



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN FARMACÉUTICA

**Producción de matrices poliméricas sol-gel de
liberación modificada incorporando el sólido amorfo
de glibenclamida**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA**

PRESENTA

LAURA JAQUELINE LÓPEZ SANTANA

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.

AGRADECIMIENTO

El desarrollo de esta tesis fue financiado en su totalidad con recursos del Proyecto PAPIIT IT-200815 "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 le agradece el apoyo a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México.

DEDICATORIA

A mi mamá, por apoyarme en cada momento durante toda mi vida, por ser mi ejemplo y mi motivo de superación, por sus incontables enseñanzas que sin duda han forjado gran parte de lo que soy, sin ella este sueño no se habría logrado. Te Amo madre, gracias por todo.

A mi hermano, por sus palabras de aliento y su incondicional apoyo, por estar ahí en los buenos y malos momentos, por cuidarme y acompañarme, sin importar que tan difícil sea el camino, sé que estarás ahí a mi lado, gracias Santana, Te Quiero.

A mi segunda familia, Tía Gelos, Tío Gustavo y mi hermano Hugo, por ser ese soporte, por estar ahí en cada momento de mi vida, por compartir cada logro y por levantarme en cada fracaso, por todo el amor y el apoyo para seguir adelante, Los Quiero.

A mis amigos Adrián, David, Miguel, Mauricio, Lalo, Karla, Edgar, Simón, Emma, Jeez y Auria, más que amigos, ya son parte de mi familia, gracias por permitirme formar parte de sus vidas, por esas noches de locura, por enseñarme a disfrutar y sonreírle a la vida, aprendiendo siempre de todos ustedes, pero sobre todo por su amistad incondicional.

Al Dr. Vicente y la Dra. Eli por darme la oportunidad de contribuir con un granito de arena en esta gran investigación y permitirme concluir la meta más importante de mi vida profesional, por su confianza, por hacerme crecer en lo profesional y en lo personal y sobre todo por su amistad. Muchas Gracias.

A la Maestra Cinthia por su paciencia, su compañía y sus enseñanzas, pero sobre todo por esos aventones al metro.

A Nacho y Brenda por ser mis compañeros en esta aventura de la tesis, por su compañía, por esas divertidas sesiones de trabajo, por todos sus consejos y por todo el apoyo sin ustedes no hubiera sido tan genial este trabajo. Gracias Gorditos.

A Yatz, Dany y Nancy por sus consejos, por esas platicas, las comidas tan divertidas y los días de películas, gracias por brindarme su amistad. Muchas Gracias Equipo LIF.

A Laura por ser una gran amiga, mi hermana, por soportar todas mis locuras, por escucharme y siempre estar ahí sin importar tiempo ni distancia, Gracias Chapis.

Y a todos aquellos que formaron parte de esta etapa universitaria, que de forma directa o indirecta hicieron que yo llegara hasta esta estancia, por su amistad y su cariño, gracias. Moni, Fredy, Ángel, Jorge, Susan, Karen y Lalo.

Y por último y no por eso menos importante, a la UNAM, por haberme dado la oportunidad de pertenecer a ella y darme una de las mejores experiencias de mi vida. Gracias.

Tabla de contenido

1. Introducción	1
2. Marco teórico	2
2.1 Estado amorfo	3
2.1.1 Preparación de sólidos amorfos	4
2.2 Ventajas y desventajas de los sólidos amorfos	5
2.3 Técnicas de caracterización	6
2.4 Proceso sol- gel	8
2.5 Glibenclamida	10
2.5.1 Características	10
2.5.2 Polimorfismo de la glibenclamida	11
3. Planteamiento del problema	12
4. Objetivo general	13
4.1 Objetivos específicos	13
5. Hipótesis	14
6. Metodología	15
6.1 Material	16
6.1.1 Reactivos	16
6.1.2 Material de vidrio	16
6.1.3 Equipos e instrumentos	17
6.1.4 Material extra	18
6.2 Metodología	19
7. Resultados y Análisis	26
8. Conclusión	47
9. Sugerencias	47
10. Anexos	48
11. Bibliografía	51

1. Introducción

El estado sólido de la materia se caracteriza por el grado de orden que presenta cada sólido en su estructura interna. Los sólidos se agrupan, según su configuración geométrica, en sólidos amorfos y cristalinos. En los sólidos amorfos los átomos o moléculas que los forman se encuentran desordenados.

Desde el punto de vista farmacéutico, los sólidos amorfos poseen propiedades interesantes, una de las principales ventajas de la incorporación de amorfos sólidos en el área farmacéutica es que no se requiere de procesos endotérmicos para superar la energía reticular necesaria para perturbar o destruir la estabilidad de la disposición del cristal, lo que repercute en que las formas amorfas presenten una velocidad de disolución más rápida con respecto a las cristalinas, modificando a su vez su biodisponibilidad.

La glibenclamida es uno de los fármacos hipoglucemiantes más potentes utilizado en el tratamiento de la *Diabetes Mellitus* tipo 2. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) este padecimiento representa el 90% en la población mundial; en México se calcula que el 7% de la población padece diabetes, el 90% es del tipo 2 y se estima que el 21% de la población con diabetes está entre los 65 y 74 años de edad. Por lo tanto, se han buscado alternativas viables para la dosificación de este fármaco, ya que las personas de esa edad presentan problemas de deglución o simplemente olvidan la toma de su medicamento, por lo que los sistemas de liberación modificada son una buena opción; entre ellos se busca probar la tecnología sol-gel como una alternativa. El proceso sol gel es un método de síntesis, el cual permite la obtención de partículas finas de tamaño uniforme, con un esqueleto de óxido, a partir de precursores moleculares como lo son los alcóxidos metálicos, por medio de reacciones químicas como hidrólisis y condensación polimérica, a bajas temperaturas.

Hasta la fecha no se han desarrollado matrices sol-gel de glibenclamida. Sin embargo, partiendo del hecho de la baja solubilidad del fármaco, fue necesario plantear estrategias que permitieran mejorar su solubilidad para poder incorporar el fármaco en la cantidad adecuada en la fabricación de las matrices. Una de estas alternativas fue obtener el sólido amorfo de la glibenclamida con distintas técnicas e incorporarlo en las matrices sol-gel.

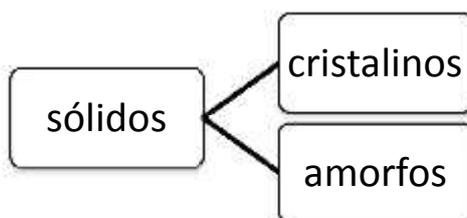
2. Marco teórico

El estado sólido de la materia se caracteriza por el grado de orden que se presenta en su estructura interna; se forma generalmente cuando un líquido o un vapor se enfría a una temperatura lo suficientemente baja, como para que las fuerzas intermoleculares de atracción superen a la agitación térmica. Los sólidos se caracterizan por tener propiedades particulares como: ^{1,2,3}

- Las partículas que lo forman se encuentran ordenadas espacialmente, ocupando posiciones fijas.
- Las partículas pueden ser: átomos, moléculas o iones.
- Si las partículas son átomos, los mismos están unidos por enlaces covalentes que son muy fuertes. Estos sólidos presentan puntos de fusión y ebullición muy elevados y son muy duros.
- Si las partículas son moléculas, se encuentran unidas entre sí por fuerzas débiles. Estos sólidos son blandos y presentan puntos de fusión bajos.
- Si las partículas son iones, son duros y no conducen la corriente eléctrica, pero si se encuentran en solución, sí la conducen.

Los sólidos se agrupan según su configuración geométrica, en sólidos amorfos y cristalinos (Figura 1).

Figura 1: Clasificación de los sólidos.

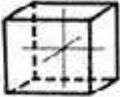
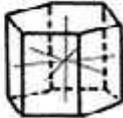
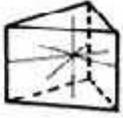


Los sólidos amorfos, como su nombre lo dice, no tienen forma definida, es cambiante dependiendo de las presiones, de la dirección de la misma y de la pulverización a que se vea sometido el sólido.

Los sólidos cristalinos, por lo contrario, son aquellos cuyos átomos o iones se ordenan formando una determinada estructura interna sistemáticamente en todo el material, dando lugar a un orden de largo alcance. Algunos sólidos en particular, pueden cristalizar en dos o más sistemas cristalinos. A esta propiedad se le conoce como polimorfismo.^{4,5}

En estado sólido, los átomos de una molécula pueden arreglarse en una de las siete formas cristalinas fundamentales (Figura 2):

Figura 2: Formas cristalinas

LOS SISTEMAS CRISTALINOS			
CUBICO			ROMBICO
TETRAGONAL			MONOCLINICO
HEXAGONAL			TRICLINICO
TRIGONAL			

2.1 Estado amorfo

De las palabras griegas que significan “sin forma”. Es un sólido en el cual los átomos o moléculas que lo forman se encuentran desordenados, por lo que no presentan órdenes de largo alcance. El ejemplo más característico de sólido amorfo es el vidrio.

Los sólidos amorfos no presentan un punto de fusión definido, más bien, se reblandecen dentro de un cierto intervalo de temperatura a medida que se vencen las fuerzas intermoleculares.^{6,7}

Desde el punto de vista farmacéutico, poseen propiedades interesantes, por ejemplo, mayor solubilidad y mayor biodisponibilidad, pero se acostumbra a que estos no sean comercializados debido a su inestabilidad química, mayor higroscopicidad y su tendencia a recristalizar.^{6,8}

Las formas amorfas tienen una temperatura a la cual sus propiedades experimentan cambios importantes (temperatura de transición vítrea).

La temperatura de transición vítrea (T_g) es la temperatura a la cual las regiones no cristalinas del polímero cambian de un estado vítreo (duro, rígido y frágil) a un estado viscoelástico con una pérdida importante de rigidez. Por debajo de esta temperatura las moléculas no tienen movimiento. Cuando se aumenta la temperatura por encima de la T_g se consigue el movimiento vibratorio de algunas de las secciones de la cadena polimérica alrededor de posiciones fijas. Elevando un poco más la temperatura, las cadenas además de vibrar pueden deslizarse unas sobre otras, adquiere un comportamiento visco elástico.

El cambio de propiedades en la temperatura de transición vítrea no ocurre a un valor determinado, sino en un rango de temperaturas, en el cual la T_g representa un punto medio en esa zona de transición.⁹

2.1.1 Preparación de sólidos amorfos

Los estados amorfos pueden ser formados en diferentes condiciones, dentro de las que se pueden mencionar las siguientes:

- A. **Preparación de una fase líquida, seguida por enfriamiento:** este método, también llamado vitrificación, es el procedimiento habitual para la preparación de sólidos vítreos. Consta de enfriamiento de la fase fundida de un compuesto puro por debajo de su temperatura de transición vítrea sin cristalización. Un prerrequisito decisivo es que no ocurra descomposición química durante la fusión.¹⁰
- B. **A partir de una solución seguida por precipitación rápida:** alcanzando una alta saturación, la cristalización o un método de precipitación pueden inducir la formación de sólidos que presentan una muy baja cristalización o incluso ser verdaderamente amorfos, según lo establecido por la existencia de una transición vítrea.¹⁰
- C. **A partir de una solución congelada, secado por congelación (liofilización):** este proceso está constituido de tres pasos i) congelar la solución (usualmente en agua pero pueden ser adicionados solventes orgánicos) por debajo de la temperatura del punto eutéctico de los dos constituyentes, ii) secado primario, obtenido por sublimación del agua congelada (o evaporando el solvente orgánico) a presión reducida, y iii) secado secundario, consiste en la desorción de agua residual o de disolvente a baja presión y alta temperatura,¹⁰

- D. A partir de una solución atomizable, secado por spray:** tecnología empleada para el secado rápido de una solución concentrada por exposición a una atmosfera climatizada, ya que el secado debe ocurrir en segundos, la fase líquida se atomiza primero para obtener una superficie máxima en contacto con el gas de secado. En procedimientos de liofilización puede ser producido un sólido vítreo, pero una diferencia importante reside en la posibilidad de producir partículas esféricas uniformes de tamaño deseado, de modo que el polvo obtenido presenta buenas propiedades de flujo.¹⁰
- E. A partir de una fase cristalina, por trituración y molienda:** la reducción del tamaño de partícula es un proceso muy común y a menudo uno de los últimos pasos durante la producción de productos farmacéuticos. También se pueden utilizar en otras etapas de desarrollo industrial y procesos de fabricación para producir deliberadamente sólidos no cristalinos e influir en sus propiedades y su comportamiento.¹⁰
- F. A partir de un solvato cristalino, por deshidratación / desolvatación:** en algunos casos tales tratamientos no son necesarios, ya que la deshidratación en sí, es obtenida por calentamiento, posiblemente a presión reducida, se puede emplear para inducir la formación de un sólido amorfo.¹⁰
- G. Sonoprecipitación:** el principio del funcionamiento de esta técnica se considera que es debido a la formación de burbujas, seguido de un colapso que libera ondas, las cuales chocan entre sí; junto con el cambio de temperatura y presión se lleva a cabo la nucleación. Las ondas ultrasónicas causan una nucleación más rápida y uniforme, el tiempo de inducción se reduce significativamente y el tamaño de partícula es más uniforme.¹¹

2.2 Ventajas y desventajas de los sólidos amorfos

➤ Ventajas

Una de las principales ventajas de la incorporación de amorfos sólidos en el área farmacéutica es que no se requiere de procesos endotérmicos para superar la energía reticular necesaria para perturbar o destruir la estabilidad de la disposición de cristal, lo que repercute en que las formas amorfas presenten una velocidad de disolución más rápida con respecto a las cristalinas, modificando a su vez su biodisponibilidad. Un claro ejemplo es el caso Ritonavir, fármaco de solubilidad muy baja y que prácticamente no está

disponible en el estado cristalino. Los formuladores trabajaron con la fase amorfa, mejorando con ello la solubilidad y la biodisponibilidad. El enfoque de esta formulación ha representado grandes beneficios, tanto comercialmente como para el paciente, permitiendo contar con un nuevo antiretroviral ampliamente usado en el tratamiento del VIH. Aun cuando se ha cuestionado la estabilidad de esta forma, ésta puede conservarse en condiciones bien controladas por lapsos amplios.¹²

Las técnicas empleadas para la preparación de fármacos en estado amorfo implican generalmente una reducción del tamaño de partícula, lo cual favorece aún más el aumento de la velocidad de disolución.¹³

➤ **Desventajas**

El sólido amorfo puede ser caracterizado por su baja estabilidad física y su fácil transformación al estado cristalino, llamada recristalización.

La estabilidad de un sólido amorfo depende de una fuerza impulsora termodinámica que se determina por la diferencia de energía libre entre el sólido amorfo y el sólido cristalino, así como factores cinéticos que pueden incluir la temperatura y la humedad.

Su pobre estabilidad física es un obstáculo importante para los científicos de formulación, ya que deben asegurar un producto adecuado, vida útil y rendimiento del producto, lo cual puede ser alterado por la re cristalización.¹⁴

Cabe destacar que el inicio del proceso de recristalización es lento, con el fin de ser irrelevante dentro del tiempo de almacenamiento de un producto, aunque una comprensión de la naturaleza y la caracterización del comportamiento de la transición es esencial con el fin de mejorar la estabilidad.¹⁵

2.3 Técnicas de caracterización

Los dos métodos más empleados para evaluar la ausencia de cristalinidad en un sólido son la microscopía óptica y la Difracción de Rayos X de polvos. Para la futura caracterización de los sólidos amorfos, muchas otras técnicas se pueden usar como: Resonancia Magnética Nuclear del estado sólido, Espectroscopia de Infrarrojo y Calorimetría Diferencial de Barrido.¹⁶

- **Difracción de rayos X (XRDP)**

Es un fenómeno físico que se produce al interaccionar un haz de rayos X, de una determinada longitud de onda, con una sustancia cristalina. La difracción de rayos X se basa en la dispersión coherente del haz de rayos X por parte de la materia y en la interferencia constructiva de las ondas que están en fase y que se dispersan en determinadas direcciones del espacio. El fenómeno de difracción puede describirse con la Ley de Bragg, que predice la dirección en la que se da interferencia constructiva entre haces de rayos X dispersados por un cristal.¹⁷

- **Calorimetría diferencial de barrido (DSC)**

Es una técnica experimental dinámica que permite determinar la cantidad de calor que absorbe o libera una sustancia, cuando es mantenida a temperatura constante, durante un tiempo determinado, o cuando es calentada o enfriada a una velocidad constante, en un determinado intervalo de temperaturas.^{17,18}

- **Espectroscopía de infrarrojo (IR)**

Es sumamente útil para determinaciones cualitativas de compuestos orgánicos y para deducir estructuras moleculares a partir de los grupos funcionales de compuestos orgánicos. Puede usarse para la identificación de sustancias puras o para la absorción, localización e identificación de impurezas. Esto debido a que cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, la vibración intermolecular con frecuencia igual a la de la radiación, aumenta en intensidad, lo que genera señales con frecuencias que corresponden a la vibración de un enlace específico.¹⁹

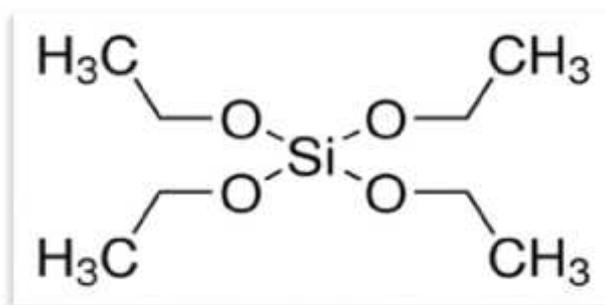
2.4 Proceso sol-gel

El proceso sol gel es un método de síntesis, el cual permite la obtención de partículas finas de tamaño uniforme, con un esqueleto de óxido, a partir de precursores moleculares, como son los alcóxidos metálicos, por medio de reacciones químicas como hidrolisis y condensación polimérica, a bajas temperaturas.

Un sol es una suspensión coloidal de partículas en un líquido, y un gel es una sustancia que tiene un esqueleto sólido o tridimensional continuo que encierra una fase dispersa líquida, dicha continuidad le brinda elasticidad al gel.

Los alcóxidos metálicos que van a fungir como precursores en el proceso sol-gel, forman parte de la familia de los compuestos metal-orgánicos. Probablemente el ejemplo más estudiado es el tetra etil orto-silicato (TEOS, Figura 3), una característica muy importante de la polimerización del TEOS, es la competencia que existe entre los procesos de hidrolisis, condensación y separación de fases.

Figura 3: estructura del TEOS



Durante el proceso sol-gel, básicamente se describen cuatro etapas (Figura 4):

1. Desarrollo de la disolución coloidal de precursores.
2. Gelificación de la disolución por diferentes técnicas: envejecimiento, cambio de la concentración, adición de un electrolito desestabilizante.
3. Secado.
4. Calcinación.

Figura 4: procesos sol-gel



Existen muchas variables que influyen en el proceso sol-gel, una de ellas es la velocidad con la que se lleve a cabo la hidrólisis, que va a modificar la velocidad de condensación afectando el resultado del proceso. Al trabajar en específico con TEOS, cuando este ha sufrido una primera hidrólisis, pueden ocurrir diferentes situaciones:

- Conducir a una segunda hidrólisis,
- Reaccionar con otros monómeros para producir un dímero, y/o
- Precipitar para formar una fase separada (generalmente en forma de partículas coloidales),

El que ocurra un proceso u otro estará gobernado por las cinéticas y termodinámica de los procesos que compiten.²⁰

En este proceso, antes de que ocurra la gelificación de la solución coloidal, se incorpora el fármaco disuelto, para que este quede encapsulado dentro del material cerámico; la única condición es que el fármaco no se degrade en cualquiera de las etapas de formación de las matrices sol-gel.

Hasta la fecha no se han desarrollado matrices sol-gel de glibenclamida. Sin embargo, partiendo del hecho de la baja solubilidad del fármaco, es necesario plantear estrategias que permitieran mejorar su solubilidad para poder incorporar el fármaco en la cantidad adecuada en su fabricación.

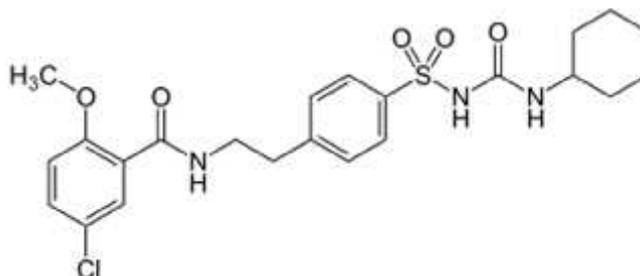
2.5 Glibenclamida

Nombre sistemático: 5-cloro-N-(2-{4-[(ciclohexilcarbamil)sulfamoil]fenil}etil)-2-metoxibenzamida.

Formula molecular: $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$.^{11,12} (Figura 5)

Peso molecular: 494.00 g/mol

Figura 5: estructura química de la glibenclamida



Sólido cristalino. Color blanco. pKa de 5.3. Soluble en disolventes orgánicos.

Esta molécula tiene una solubilidad de 4 µg/mL en agua a pH 3, de 600 µg/mL a pH 9 y de 3 mg/mL en etanol. Posee un punto de fusión de 169-170 °C¹⁴, y se reporta otro punto de fusión (cuando se cristaliza de metanol) de 172-174 °C.

2.5.1 Características

La glibenclamida es un fármaco sólido, de origen sintético, perteneciente a la familia de las sulfonilureas de segunda generación, es un hipoglucemiante oral de los más potentes utilizado en el tratamiento de los pacientes con *Diabetes Mellitus* tipo II.²¹

Este compuesto pertenece al tipo II en el Sistema de Clasificación Biofarmaceutica (BCS), lo que indica que posee una alta permeabilidad, pero una baja solubilidad en agua, por lo que los métodos de cuantificación aplicados a la disolución son basados en mezclas con disolventes.²²

Farmacocinética: se administra oralmente y es rápida y completamente absorbida en el tracto digestivo. El comienzo del efecto hipoglucemiante se manifiesta en las primeras dos horas, alcanzando su máximo a las 3-4 horas.

Tiene una vida media de 5 a 10 horas, se une a proteínas plasmáticas en un 99%, el volumen de distribución es de 0.14 a 0.16 L/Kg, los metabolitos son 4-trans-hidroxiglibenclamida y 3-cis-hidroxiglibenclamida ambos débilmente activos, se excreta en la orina un 50% y en la bilis el otro 50%.^{23, 24}

2.5.2 Polimorfismo de la glibenclamida

Numerosas investigaciones demostraron que la mayoría de las sustancias sólidas de interés farmacéutico exhiben polimorfismo. Los polimorfos de un mismo compuesto puro tienen distintas propiedades físicas, lo cual cambia el comportamiento del fármaco. Las diferencias también involucran propiedades espectroscópicas, cinéticas, termodinámicas y mecánicas. Se han reportado diversos polimorfos para la glibenclamida (Tabla 1).

Tabla 1: propiedades físicas de las diferentes formas de la glibenclamida^{20, 25, 26}

Polimorfo	Estructura cristalina	Temperatura de fusión °C	Solubilidad a 37°C (mg/100 mL)
IV	Monoclínica centrada en la base	168.5	2.6 ⁺
III	Monoclínica simple	169.3	--
II	Ortorrómbica	171.7	1.06
I	Triclínica simple	172.7	0.66
Amorfo	---	---	1.73 ⁺
Solvato de cloroformo		174.4 109.3 [*]	--

* Temperatura de desolvatación, + solución de fosfatos a pH 7.4

En los datos anteriores, la glibenclamida presenta una mayor solubilidad en el estado amorfo comparado con las demás formas cristalinas, por lo que es importante el evaluar el comportamiento de este sólido y comprobar si es apto para incorporarlo en los monolitos sol-gel.

3. Planteamiento del problema

La glibenclamida es uno de los fármacos hipoglucemiantes más potentes utilizado en el tratamiento de *Diabetes Mellitus* tipo 2.^{21, 22} Este compuesto presenta baja solubilidad en agua, pero al contar con un estado amorfo, se pueden aprovechar las propiedades que posee este estado, optimizando su uso en sistemas de liberación modificada.²⁷

Se han buscado alternativas viables de dosificación en sistemas de liberación modificada, entre ellos se busca probar la tecnología sol-gel como una alternativa. Sin embargo, esta tecnología requiere incorporar al fármaco en solución, por lo que es necesario conocer si ¿Se podrá incorporar mayor cantidad de glibenclamida en estado amorfo, en las matrices poliméricas obtenidas por medio de la técnica sol-gel?

4. Objetivo general

Establecer si el sólido amorfo de la glibenclamida permitirá su mejor y mayor incorporación en las matrices poliméricas sol-gel fabricada a partir de TEOS.

4.1 Objetivos específicos

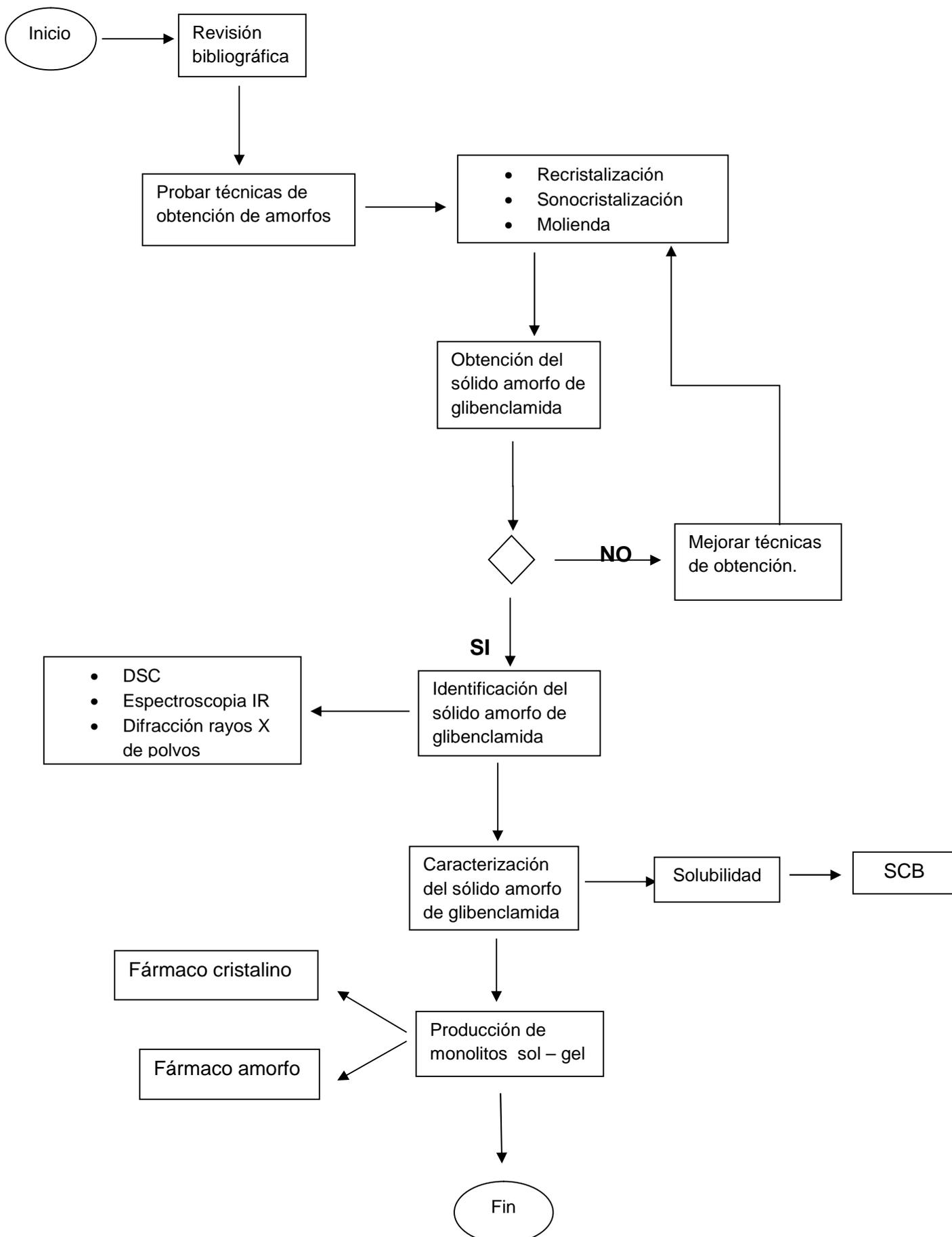
- 1) Obtener el sólido amorfo de la glibenclamida
- 2) Caracterizar el sólido amorfo de glibenclamida por espectroscopia IR, DSC y difracción de rayos X de polvos.
- 3) Determinar la solubilidad del sólido amorfo de glibenclamida con el método de SCB.
- 4) Producir las matrices poliméricas por el método de sol-gel con amorfo y con un sólido cristalino de glibenclamida, para comparar si difieren en su capacidad de incorporación.
- 5) Determinar la cantidad de sólido amorfo que puede incorporarse en las matrices poliméricas sol-gel.



5. Hipótesis

Debido a las características de solubilidad que poseen los sólidos amorfos, se espera que al obtener el amorfo de la glibenclamida esté presente una mayor solubilidad y por lo tanto se pueda incorporar mayor cantidad del sólido en las matrices poliméricas sol-gel.

6. Metodología



6.1 Material

6.1.1 Reactivos

Reactivo	Fabricante	Lote
Glibenclamida	Química Alkano	EGAA-B-B0008
Metanol	J. T. Baker	9070-03
Etanol	J. T. Baker	9000-03
Cloroformo	J. T. Baker	9180-02
Acetona	J. T. Baker	9006-02
Fosfato Monobásico de Potasio	J. T. Baker	B14C13
Fosfato Dibásico de Potasio	J. T. Baker	G13C22
Ácido Fosfórico	J. T. Baker	506309
Ácido Clorhídrico	J. T. Baker	209353R
Hidróxido de Sodio	J. T. Baker	7680-04
Metanol _{CLAR}	TSQ Tecsiquim	Tec-042-NB-H
Ácido octanoilsulfónico	SIGMA ALDRICH	68H5445
Acetonitrilo _{CLAR}	TSQ Tecsiquim	Tec-316-NK-H
Tetra-etil-orto-silicato	J. T. Baker	V492-09
Felodipino	Kener S.A de C.V	E0059505
Agua destilada	---	---

6.1.2 Material de vidrio

Material	Capacidad (mL)
Vasos de precipitados	1000, 500, 250, 100, 150, 50, 10
Matraz aforado	250, 100, 25, 10
Pipeta graduada	10, 5, 2
Matraz Erlenmeyer	250, 125
Matraz kitazato	50
Probeta	500, 250, 100, 50, 10
Tubo de ensaye	13x100
Termómetro	-10°/400°C
Viales para HPLC	2
Pipetas Pasteur	150 mm
Matraz de tres bocas	250

6.1.3 Equipo e instrumentos

Equipo e instrumento	Marca	Modelo
Calorímetro	Perkin Elmer	7/DX
Estufa	Lab-line Instruments Inc.	3620
Sonicador	Branson	3800
Balanza analítica	Ohaus	EP214C
Balanza granataria	Ohaus	07932
Microbalanza	Mettler	MT5
Congelador	VWR	55700-386
Potenciómetro	Hanna Instruments	H12210
HPLC	Hitachi Primade	1410
• Detector		1210
• Automuestreador		1110
• Bomba	Phenomenex	---
• Columna		---
Bomba de vacío	WEQ	N-25360EIXA56J
Molino	Hamilton- Beach	FC07
Placa de agitación y calentamiento	Termolyne	CIMAREC
Durómetro	Van Der Kamp	VK200
Estereoscopio	Flash Chemicals	ES-24
Reóstato	Variable Autotransformer	TYPE-2PF1010
Canastilla	---	---
Millipore	Milli-Q	QFARDOOR1
Termómetro	Brannan	---
Micropipeta	---	---
Equipo de filtración para HPLC	Millipore	Holder47MM CP75NO247 CP8AN4787 CP7PN236
• Vaso		
• Pinzas de resorte		
• Base y tubo		

6.1.4 Material extra

Aceite mineral
Arena
Sal de mesa
Vasos de acero inoxidable 100 mL
Charola de acero
Soporte universal
Pinzas de doble presión
Pinzas de tres dedos
Jeringas 5 mL
Filtros MILLEX membrana de nylon 45µm
Adaptador para termómetro
Crisoles para calorímetro
Mortero con pistilo
Puntas para micropipeta
Pinzas para calorímetro
Espátula y microespátula
Mangueras para vacío
Gradilla
Desecador
Embudo boca ancha y tallo corto

6.2 Metodología

➤ Obtención del sólido amorfo de glibenclamida

- Anti solvente

Se pesó 1 g de glibenclamida y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 125 mL, se adicionó la cantidad necesaria de etanol, para disolver el fármaco, aplicando calentamiento y agitación mecánica.

Se realizó lo mismo con diferentes disolventes (metanol, cloroformo y acetona).

Por otra parte, se enfrió agua desionizada hasta que alcanzó la temperatura de 5 °C.

Una vez disuelta la glibenclamida en los 4 disolventes utilizados se agregó el agua fría hasta que se observó que la solución se pusiera turbia, se colocó esta solución en un baño de hielo con ultrasonido durante unos minutos para favorecer la precipitación del sólido. Se filtró la solución al vacío y se colocaron los cristales en una estufa durante 24 horas a una temperatura de 70 °C.

- Evaporación

Se pesó 1 g de glibenclamida y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 125 mL, se adicionó la cantidad necesaria de etanol, para disolver el fármaco, aplicando calentamiento y agitación mecánica (se realizó por duplicado).

Se hizo lo mismo con diferentes disolventes (metanol, acetona y cloroformo).

Una vez disuelta la glibenclamida se dejó calentando a 70 °C con agitación hasta que se evaporó la mitad del disolvente empleado, (si se podía, se evaporaba un poco más la cantidad del disolvente). Se enfrió la mitad de las muestras en un baño de hielo a -10 °C y la otra mitad en un baño de hielo a 0 °C, hasta observar la precipitación del sólido. Se filtró la solución al vacío y se colocaron los cristales en una estufa por 24 horas a una temperatura de 70 °C.

- Sonocristalización

Se pesó 1 g de glibenclamida y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 125 mL, se adicionó la cantidad necesaria de etanol, para disolver el fármaco, aplicando calentamiento y agitación mecánica.

Se realizó lo mismo con diferentes disolventes (metanol, acetona y cloroformo).

Por otro lado, se preparó un baño de hielo, agua y sal en baño de ultrasonido obteniendo una temperatura aproximada de -1 a -5 °C, en el cual se encontraban sumergidos vasos de precipitados de acero inoxidable de 150 mL.

Una vez que se solubilizó la glibenclamida en el disolvente correspondiente, se vertió la solución a uno de los vasos de acero inoxidable que se encontraban en el baño. Se dejaron las muestras durante una hora en el baño de agua con ultrasonido. Se sacaron las muestras del baño y se filtraron al vacío. Se secaron los cristales en una estufa durante 24 horas a una temperatura de 70 °C.

- Molienda

Se pesaron 10 g de glibenclamida, se colocaron en un molino y se trituró durante 0, 15, 30 y 60 min; se tomó una muestra de 3-5 mg de cada tiempo las cuales fueron analizadas por DSC. La muestra que se obtuvo a los 60 min fue evaluada por XRDP.

- Vitrificación o enfriamiento

1. Fusión en placa:

Se pesó 1 g de glibenclamida, se colocó en un matraz Kitazato de 50 mL y se colocó en una placa de calentamiento a una temperatura aproximada de 175 °C durante unos minutos, aplicando vacío hasta que se observó que el sólido se fundiera por completo (se observó un líquido amarillo claro), se colocó el matraz con el sólido fundido en un baño de hielo (-18 °C) hasta que se solidificó.

2. Fusión en arena:

Se pesó 1 g de glibenclamida, se colocó en un matraz Kitazato de 50 mL; en una placa de calentamiento se preparó un baño de arena (en una charola de aluminio pequeña, se puso arena hasta la mitad), se colocó el matraz kitazato con glibenclamida y se calentó hasta que el sólido se fundiera por completo aplicando vacío (se observó un líquido amarillo claro). Una vez obtenida la glibenclamida fundida, se colocó el matraz en un baño de hielo (-18 °C) hasta que se solidificó.

3. Fusión en estufa

Se pesó 1 g de glibenclamida, se colocó en un vaso de precipitados de 50 mL; por otro lado, se calentó la estufa a 180 °C y una vez que se alcanzó la temperatura se metió el vaso de precipitado con la glibenclamida y se esperó a

que se fundiera el sólido, se sacó el vaso de la estufa y se colocó en un baño de hielo (-18 °C), hasta que se solidificó.

➤ **Análisis de las muestras**

- DSC

El equipo se calibró utilizando la fusión de indio, que es un elemento de alta pureza con un punto de fusión de 158 °C

Para el análisis de las muestras, se tomaron de 3-5 mg de todas las muestras obtenidas por las técnicas anteriores, las muestras se pesaron en un crisol de aluminio para calorimetría, se realizó el estudio bajo una atmósfera de nitrógeno, con una velocidad de calentamiento 5°/min, en un rango de temperatura de 20 a 250 °C.

Una vez que se obtuvieron los resultados de los análisis de calorimetría de las muestras de todas las técnicas, se determinó cual fue la mejor para obtener el sólido amorfo.

Se escaló la producción de amorfo a 10 g, de los cuales se tomó una muestra para que fuera evaluada por XRDP, por IR y DSC para hacer la identificación del sólido amorfo.

Los análisis de XRDP y de IR se realizaron en laboratorios externos para los cuales fueron requeridos 100 mg de la muestra por análisis.

- IR

Cada muestra fue mezclada y comprimida en una tableta de bromuro de potasio. Se hizo un barrido en el intervalo de los 4000 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 todas las señales correspondientes a los principales grupos funcionales, las señales y su similitud de la región de la huella dactilar (1600 a 600 cm^{-1}), así como las diferencias de intensidad relativa de las señales dentro de cada espectro.

- XRDP

Cada muestra fue colocada en el Difractómetro Rigaku Ultimar IV y se hizo un barrido angular en el intervalo 2° a 35° de la variable 2θ , a una velocidad de $1.0^\circ/\text{min}$. Los espectros de difracción obtenidos fueron analizados con el programa Evaluation 1.1, de la paquetería Diffrac Plus 2005. La información de los picos obtenidos se confrontó con la base de datos PDF 2 de la ICDD.

➤ **Caracterización del sólido amorfo**

Se determinó la solubilidad del sólido amorfo obtenido por el método de SCB.

- Sistema de Clasificación Biofarmacéutica

Se preparó 1 L de las soluciones amortiguadoras de fosfatos a pH 1, 4.3, 5.3, 6.3 y 7.5 de acuerdo con la ecuación de Henderson- Hasselbalch. (Anexo 1)

Se pesaron 100 mg del amorfo de glibenclamida y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se agregaron 250 mL de la solución amortiguadora de fosfatos correspondiente; este paso se realizó por triplicado con pesadas independientes para cada pH.

Se colocaron las muestras en un baño con ultrasonido durante 30 min, posteriormente se tomó una muestra de 0.75 mL y se agregó en un vial el cual contenía 0.75 mL de metanol grado CLAR ($\text{MeOH}_{\text{CLAR}}$). El resto de la muestra se filtró con filtros de nylon de $0.45 \mu\text{m}$; se tomó una muestra de 0.75 mL de la solución filtrada y se colocó en un vial que contenía 0.75 mL de $\text{MeOH}_{\text{CLAR}}$. Se analizaron las muestras por CLAR. (Anexo 2)

- ✓ Condiciones establecidas para el método de solubilidad Biofarmacéutica por CLAR.

1. HPLC Hitachi Primade
2. Columna C8(2)100A, tamaño 150x4.60mm, luna 5μ
3. Detector UV a 254 nm
4. Velocidad de flujo de 2.2 mL/ min
5. Volumen de inyección 95 μL
6. Tiempo de corrida 5 min
7. Fase móvil fosfatos pH 3.5:acetonitrilo (45:55) (Anexo 2)

➤ **Producción de monolitos por el método sol-gel**

- Preparación de las soluciones

✓ Ácido clorhídrico (HCl) 1 M

En un vaso de precipitados de 100 mL limpio, se agregaron 20 mL de agua desionizada y posteriormente 3 mL de HCl concentrado, se adicionó la cantidad de agua restante hasta que se aforó a 100 mL y se agitó la solución.

✓ Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1M

En un vaso de precipitados de 100 mL limpio, se agregaron 0.4 g de NaOH y se aforó hasta la cantidad de 100 mL con agua desionizada, se agitó la solución hasta que se disolvieran por completo el hidróxido de sodio.

- Preparación de las matrices sol-gel

Se agregó a un matraz de 3 bocas, 50 mL de tetra-etil-orto-silicato (TEOS), 50 mL de etanol absoluto, 4 mL de agua desionizada y 0.16 mL de HCl 1 M; se mezcló con agitación mecánica constante y calentamiento con ayuda de una canastilla conectada a un reóstato, verificando que la temperatura alcanzara los $90^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$ (se midió la temperatura con un termómetro de inmersión parcial colocado dentro del matraz). El sistema se mantuvo cerrado y en agitación durante 1.5 h.

Una vez que se cumplió el tiempo de reacción, se adicionaron 4 mL de agua desionizada y 10 mL de HCl 1 M, se retiró la mezcla del calentamiento y se mantuvo con agitación constante hasta que la temperatura alcanzó los 30°C .

✓ Preparación de monolitos con el fármaco solubilizado

En un vaso de precipitados de 100 mL, se depositó la cantidad correspondiente del sólido amorfo de glibenclamida (25, 50, 75 y 100 mg) con 10 mL de etanol absoluto, se colocó la mezcla en un baño con ultrasonido durante 30 min.

Posteriormente se agregaron 25 mL de sol, preparado en la etapa previa, y se mantuvo en agitación mecánica durante 30 min.

Transcurrido ese tiempo se llevó a cabo la reacción de condensación con hidróxido de sodio 0.1 M en una proporción 2:1

En un vaso de precipitados de 10 mL, se mezcló manual y vigorosamente 2 mL de sol cargado con fármaco con 1 mL de hidróxido de sodio 0.1 M;

inmediatamente se llenó una pipeta Pasteur y se transfirió el volumen a otra pipeta Pasteur con la punta sellada. Se procedió a realizar los dos pasos anteriores hasta terminar con la mezcla de sol cargado.

Se realizó el mismo procedimiento para las 4 concentraciones del sólido cristalino de la glibenclamida.

✓ Secado de monolitos

Las pipetas preparadas se colocaron en un vaso de precipitados previamente etiquetado y se colocaron en la 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 de la estufa, se colocaron los monolitos en un desecador, se llevó a cabo la valoración y determinación de dureza de estos; las muestras que se obtuvieron para realizar la prueba de dureza se observaron con un estereoscopio para hacer la descripción de los mismos. Los lotes de monolitos fueron fabricados por duplicado.

- Valoración de los monolitos sol-gel

✓ Preparación de soluciones

Estándar interno: 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) contiene 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 contienen 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de glibenclamida y 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de felodipino.

✓ Extracción

De cada lote triturado, uno por vez, se pesaron 250.0 ± 1.0 mg y se transfirieron a un matraz volumétrico de 25 mL, al cual además se agregaron 3 mL de la solución 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 MeOH_{CLAR}.

✓ Diluciones

Del matraz anterior se tomaron aproximadamente 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 y se llevó a volumen con MeOH_{CLAR}.

✓ Análisis

La solución anterior y las soluciones de referencia fueron analizadas empleando las condiciones descritas en la parte de solubilidad biofarmacéutica y en el Anexo 2 e inyectando 25 µL de éstas durante un tiempo de corrida de 6 min.

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) reportando el promedio y el CV.

- Determinación de dureza de los monolitos sol-gel

✓ Obtención de las muestras

De los monolitos obtenidos, se separaron 10 muestras de cada concentración de fármaco. Estas muestras debían tener aproximadamente 1.5-2 cm de largo. En caso de que los monolitos se hayan fracturado, se seleccionaron los trozos más grandes.

Se colocaron las muestras en el durómetro una por una para medir la dureza, se anotaron los valores que el equipo dio. Se realizó la prueba de dureza por sextuplicado de cada concentración de fármaco.

Se reportó el promedio de la dureza de cada concentración de fármaco y el CV.

7. Resultados y Análisis

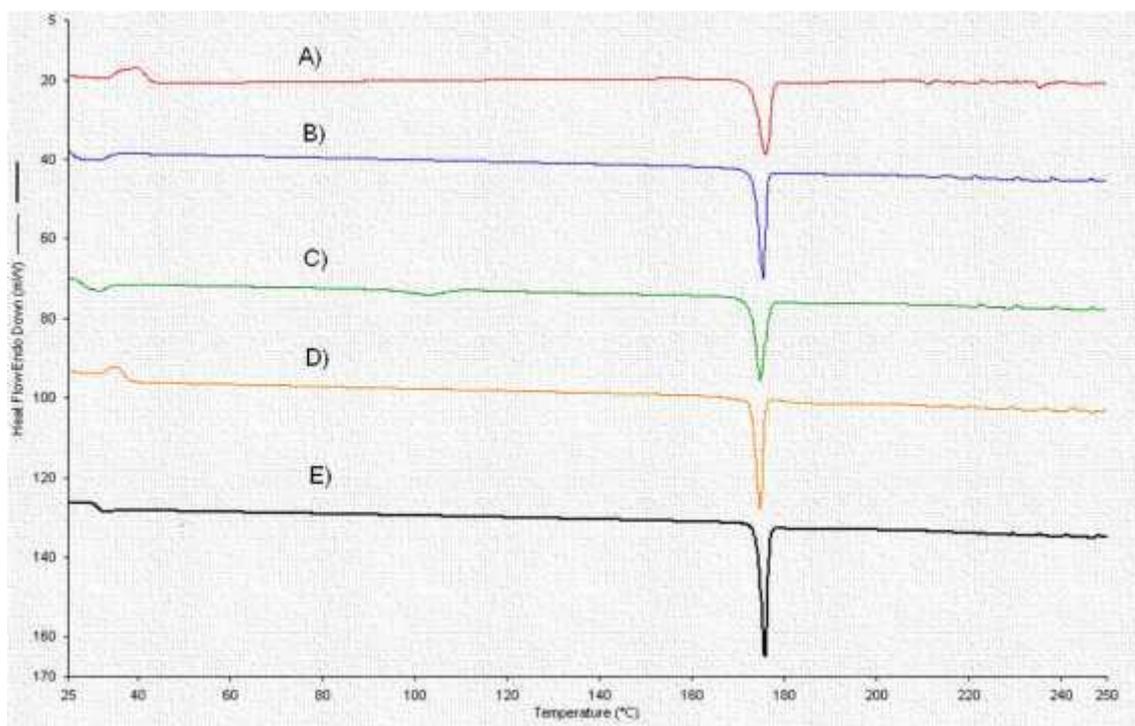
➤ Obtención del sólido amorfo de glibenclamida

Se probaron diferentes técnicas para la obtención del amorfo y estas muestras fueron evaluadas por CDB.

• Anti solvente

La muestra A en la Figura 6 corresponde a la materia prima de glibenclamida y las muestras B, C, D y E corresponden a los cristales obtenidos con acetona, cloroformo, etanol y metanol, respectivamente.

Figura 6: CDB, comparación de los termogramas de la técnica de anti solvente.



En esta técnica lo que se obtuvo es la purificación del sólido cristalino de la glibenclamida, pero no se logró obtener el sólido amorfo; esto se puede corroborar con la forma de los picos de fusión de las muestras B, C, D y E, los cuales son muy estrechos y los puntos de fusión se encuentran entre los 174.8° y 176° C en comparación con la materia prima la cual tiene un punto de fusión de 176.17°C y su pico de fusión es más ancho; las señales que se encuentran

después de los 210° C no son significativas, pero corresponden a contaminación de la materia prima.

- **Evaporación**

La muestra A en las Figuras 7 y 8 corresponde a la materia prima y las muestras B, C, D y E son de los cristales obtenidos con acetona, cloroformo, etanol y metanol, respectivamente, utilizando dos temperaturas de enfriamiento.

Figura 7: CDB, termogramas de la técnica de evaporación con enfriamiento a los 0 °C.

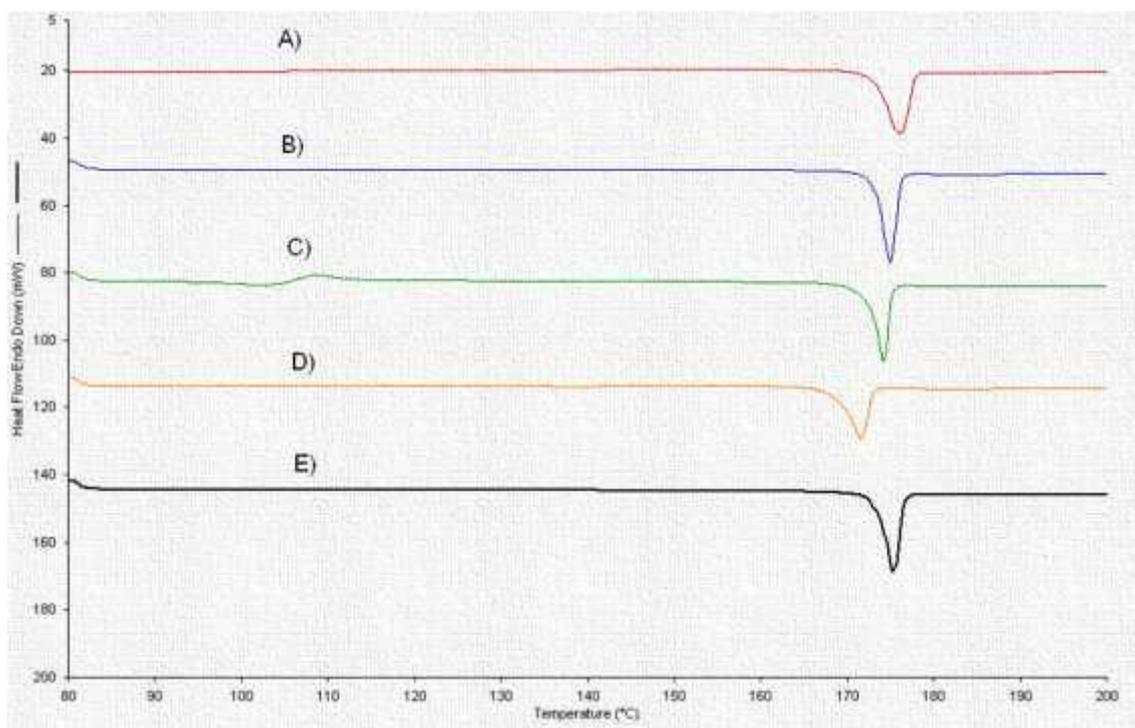
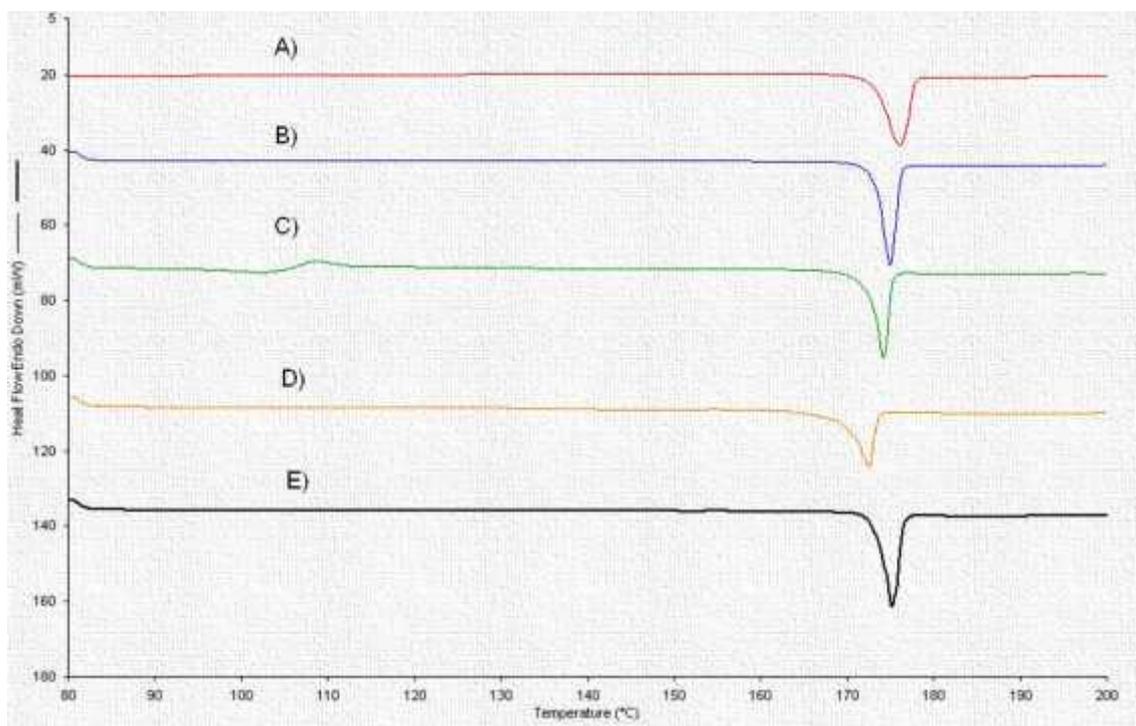


Figura 8: CDB, termogramas de la técnica de evaporación con enfriamiento a los -10 °C.

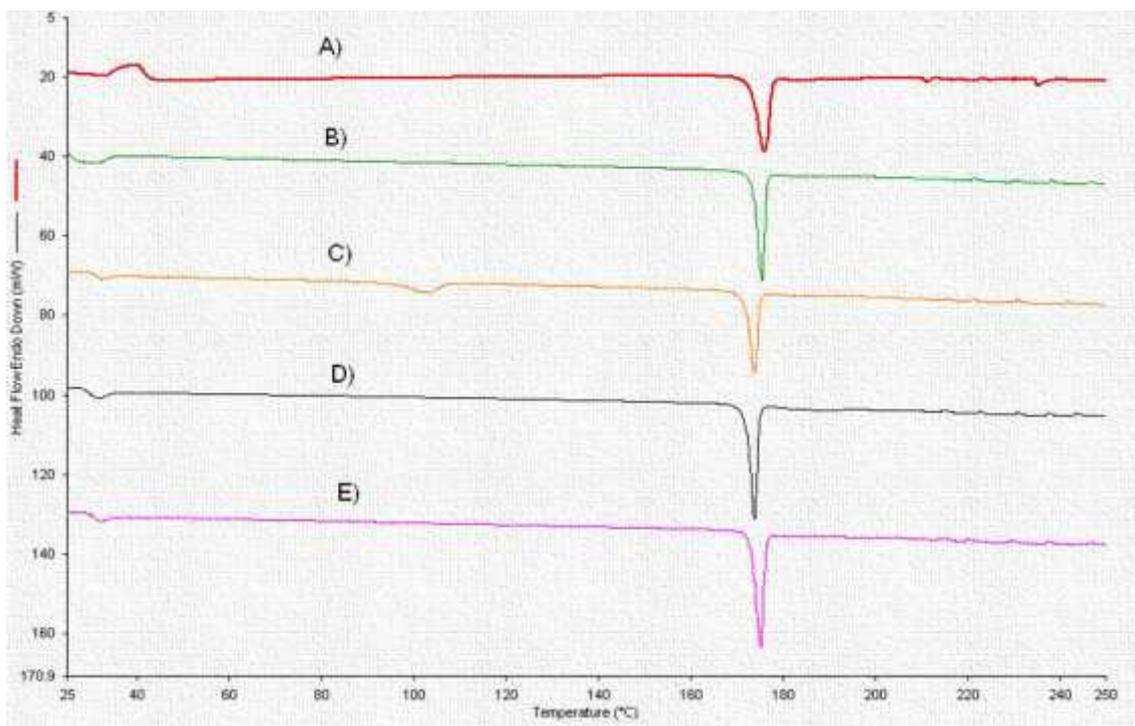


En esta técnica lo que se observa es que los puntos de fusión varían entre 173 y 179 °C, el cual es un rango de fusión más amplio en comparación con la técnica de antisolvente, además de que los picos de fusión son más anchos, por lo que esta técnica no fue la adecuada para obtener el sólido amorfo de la glibenclamida.

- **Sonocrystalización**

La muestra A en la Figura 9 corresponde a la materia prima y las muestras B, C, D y E son de los cristales obtenidos de acetona, cloroformo, etanol y metanol respectivamente.

Figura 9: CDB comparación de los termogramas de la técnica de sonocrystalización.



En la técnica de sonocrystalización las ondas ultrasónicas causan una nucleación más rápida y uniforme, por lo que los cristales no tienen el tiempo suficiente para formar su estructura cristalina por lo que se esperaría la formación de estructuras amorfas.^{10, 11} En la Figura 9 se aprecian los termogramas de la técnica de sonocrystalización, con la cual no se pudo obtener el sólido amorfo, contrario a lo reportado en la literatura. Los picos de fusión son más estrechos en comparación con el pico de fusión de la materia prima y los puntos de fusión de las muestras oscilan entre los 173 y 176 °C. En esta técnica al igual que en la técnica de antisolvente solo se pudo obtener la purificación de la glibenclamida.

- Molienda

Figura 10: CDB termograma de la técnica de molienda.

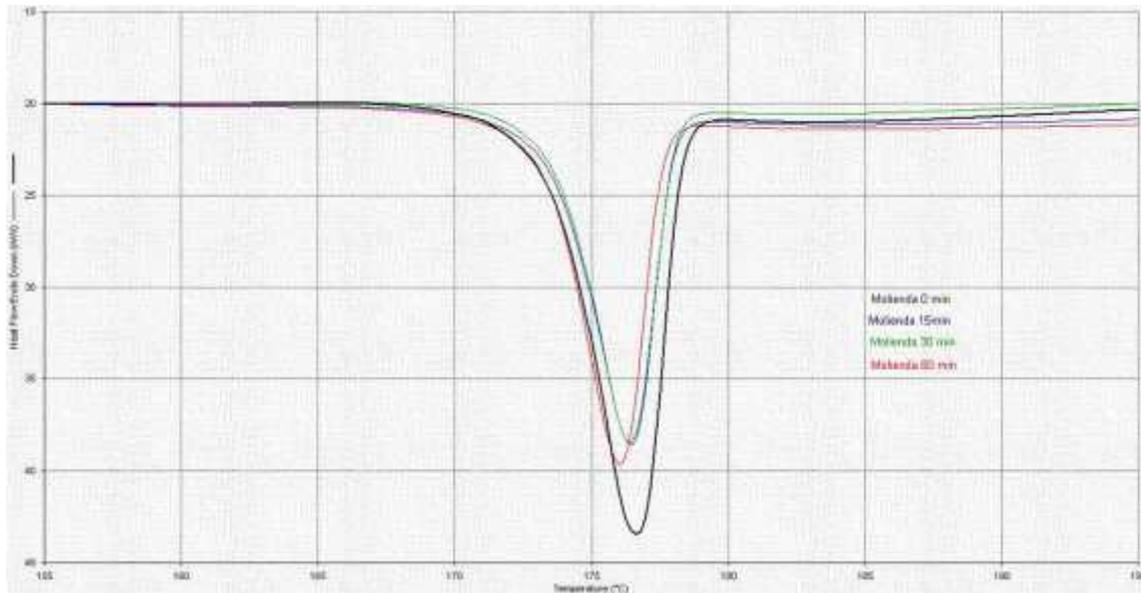
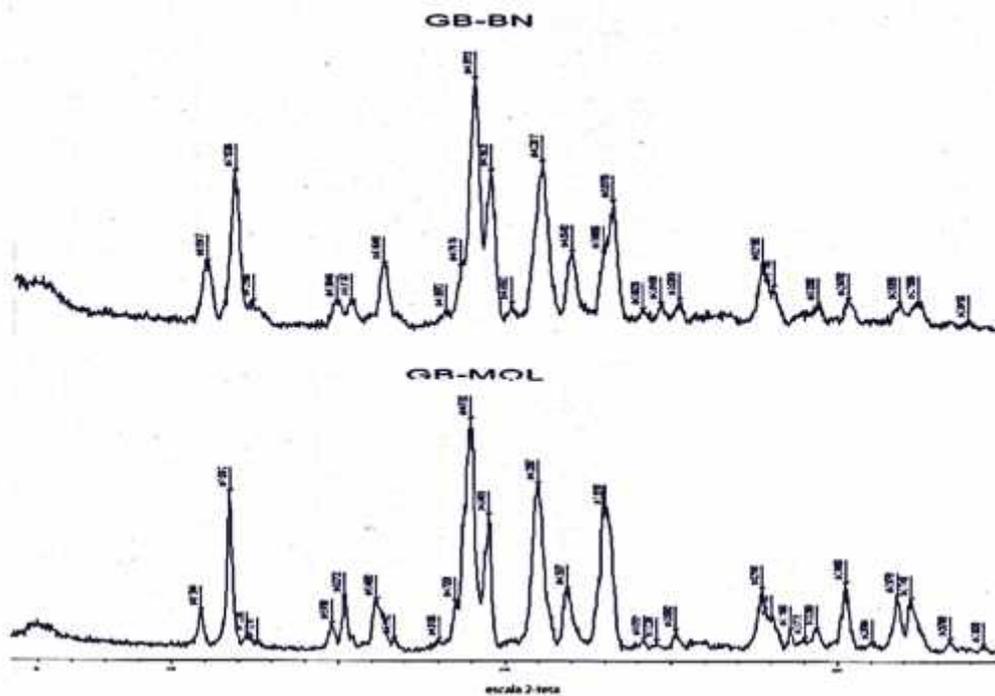


Figura 11: difractograma de la muestra de molienda a los 60 min.

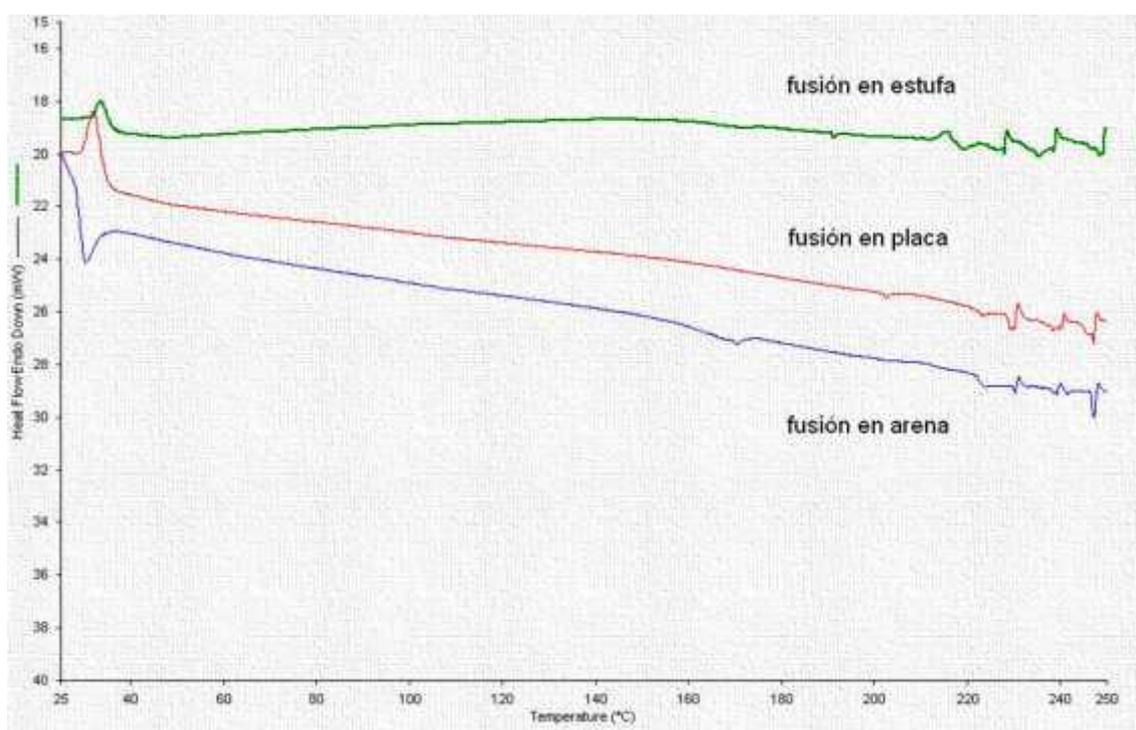


En la técnica de molienda se logró observar en el termograma de la Figura 10 que el pico de fusión de las muestras a los diferentes tiempos se va desplazando hacia la izquierda, lo que posiblemente se deba a la disminución del tamaño de partícula del sólido y no porque la muestra se esté amorfizando, contrario a lo que se encontró en el artículo de James Patterson³², el cual asegura que con 17.5 s de molienda se obtiene el sólido amorfo; esto es confirmado con el difractograma (Figura 11), ya que las señales de la muestra de molienda a los 60 min coinciden con las señales de la materia prima de glibenclamida, por lo que esta técnica también es descartada para la obtención del amorfo.

- **Vitrificación o enfriamiento**

Para realizar esta técnica se evaluaron tres condiciones para poder fundir la muestra de glibenclamida (fusión en placa, fusión en arena y fusión en estufa). En las cuales el principal objetivo era controlar lo mejor posible la temperatura de fusión para que esta no se elevara demasiado, además de que se aplicó vacío a las muestras para disminuir dicha temperatura y se pudiera evitar la degradación del fármaco.

Figura 12: CDB comparación de los termogramas de la técnica de fusión.



Esta técnica consta del enfriamiento de una fase fundida por debajo de su Tg vítrea sin pasar por la cristalización, por lo que la temperatura de enfriamiento es una condición importante para la formación del sólido amorfo, ya que no se le está dando el tiempo necesario para que cristalice adecuadamente.^{10,25,32} En la Figura 12 se observa una comparación de los termogramas de la técnica de fusión, en la que se nota que no aparece el pico de fusión a los 179 °C logrando la obtención del sólido amorfo de la glibenclamida, aunque no se puede apreciar la señal de Tg vítrea, la cual está reportada entre los 50°-60 °C²⁶; en esta también se observa una señal no muy significativa del producto de degradación alrededor los 212 °C y las señales que se aprecian después de los 220 °C se deben a la presencia de contaminación con materia orgánica en la muestra.

Con los resultados obtenidos por calorimetría se puede observar que la mejor técnica para obtener el sólido amorfo de glibenclamida es la técnica de fusión, aunque hacía falta determinar cuál de las tres condiciones era la idónea para obtener un mayor rendimiento y una menor degradación del fármaco, por lo que las muestras obtenidas por fusión se identificaron por medio de las técnicas XRDP, IR y cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)

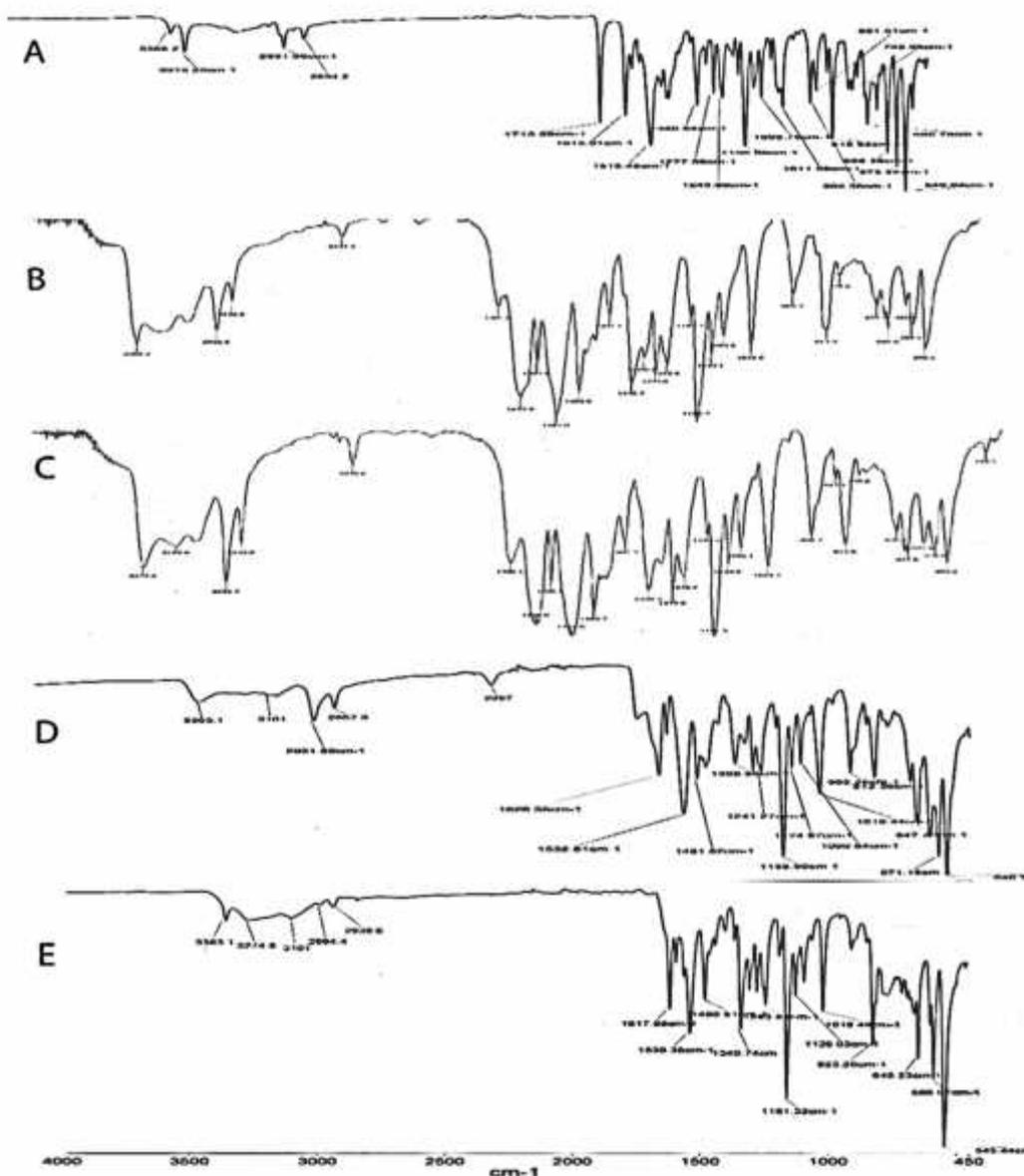
El análisis de las muestras del amorfo de la glibenclamida por Difracción de Rayos X en polvos (Figura 13) dio por resultado que en GB-BN las señales de los picos coinciden con los picos de difracción de la ficha 00-041-1691 de la estructura denominada gliburyde. En la muestra GB-FA se observaron señales de baja intensidad que no pudieron ser comparados, ya que estas señales se encuentran apantalladas por una señal de difracción no cristalina, aunque se pudo identificar que 2 de estas señales coinciden con la materia prima y las otras 2 con las señales del producto de degradación (GB-DEG), lo que indica que la muestra de amorfo obtenida contiene trazas de glibenclamida cristalina y del producto de degradación. Por otro lado las muestras GB-FP y GB-FA no presentaron difracción cristalina, solo un par de señales de baja intensidad que refieren a materiales no cristalinos. Por último, en la muestra GB-DEG se encontraron contribuciones cristalinas que no coinciden con la ficha 00-041-1691 de la base de datos; la incompatibilidad de estas señales se debe a que es el producto de degradación, el cual fue obtenido a partir de un calentamiento severo de la glibenclamida por arriba de los 180° C.

Con esta técnica de difracción de rayos X en polvos se pudo descartar la condición de fusión en arena para obtener el sólido amorfo, ya que la fusión en esta condición no es homogénea y por lo tanto la muestra está contaminada con trazas del sólido cristalino.

- **Espectroscopia IR**

La muestra A en la Figura 14 corresponde a la materia prima, las muestras B, C y D corresponden a las muestras obtenidas por la técnica de fusión y la muestra E pertenece al producto de degradación.

Figura 14: comparación de los espectros IR de la muestras de fusión

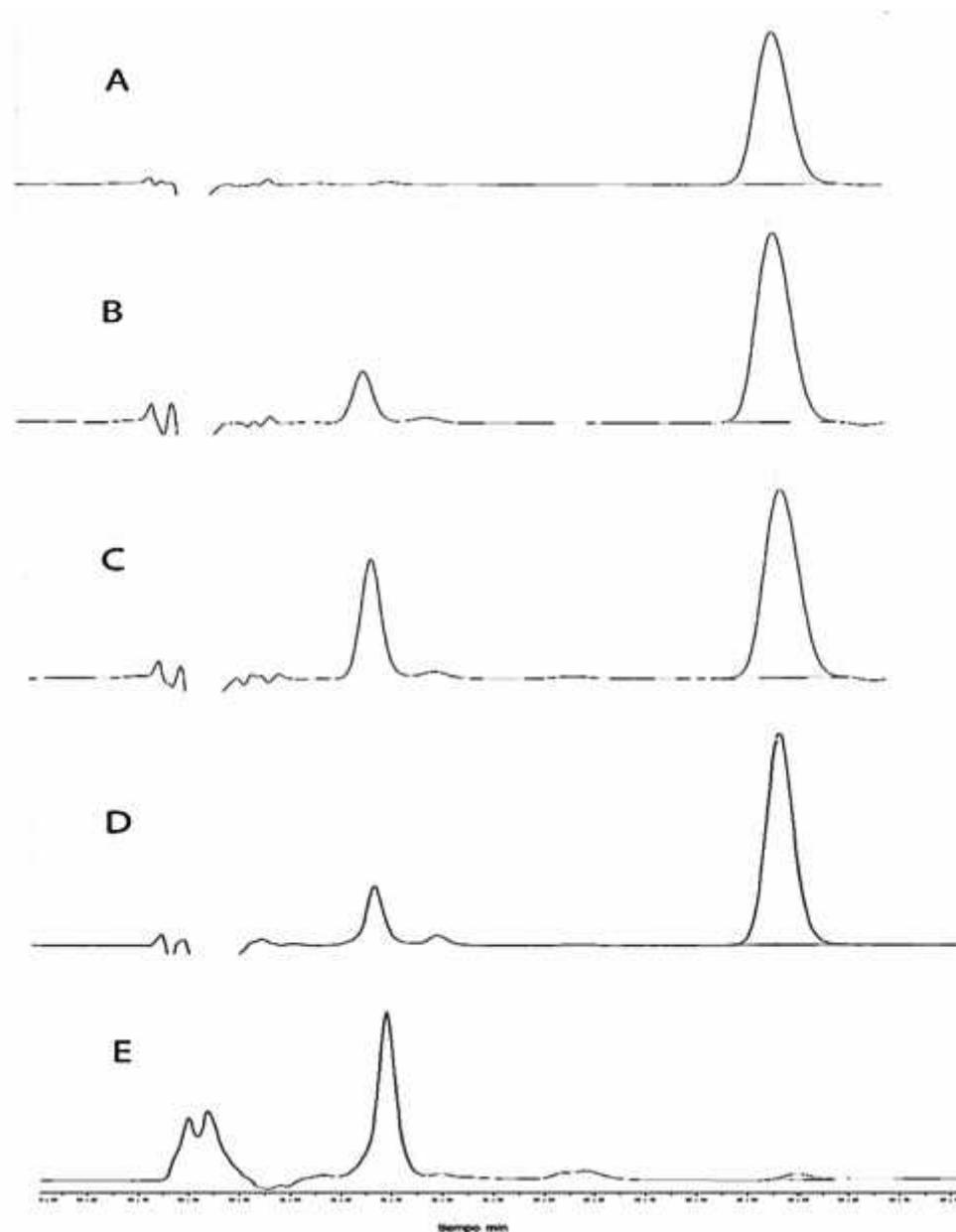


En el análisis de las muestras por IR (Figura 14) se observa que la señal de las ureas en la zona fundamental ($1300\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) de las muestra B), C) y D) es más ancha e inclusive se va perdiendo la forma característica de esta señal, en comparación con las señales de la muestra A); además, aparece una señal a los 2257 cm^{-1} la cual corresponde a la aparición del producto de degradación, que es confirmada en la muestra E). Esta señal está mucho más marcada en la muestra C) debido a la forma en cómo se obtuvo la muestra por calentamiento directo sobre la placa, por lo que con este análisis se puede descartar la condición de fusión en placa para obtener el sólido amorfo ya que la presencia del producto de degradación es más evidente.

- **Cromatografía Líquida de Alta Resolución**

La muestra A en la Figura 15 corresponde a la materia prima, las muestras B, C y D son las obtenidas por la técnica de fusión y la muestra E pertenece al producto de degradación.

Figura 15: cromatogramas de las muestras de fusión



El análisis por CLAR (Figura 15) muestra señales muy marcadas de la glibenclamida a los 2.6 min, aunque también se logra apreciar otra señal a los 1.4 min que corresponde al producto de degradación. También se pudo



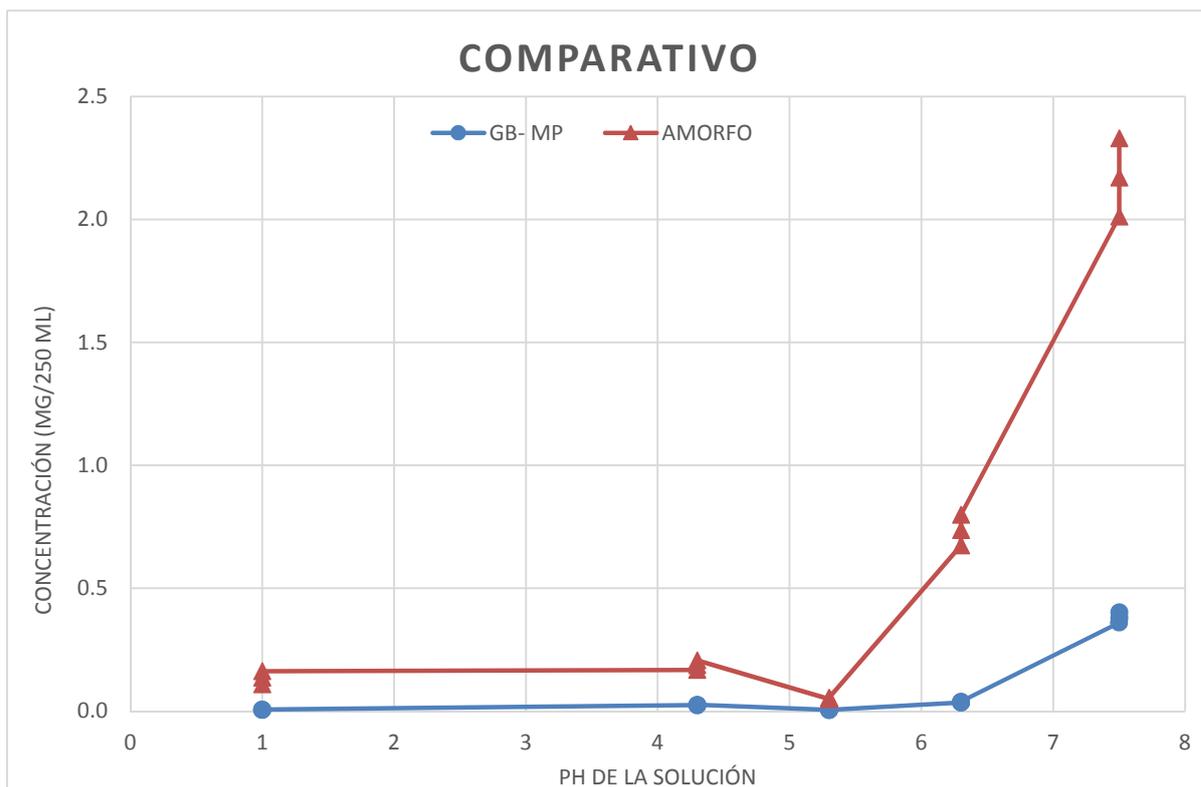
cuantificar la cantidad de amorfo la cual fue de 76 % para la muestra D) y en las muestras B) y C) solo se pudo obtener un 69 %. Con estos resultados se determinó que la mejor técnica para obtener el amorfo de glibenclamida con un rendimiento mayor al 70 % es la fusión en estufa, aunque la degradación se hace presente pero en una menor cantidad.

Una vez que se determinó cuál fue la mejor técnica para obtener el sólido amorfo, se realizó una producción a escala de 10 g de este, para realizar la caracterización y posteriormente la producción de los monolitos con la incorporación del amorfo.

➤ **Caracterización del sólido amorfo**

- Sistema de Clasificación Biofarmacéutica

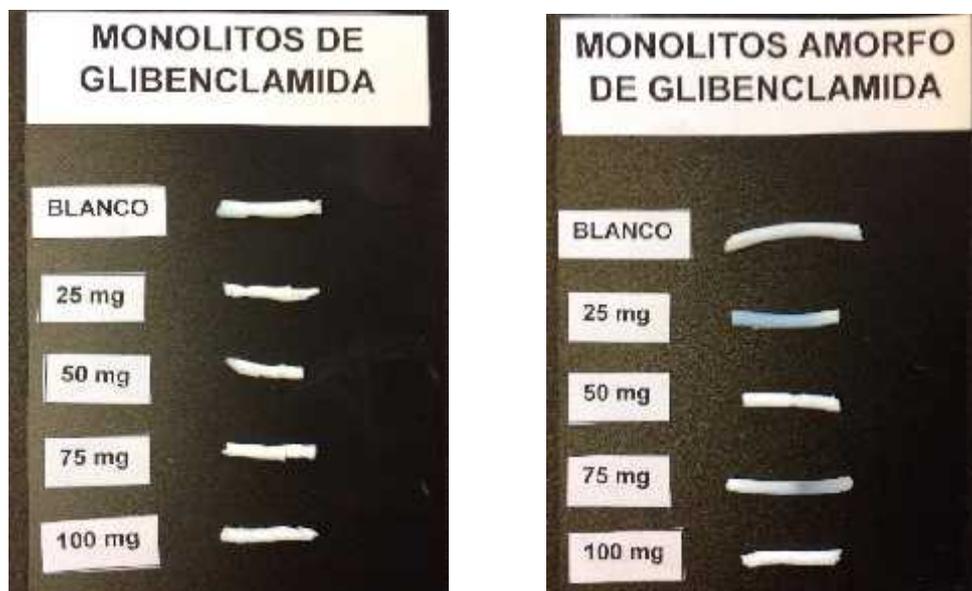
Grafica 1: CBF, comparación de la solubilidad del sólido amorfo con la materia prima.



En la gráfica 1 se observa la comparación de la solubilidad biofarmacéutica del amorfo contra la solubilidad de la materia prima cristalina; en el que se determinó que el amorfo es más soluble en todos los pH evaluados, aunque esta solubilidad está más marcada a un pH de 7.5 donde se observa que el sólido amorfo es 5.7 veces más soluble que la materia prima y a un pH de 6.3 es 19.9 veces más soluble (Anexo 3), lo que favorece en la biodisponibilidad del fármaco, ya que la glibenclamida es absorbida en el intestino delgado.^{23, 24}

➤ Producción de monolitos

Figura 16: monolitos sol gel



Se realizó la producción de dos lotes de monolitos con 4 diferentes concentraciones del fármaco en su forma cristalina y amorfa, en los cuales la apariencia de los monolitos es mejor con el amorfo de glibenclamida ya que el monolito pudo retirarse de una forma más completa de la pipeta Pasteur en comparación a los monolitos del cristal de glibenclamida, ya que estos se retiraron de la pipeta fracturados.

En la Figura 16 se observan los monolitos producidos con la glibenclamida cristalina y el sólido amorfo, con diferentes concentraciones de fármaco. Los monolitos obtenidos con el amorfo de glibenclamida tienen una apariencia más rígida y lisa, en cambio los monolitos de glibenclamida cristalina se ven frágiles y porosos, muy fáciles de romper, aunque estos se ven más homogéneos en cuanto a la incorporación del fármaco, ya que en los monolitos con el sólido amorfo el fármaco no está bien distribuido y se aprecian algunas partes transparentes. Esto se debe a que el sólido amorfo no es muy soluble en etanol, por lo tanto no se incorpora completamente al sol.

Figura 17: termogramas de los monolitos de glibenclamida sin triturar

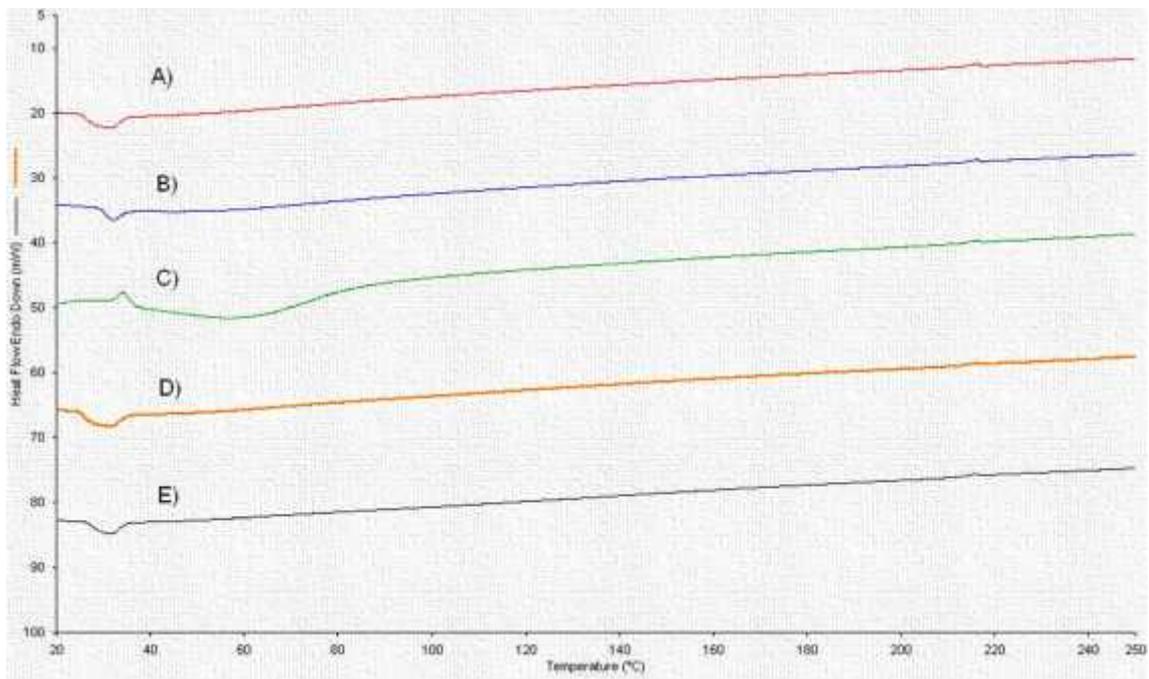
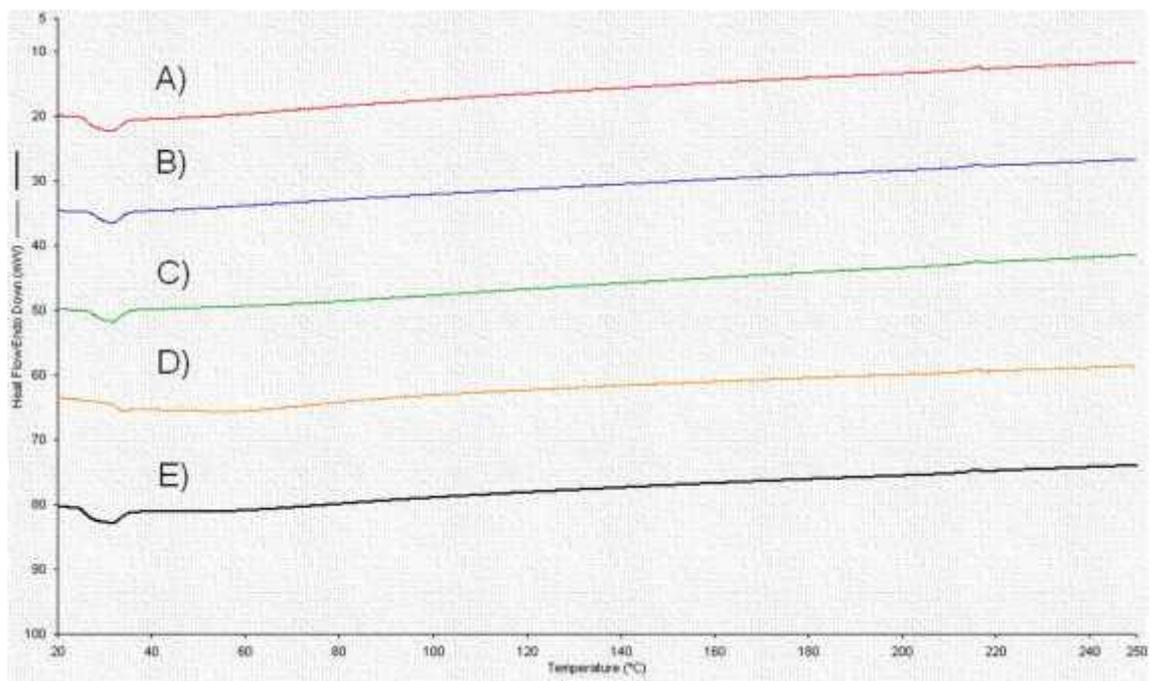


Figura 18: termogramas de monolitos de amorfo sin triturar



La muestra A en las Figuras 17 y 18 corresponde al blanco, las muestras B, C, D y E pertenecen a las concentraciones de fármaco de 25, 50, 75 y 100 mg respectivamente.

Se realizó CDB a los monolitos sin haber recibido ningún tratamiento, se cortó un pedazo del monolito de modo que quedara una lámina de aproximadamente 3–5 mg. Posteriormente se trituraron los monolitos producidos para poder tomar una muestra y evaluarla por calorimetría.

Figura 19: termogramas de monolitos de glibenclamida triturados

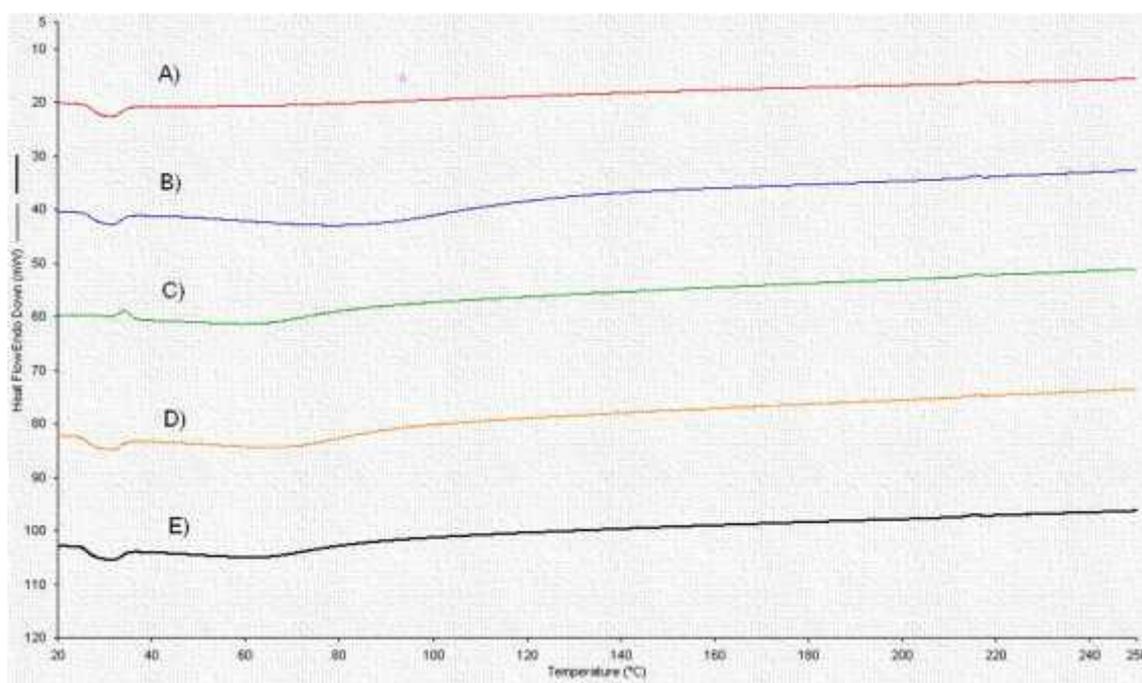
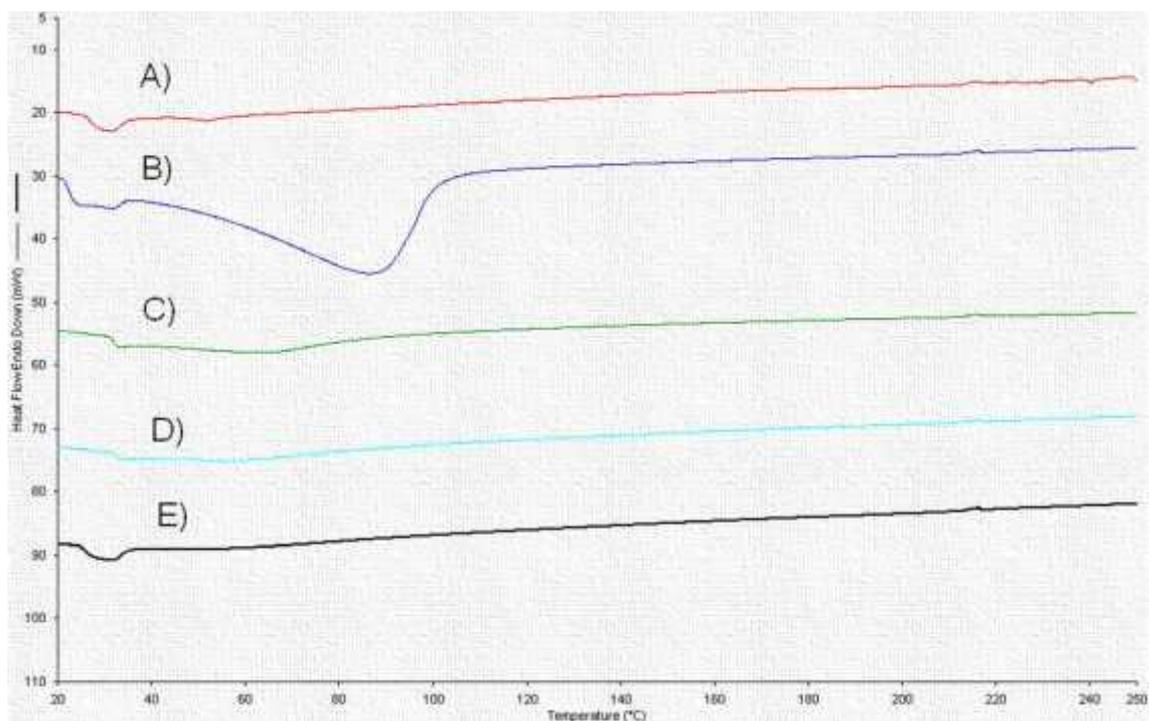
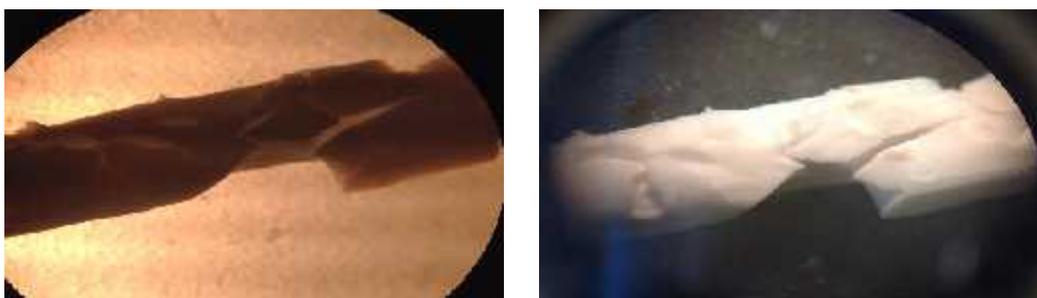


Figura 20: termogramas de los monolitos de amorfo triturados



En las figuras 17-20 se aprecia una ligera señal entre los 60° - 80°C que corresponde a la presencia de disolvente que no se evaporó del todo en el proceso de secado o también puede ser debida a la presencia de agua captada del ambiente; no se aprecia la señal del fármaco a los 179° C por lo que podemos decir que se encuentra encapsulado dentro del monolito.

Figura 21: apariencia de los monolitos



Monolitos de glibenclamida



Monolitos de amorfo



Incorporación del fármaco cristalino de la glibenclamida



Incorporación del solido amorfo



En la figura 21 es posible apreciar mejor la apariencia de los monolitos con los diferentes cristales del fármaco.

Los monolitos de glibenclamida se notan más porosos y con una apariencia quebradiza, además de que el fármaco está más uniforme en todo el monolito.

Por otra parte los monolitos del sólido amorfo tienen una apariencia más lisa y hay fractura en la parte media del monolito, en cuanto al fármaco, hay zonas con mayor concentración de este y no se ve una distribución uniforme.

- **Valoración de los monolitos**

Ya que a la fecha no se han desarrollado matrices sol-gel de glibenclamida, no se cuenta con una especificación de dureza y de valoración de este tipo de forma farmacéutica.

Tabla 3: Lote monolitos de glibenclamida

Muestra	Promedio (mg/g)	CV (%)
0	0.0	0.00
25	3.7	4.44
50	6.57	7.43
75	15.31	2.39
100	22.65	4.93

Tabla 4: Lote monolitos de amorfo

Muestra	Promedio (mg/g)	CV (%)
0 x	0.0	0.00
25 x	5.62	1.36
50 x	9.22	0.32
75 x	17.08	0.79
100 x	19.74	1.52

Existe una relación en los resultados de glibenclamida cuantificada y la cantidad de glibenclamida adicionada, ya que el promedio de la cantidad cuantificada va aumentando conforme a la concentración de fármaco, aunque no hay una gran diferencia entre los resultados del amorfo y del cristal, pero si se nota que es menor la cantidad cuantificada del amorfo en el lote de 100 mg.

- Dureza

Tabla 5: comparación de la dureza de los monolitos

	Lote (mg)									
	0	25	50	75	100	0 x	25 x	50 x	75 x	100 x
Promedio (kg)	1.0	1.6	1.2	1.1	0.7	1.2	1.1	1.0	1.4	0.6
Coefficiente de variación (%)	33.06	27.10	30.98	33.85	20.54	30.05	42.67	30.33	30.97	29.75

x: corresponde a las muestras con el sólido amorfo

Como se puede ver en los promedios, la dureza de los monolitos disminuye a medida que se aumenta la concentración del fármaco, aunque los monolitos del sólido amorfo son ligeramente menos duros que los monolitos de la glibenclamida cristalina, esto se puede deber a que el fármaco que no se solubilizo se incorpora a la red cristalina del monolito provocando que la red cristalina del monolito no se forme adecuadamente provocando que estos sean más quebradizos.

8. Conclusión

Con la evaluación de diferentes técnicas para la obtención de sólidos amorfos en la industria, se logró la obtención de un 76% del sólido amorfo de la glibenclamida por medio de la técnica de fusión en estufa a 175 °C, el cual fue identificado por difracción de rayos X en polvos y por CDB, además de que se logró determinar su solubilidad Biofarmacéutica la cual es 20 veces mayor que la solubilidad del cristal a un pH de 6.3; aunque este sólido amorfo no es una buena opción para ser empleado en la producción de monolitos sol-gel, debido a que su incorporación no es homogénea, producto de su baja solubilidad en etanol.

9. Sugerencias

- Se recomienda revisar las condiciones en las cuales se obtuvo el amorfo de glibenclamida para evitar en lo posible la obtención del producto de degradación.
- Debido a que es 20 veces más soluble que el fármaco cristalino, se deben realizar estudios para realmente comprobar que ese aumento de solubilidad es relevante para su uso.

10. Anexos

Anexo 1: Preparación de soluciones

- Soluciones amortiguadoras de fosfatos

- ✓ pH 1

Pesar 0.8007 g de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4), agregarlo en un vaso de precipitados de 1L, posteriormente agregar 400 mL de agua destilada, después agregar 4.24 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4) agitando la solución, aforar la solución a 800 mL y medir el pH. En caso necesario ajustar el pH de la solución con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 M o con ácido clorhídrico (HCl) 0.1 M según sea el caso.

- ✓ pH 4.3

Pesar 5.4051 g de KH_2PO_4 , agregarlo en un vaso de precipitados de 1L, posteriormente agregar 400 mL de agua destilada, después agregar 0.14 mL de H_3PO_4 agitando la solución, aforar la solución a 800 mL y medir el pH. En caso necesario ajustar el pH de la solución con NaOH 0.1 M o con HCl 0.1 M según sea el caso.

- ✓ pH 5.3

Pesar 0.0849 g de fosfato dipotásico (K_2HPO_4) y 5.3736 g KH_2PO_4 , agregarlos en un vaso de precipitados de 1L, posteriormente agregar agua destilada, agitando la solución, hasta aforar a 800 mL y medir el pH. En caso necesario ajustar el pH de la solución con NaOH 0.1 M o con HCl 0.1 M según sea el caso.

- ✓ pH 6.3

Pesar 0.7781 g de K_2HPO_4 y 4.8318 g KH_2PO_4 , agregarlos en un vaso de precipitados de 1L, posteriormente agregar agua destilada, agitando la solución, hasta aforar a 800 mL y medir el pH. En caso necesario ajustar el pH de la solución con NaOH 0.1 M o con HCl 0.1 M según sea el caso.

- ✓ pH 7.5

Pesar 4.6075 g de K_2HPO_4 y 1.8158 g KH_2PO_4 , agregarlos en un vaso de precipitados de 1L, posteriormente agregar agua destilada, agitando la solución, hasta aforar a 800 mL y medir el pH. En caso necesario ajustar el pH de la solución con NaOH 0.1 M o con HCl 0.1 M según sea el caso.

Anexo 2: Condiciones de análisis por la técnica de CLAR

- Preparación de la fase móvil
- ✓ Solución amortiguadora de fosfatos pH 3.5

Pesar 5.2006 g de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4), agregarlo en un vaso de precipitados de 500 mL, posteriormente agregar 300 mL de agua destilada, después agregar 0.10 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4) agitando la solución; aforar la solución a 500 mL y medir el pH. En caso necesario ajustar el pH de la solución con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 M o con ácido clorhídrico (HCl) 0.1 M según sea el caso.

- ✓ Fase móvil fosfatos:acetonitrilo (45:55)

En una bureta de 500 mL medir 360 mL de solución amortiguadora y verterla en un vaso de precipitados de 1 L, posteriormente agregar 440 mL de acetonitrilo grado CLAR ($\text{MeOH}_{\text{CLAR}}$), agitar la mezcla agregando 0.7786 g de ácido octanosulfónico.

Posteriormente filtrar la solución con un filtro de nylon de 0.45 μm y colocar la solución en un baño de agua con sonicación por 30 min.

- Acondicionamiento del equipo

Prepara una solución de $\text{MeOH}_{\text{CLAR}}$: agua bidestilada (50:50), filtrar con filtros de nylon de 0.45 μm y colocar la solución en un baño de agua con sonicación durante 30 min. Enseguida prender el equipo y conectar la columna, lavar el equipo durante 30 min con la solución de $\text{MeOH}_{\text{CLAR}}$: agua, con un flujo de 1 mL/min, posteriormente acondicionar el equipo con la fase móvil durante 30 min con una velocidad de flujo de 1 mL/min; una vez cumplido este tiempo monitorear la línea base durante 15 min a una velocidad de flujo de 2.2 mL/min, ya que este estable la línea base se puede proceder a la inyección de las muestras.



Anexo 3: Solubilidad Biofarmacéutica

- Preparación de las soluciones de referencia

Se pesó con exactitud 0.5 mg de glibenclamida (GB) que se colocaron en un matraz volumétrico de 25 mL, se disolvió con MeOH_{CLAR} y se llevó a volumen. Se tomó una alícuota de 750 μ L en un vial y se añadió un volumen igual de la solución amortiguadora pH 1.0. La operación se repitió para cada solución amortiguadora a partir de la misma solución de GB en metanol.

11. Bibliografía

1. Brown. Física de los sólidos. 1ª ed. Barcelona, España: Editorial Reverté; 2004.
2. Valenzuela C. Química General Introducción a la química teórica. 1ª ed. España: Ediciones Universidad Salamanca; 1995.
3. Gil B. Introducción al conocimiento de los materiales y sus aplicaciones. 1ª ed. Madrid, España: UNED; 2008.
4. Correa M. Fenómenos Químicos. 1ª ed. Colombia: Fondo editorial EAFIT; 2002.
5. Proens R., Puigjaner C. Polimorfismo en la industria farmacéutica. Unitat de Química Fina. 2007;58-68
6. Sánchez GE, Jung CH, Yépez ML, Hernández AV. Relevancia del polimorfismo en el área farmacéutica. Rev. Mexi. de Ciencias Farma. 2007;38(2):57-76
7. Reyes M, Hinojosa R. Estructura de sólidos amorfos. Revista Ingenierías. 2000;7-14
8. Martín I, Molina M. Polimorfismo farmacéutico: repercusiones industriales y farmacocinéticas. OFFARM. 2006; 94-100.
9. Rodríguez M, Castro M. Procesos industriales para materiales metálicos. 2 ed. Visión net: Madrid España: 23-24
10. Rolf Hilfiker. Polymorphism in the pharmaceutical industry. 1ª ed. Alemania: Wiley-VCH; 2006.
11. Andeep SC, Madgulkar AR, Kshirsagar SJ, Bhalenkar MR. Amorphous Nanoparticles for Solubility Enhancement. Jo of Adv Pharm Sci. 2012; 2(1):167-178.
12. H.L. Sham, C. Zhao, K.C. Marsh, D.A. Betebenner, S.Q. Lin, E. McDonald, S. Vasavanonda, N. Wideburg, A. Sadivar, T. Robbins, D.J. Kempf, J.J. Plattner, D.W. Norbeck, Potent Inhibitors of HIV-1 Protease with Good Oral Bioavailability Biochem, Biophys, Res Commun. 211: 159-165 (1995).
13. Maxx Capece, Rajesh Dave. Enhanced Physical Stability of Amorphous Drug Formulations via Dry Polymer Coating. Jo of Pharm Sci. 2015; 104:2076-2084.
14. Federación Mexicana de Diabetes, A.C. Diabetes en números. 2015. [revisado feb 2015]; Disponible en: http://fmdidiabetes.org/fmd/pag/diabetes_numeros.php.
15. Domínguez A, Gil Hurle, Martín S. Avances en Tecnología Farmacéutica. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Salamanca: pp 57-121.
16. Rodríguez P, San Martín ME. Calorimetría diferencial de barrido y rayos X del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada. Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología Avanzada del IPN. 2001: 61-65

17. Suriñach S, Baro MD, Bordas S, Clavanguera N, Clavanguera-Mora. La calorimetría diferencial de barrido y su aplicación en la ciencia de materiales. Universidad de Barcelona: España. 1992: 11-18
18. Skoog DA. Principios de análisis instrumental. 5 ed. Editorial McGraw-Hill; 1998.
19. Chem Spider. Glibenclamida [base de datos]. Royal Society of Chemistry. 2015 [revisado el 28 Ene 2015]. Disponible en: <http://www.chemspider.com/chemical-structure.3368.html>
20. Rodríguez M, Luna J, Carlicci A, Bregni C. Relación de estabilidad termodinámica relativa entre polimorfos de glibenclamida. Acta Farm. Bonaerense. 2004; 23(2): 169-75.
21. Flórez BJ, Armijo SJ, Mediavilla MA. Farmacología humana. 5 ed. España: Editorial Elsevier. Barcelona; 2008.
22. Sweetman S. Martindale: The Complete Drug Reference. 36 ed. London: Pharmaceutical press; 2002.
23. Brunton Laurence. Goodman and Gillman, Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª ed. Mc Graw Hill; 2012: 1255-1257
24. Vademécum. Gliburida [internet]. 2014 [revisado mayo 2016]; Disponible en: www.vademecum.es/principios-activos-glibenclamida-a10bb01
25. Thongnopkoon T, Puttipatkhachorn S. New metastable form of glibenclamida prepared by redispersion from ternary solid dispersions containing polyvinylpyrrolidone-K30 and sodium lauryl sulfate. Drug Dev and Ind Pharm. 2015:1-10.
26. Rehder S, Sakmann A, Rades T, Leopold C. Thermal degradation of amorphous glibenclamida. Eur Jo of Pharm and Biopharmaceutics. 2012;80:203-208.
27. Contreras F, Romero B, Suárez N, González M, Fouillieux C, Guevara E, et al. Receptores sur y sulfonilureas en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Scielo. 2002; 21(2):148-155.
28. Organización Mundial de la Salud. Diabetes [internet]. 2015 [revisado feb 2015]; Disponible en: <http://www.who.int/medicacentre/factsheets/fs312/es/>.
29. Castañeda-Contreras. Fabricación de materiales amorfos y poli cristalinos con la ruta sol-gel. Universidad de Guadalajara: México: 2015: 1-3.
30. Wojnarowska Z, Grzybowska K, Adrjanowicz K, Kaminski K. Study of the Amorphous Glibenclamide Drug: Analysis of the Molecular Dynamics of Quenched and Cryomilled Material. Mol Pharm. 2010; 7(5):1692-1707.
31. Duncan QM, royal PG, Kett VL, Hopton ML. The Relevance of the Amorphous State to Pharmaceutical Dosage Forms: Glassy Drugs and Freeze Dried Systems. Int Jo of Pharm. 1999; 179:179-207.
32. Patterson JE, James MB, Forster AH, Lancaster RW, Butler JM, Rades T. The influence of thermal and mechanical preparative techniques on



the amorphous state of four poorly soluble compounds. *Jo Pharm Sci.*2005;94(9):1998-2012.