de segunda generación.¹¹

Fórmula condensada: C₂₃H₂₈ClN₃O₅S

Fórmula desarrollada:

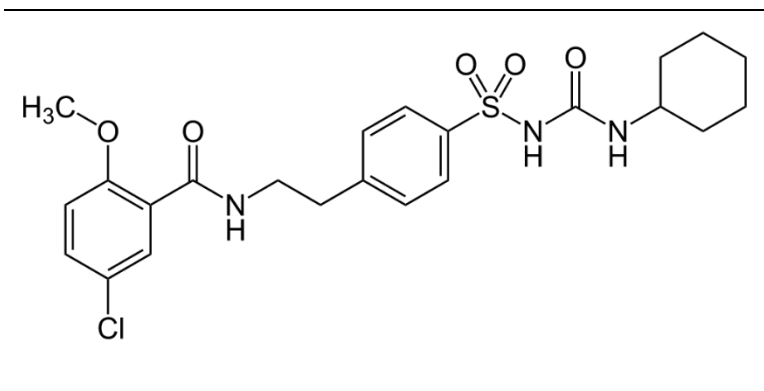


Figura 2. Estructura química de la glibenclamida

Nombre sistemático: 5-cloro-N-[2-[4-(ciclohexilcarbamoilsulfamoil) fenil] etil]-2-metoxi-benzamida

Otros nombres: Gliburida

Número CAS: 10238-21-8

Peso molecular: 494.00352 g/mol

2.1.5.1 Propiedades físicas y químicas

Temperatura de fusión: 169 °C¹², 174 °C¹¹

Solubilidad en agua a 27 °C: 4 mg/L

Coefficiente de reparto: Log P = 4.7

2.1.5.2 Polimorfismo

Se han reportado cuatro formas polimórficas típicas de la glibenclamida (Tabla 1).¹³

Tabla 1. Polimorfos reportados de glibenclamida	
Forma	Temperatura de fusión (°C)
I	172.7
II	171.7
III	169.3
IV	168.5

Donde la relación entre las formas II-I y IV-III es de monotropismo y entre las formas III-II y IV-II de enantiotropismo. Los autores sugieren la existencia de más formas polimórficas¹³

Otro estudio estableció al polimorfo I, con temperatura de fusión de 174.5 °C, como el estable y al polimorfo II, con temperatura de fusión de 151.0 °C, como el metaestable, además de encontrar un tercer polimorfo y tres solvatos diferentes.¹⁴

Recientemente se demostró la existencia de otro polimorfo con temperatura de fusión de 218 °C mediante sublimación del sólido amorfo¹⁵, aunque un análisis posterior y nuevos datos experimentales demostraron que se trataba de un producto de degradación térmica, y no un nuevo polimorfo.¹⁶

Se demostró que el polimorfismo de la glibenclamida no representa un ejemplo de polimorfismo conformacional (desmotropismo por tautomerismo), sino de polimorfismo estructural.¹⁷

2.2 Sólidos

Muchas de las sustancias farmacéuticas consisten en moléculas orgánicas solas, o en asociación con cationes metálicos (sales metálicas), cationes orgánicos, aniones orgánicos o inorgánicos, moléculas neutras orgánicas (cocristales) o moléculas de disolvente (solvatos). Por lo general estas sustancias tienen propiedades similares, dominadas por la presencia de las moléculas orgánicas y sus interacciones intermoleculares típicas.¹⁸

La principal manifestación de dichas propiedades radica en que bajo condiciones ambientales, la mayoría de las sustancias de interés para el desarrollo farmacéutico se encuentran en estado sólido. Los sólidos pueden mostrar diferencias externas o internas. Las diferencias externas se refieren a la forma, el hábito, o la morfología de las partículas, en donde las estructuras internas que las componen siguen siendo las mismas, mientras que las diferencias internas se muestran por la presencia o ausencia de un arreglo que se repite periódicamente en las tres dimensiones físicas, dicho de otra manera, la presencia o la falta del orden intermolecular, generando de ésta manera sólidos cristalinos y sólidos amorfos, respectivamente.

2.2.1 Amorfos

Los sólidos amorfos son aquellos en los que persiste la ausencia de un orden de largo alcance en las tres dimensiones físicas (periodicidad de enlaces intermoleculares),^{19,20} lo que resulta en una disposición más aleatoria de las moléculas y un mayor volumen libre en comparación con la contraparte cristalina. Otra característica de estos sólidos es su comportamiento de tipo líquido a temperaturas por debajo de la temperatura de fusión, debido a que los movimientos moleculares traslacionales, que mientras en un sólido cristalino están restringidos, persisten a nivel molecular en el amorfo.

Termodinámicamente, un sólido amorfo es generalmente más inestable que su contraparte cristalina, dado que posee mayor energía libre.²¹

2.2.2 Sólidos cristalinos

En los sólidos cristalinos existe un arreglo molecular en una red tridimensional.²⁰ En la red, las moléculas forman enlaces intermoleculares lo suficientemente fuertes como para detener los movimientos traslacionales, pero no los movimientos de vibración o de rotación, lo que resulta en la presencia de un orden de largo alcance en las tres dimensiones físicas.¹⁹

La fuerza impulsora para la cristalización se conduce siempre para minimizar la energía de libre del sistema; aquella estructura cristalina con la mínima energía libre, es favorecida termodinámicamente.¹⁸

2.2.2.1 Estructura cristalina

En un sólido cristalino, cada molécula tiene la misma conformación en el espacio y se fija en alguna de las posibles posiciones simétricamente relacionadas entre sí, uniéndose a otras cercanas a través de enlaces intermoleculares débiles (enlaces de hidrógeno o de Van Der Waals, por ejemplo). De esta manera se forma una estructura cristalina tridimensional, la cual define muchas de las propiedades físicas del sólido. La estructura cristalina está construida de celdas unitarias idénticas, cada una de las cuales está definida únicamente por los tres ejes —a, b y c— y los tres ángulos — α , β , y γ — (Figura 3) entre tales ejes. La combinación de estos ejes y ángulos da lugar a siete posibles sistemas cristalinos, y cualquier sólido cristalino puede estar representado por una celda unitaria de uno de estos sistemas. (Tabla 2).

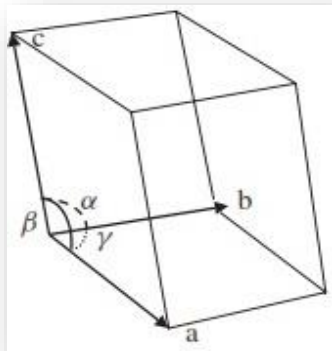


Figura 3. Celda unitaria

Tabla 2. Los siete sistemas cristalinos¹⁸

Sistema cristalino	a	b	c	α	β	γ
Triclínico	a	b	c	$\neq 90$	$\neq 90$	$\neq 90$
Monoclínico	a	b	c	90	$\neq 90$	90
Ortorrómbico	a	b	c	90	90	90
Tetragonal	a	b	a	90	90	90
Trigonal	a	a	a	$\neq 90$	$\neq 90$	$\neq 90$
Hexagonal	a	b	a	90	120	90
Cúbico	a	a	a	90	90	90

a, b y c, representan los vértices y su equivalencia entre sí en la celda unitaria, α , β y γ los ángulos en la misma.

Los sólidos cristalinos se sub-clasifican según el número de componentes que constituyen interna y homogéneamente, pudiendo presentarse como un solo componente o como multicomponente cuando diversas especies químicas constituyen parte de la estructura cristalina. Este último grupo incluye a sólidos como las sales orgánicas, solvatos y cocrisales.

Una sal orgánica es un sólido multicomponente resultado de una asociación iónica entre la molécula orgánica en alguno de sus grupos funcionales ionizables, con una (o más) especies químicas ácidas o básicas, mientras que los solvatos y cocrisales son asociaciones de tipo molecular (enlaces intermoleculares débiles como enlaces de hidrógeno o fuerzas Van Der Waals, por ejemplo) entre la molécula principal y una adicional, ambas eléctricamente neutras. Si la sustancia adicional está en condiciones ambientales como fase líquida, la asociación se denomina solvato; si además de presentarse

en fase líquida, el componente adicional es agua, la asociación se denomina hidrato. Cuando la sustancia adicional se encuentra como un sólido en condiciones ambientales, se denomina cocrystal a la asociación. El criterio de discriminación entre solvatos y cocrystal, como se indica aquí, resulta ambiguo debido a su arbitrariedad; sin embargo, pueden encontrarse diferencias claras para discriminar cada caso en específico.¹⁹

2.2.3 Polimorfismo

La capacidad de una sustancia de existir en más de un estado cristalino se denomina polimorfismo y se denominan polimorfos a cada uno de los diferentes estados cristalinos de la misma sustancia.^{19,22}

Cada polimorfo está caracterizado por una celda unitaria, donde cada uno de ellos consiste en exactamente la misma composición elemental.²³ Cada celda unitaria se diferencia por las disposiciones y/o conformaciones de las moléculas en la red cristalina.¹⁹

El polimorfismo no es relevante sólo a los sólidos compuestos por componentes individuales.¹⁹ Las sales, solvatos y cocrystal también pueden presentar polimorfismo.²⁴

2.2.3.1 Propiedades estructurales de los sistemas polimórficos

Las estructuras polimórficas pueden ser clasificadas en dos categorías principales. La primera está relacionada con las moléculas en una agrupación rígida de átomos en las posibles posiciones de la red cristalina (polimorfismo de empaquetamiento).

La otra categoría se asocia con moléculas que son capaces de existir en diferentes disposiciones conformacionales, cada una de las cuales puede cristalizar en su propia estructura característica. Este último comportamiento se ha denominado polimorfismo conformacional.

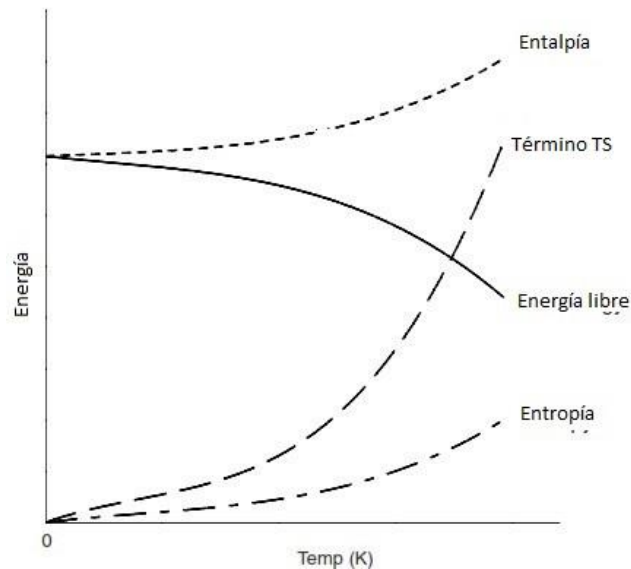
2.2.3.2 Termodinámica de los sistemas polimórficos

La termodinámica es uno de los aspectos más importantes en la comprensión de sólidos farmacéuticos. Los diagramas de fase generalmente se construyen para expresar las relaciones termodinámicas entre varias fases sólidas, cualitativa o cuantitativamente. Dependiendo de los tipos de sólidos, diferentes diagramas de fase se construyen con respecto a variables con diferente significado físico (energía libre, entalpía, entropía y temperatura, presión o volumen).¹⁹

Conociendo la relación entre variables termodinámicas como la entalpía (H), entropía (S) y energía libre (G) con la temperatura, es más simple representar las fases de equilibrio como función de la energía, en función de la temperatura. (Ecuación 1)²²

Ecuación 1. Energía libre de un sistema

$$\Delta G = \Delta E + P\Delta V - T\Delta S$$



Adaptado de: Ymén I ¹⁸. Introduction to the Solid State.

Figura 4. Relación de las principales variables termodinámicas en función de la temperatura

En la Figura 4, se muestran las relaciones de energía para un sistema hipotético, de acuerdo con la Ecuación 1, en el que la entalpía y la entropía del sistema aumentan con el aumento de temperatura. Según la tercera ley de la termodinámica, la entropía de un sólido cristalino perfecto y puro es cero en el cero absoluto de temperatura. El término TS aumenta más rápidamente con el aumento de la temperatura en comparación con el aumento en la entalpía, y por lo tanto la energía libre disminuirá al aumentar la temperatura. ²³

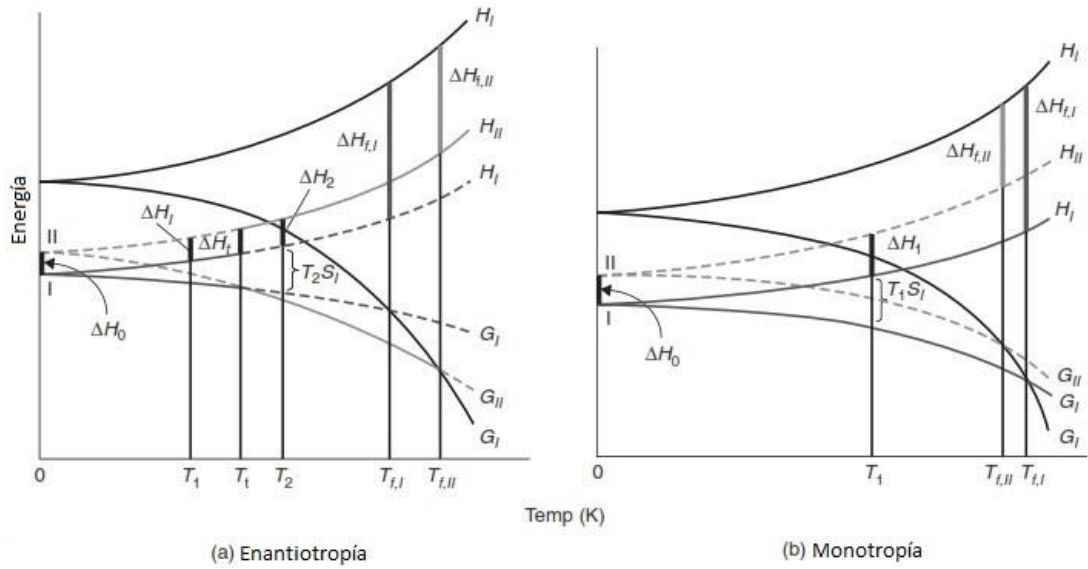
Los diagramas de fases de energía (H, G o E) como función de la temperatura (T) facilitan una gran cantidad de información en una forma compacta, y proporcionan un resumen visual fácilmente interpretable de las relaciones entre polimorfos, que a menudo son complejas. En el cero absoluto, el factor TS de la Ecuación 1 es cero, de manera que la entalpía es igual a la energía libre. Como consecuencia, en el cero absoluto de temperatura, el polimorfo más estable debe tener la energía libre más baja (Figura 5). Por encima del cero absoluto la entropía modifica el valor de la ecuación, de modo que para los dos polimorfos, la energía libre como una función de la temperatura sigue una trayectoria diferente para los dos polimorfos. ²⁵

En la Figura 5a, las curvas G_I y G_{II} se cruzan en la temperatura de transición, pero ya que la entalpía del polimorfo I es menor que la del polimorfo II, una cantidad de energía ΔH_t se requiere para la transición de fases. La transición endotérmica sólido-líquido en las temperaturas de fusión, T_f , puede entenderse de la misma manera, donde $\Delta H_{f,I}$ y $\Delta H_{f,II}$ denotan a las respectivas entalpías de fusión. Este ejemplo representa a un sistema polimórfico enantiotrópico, ya que T_t se encuentra en una temperatura por debajo de las temperaturas de fusión de los dos polimorfos. Un sistema polimórfico monotrópico se representa en la Figura 5b, en este caso, no hay punto de transición por debajo de las temperaturas de fusión de los dos polimorfos.

La relación entre la estabilidad de los dos polimorfos se determina exclusivamente por sus diferencias de energía libre como función de la temperatura (Figura 6). La temperatura a la que los dos polimorfos tienen la misma estabilidad se define como la temperatura de transición (T_t). Si T_t se encuentra por debajo de las temperaturas de fusión de los dos polimorfos se dice que los dos polimorfos son enantiotrópicos, y el sistema polimórfico exhibe enantiotropismo (Figura 6a). Si T_t se encuentra por encima de las temperaturas de fusión de los dos polimorfos (Figura 6b), se dice que los dos polimorfos son monotrópicos, y el sistema polimórfico exhibe monotropismo.¹⁹

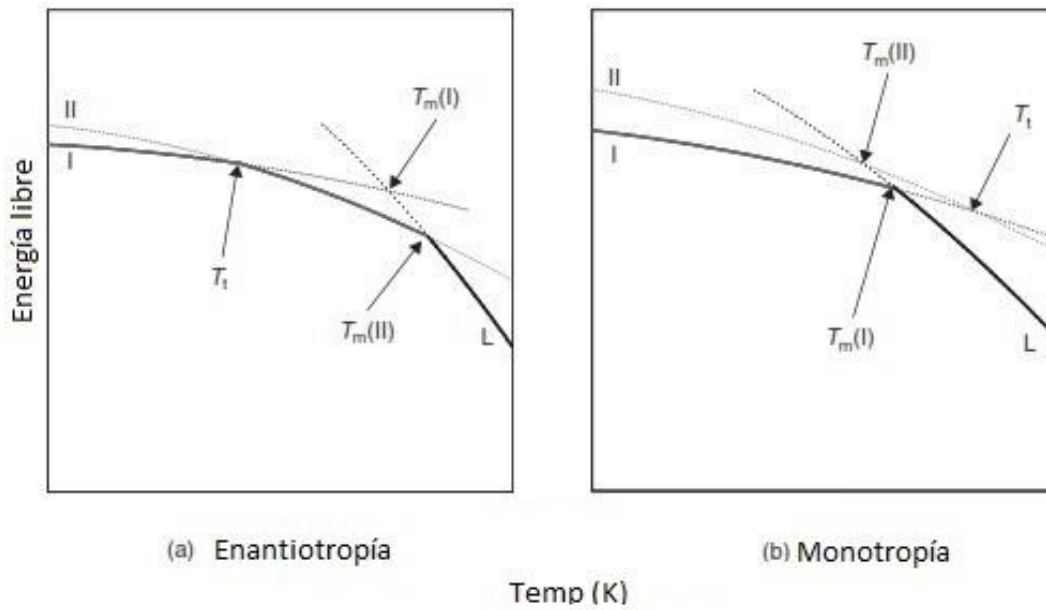
La manifestación fenomenológica del enantiotropismo, es que puede haber una transición reversible de una fase a otra sin pasar por la fase líquida o la fase gas. Si la relación termodinámica es un monotropismo, la transición polimórfica no es reversible.

Sólo en los puntos de transición, las dos formas tienen la misma estabilidad y por lo tanto pueden coexistir como mezclas en equilibrio. En cualquier otra temperatura habrá una tendencia termodinámica para transformar a la estructura más estable. Esto implica que, excepto en el punto de transición, las mezclas de polimorfos tendrán tiempos de vida limitados, con las transformaciones cinéticas influenciando dichos tiempos de vida.²⁵



Adaptado de: Bernstein J²⁵. Crystal Polymorphism

Figura 5. Diagrama de fases de $E=f(T)$ para sistemas polimórficos enantiotrópicos (a) y monotrópicos (b)



Adaptado de: Ymén I¹⁸. Introduction to the Solid State.

Figura 6. Energía libre en función de la temperatura para sistemas polimórficos enantiotrópicos (a) y monotrópicos (b)

2.2.3.3 *Propiedades físicas en los sistemas polimórficos.*

La existencia de diferentes estructuras cristalinas de una sustancia muestra que el polimorfismo es el resultado de diferencias en las conformaciones moleculares y sus interacciones físicas y químicas,¹⁸ y estas diferentes estructuras originan que estos sólidos presenten diferencias en una variedad de propiedades físicas. (Tabla 3).

Debido a las diferencias en las dimensiones, alcance, simetría, capacidad (número de moléculas) y volumen libre de las estructuras cristalinas, los diferentes polimorfos de una sustancia tienen diferentes propiedades físicas derivadas del empaquetamiento molecular. Mientras que las diferencias termodinámicas y cinéticas derivan de las interacciones cooperativas entre las moléculas, las diferentes propiedades mecánicas son resultado de las diferencias en las propiedades termodinámicas y del empaquetamiento molecular.²³

Tabla 3. Propiedades físicas que difieren entre las formas cristalinas de un sistema polimórfico

De empacamiento	Volumen molar y densidad
	Índice de refracción
	Conductividad eléctrica y térmica
	Higroscopicidad
Termodinámicas	Temperaturas de fusión y de sublimación
	Energía interna o estructural
	Entalpía
	Entropía
	Energía libre y potencial químico
	Capacidad calorífica
	Actividad termodinámica
	Presión de vapor
Solubilidad	
Espectroscópicas	Transiciones de estado electrónico
	Transiciones de estado vibracional
	Transiciones de estado del <i>spin</i> nuclear
Cinéticas	Velocidad de disolución
	Velocidad de reacción en estado sólido
	Estabilidad
De superficie	Energía libre de superficie
	Tensión interfacial
	Hábito cristalino
Mecánicas	Dureza
	Fuerza de tensión
	Compactabilidad
	Flujo, mezclado y manejo

Algunas propiedades son especialmente importantes para el desarrollo farmacéutico, ya que tienen un impacto significativo en el rendimiento y la calidad de los productos farmacéuticos.

2.2.3.3.1 Propiedades Termodinámicas

a) Temperaturas de fusión

La temperatura de fusión del polimorfo metaestable es siempre menor que la del polimorfo estable.²⁶

b) Solubilidad

Debido a que diferentes energías libres en las celdas unitarias caracterizan a diferentes polimorfos, sus solubilidades difieren también.²⁷

Termodinámicamente, el cociente de solubilidades entre los polimorfos es independiente de la naturaleza de los disolventes en soluciones diluidas, de acuerdo con la ley de Henry. A una temperatura dada (a excepción de la temperatura de transición), el polimorfo metaestable será más soluble que el polimorfo estable. Esta diferencia causa diferencias en las cinéticas de disolución, y fomenta la transformación entre polimorfos mediada en solución.¹⁹

La tendencia general revela que el cociente entre las solubilidades de polimorfos es típicamente menor que 2, aunque pueden ser observadas proporciones más altas.²⁸

2.2.3.3.2 Propiedades Cinéticas

a) Disolución

El efecto del polimorfismo se hace especialmente crítico en la solubilidad debido a que la velocidad de disolución de un compuesto también se debe al equilibrio entre fuerzas de atracción y de repulsión existentes en la interfaz sólido-líquido. Un polimorfo menos estable tiende a disolverse más rápido, debido a que la liberación de una mayor cantidad de energía libre de la estructura cristalina almacenada aumenta la solubilidad y por lo tanto la fuerza impulsora para la disolución.²⁷

Si la disolución del sólido es dependiente sólo del fenómeno de difusión, existe proporcionalidad entre la solubilidad y velocidad de disolución por la ecuación de Noyes-Whitney. Por lo tanto, las diferencias en solubilidad se traducen directamente a las diferencias en las velocidades de disolución intrínsecas entre diversos sólidos. Cuando el tamaño de partículas y su distribución son similares, también lo serán las velocidades de disolución del polvo.¹⁹

b) Estabilidad (reactividad)

Se ha observado, generalmente, que el polimorfo favorecido termodinámicamente presenta la mayor estabilidad química en comparación con el polimorfo metaestable. Esto se atribuye generalmente a la alta densidad de empacamiento del cristal del polimorfo favorecido termodinámicamente, hecho conocido como “La Regla de la Densidad”. Pequeños cambios en la densidad pueden producir cambios significativos

en la reactividad, aunque otros factores pueden afectar de manera importante a la reactividad de los diferentes polimorfos.²⁹

2.2.3.3.3 Propiedades mecánicas

El efecto del polimorfismo en propiedades mecánicas tales como dureza, presión de deformación, elasticidad, compresibilidad y en la resistencia de la unión, resulta complejo y difícil de generalizar. Aunque la deformación de los cristales (elasticidad y resistencia) se ha explicado bajo el mismo principio de las diferencias en la estabilidad química de los polimorfos de una sustancia. El polimorfo metaestable, que es el menos denso, puede tener una fuerza menor en la red cristalina y por lo tanto ser más fácil de deformar que el estable.

a) Empacamiento

Consecuentemente a las diferencias mecánicas, se espera que con el polimorfo estable se puedan generar comprimidos más débiles.

b) Reología

Un efecto común de polimorfismo es la alteración del flujo del polvo debido a la diferencia en la morfología de las partículas de dos polimorfos. Los polimorfos con partículas en forma de agujas o en forma de bastoncillos pueden tener un flujo pobre en comparación con aquellos que presentan hábitos cúbicos o esferoidales.²⁹

2.2.3.3.4 Propiedades cristalinas y de partícula

Debido a la orientación, disposición y conformación de las moléculas en la celda unitaria de los diferentes polimorfos, diferentes interacciones entre las estructuras cristalinas originan diferentes hábitos cristalinos.¹⁸

2.2.3.4 Importancia del polimorfismo.

Si las solubilidades de los polimorfos de una sustancia son suficientemente diferentes, pueden ser un factor muy importante durante el desarrollo farmacéutico, ya que pueden tener implicaciones para la absorción del fármaco liberado a partir de su forma de dosificación. Esto ha llevado a un mayor interés normativo en la física de estado sólido de fármacos, y en su caracterización. Así mismo, las velocidades de disolución de diferentes polimorfos pueden dar lugar a diferentes grados de biodisponibilidad.²⁷

El polimorfismo puede afectar a las propiedades mecánicas de las partículas de fármaco, y por lo tanto puede afectar a la capacidad de fabricación y los atributos físicos de los productos farmacéuticos sólidos.

En algunos casos, las propiedades mecánicas favorables de un polimorfo, incluso uno metaestable, pueden ser utilizadas para desarrollar un mejor producto. Sin embargo, el desarrollo del polimorfo metaestable para aprovechar el procesamiento sólo debería llevarse a cabo para aquellos sólidos cuya estabilidad química y física, y lo más importante, su biodisponibilidad, se encuentren bien definidas en relación con su forma. Los problemas de fabricación con un polimorfo en particular pueden ser superados mediante la selección juiciosa de los excipientes y procesos.²⁹

2.2.3.5 *Técnicas para la caracterización de polimorfos*³⁰

2.2.3.5.1 Análisis Térmico

Las técnicas termoanalíticas como la calorimetría diferencial de barrido (CDB), se utilizan para controlar y medir procesos endotérmicos así como procesos exotérmicos. Los métodos térmicos se utilizan habitualmente para la caracterización de polimorfos, y a la luz de la simplicidad experimental, a menudo constituyen la primera línea de las técnicas utilizadas para comprender el polimorfismo de un sistema.

2.2.3.5.2 Cristalografía de Rayos X

La técnica de difracción de rayos X es sumamente importante en el estudio de polimorfos, ya que es la técnica principal por la cual se puede obtener información fundamental sobre la estructura de un sólido cristalino.

a) *Difracción de Rayos X de Monocristales*

La información estructural derivada de un estudio de difracción de rayos X de monocristal es la descripción más fundamental de un polimorfo o solvatomorfo, y ayuda a explicar sus propiedades físicas.

b) *Difracción de Rayos X de Polvos*

En ella, una muestra de un sólido en polvo proporciona la información correspondiente a todas las posibles separaciones en la red cristalina.

2.2.3.5.3 Espectroscopía de Absorción Infrarroja

Siendo especialmente sensibles a los cambios en la conformación molecular entre las diferentes formas de estado sólido, los espectros de absorción de infrarrojo se utilizan con frecuencia para evaluar la presencia de polimorfismo en un sistema sólido cristalino.

3. Planteamiento del Problema y Justificación

La incorporación de fármacos en implantes de sílice mesoporosa de liberación modificada se logra por la adsorción del activo en la matriz a partir de soluciones que presentan altas concentraciones del activo. Para moléculas cuya solubilidad es baja, como es el caso de la glibenclamida (clase II del sistema de clasificación biofarmacéutica), se tienen dos alternativas a fin de lograr una concentración adecuada para dicha incorporación, ya sea la elección de un disolvente en el cual se aumente la cantidad disuelta, o bien el uso de sistemas polimórficos de la molécula, aprovechando las diferencias energéticas que influyen directamente en las propiedades físicas tales como la solubilidad. En este proyecto se evaluará el efecto de la solubilidad de diferentes polimorfos de glibenclamida en su capacidad de incorporación en implantes de sílice mesoporosa, con el propósito de mejorar la capacidad de dosificación (dada una mayor incorporación) como una de las ventajas en la liberación modificada de fármacos, a partir de implantes de sílice mesoporosa fabricadas mediante la técnica sol-gel.

4. Objetivo General

Evaluar el efecto del polimorfismo de la glibenclamida en la capacidad de incorporación de dicho fármaco en matrices de sílica mesoporosa producidas por la técnica sol-gel.

4.1 Objetivos Particulares.

Generar diferentes polimorfos a partir del sólido de glibenclamida disponible, probando diversas técnicas de cristalización.

Caracterizar las estructuras cristalinas de cada polimorfo mediante el análisis térmico, infrarrojo, cristalográfico y microscópico de los sólidos.

Determinar la solubilidad de los polimorfos por el método del sistema de clasificación biofarmacéutica.

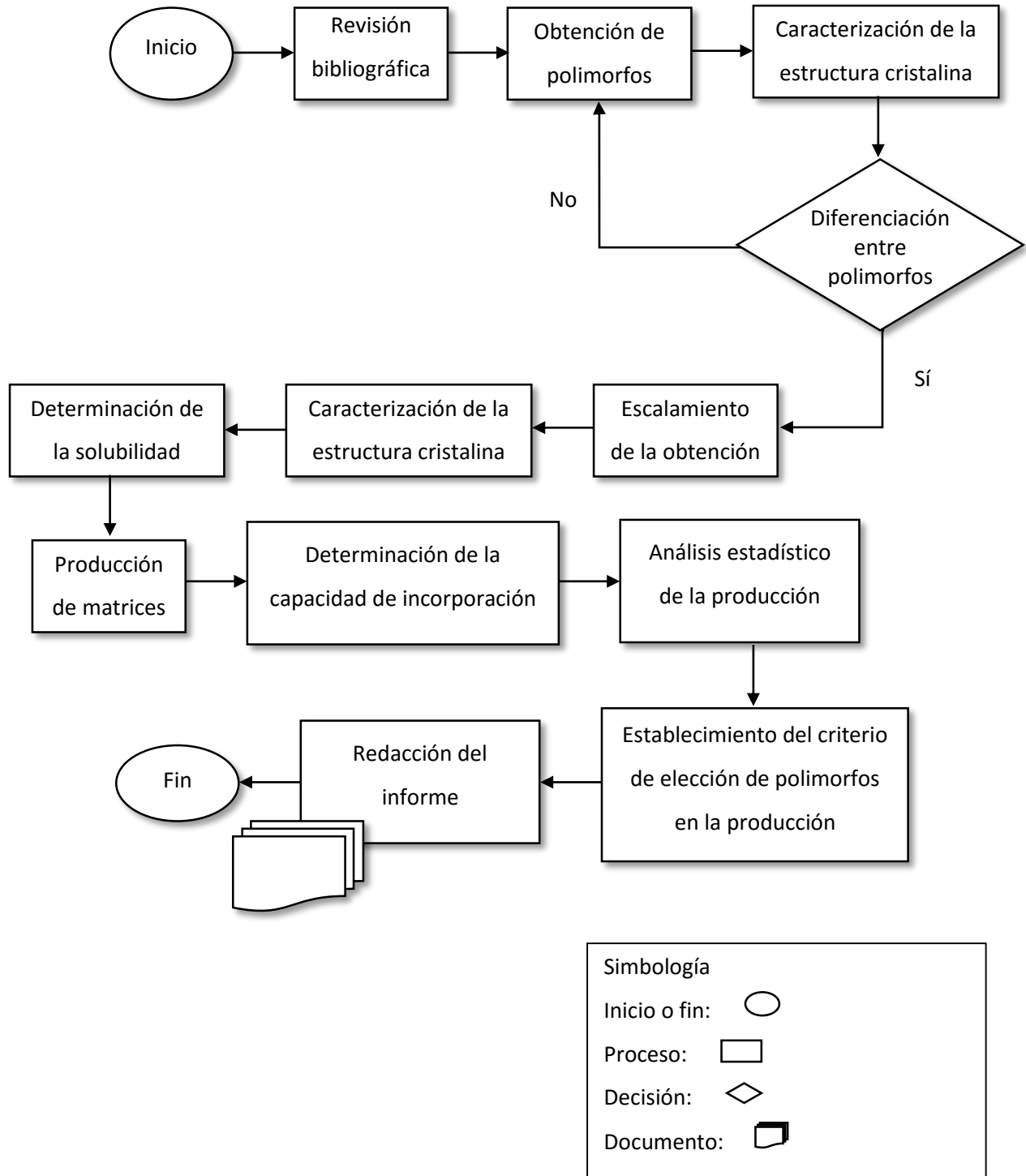
Establecer un criterio de decisión mediante el análisis estadístico de las variables de la fabricación.

5. Hipótesis

El implante de sílice mesoporosa fabricado con la técnica sol-gel, en el cual se incorpore una solución concentrada del polimorfo de glibenclamida más soluble, presentará un factor de incorporación mayor en comparación con el menos soluble, en el disolvente elegido.

6. Metodología

6.1 Diagrama de flujo



6.2 Obtención de los polimorfos por técnicas de recristalización

En la metodología que se describe a continuación, cada experimento fue conformado de 2 fases: la primera consistió en la preparación de una solución saturada, y la segunda en la obtención del producto mediante una técnica de recristalización, con lo que cada experimento dio como resultado un solo producto diferenciado por una relación preparación-obtención. Los experimentos realizados se identificaron de acuerdo con la Tabla 4.

Tabla 4. Matriz de experimentos para la obtención de diferentes polimorfos

Técnica	Disolvente			
	Metanol	Etanol	Acetona	Cloroformo
	Nombre del producto			
Enfriamiento	GB_R.MeOH	GB_R.EtOH	GB_R.Me ₂ CO	GB_R.CHCl ₃
Antisolvente	GB_R.MeOH/H ₂ O	GB_R.EtOH/H ₂ O	GB_R.Me ₂ CO/H ₂ O	GB_R.CHCl ₃ /H ₂ O

GB_R representa al producto como una recristalización de glibenclamida.

Para identificar a cada producto se emplearon las siguientes abreviaciones: MeOH para metanol, EtOH para etanol, Me₂CO para acetona. Para cloroformo y agua se emplearon sus fórmulas condensadas, CHCl₃ y H₂O, respectivamente.

6.2.1 Preparación de soluciones saturadas

En cada experimento se preparó una solución saturada, aplicando calentamiento, con cantidades aproximadas a 100 mg de materia prima de glibenclamida (GB MP), en alguno de los cuatro disolventes indicados en la Tabla 4.

Para cada experimento se registró el peso de materia prima, el volumen de disolvente añadido, la temperatura de la solución y tiempo de calentamiento.

A) Cristalización por enfriamiento

Se colocó cada solución preparada para esta técnica (Tabla 4) en enfriamiento inmediato mediante la inmersión del vaso contenedor en una mezcla frigorífica compuesta por acetona-agua-cloruro de sodio en una proporción 50:45:5 a temperatura constante de -27 °C.

Veinticuatro horas después de haber iniciado el enfriamiento, las soluciones con sólido se retiraron de la mezcla frigorífica.

Las soluciones que no presentaron turbiedad y/o sólido precipitado se calentaron hasta evaporación del disolvente en al menos un 50 % del volumen inicial, después se colocaron de nuevo en enfriamiento. Se repitió el proceso hasta observar sólido.

Cada sólido se filtró, uno por vez, a través de membrana de *nylon*, poro de 0.45 µm y mediante vacío. El matraz recolector y el de filtración se mantuvieron en congelación hasta el momento de ser empleados, a fin de evitar la redisolución del sólido obtenido debida al aumento de la temperatura.

B) Cristalización por adición de antisolvente

A cada solución preparada para esta técnica, inmediatamente después del calentamiento, se le agregó una cantidad de agua (en al menos un 50 % del volumen inicial de la solución) a una temperatura de 0 a 5 °C.

Cada precipitado por vez, se filtró inmediatamente a través de membrana de *nylon*, poro de 0.45 µm y mediante vacío. El matraz recolector y el de filtración se mantuvieron en congelación hasta el momento de ser empleados, a fin de evitar la redisolución del sólido obtenido debida al aumento de la temperatura.

6.2.2 Tratamiento de los productos obtenidos

Los sólidos recuperados se secaron en estufa de convección a 100°C ± 5°C durante 3h y se almacenaron en desecador identificados cada uno con el experimento correspondiente.

Para cada experimento, se registró la humedad relativa, temperatura ambiental y la cantidad de sólido recuperado.

6.3 Caracterización preliminar de los sólidos

Para la caracterización óptima y representativa, cada uno de los productos se tamizó a través de malla No 200 (tamaño de partícula de 75 µm). Las muestras referidas en cada ensayo incluyen a la materia prima (GB MP) y a cada uno de los productos obtenidos, a menos que se especifique lo contrario.

6.3.1 Óptica

Empleando un estereoscopio con aumento 10X, se registraron en fotografía las observaciones pertinentes de cada muestra.

6.3.2 Térmica, calorimetría diferencial de barrido (CDB)

Cada muestra por vez, pesada con exactitud y cercana a los 4 mg, se colocó en un crisol de aluminio y este en el horno del calorímetro *Perkin-Elmer DSC 7*. Bajo una atmósfera inerte de N_2 , se hizo un barrido térmico en el intervalo de los 140 °C a 200 °C, a una velocidad de 10 °C/min.

Los termogramas obtenidos fueron analizados con el programa *Data Analysis*, de la paquetería *Pyris Manager 9.1*. En cada uno de ellos se corrigió la línea base con la sustracción del termograma equivalente de un crisol vacío; así mismo, previo a las determinaciones se verificó la calibración del equipo con $In_{(m)}$, siguiendo las instrucciones del fabricante.

La información obtenida de cada termograma se comparó contra la de la materia prima.

6.3.3 Espectroscopía de Infrarrojo (E-IR)

En estado sólido, cada muestra por vez fue mezclada y comprimida en una tableta de bromuro de potasio. Se hizo un barrido en el intervalo de los 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} . Los espectros obtenidos fueron analizados con el programa *Perkin Elmer Spectrum 10.4.4*. La información de los máximos de absorción obtenida de cada espectro se comparó contra uno obtenido de la misma manera para la materia prima, identificando en todos las señales correspondientes a los principales grupos funcionales, las señales y su similitud de la región de la huella dactilar (1600 cm^{-1} a 600 cm^{-1}), así como las diferencias de intensidad relativa de las señales dentro de cada espectro.

6.3.4 Valoración

Cada muestra por vez, pesada con exactitud y aproximada a 1 mg, fue disuelta en un matraz volumétrico de 10 mL con metanol grado cromatográfico ($MeOH_{CLAR}$) y llevada al aforo con el mismo; de esta solución se tomó una alícuota de 1 mL en otro matraz volumétrico de 10 mL y se llevó a volumen con $MeOH_{CLAR}$. La solución resultante fue analizada de acuerdo con las condiciones descritas a continuación:

- Columna: C8 de 150 x 4.6 mm de diámetro, 5 μ m de tamaño de partícula.
- Detector: lámpara UV.
- Longitud de onda: 254 nm
- Fase móvil: solución amortiguadora de fosfatos pH 3.5 0.05 M – acetonitrilo (55:45).

- Velocidad de flujo: 2.2 mL/min
- Volumen de inyección de las muestras: 25 µL

Se preparó y analizó una referencia en las mismas condiciones, empleando la sustancia de referencia (GB SRef).

Se calculó la concentración de la muestra por comparación con la Fórmula 1:

Fórmula 1. Concentración por comparación con una referencia

$$C_m = \frac{C_{SRef} ABC_m}{ABC_{SRef}}$$

Donde

C_{SRef} : Concentración de la referencia.

C_m : Concentración de la muestra.

ABC_{SRef} : Área bajo de la curva del cromatograma de la referencia.

ABC_m : Área bajo de la curva del cromatograma de la muestra.

6.4 Escalamiento de la producción de sólidos

Del análisis de los resultados térmicos y del espectro de infrarrojo se seleccionaron aquellos productos que sugerían la obtención de diferentes estructuras cristalinas. Se reprodujeron los métodos de obtención indicados en el apartado 6.2 con una cantidad mínima de 10 g de materia prima y el disolvente agregado en porciones de 50 a 100 mL hasta un volumen proporcional al añadido en la primera obtención, y después en porciones de 5 a 10 mL si no se había alcanzado claridad en la solución. Así mismo, la información de la preparación de las soluciones y de la obtención de los productos se registró de acuerdo con el mismo apartado.

A cada producto obtenido en el escalamiento, se le realizaron las pruebas indicadas en 6.3, registrando los resultados respectivos, además de realizarse el análisis en comparación con la materia prima. En este caso también se realizó respecto con los resultados de la primera obtención correspondiente a cada experimento.

6.5 Caracterización del estado sólido de los productos escalados

6.5.1 Difracción de rayos X de polvos (DRX-P)

Cada muestra por vez fue colocada dentro del difractómetro *Rigaku Ultima-IV* y se hizo un barrido angular en el intervalo 2 ° a 35° de la variable 2θ, a una velocidad de 1.0 °/min.

Los espectros de difracción obtenidos fueron analizados con el programa *Evaluation 1.1*, de la paquetería *DiffraC Plus 2005*.

La información de la posición de los picos obtenidos se confrontó con la base de datos PDF-2 de la ICDD.

6.5.2 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Aplicando un recubrimiento de oro durante 30 s, las muestras se colocaron en una malla de acero y fueron inmovilizadas dentro del microscopio electrónico, se aplicó vacío a 9.5 mPa y enfriamiento con nitrógeno líquido hasta -80 °C. Se hizo incidir un haz de electrones a 15 kV y se obtuvieron imágenes con magnificaciones a 200X con los detectores LED y COMPO.

6.6 Determinación de la solubilidad de los sólidos (por el método del SCB)

Se prepararon soluciones amortiguadoras de fosfatos con pH 1.0, 4.3, 5.3, 6.3 y 7.5 cada una, de acuerdo con la Tabla 5.

Tabla 5. Composición de las soluciones amortiguadoras empleadas para la prueba de solubilidad ³¹

pH	Par ácido/base	pK _a	Molaridad
1.5	H ₃ PO ₄ /KH ₂ PO ₄	2.12	0.10
4.3			
5.3	KH ₂ PO ₄ /K ₂ HPO ₄	7.21	0.05
6.3			
7.5			

El pH de cada una de las soluciones se ajustó con solución de hidróxido de sodio 0.1 M o de ácido clorhídrico 0.1 M, según fuera el valor de pH preparado, al valor nominal ± 0.05 unidades de pH.

Cada muestra por vez, pesada con exactitud a 5.000 ± 0.100 mg, se colocó en un matraz Erlenmeyer junto con 250 mL de medio medidos en probeta de la solución amortiguadora de fosfatos pH 1.0.

Las repeticiones de cada muestra se colocaron en un baño de agua a $37 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$, con ultrasonido y durante 30 minutos. La solución se filtró mediante vacío a través de membrana de *nylon* (0.45 μm de diámetro de poro). Del filtrado resultante se tomó una alícuota de 750 μL que se mezcló en un vial con un volumen igual de MeOH_{CLAR}. El vial se colocó en el cromatógrafo para inyectar 95 μL de la muestra correspondiente, empleando las condiciones descritas en la sección 6.3.4.

La determinación se realizó por triplicado y con cada una de las cuatro soluciones amortiguadoras restantes.

Para cada serie de pH (1.5, 4.3, 5.3, 6.3 y 7.5) se preparó una referencia disolviendo 0.2 mg de glibenclamida (GB SRef) en 10 mL de MeOH_{CLAR}, de esta solución se tomó una alícuota de 750 µL y se mezcló en un vial con un volumen igual de la solución amortiguadora correspondiente. Las referencias fueron analizadas en las mismas condiciones que las muestras.

Se calculó la concentración de la muestra por comparación con la Fórmula 1.

Se registró para cada determinación el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.

6.7 Producción de monolitos sol-gel

La producción contempló la modificación de 3 variables, en 2 niveles cada una, de manera tal que se diseñó una matriz factorial de experimentos 2³ y fabricando cada unidad experimental por duplicado. Las variables fueron:

Primera variable, el polimorfo del fármaco. Con base en la determinación de la solubilidad, se eligieron a los polimorfos con mayor (+) y menor solubilidad (-).

Segunda variable, la cantidad de fármaco. Con base en experimentos preliminares a este trabajo se establecieron dos cantidades de partida, 100 (+) y 25 mg (-).

Tercera variable, el método de incorporación del fármaco. Que también se eligió con base en experimentos preliminares. Modificando la adición del fármaco en dos maneras: 1, disuelto en 10 mL de etanol (+) y 2, sin disolver (-).

La combinación de las variables planteadas tomó lugar en la segunda fase de la producción (Tabla 6).

Tabla 6. Diseño de experimentos para la fabricación de los monolitos sol-gel

Polimorfo (P)	Variable		Lote*
	Cantidad (C)	Técnica de fabricación (T)	
+	+	+	1.1.1
+	+	-	1.1.2
+	-	+	1.2.1
+	-	-	1.2.2
-	+	+	2.1.1
-	+	-	2.1.2
-	-	+	2.2.1
-	-	-	2.2.2

+ indica el valor mayor, para el caso del polimorfo indica al más soluble, para la cantidad de fármaco indica 100 mg y para el caso de la técnica de fabricación aquella en que se solubiliza previo a la reacción de condensación.

*Dado que cada lote se fabricó por duplicado, se indicó el valor de la repetición (1 o 2) según fuera el caso al final del número del lote. Así, por ejemplo, la primera repetición del lote 1.1.1, se expresó como 1.1.1.1.

6.7.1 Primera fase, generación del sol.

Para la preparación de 100 mL de sol, por reacción de hidrólisis, se tomaron 50 mL de ortosilicato de tetraetilo (TEOS), 50 mL de etanol absoluto (EtOH_{abs}), 4 mL de agua desionizada (H₂O) y 0.16 mL de ácido clorhídrico, solución 0.1 M (HCl 0.1 M) y se mezclaron en un matraz bola con agitación mecánica constante. La mezcla se calentó hasta 90 °C con canastilla de calentamiento conectada a reóstato. La temperatura de la mezcla se determinó con termómetro de inmersión parcial colocado dentro del matraz de mezclado, con adaptador de tapón esmerilado para mantener cerrado el sistema. Alcanzada la temperatura, se mantuvo esta y la agitación constantes durante el tiempo establecido. Terminado el tiempo de reacción, se abrió el sistema para agregar H₂O y HCl 0.1 M. Con el sistema cerrado de nuevo y retirado del calentamiento, se mantuvo la agitación hasta que se alcanzó la temperatura de 30 °C.

6.7.2 Segunda fase, incorporación del fármaco y gelación.

De acuerdo con la Tabla 6, en un vaso de precipitados de 100 mL identificado con el número de lote y repetición a fabricar, se tomó el polimorfo y su cantidad correspondiente, además, si era el caso 10 mL de etanol para disolverlo. Para este caso, se agitó mecánicamente durante 30 minutos.

En todos los casos se agregaron 25 mL del sol preparado en la primera fase de la producción.

La mezcla se mantuvo en agitación mecánica durante el tiempo establecido. Transcurrido este tiempo se llevó a cabo la reacción de condensación con hidróxido de sodio como se indica:

En una proporción 2:1 se hicieron mezclas de sol cargado con fármaco (sol-GB) y de hidróxido de sodio 0.1 M (NaOH 0.1 M) en un vaso de precipitados de 10 mL y agitando rápida y manualmente. De la mezcla anterior, se tomó y llenó una pipeta Pasteur, este volumen se transfirió a otra pipeta Pasteur cuya punta fue sellada previamente.

Las pipetas conteniendo la mezcla de condensación se colocaron en estufa de convección a $90\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 12 h para concluir el proceso de gelación por secado y obtener los monolitos sol-gel. Una vez retirados del secado, los monolitos obtenidos fueron separados de las pipetas contenedoras, identificados con el lote correspondiente, y colocados en desecador para enfriarse.

El proceso se reprodujo de manera independiente para los lotes restantes.

Se registró el peso total de cada lote de implantes obtenido. Para proceder con la valoración del contenido de fármaco en cada lote de monolitos se trituró de manera independiente aproximadamente 1 g de cada lote.

6.8 Valoración de la glibenclamida presente en los monolitos sol-gel

6.8.1 Preparación de soluciones

Estándar interno (EI). En un matraz volumétrico de 100 mL se pesaron y disolvieron 25 mg de la sustancia de referencia de felodipino (FP SRef) con 80 mL de $\text{MeOH}_{\text{CLAR}}$, la solución se llevó a volumen con el mismo disolvente. Esta solución (EI) tenía una concentración de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de la sustancia.

Solución de referencia del fármaco: en un matraz volumétrico de 25 mL se pesaron y disolvieron 5 mg de la sustancia de referencia de glibenclamida (GB SRef). La solución se llevó a volumen y se tomaron en tres diferentes matraces volumétricos de 10 mL, alícuotas de 1 mL además de una alícuota de 3 mL de la solución EI y se llevaron a volumen con $\text{MeOH}_{\text{CLAR}}$. Estas soluciones tenían una concentración de 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de glibenclamida y de 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de felodipino.

6.8.2 Extracción

De cada lote triturado, se pesaron 250.0 mg. Se colocaron en un matraz volumétrico de 25 mL, al cual además se agregaron 3 mL de la solución de EI (250 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y 15 mL de $\text{MeOH}_{\text{CLAR}}$. Esta mezcla se sometió a ultrasonido en baño de agua durante 30 minutos. Transcurrido los 30 min se llevó a volumen con $\text{MeOH}_{\text{CLAR}}$.

6.8.3 Diluciones

Del matraz anterior se tomaron 5 mL, que se filtraron a través de membrana de *nylon* (0.45 µm de diámetro de poro) y del filtrado se tomó una alícuota de 1 mL en un matraz volumétrico de 10 mL que se llevó a volumen con MeOH_{CLAR}.

6.8.4 Análisis

La solución anterior y las soluciones de referencia fueron analizadas empleando las condiciones descritas en el apartado 6.3.4.

La determinación se realizó por triplicado a partir de pesadas independientes del triturado correspondiente a cada lote.

La respuesta de cada muestra se calculó dividiendo el área bajo la curva del pico cromatográfico correspondiente a glibenclamida (analito) entre la del felodipino (estándar interno).

Se calculó la concentración de la muestra por comparación con la Fórmula 2:

Fórmula 2. Concentración por comparación con una referencia con estándar interno

$$C_m = \frac{C_{SRef} R_m}{R_{SRef}}$$

Donde

C_{SRef} : Concentración de la referencia.

C_m : Concentración de la muestra.

R_{SRef} : Respuesta correspondiente a la referencia.

R_m : Respuesta correspondiente a la muestra.

Y de acuerdo con la Fórmula 3 se calculó el contenido de glibenclamida en miligramos por cada gramo de implante, del lote correspondiente.

Fórmula 3. Contenido de fármaco en los monolitos producidos

$$\frac{mgGB}{1g\ monolito} = \frac{C_m}{F * W_{monolito}}$$

Donde

C_m : Concentración de la muestra en µg/mL.

F : Factor de dilución de la muestra.

$W_{monolito}$: Peso de la muestra de monolito analizada en gramos.

Se registró para cada determinación el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.

6.9 Análisis térmico de los monolitos sol-gel

De cada lote se analizaron dos muestras, un fragmento de monolito sin triturar y una porción de monolito triturado, ambas como se indica a continuación:

Cada muestra por vez, pesada con exactitud y cercana a los 4 mg, se colocó en un crisol de aluminio y este en el horno del calorímetro *Perkin-Elmer DSC 7*. Bajo una atmósfera inerte de N_2 , se hizo un barrido térmico en el intervalo de los 25 °C a 200 °C, a una velocidad de 10 °C/min.

Los termogramas obtenidos fueron analizados con el programa *Data Analysis*, de la paquetería *Pyris Manager 9.1*. En cada uno de ellos se corrigió la línea base con la sustracción del termograma equivalente de un crisol vacío. Así mismo, previo a las determinaciones se verificó la calibración del equipo con $In_{(m)}$, siguiendo las instrucciones del fabricante.

6.10 Análisis mecánico de los monolitos sol-gel

De cada lote se tomaron o cortaron 6 fragmentos de 1 cm de longitud, los que se colocaron, uno por vez, en el durómetro *Mitutoyo* de manera longitudinal, y se determinó la dureza por avance.

A partir de los resultados de cada lote, se calculó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.

6.10.1 Análisis estadístico de la matriz de experimentos

El análisis se realizó mediante la descomposición de la varianza empleando la función de *Análisis Multifactorial* de la paquetería *STATGraphics v 16.2*, en cuyo caso se indicaron como factores las variables planteadas en la Tabla 6, evaluándose contra la respuesta de los análisis realizados (valoración, térmico y mecánico).

7. Resultados y discusión

7.1 Productos obtenidos

De acuerdo con la Tabla 4, indicada en la sección 6.2, se obtuvieron los productos correspondientes a: 1) las recristalizaciones por enfriamiento a partir de soluciones saturadas de la materia prima de glibenclamida (GB_MP) en metanol, etanol, acetona y cloroformo, identificados como GB_R.MeOH, GB_R.EtOH, GB_R.Me₂CO y GB_R.CHCl₃ respectivamente y, 2) los productos correspondientes a la técnica de adición de antisolvente a partir de las soluciones de GB_MP en acetona y cloroformo, identificados como GB_R. Me₂CO/H₂O y GB_R.CHCl₃/H₂O respectivamente. Los rendimientos de cada experimento se muestran en las Tablas 7 y 8.

Tabla 7. Productos obtenidos por enfriamiento

Experimento	Cantidad agregada (mg)	Disolvente	Volumen (mL)	Cantidad obtenida (mg)	Rendimiento (%)
GB_R.MeOH	100.4	Metanol	9	99.3	98.9
GB_R.EtOH	102.4	Etanol	8	98.8	97.5
GB_R.Me ₂ CO	102.2	Acetona	10	100.1	97.9
GB_R.CHCl ₃	100.9	Cloroformo	4	99.2	98.3

Tabla 8. Productos obtenidos por antisolvente

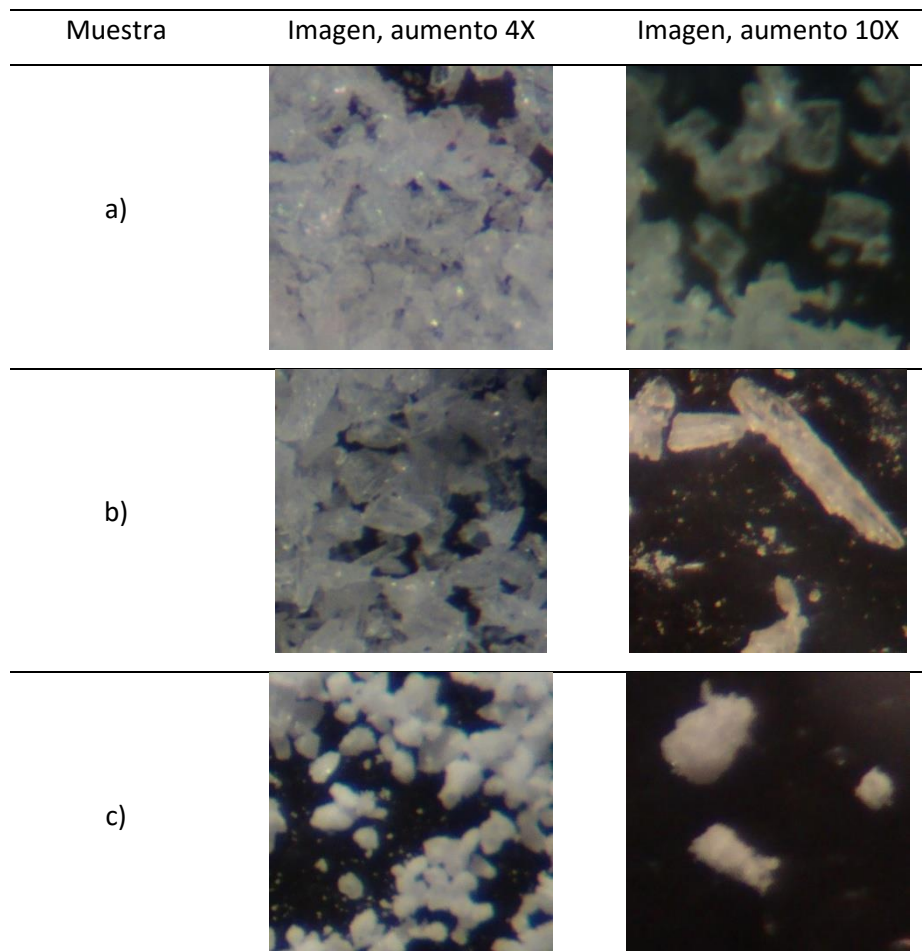
Experimento	Cantidad agregada (mg)	Disolvente	Volumen (mL)	Volumen antisolvente (mL)	Cantidad obtenida (mg)	Rendimiento (%)
GB_R.Me ₂ CO/H ₂ O	107.3	Acetona	13	15	105.9	98.7
GB_R.CHCl ₃ /H ₂ O	100.1	Cloroformo	4	5	99.3	99.2

7.1.1 Caracterización preliminar de los sólidos

7.1.1.1 Óptica

La materia prima presentó una apariencia completamente cristalina, que en aumento a 10X (Figura 7a) mostró un hábito tabular y aparentemente prismático. El producto obtenido por enfriamiento a partir de solución clorofórmica (R.CHCl_3 , Figura 7c) se obtuvo en grandes conglomerados que requieren ser pulverizados a fin de obtener un menor tamaño de partícula. A pesar de ello y por la observación detenida de la imagen se admite que podría tratarse de conglomerados cristalinos, posiblemente generados por un tamaño de cristal pequeño.

Por otro lado, el hábito acicular o columnar que define al producto GB_R.EtOH (Figura 7b), sugiere la generación de un cristal diferente.¹⁸



Imágenes tomadas con estereoscopio (aumento 4X). Para aumentar a 10X se empleó zoom óptico (2.5X) de la cámara fotográfica. Las observaciones corresponden a la selección de cristales de aproximadamente $75 \mu\text{m}$ (malla No 200).

Figura 7. Resultados de microscopía óptica

7.1.1.2 Térmica

El análisis térmico permite establecer las relaciones energéticas entre polimorfos y presuntivamente la diferenciación entre ellos³⁰. Las principales diferencias corresponden al cambio en los parámetros de la endoterma, es decir las temperaturas de inicio, máxima y final, así como el área bajo la curva que corresponde a la entalpía de fusión, que diferencia, no estrictamente, a las estructuras de un sistema polimórfico.

La menor entalpía de fusión (Tabla 9), determinada en los productos de recristalización, sugiere una menor energía necesaria para la disolución y una mejor solubilidad.^{19, 27} Debido a la buena resolución de las endotermas y la ausencia de transiciones y/o recristalizaciones (Figura 8) determinadas por calorimetría diferencial de barrido (CDB) se infiere la generación de diferentes polimorfos con relación monotrópica.^{19, 25}

Las recristalizaciones GB_R.EtOH y GB_R.Me₂CO, presentan el abatimiento en la temperatura de fusión más importante de todos los productos, mientras que su entalpía de fusión no disminuye como en otros productos, lo que presuntivamente se reflejaría en una diferencia no significativa en la solubilidad, con respecto a la materia prima.²⁸

Tabla 9. Propiedades térmicas de los experimentos iniciales

Muestra	Peso(mg)	Endoterma			
		Inicio (°C)	Máximo (°C)	Termino (°C)	$\Delta H \left(\frac{J}{g}\right)$
GB_MP	3.929	173.42	176.33	177.96	104.8879
GB_R.MeOH	4.228	172.53	173.83	174.85	42.4579
GB_R.EtOH	3.986	169.44	171.50	172.71	67.5393
GB_R.Me ₂ CO	3.929	171.37	173.17	174.47	99.4214
GB_R.CHCl ₃	4.038	172.33	174.50	175.66	89.2292
GB_R.CHCl ₃ /H ₂ O	4.060	172.61	174.33	175.61	61.2491
GB_R.Me ₂ CO/H ₂ O	3.942	172.91	174.17	175.43	53.8507

GB MP corresponde a glibenclamida sin tratamiento.

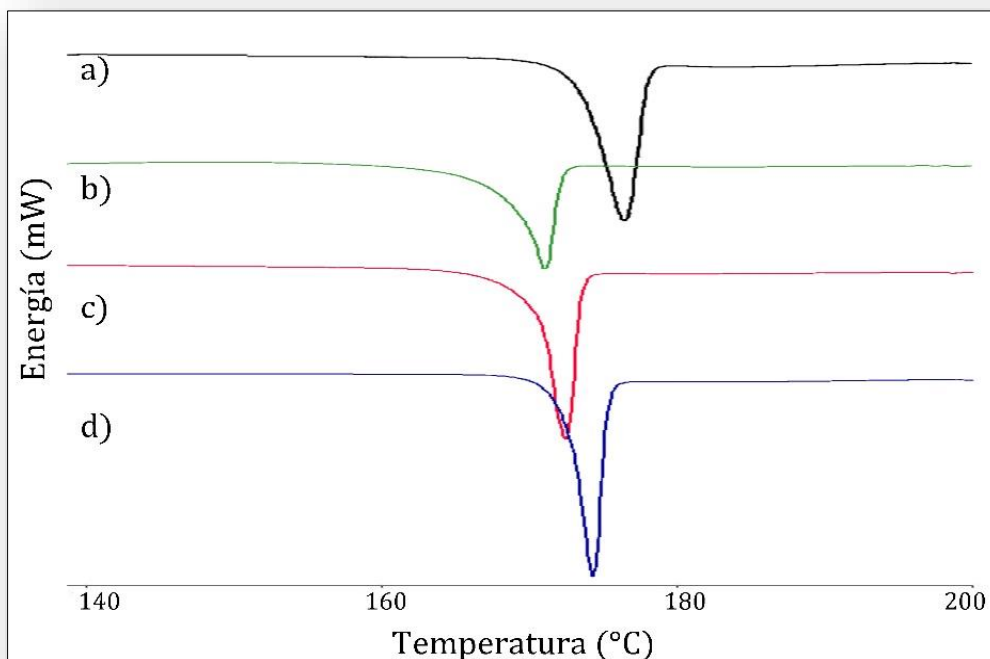


Figura 8. Comparación del análisis térmico de glibenclamida sin tratamiento (GB MP) (a); la recristalización por enfriamiento a partir de etanol (GB_R.EtOH) (b), de acetona (GB_R.Me₂CO) (c) y de cloroformo (GB_R.CHCl₃) (d).

7.1.1.3 Espectro de infrarrojo

Las diferencias encontradas en el análisis térmico permiten establecer las diferencias en la expresión de las redes cristalinas, mientras que las observadas en un espectro de infrarrojo (Figuras 9 a 15) ayudan a determinar el movimiento de la molécula y su ordenamiento en el espacio^{23,30}, con lo que se convierten en un parámetro importante en la determinación y diferenciación de estructuras de un sistema polimórfico, con respecto a la intensidad y localización de los grupos funcionales más importantes dentro de la misma. En este caso, la señal de alargamiento del enlace N-H de la urea se presenta en 3366 cm⁻¹ del espectro de GB MP y a 3368 cm⁻¹ para los espectros de GB_R.EtOH y GB_R.Me₂CO, sin embargo se desplaza a 3381 cm⁻¹ del espectro de R.CHCl₃; la señal de alargamiento del enlace N-H de la amida se muestra en 3315 cm⁻¹ tanto en el espectro de GB MP como de GB_R.EtOH y GB_R.Me₂CO, pero está desplazada a 3354 cm⁻¹ en GB_R.CHCl₃. Correspondientemente 1715 y 1617 cm⁻¹ en GB MP y GB_R.Me₂CO, 1717 y 1619 cm⁻¹ en GB_R.EtOH y 1713 y 1625 cm⁻¹ en GB_R.CHCl₃ son las señales de alargamiento del doble enlace C=O (carbonilo) de la amida y urea, respectivamente en cada espectro. La señal de 1522 cm⁻¹ en GB, 1524 cm⁻¹ en GB_R.EtOH, 1526 cm⁻¹ en GB_R.Me₂CO y 1543 cm⁻¹ (más desplazada) en GB_R.CHCl₃, corresponden a la deformación del enlace N-H de amidas secundarias; sin embargo el espectro de GB_R.EtOH se aprecia

un aumento de la intensidad de la señales anterior y posterior a ésta (1591 y 1478 cm^{-1}) con respecto al espectro de GB MP, diferencia que no se presenta en el de GB_R. CHCl_3 ni en GB_R. Me_2CO indicando un movimiento del esqueleto de la molécula, resultado de la suma de todas las vibraciones individuales.³²

El espectro de GB MP a 1341 y 1158 cm^{-1} , los de GB_R. EtOH y GB_R. Me_2CO a 1342 y 1159 cm^{-1} y el de GB_R. CHCl_3 a 1338 y 1161 cm^{-1} indican el alargamiento del doble enlace S-O (sulfonilo) de la sulfonamida.

En la zona de huella dactilar (vibraciones estructurales y de simetría) del espectro del producto GB_R. CHCl_3 se observan grandes diferencias en la presencia y/o intensidad relativa de las señales con respecto al de GB MP, siendo la más importante observada en el intervalo de 1000 a 550 cm^{-1} ; mientras que para los productos GB_R. EtOH y GB_R. Me_2CO , las mayores diferencias son de intensidad relativa de las señales, en la misma zona, específicamente en el intervalo de los 800 a los 550 cm^{-1} y 1100 a 600 cm^{-1} , respectivamente, indicando una asociación intramolecular diferente que GB MP en todos los casos.³²

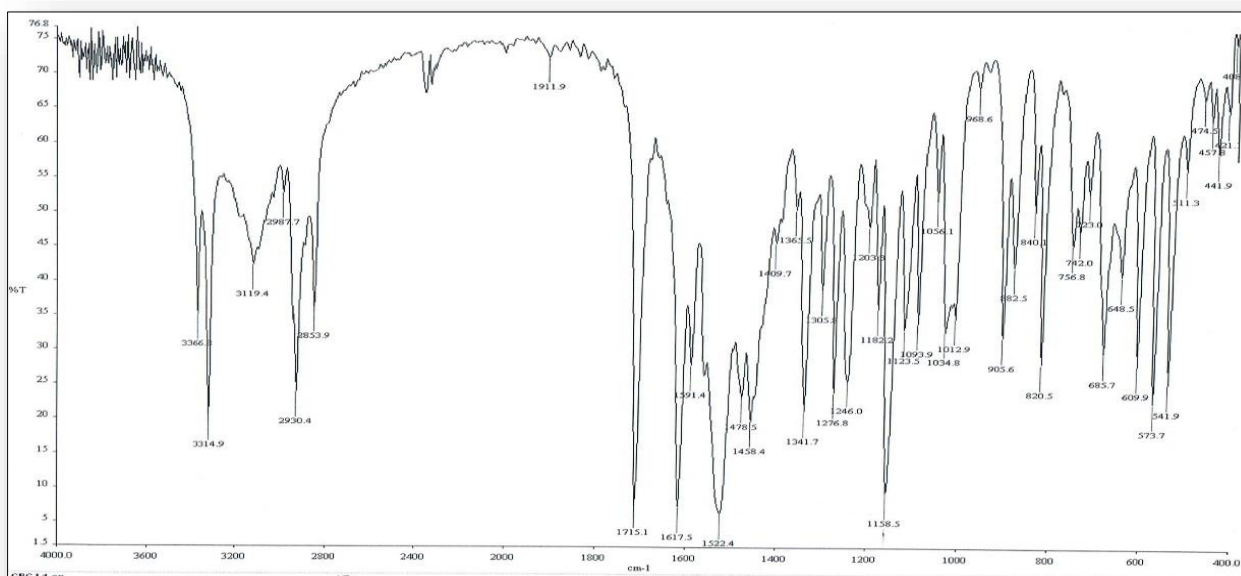


Figura 9. Espectro de infrarrojo de glibenclamida sin tratamiento, (GB MP)

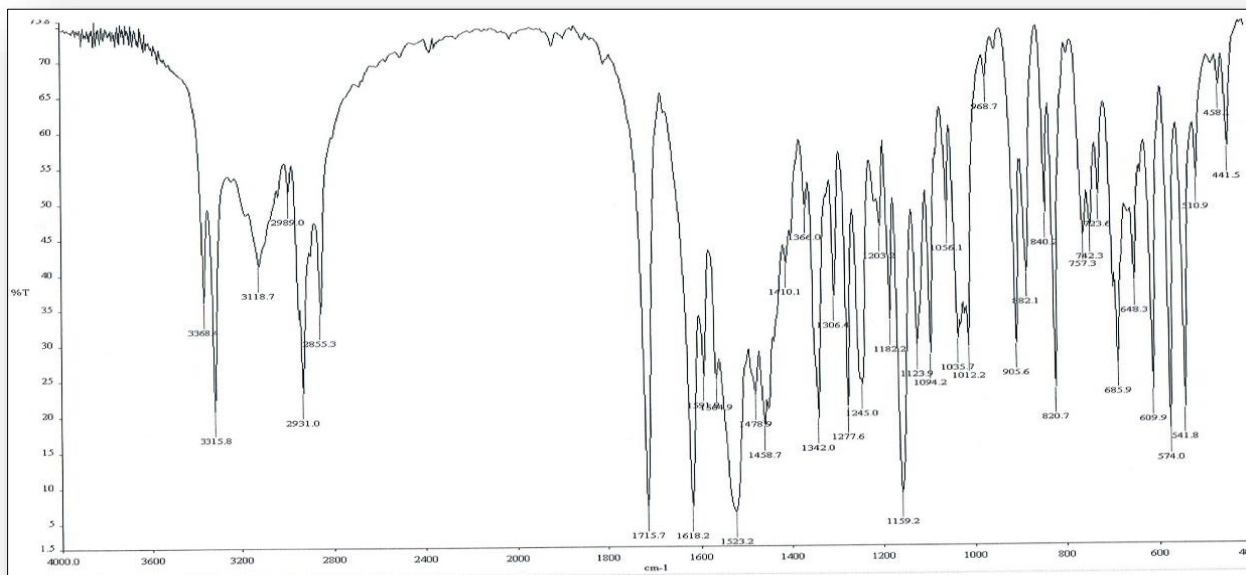


Figura 10. Espectro de IR de la recrystalización por enfriamiento a partir de metanol, (GB_R.MeOH)

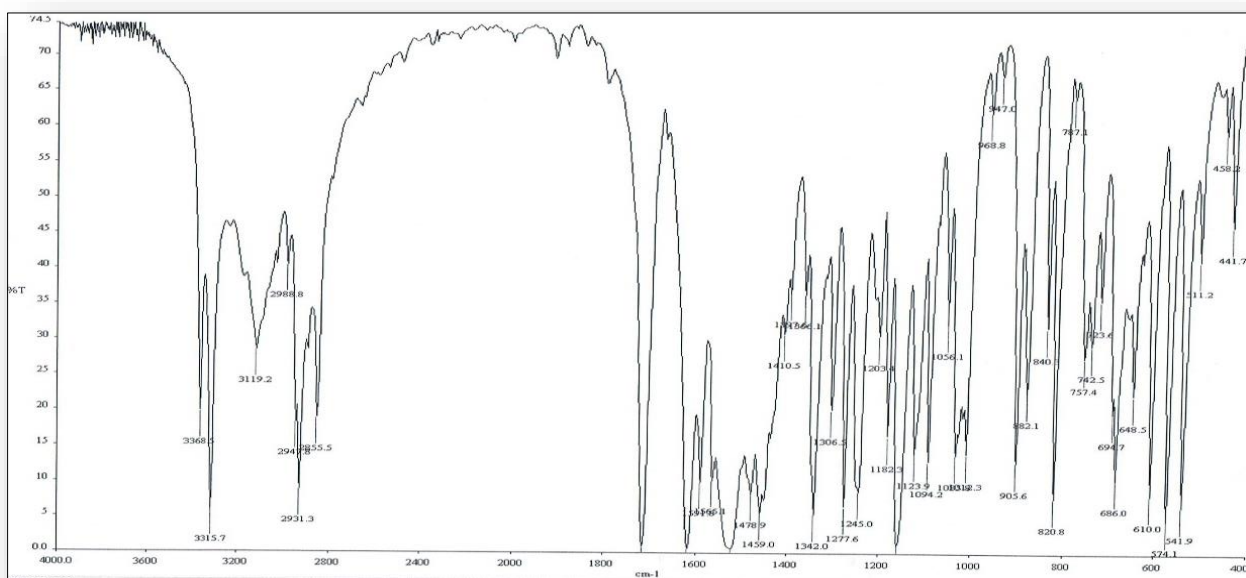


Figura 11. Espectro de IR de la recrystalización por enfriamiento a partir de etanol, (GB_R.EtOH)

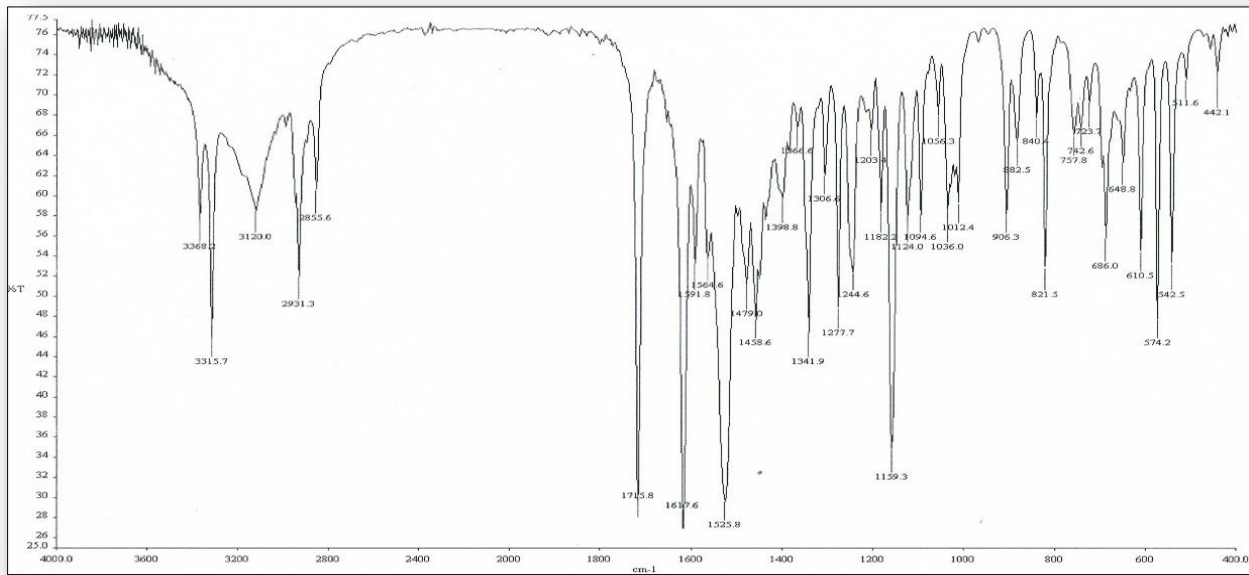


Figura 12. Espectro de IR de la recrystalización por enfriamiento a partir de acetona, (GB_R.Me₂CO)

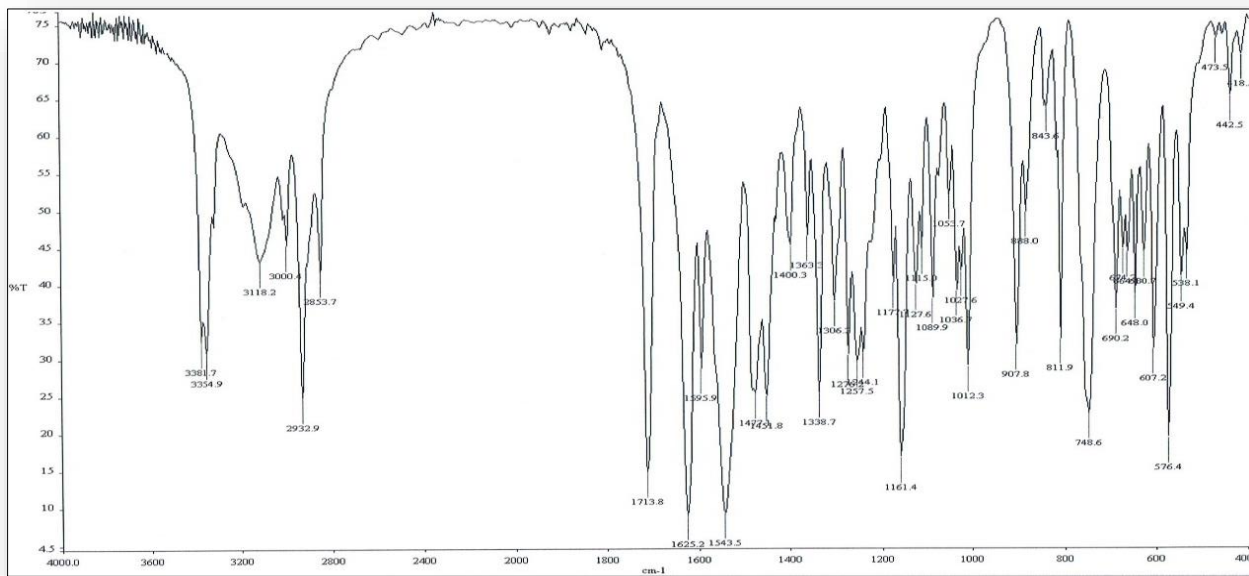


Figura 13. Espectro de IR de la recrystalización por enfriamiento a partir de cloroformo, (GB_R.CHCl₃)

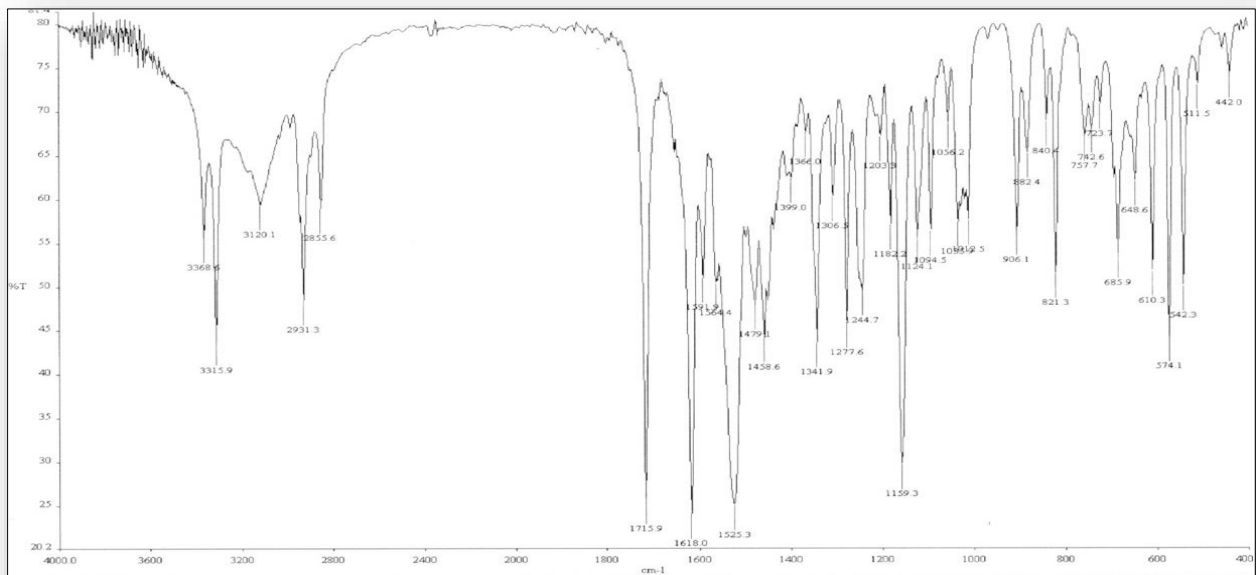


Figura 14. Espectro de IR de la recrystalización por antisolvente a partir de acetona R. $\text{Me}_2\text{CO}/\text{H}_2\text{O}$

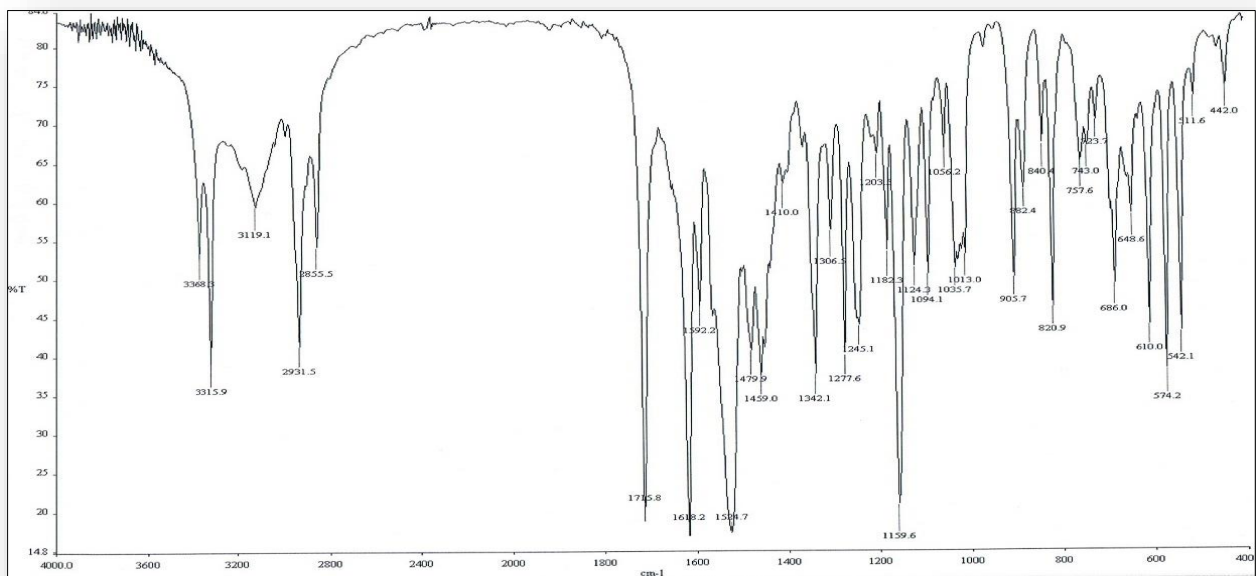


Figura 15. Espectro de IR de la recrystalización por antisolvente a partir de cloroformo (R. $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$)

7.2 Escalamiento

De acuerdo con las diferencias halladas en los picos de temperatura de fusión de los productos obtenidos, del abatimiento en el diferencial de entalpía de fusión y del análisis de las diferencias determinadas en el espectro de infrarrojo, se seleccionaron los productos mencionados en la Tabla 10, con los rendimientos señalados en la Tabla 11.

Tabla 10. Experimentos iniciales seleccionados para el escalamiento de su producción

Producto	Datos térmicos		Datos del espectro de IR (cm ⁻¹) ⁺			
	Máximo (°C)	ΔH ($\frac{J}{g}$)	N-H ν (urea)	N-H δ (amida secundaria)	C=O ν (amida y urea)	S=O ν (sulfonilurea)
GB_R.EtOH	171.50	67.5393	3368	1525	1715 y 1619	1342, 1160
GB_R.Me ₂ CO	173.17	99.4214	3368	1525	1715 y 1617	1342, 1159
GB_R.CHCl ₃	174.67	86.6405	3381	1543	1716 y 1625	1338, 1161

⁺ Señales correspondientes a las vibraciones de los enlaces de los principales grupos funcionales

ν , señal de alargamiento del enlace

δ , señal de deformación del enlace

Tabla 11. Rendimiento de los productos escalados

Producto	Cantidad agregada (g)	Disolvente	Volumen (mL)	Cantidad obtenida (g)	Rendimiento (%)
GB_R.EtOH_E	20.0545	Etanol	820	19.4658	97.1
GB_R.Me ₂ CO_E	20.0634	Acetona	2050	19.9300	99.3
GB_R.CHCl ₃ _E	20.0205	Cloroformo	790	19.8325	99.1

7.2.1 Caracterización del estado sólido de los productos obtenidos

7.2.1.1 Óptica

Las imágenes correspondientes a la materia prima, los productos escalados GB_R.EtOH_E, GB_R.Me₂CO_E, GB_R.CHCl₃_E se ilustran en la Figura 16 a), b), c), y d), respectivamente.

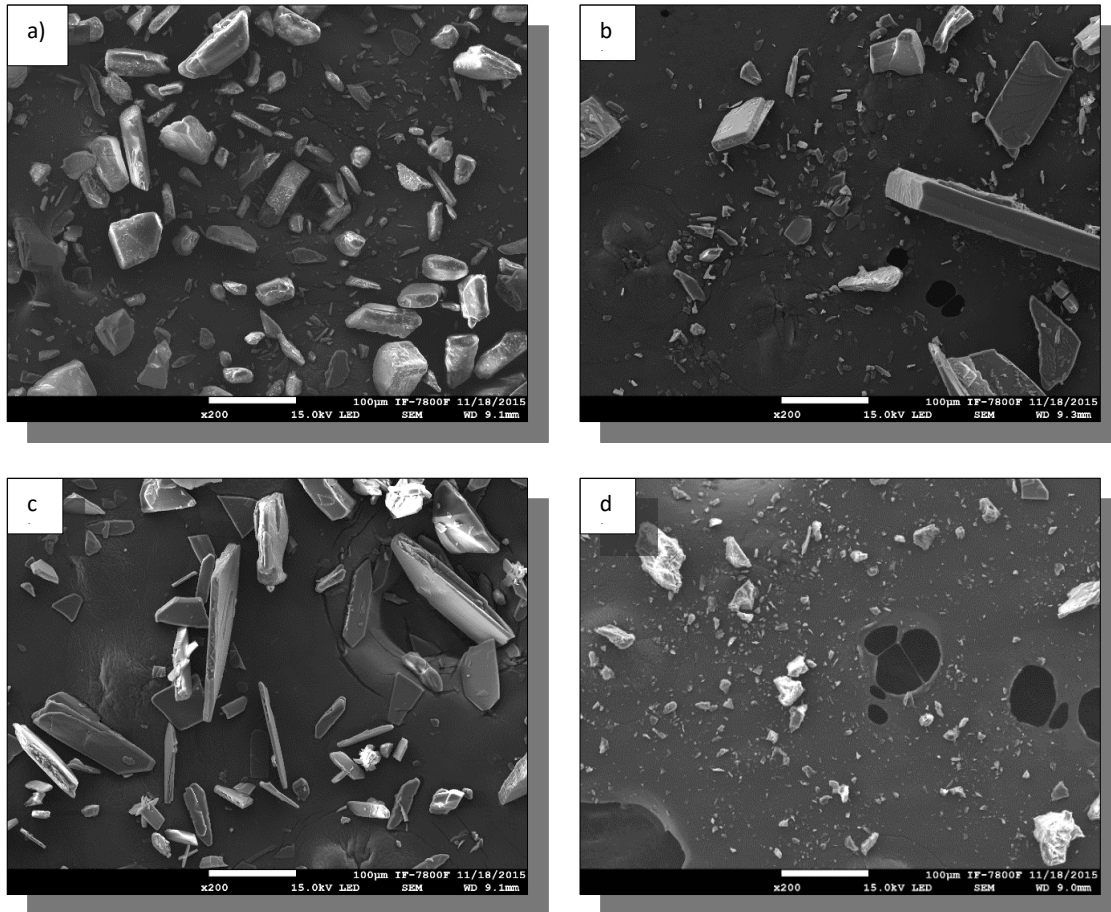


Figura 16. Microfotografías de los productos escalados y la materia prima

Las microfotografías en la Figura 16, muestran los diferentes hábitos cristalinos de los tres productos y de la materia prima. Mientras que la materia prima (Figura 16a) muestra un hábito tabular y algunas partículas en placas, el hábito expresado por el producto preparado a partir de etanol (GB_R.EtOH_E) muestra en la Figura 16b un hábito prismático bien definido, también con algunas partículas organizadas en placas. El hábito dominante en la Figura 16c correspondiente a partículas del producto obtenido a partir de acetona (GB_R.Me₂CO_E), está organizado laminarmente. La Figura 16d, correspondiente al producto obtenido a partir de cloroformo (GB_R.CHCl₃_E) no muestra algún hábito diferenciado, salvo algunas partículas aparentemente organizadas en modo granular.

El aspecto característico de las placas del producto GB_R.Me₂CO_E implica una mayor superficie de contacto.²⁹

Una mayor superficie de contacto también define al producto GB_R.CHCl₃_E, pero en este caso debido al menor tamaño de partícula y al aparente desorden presente en los gránulos, este producto y su apariencia granular son resultado de la trituración de los bloques de sólido recuperado en la filtración, que después del secado permanecen como un monolito.

El mayor desorden debido al hábito cristalino puede reflejarse en fenómenos cinéticos, tal como la disolución, si bien no es la característica determinante en un proceso de disolución, pues intervienen otros factores, tales como el tamaño y distribución de tamaño de las partículas y, con ello, la superficie de contacto para la generación de fuerzas interfaciales líquido-sólido.^{19, 27, 28}

7.2.1.2 Térmica

La comparación entre polimorfos se muestra en la Figura 17 y la información obtenida de todos ellos se presenta en la Tabla 12.

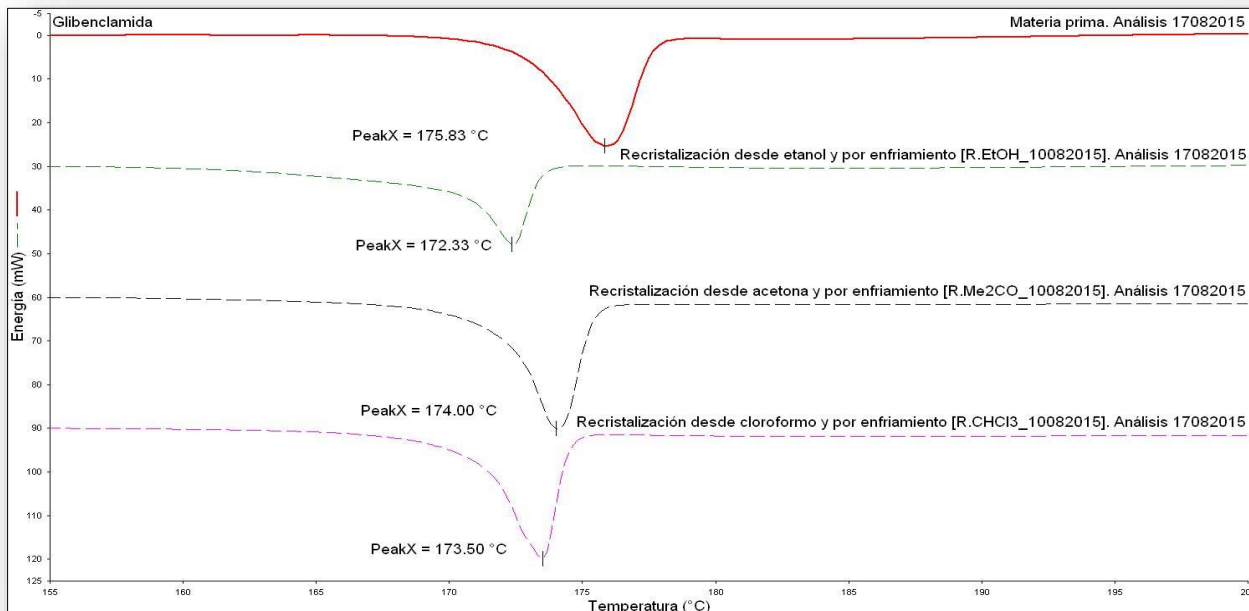


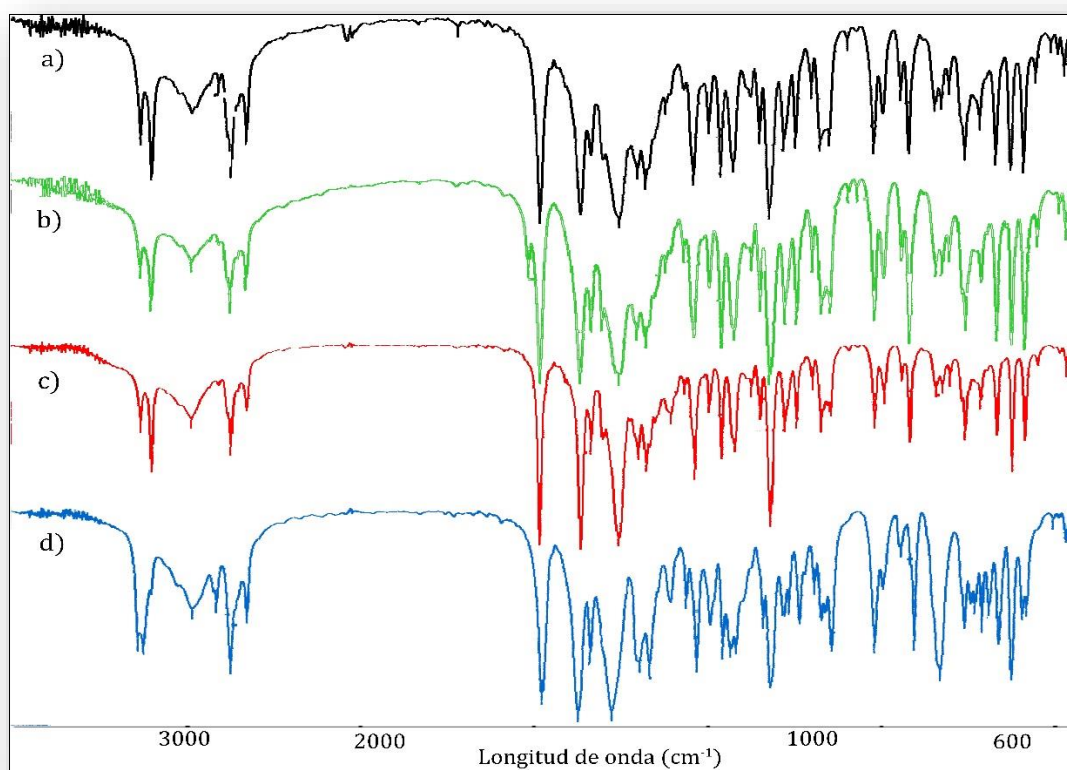
Figura 17. Termograma comparativo de los 3 productos escalados y de la materia prima

Tabla 12. Propiedades térmicas de los productos escalados

Muestra	Peso(mg)	Endoterma			
		Inicio (°C)	Máximo (°C)	Termino (°C)	$\Delta H \left(\frac{J}{g}\right)$
GB_MP	3.185	173.14	176.00	177.69	106.0669
GB_R.EtOH_E	3.399	170.35	172.17	173.19	92.8712
GB_R.Me ₂ CO_E	3.328	172.00	174.00	175.33	101.0928
GB_R.CHCl ₃ _E	3.692	171.11	173.17	174.02	100.7850

7.2.1.3 Espectroscópica de infrarrojo (EIR)

Los espectros obtenidos correspondientes se muestran en la Figura 18.



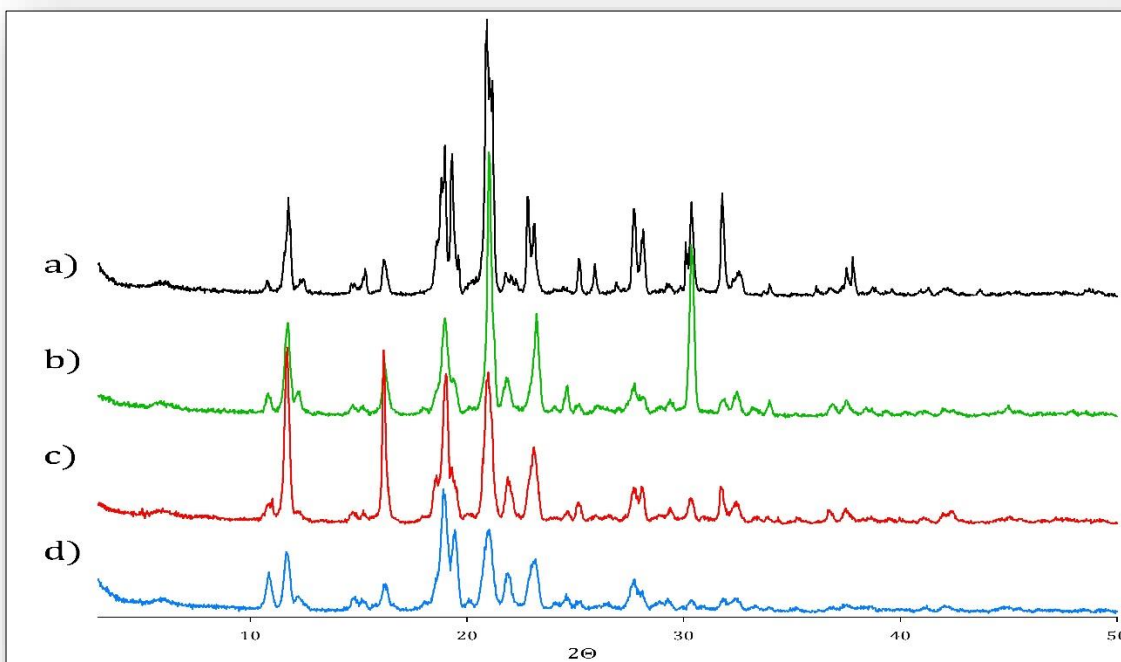
Los incisos a, b, c y d corresponden a las muestras GB_MP, GB_R.EtOH_E, GB_R.Me₂CO_E y GB_R.CHCl₃_E respectivamente.

Figura 18. Espectrograma comparativo de la materia prima y los tres productos

El análisis de la posición de las señales correspondientes a los alargamiento y deformaciones de los enlaces presentes en los principales grupos funcionales de la molécula coinciden, no solamente para la identificación del compuesto, sino además para su correlación con la estructura de los productos obtenidos en los experimentos iniciales

7.2.1.4 Cristalográfico por difracción de rayos X de polvos (DRXP)

Una comparación directa de los difractogramas correspondientes a la materia prima (GB_MP) y los tres productos) se muestra en la Figura 19.



Los incisos a, b, c y d corresponden a las muestras GB_MP, GB_R.EtOH_E, GB_R.Me₂CO_E y GB_R.CHCl₃_E respectivamente

Figura 19. Difractograma comparativo de la materia prima y los tres productos

El análisis de los difractogramas obtenidos inició con la comparación contra un patrón de referencia con número de ficha 00-041-1691, de la estructura denominada *glyburide* (C₂₃H₂₈ClN₃O₅S) hallado en la base de datos PDF-2 (2004) de la ICDD. Se determinó la coincidencia en la posición de los picos de difracción de la ficha mencionada con la posición de los picos de difracción de las cuatro muestras (GB_MP, GB_R.EtOH_E, GB_R.Me₂CO_E y GB_R.CHCl₃_E). Esta coincidencia permite establecer la identidad de las muestras respecto con dicho patrón, confirmar el carácter cristalino de cada una de ellas y determinar con base en las diferencias de intensidad de los picos de difracción que las muestras corresponden a materiales

polimorfos entre sí, toda vez que se explica que la variabilidad en la disposición espacial de las moléculas que forman el cristal se ve representada por dichas diferencias de intensidad en un difractograma generado por el método de polvos. (Tabla 13).

Tabla 13. Posición angular (2θ), intensidad relativa (%)

Muestra			
GB_MP	GB_R.EtOH_E	GB_R.Me ₂ CO_E	GB_R.CHCl ₃ _E
10.799, 7.9	10.833, 10.5	10.850, 13.5	10.862, 36.7
11.774, 40.1	11.714, 36.5	11.690, 100	11.698, 52.1
14.777, 6.6	14.719, 6.2	14.727, 9.3	14.775, 15.0
15.286, 12.4	15.162, 5.3	15.221, 9.9	15.170, 14.0
16.186, 15.9	16.198, 23.4	16.170, 98.6	16.222, 27.2
18.580, 23.2	18.560, 11.2	18.572, 29.2	18.540, 32.0
18.979, 59.9	18.976, 38.3	19.019, 85.5	18.948, 100
19.303, 57.3	19.392, 15.8	19.360, 28.4	19.437, 71.5
20.860, 100.0	-	-	-
20.961, 96.4	-	20.956, 86.2	20.999, 71.8
21.064, 82.4	21.024, 100	-	-
21.789, 10.9	21.854, 16.0	21.895, 28.4	21.883, 36.0
22.817, 40.5	-	22.840, 27.1	-
23.095, 30.0	23.202, 40.0	23.090, 44.9	23.114, 46.3
-	24.614, 13.3	24.621, 9.3	24.600, 18.9
25.180, 16.3	25.140, 5.7	25.142, 14.3	25.162, 12.8
25.916, 14.3	26.018, 6.0	25.972, 7.4	-
27.721, 35.8	27.712, 14.2	27.706, 22.6	27.718, 31.2
28.116, 27.8	28.140, 9.2	28.090, 22.5	28.084, 21.6
29.283, 6.5	29.344, 7.4	29.395, 11.4	29.279, 15.3
30.140, 18.4	-	-	-
30.365, 38.3	30.384, 63.4	30.340, 16.7	30.356, 14.0
31.786, 41.8	31.821, 7.9	31.743, 23.1	31.847, 15.1
32.555, 11.5	32.450, 11.0	32.443, 15.0	-

- Indica que la señal no se presenta o bien, no se presenta el valor para la misma.

La comparación de las posiciones angulares representada en la Tabla 13, muestra la similitud en cuanto su ubicación y sus claras diferencias de intensidad. Así, mientras la máxima intensidad reportada en el patrón de referencia corresponde al ángulo 18.8, de la escala 2θ , mismo que coincide parcialmente con el valor 18.948, máximo observado para el cristal GB_R.CHCl₃_E; los cristales GB_R.EtOH_E y GB_R.Me₂CO_E muestran el máximo relativo en los valores 21.024 y 11.690, respectivamente. De manera general la Tabla 13 también es concluyente con la similitud de todos los picos de difracción entre todas las muestras, cuyas diferencias más significativas se expresan en la intensidad de cada uno de ellos y estas diferencias son entonces consecuencia de que los cristales son polimorfos entre sí.

7.3 Solubilidad

La Figura 20 muestra el comparativo general de la prueba

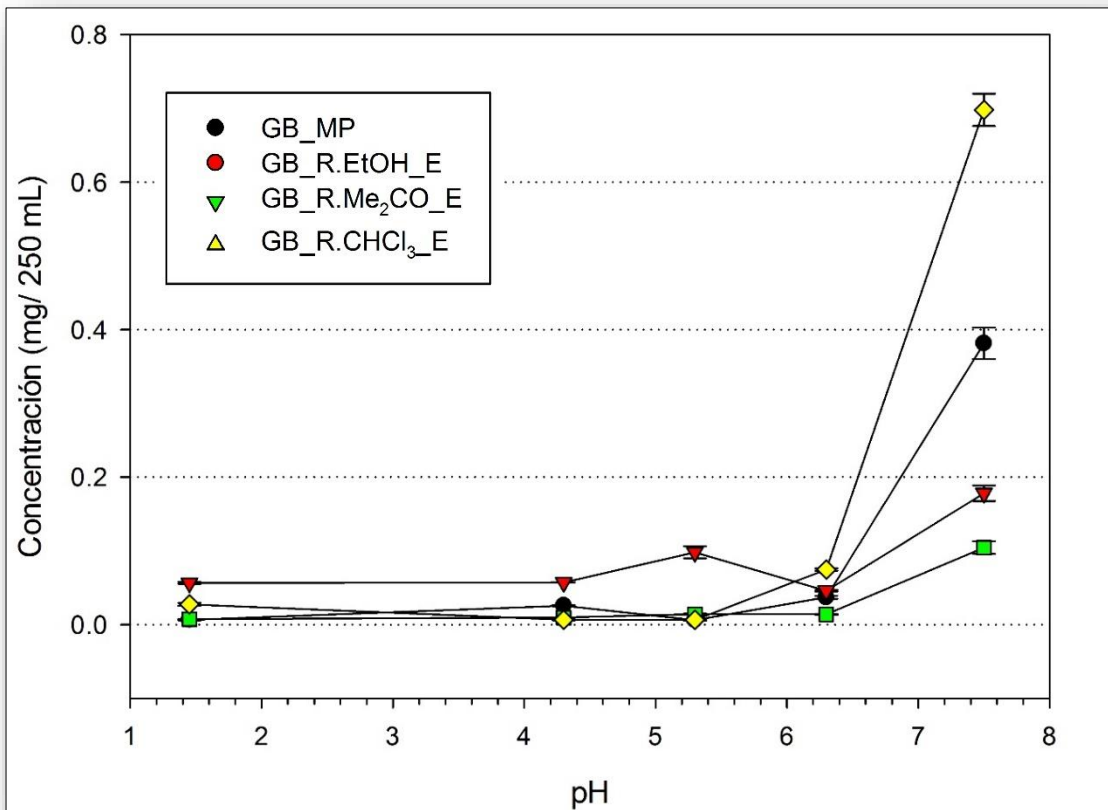


Figura 20. Curvas de solubilidad obtenidas por el método del sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB)

Se distingue una similitud en la solubilidad de los cristales en valores de pH más bajos (1.45 a 5.3) y una tendencia a aumentar en diferentes proporciones a partir de un pH por arriba del pK_a de la glibenclamida (6.3), hasta valores diversos y superiores de solubilidad en pH 7.5 (ligeramente básico).

Finalmente, y como se muestra en La Figura 20, la solubilidad de todos los cristales aumenta de manera importante en la solución pH 7.5, casi en el orden de 10 veces más soluble que en la solución pH 6.3 de los cristales GB_MP, GB_R.Me₂CO_E y GB_R.CHCl₃_E y de casi 4 veces para el caso de GB_R.EtOH_E, diferencia que se vuelve significativa en la comparación de los cristales GB_MP (que corresponde al cristal comercializado) contra el cristal GB_R.CHCl₃, producto obtenido en este trabajo, en la que éste es 1.82 veces más soluble, cociente anteriormente publicado para otros casos de diferencias de solubilidad entre polimorfos^{14, 28}, además respecto con GB_R.Me₂CO_E, otro cristal obtenido en este trabajo y en el mismo valor de pH, la solubilidad aumenta 6.7 veces.

En ninguno de los casos las diferencias son lo suficientemente altas como para proponer un cambio de clasificación del fármaco dentro del SCB, pues la máxima solubilidad determinada es aún 8 veces menor que la necesaria para presentar dicha propuesta.

Se insiste en este punto la importancia y el impacto de las diferencias físicas derivadas del arreglo espacial de las moléculas en estado sólido, cuyos efectos en fenómenos cinéticos como lo es la solubilidad, no son siempre predecibles, mucho menos una constante de cambio; el estudio de dichas propiedades y sus efectos representan, como lo demuestra este trabajo, una parte fundamental en el desarrollo farmacéutico.²³

7.4 Producción de monolitos sol-gel

7.4.1 Apariencia

En la Figura 21 se muestran los monolitos obtenidos de acuerdo con la matriz experimental descrita en la Tabla 6.



Figura 21. Fotografías de los lotes fabricados

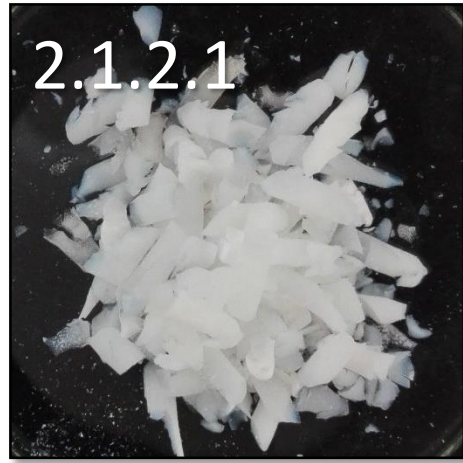


Figura 21. Continuación.

7.4.2 Valoración

En la Tabla 14 se muestran los resultados de la valoración del contenido de glibenclamida en los monolitos sol-gel.

Tabla 14. Contenido de glibenclamida en los lotes producidos.

Variable			Repetición	Lote	Contenido (mg/g)
P	C	T			
+	+	+	1	1.1.1.1	22.07±0.13
+	+	+	2	1.1.1.2	17.18±0.17
+	+	-	1	1.1.2.1	14.66±0.03
+	+	-	2	1.1.2.2	16.41±0.16
+	-	+	1	1.2.1.1	4.30±0.03
+	-	+	2	1.2.1.2	3.39±0.02
+	-	-	1	1.2.2.1	4.67±0.23
+	-	-	2	1.2.2.2	4.32±0.04
-	+	+	1	2.1.1.1	21.85±0.13
-	+	+	2	2.1.1.2	23.09±0.09
-	+	-	1	2.1.2.1	15.48±0.06
-	+	-	2	2.1.2.2	14.54±0.24
-	-	+	1	2.2.1.1	6.01±0.05
-	-	+	2	2.2.1.2	5.33±0.06
-	-	-	1	2.2.2.1	4.92±0.06
-	-	-	2	2.2.2.2	5.57±0.10

+ indica el valor mayor, para el caso del polimorfo, P, indica al más soluble (GB_R.CHCl₃_E), para la cantidad de fármaco, C, indica la más alta (100 mg) y para el caso de la técnica de fabricación, T, a aquella en que se solubiliza previo a la reacción de condensación.

- indica el caso contrario al representado por +: GB_R.Me₂CO_E, 25 mg y sin solubilización previa a la condensación, respectivamente

El contenido está expresado en miligramos de glibenclamida determinados por gramos de implante analizado.

De acuerdo con la Tabla 14, existe coherencia entre la cantidad de fármaco añadida a los lotes, ya que cuando fue alta, 100 mg, la cantidad recuperada fue mayor que en los lotes en los que se añadió la cantidad de fármaco baja, es decir 25 mg.

Por otro lado se demostró una mayor recuperación en los lotes en que se agregó el fármaco disuelto, en 10 mL de etanol, cuando además se fabricó con una cantidad de 100 mg, esto para ambos polimorfos; así mismo, cuando se fabricó con 25 mg la recuperación fue mayor si se agregó el fármaco disuelto, pero en este caso sólo para el polimorfo menos soluble (GB_R.Me₂CO_E), ya que empleando el polimorfo más soluble (GB_R.CHCl₃_E) se observó una mayor recuperación en los lotes en que el fármaco fue añadido sin ser solubilizado.

También se observa una mayor recuperación para los lotes en que se fabricó con el polimorfo menos soluble, sobre todo en los lotes fabricados con 25 mg, mientras que cuando se trabajó con una cantidad de 100 mg no se aprecia una gran diferencia al fabricar con uno u otro polimorfo, por lo que el efecto de la variable de la cantidad de fármaco en la fabricación sugiere ser muy importante en la respuesta.

Para comprender mejor los efectos de las variables y sus interacciones en las experimentaciones se planteó el análisis de varianza. (Tabla 15)

Tabla 15. Análisis de varianza del modelo factorial de experimentos con el contenido como respuesta.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Razón-F	Valor-P
P:Polimorfo	5.9902	1	5.9902	3.07	0.1179
C:Cantidad	712.4900	1	712.49	365.01	0.0000
T:Técnica	32.0639	1	32.0639	16.43	0.0037
PC	0.0162	1	0.0162	0.01	0.9295
PT	4.9395	1	4.9395	2.53	0.1503
CT	34.6627	1	34.6627	17.76	0.0029
PCT	1.31676	1	1.3167	0.67	0.4352
Error total	15.6156	8	1.9519		
Total (corr.)	807.095	15			

Las variables se denotan como se indicó en la Tabla 6.

Como se observa, los valores p de las variables cantidad y técnica, y de la interacción entre ellas son menores que 0.05, indicando así que dichos efectos son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95 %, concordando con el análisis previo, en el que se establecen varias premisas que sugieren la importancia de dichos efectos y de su interacción más que el de la variable polimórfica.

7.4.3 Análisis térmico

En la Tabla 16 se presentan los resultados de la CDB para los monolitos producidos.

Tabla 16. Calorimetría diferencial de barrido a los lotes producidos.

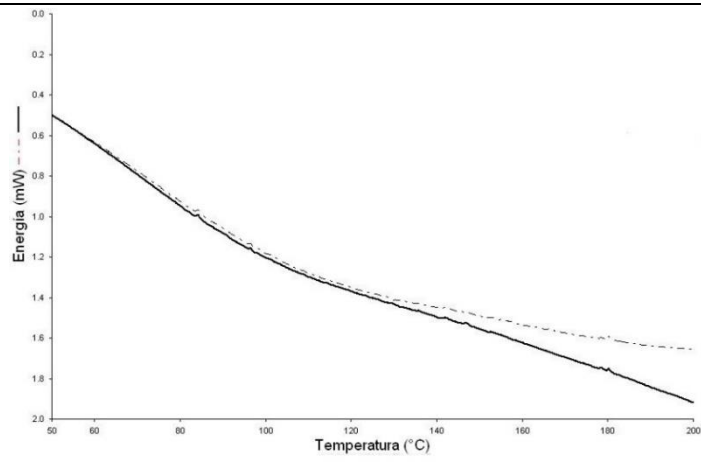
Lote	Termograma
1.1.1.1	
1.1.2.1	
1.2.1.1	

Tabla 16. Continuación.

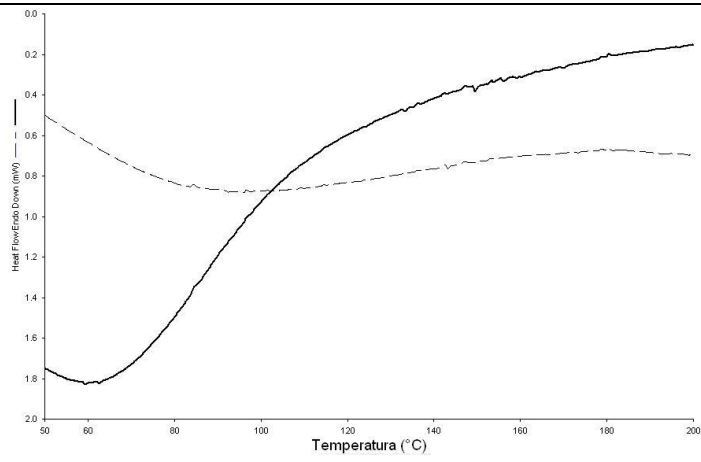
Lote

Termograma

1.2.2.1



2.1.1.1



2.1.2.1

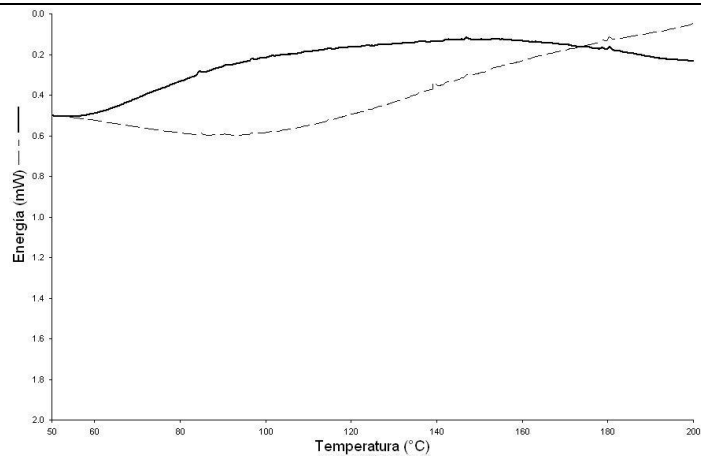
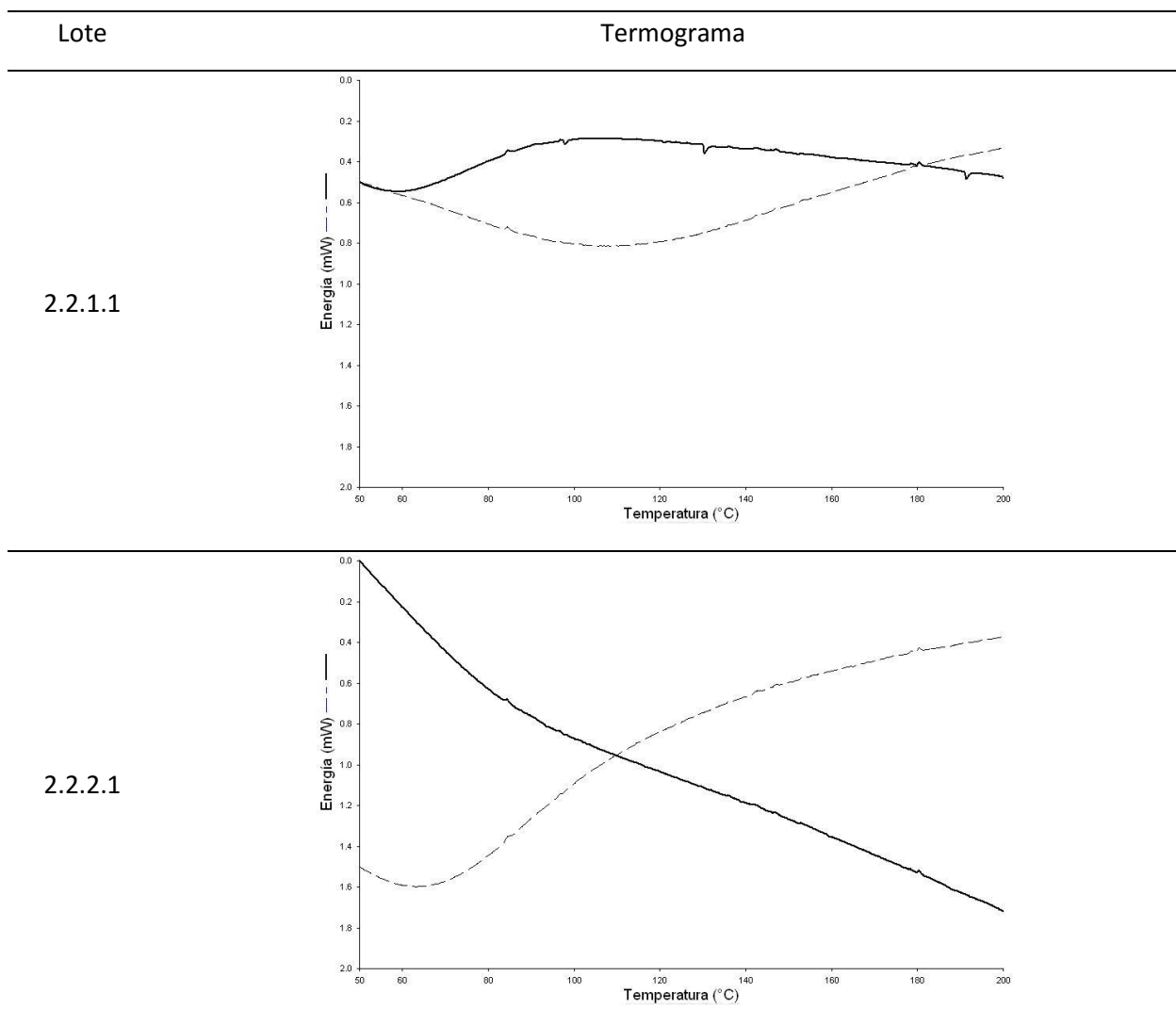


Tabla 16. Continuación.



La línea punteada corresponde al termograma de la muestra triturada, mientras que la línea sólida a un fragmento íntegro.

De manera general el análisis térmico demostró que el fármaco en ambas cantidades, 25 y 100 mg, agregado disuelto o no y ya sea un polimorfo más soluble o uno menos soluble, se incorporó exitosamente en la estructura de las matrices, ya que no se presenta en ningún caso la endoterma correspondiente a la fusión del fármaco, debido a la encapsulación del fármaco por las partículas de sílice. Así mismo, no se observan degradaciones o algún otro fenómeno más que la pérdida de agua y/o disolvente en algunos casos.

El comportamiento térmico (pendiente de la curva energética) característico de cada muestra puede explicarse por interacciones inter- e intramoleculares de la sílice con residuos de humedad, disolvente y a

otros factores cuyo entendimiento requiere otro tipo de análisis, ya que a pesar de las similitudes que se observan entre los termogramas, por ejemplo de las porciones no trituradas y de las muestras trituradas, no es posible aseverar su explicación dado que dicho comportamiento no está generalizado para todas las muestra de uno u otro tipo. Como ejemplo, la tendencia de las porciones trituradas a presentar pendientes positivas (liberación de energía) puede deberse a que la estabilidad de la red cristalina, presente en el monolito, pero comprometida ahora por la trituración, origina que la activación energética de como consecuencia un rearrreglo de las estructuras cristalinas del sílice (sin presentar transición vítrea o de otro tipo) de naturaleza exotérmica, sin embargo esta aparente tendencia no se cumple en todos los casos.

7.4.4 Análisis mecánico

La Tabla 17 muestra los datos de dureza obtenidos para los monolitos producidos.

1.1.1.1	2.7±0.17
1.1.1.2	3.4±0.35
1.1.2.1	1.9±0.52
1.1.2.2	2.3±0.26
1.2.1.1	1.6±0.27
1.2.1.2	2.3±0.54
1.2.2.1	3.1±0.37
1.2.2.2	1.9±0.38
2.1.1.1	2.7±0.31
2.1.1.2	1.9±0.31
2.1.2.1	2.0±0.33
2.1.2.2	3.3±0.77
2.2.1.1	2.1±0.33
2.2.1.2	1.7±0.43
2.2.2.1	4.1±0.31
2.2.2.2	2.9±0.22

Aparentemente la dureza fue mayor cuando se utilizó la cantidad alta de fármaco (100 mg) en conjunto con la solubilización previa a la condensación del gel, en comparación con la técnica sin solubilizar y la

misma cantidad; y a la inversa cuando se utilizó la cantidad baja (25 mg), es decir es más resistente un monolito fabricado con una cantidad baja y agregando el fármaco disuelto.

El análisis de varianza de la dureza como respuesta en la fabricación de los monolitos se muestra en la Tabla 18.

Tabla 18. Análisis de varianza del modelo factorial de experimentos con la dureza como respuesta.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Razón-F	Valor-P
P:Polimorfo	0.1225	1	0.1225	0.31	0.5917
C:Cantidad	0.0225	1	0.0225	0.06	0.8168
T:Técnica	0.5625	1	0.5625	1.43	0.2655
PC	0.3025	1	0.3025	0.77	0.4056
PT	1.3225	1	1.3225	3.37	0.1037
CT	1.8225	1	1.8225	4.64	0.0633
PCT	0.0225	1	0.0225	0.06	0.8168
Error total	3.14	8	0.3925		
Total (corr.)	7.3175	15			

Las variables se denotan como se indicó en la Tabla 6.

Dado que ningún valor de p es menor que 0.05, se determinó que la dureza no varía en función de los factores estudiados.

8. Conclusión

Para la evaluación del efecto del polimorfismo, y de la diferencia en solubilidad de diferentes polimorfos de glibenclamida derivada de este fenómeno, se obtuvieron, caracterizaron y emplearon satisfactoriamente 3 polimorfos del fármaco. De ellos, el obtenido a partir de cloroformo demostró propiedades de gran relevancia destacando su solubilidad.

La diferencia entre valores de solubilidad de dos polimorfos de glibenclamida no tiene un efecto en la fabricación de monolitos de sílice mesoporosa por la técnica sol-gel, por lo que, bajo las condiciones de este estudio, el optar por fabricar con el polimorfo de glibenclamida más soluble o con el menos soluble es equivalente en la determinación de contenido resultante.

A pesar de ello y como consecuencia de ésta conclusión, deberá evaluarse el estado sólido del fármaco dentro de los monolitos y evaluar su liberación en estudios biofarmacéuticos.

9. Referencias

1. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 11a ed. México: Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos; 2014.
2. Kwon S, Rajendra KS, Pérez RA, Ensanya AN, Hae-Won K, Wojciech C. Silica-Based Mesoporous Nanoparticles for Controlled Drug Delivery. *J Tissue Eng.* 2013; 4: 1-18.
3. Vallet-Regí M, Balas F, Arcos D. Mesoporous Material for Drug Delivery. *Mesoporous Mat.* 2007; 46:7548-7558.
4. Trewyn BG, Slowing II, Giri S, Chen HT, Lin VS. Synthesis and Functionalization of a Mesoporous Silica Nanoparticle Based on the Sol-Gel Process and Applications in Controlled Release. *Acc. Chem. Res.* 2007; 40(1):846-853.
5. Kong L, Barbé CJ, Finnie KS, Calleja S, Hanna JV, Draberek E, et al. Sol-Gel Matrices for Controlled Release: From Macro to Nano Using Emulsion Polymerisation. *J Sol-Gel Sci Technol.* 2008; 46(3):393-409.
6. Singh LP, Bhattacharyya SK, Kumar R, Mishra G, Sharma U, Singh G, et al. Sol-Gel Processing of Silica Nanoparticles and their Applications. *Adv Colloid Interface Sci.* 2014; 214:17-37.
7. Andersson J, Rosenholm J, Lindén M. Mesoporous Silica: An Alternative Diffusion Controlled Drug Delivery System. In Ashmmakhi N, editor. *Topics in Multifunctional Biomaterials and Devices [e-Book in Construction]*. United Kingdom: Invite; 2008. p. 1-19.
8. Salonen J, Kaukonen AM, Hirvonen J, Lehto VP. Mesoporous Silicon in Drug Delivery Applications. *J Pharm Sci.* 2008; 94(2):632-656.
9. Heikkilä T, Salonen J, Tuura J, Hamdy M, Mul G, Kumar N, et al. Mesoporous Silica Material TUD-1 as a Drug Delivery System. *Int J Pharm.* 2007; 331:133-138.
10. Van Speybroeck M, Mellaerts R, Thi TD, Martens JA, Van Humbeeck J, Annaert P, et al. Preventing Release in the Acidic Environment of the Stomach Via Occlusion in Ordered Mesoporous Silica Enhances the Absorption of Poorly Soluble Weakly Acidic Drugs. *J. Pharm. Sci.* 2011; 100(11):4864-4876.
11. Royal Society of Chemistry. ChemSpider: Glibenclamide. [Online].; 2015 [cited 2015 02 18]. Available from: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3368.html>.

12. Canadian Institutes of Health Research. DrugBank: Glyburide. [Online].; 2013 [cited 2015 02 18]. Available from: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01016>.
13. Rodríguez MS, Luna J, Carlucci A, Bregni C. Relación de Estabilidad Termodinámica Relativa entre Polimorfos de Glibenclamida. *Acta Farmacéutica Bonarense*. 2004; 23(2):169-175.
14. Young-Taek S, Bo-Young U. Dissolution of Glibenclamide Polymorphs. *J. Kor. Pharm. Sci.* 1997; 27(3): 233-239.
15. Panagopoulou-Kaplani A, Malamataris S. Preparation and Characterisation of a New Insoluble Polymorphic Form of Glibenclamide. *Int. J. Pharm.* 2000; 195(1):239-246.
16. Rehder S, Sakmann A, Rades T, Leopold CS. Thermal Degradation of Amorphous Glibenclamide. *Eur J Pharm Biopharm.* 2012; 80(1):203-208.
17. Sanz D, Claramunt RM, Alkorta I, Sánchez-Snaz G, Elguero J. The Structure of Glibenclamide in the Solid State. *Magn Reson Chem.* 2012; 50(1):246-255.
18. Ymén I. Introduction to the Solid State – Physical Properties and Processes. In Storey RA, Ymén I, editors. *Solid State Characterization of Pharmaceuticals*. United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2011. p. 1-26.
19. Zhang G, Zhou D. Crystalline and Amorphous Solids. In Qiu Y, Chen Y, Zhang G, Liu L, Porter W, editors. *Developing Solid Oral Dosage Forms*. United States: Elsevier American Press; 2009. p. 25-60.
20. Rehder SC. *Solid-State Transformations Induced by Pharmaceutical Processes During Manufacturing [dissertation]* Germany: Universität Hamburg; 2013.
21. Taylor LS, Shamblin SL. Amorphous Solids. In Brittain HG, editor. *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*. 2nd ed. United States: Informa Healthcare; 2009. p. 587-629.
22. Giron D. Thermal Analysis and Calorimetric Methods in the Characterisation of Polymorphs. *Thermochim Acta.* 1995; 248: p. 1-59.
23. Brittain HG. Theory and Principles of Polymorphic Systems. In Brittain HG, editor. *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*. 2nd ed. United States; 2009. p. 1-23.
24. Hilfiker R, Blatter F, Van-Raumer M. Relevance of Solid-State Properties for Pharmaceutical Products. In Hilfiker R, editor. *Polymorphism: In the Pharmaceutical Industry*. Germany: Wiley-VCH; 2006. p. 1-19.
25. Bernstein J. Crystal Polymorphism. In Novoa JJ, Braga D, Addadi L, editors. *Engineering of Crystalline Material Properties*. Netherlands: Springer; 2008. p. 87-109.

26. Brittain HG. Application of the Phase Rule to the Characterization of Polymorphic and Solvatomorphic Systems. In Brittain HG, editor. *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*. 2nd ed. United States: Informa Healthcare; 2009. p. 24-51.
27. Brittain HG, Grant DJ, Myrdal PB. Effects of Polymorphism and Solid-State Solvation on Solubility and Dissolution Rate. In Brittain HG, editor. *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*. 2nd ed. United States: Informa Healthcare; 2009. p. 436-480.
28. Pudipeddi M, Serajuddin A. Trends in Solubility of Polymorphs. *J Pharm Sci*. 2005; 94(5): p. 929-939.
29. Singhal D, Curatolo W. Drug Polymorphism and Dosage Form Design: a Practical Perspective. *Adv Drug Deliv Rev*. 2004; 56:335-347.
30. Bhattacharya S, Brittain HG, Suryanarayanan R. Thermoanalytical and Crystallographic Methods. In Brittain HG, editor. *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*. 2nd ed. United States: Informa Healthcare; 2009. p. 318-346.
31. Day RA, Underwood AL. Química Analítica Cuantitativa. In. Ciudad de México: Prentice-Hall Hispanoamérica; 1989, p. 188-191, 807-809.
32. Thongnopkoon T, Puttipatkhachorn S. New metastable form of glibenclamide prepared by redispersion from ternary solid dispersions containing polyvinylpyrrolidone-K30 and sodium lauryl sulfate. *Drug Dev Ind Pharm*. 2015; 1(1):1-10.
33. Wojnarowska Z, Grzybowska K, Adrjanowicz K, Kaminski K, Paluch M, Hawelek L, et al. Study of the Amorphous Glibenclamide Drug: Analysis of the Molecular Dynamics of Quenched and Cryomilled Material. *Molecular Pharmaceutics*. 2010; 7(5):1692-1707.