



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**ESTUDIO PILOTO DE LA BIODISPONIBILIDAD DE  
GLIBENCLAMIDA EN RATONES CD1 DESPUÉS DE  
SU ADMINISTRACIÓN EN MONOLITOS DE SILICIO  
FABRICADOS POR LA TÉCNICA SOL-GEL**

**TESIS**

Para obtener el título de  
**Químico Farmacéutico Biólogo**

**PRESENTA**

Blanca Arellí Miranda Vázquez

**DIRECTOR**

Dr. Vicente Jesús Hernández Abad

**ASESOR**

Dra. Elizabeth Guadalupe Sánchez González



**Ciudad de México, 2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



---

---

## **AGRADECIMIENTO**

El desarrollo de esta tesis fue financiado 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 al apoyo de la Universidad Nacional Autónoma de México, a través de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico.

---

---

## **AGRADECIMIENTO**

Se agradece al Dr. Rubén Marroquín Segura y al Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara por su atención, amabilidad y tiempo dedicado en los experimentos para el logro de este proyecto.

---

---

## AGRADECIMIENTOS

*Gracias a la vida que ha puesto en mi camino a personas maravillosas, que me ha permitido compartir tiempo y las mejores experiencias en los lugares más espectaculares. Porque soy afortunada de haber concluido mis estudios de licenciatura en una de las mejores instituciones del país, soy orgullosamente FES Zaragoza, orgullosamente UNAM.*

*Gracias a mi muy bonita familia donde cada integrante ofrece lo mejor de sí para mantenernos unidos ante las adversidades; por el cariño, apoyo, amor, comprensión y paciencia que me han brindado durante estos años de estudio. Padres, hermanos, hermana los amo demasiado.*

*Muchísimas gracias al Dr. Abad, la Dra. Eli y a la Mtra. Cynthia por haberme dado la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo en su proyecto de investigación, por su guía y enseñanza en esta trayectoria.*

*Muchísimas gracias a la jefa del bioterio la M.V.Z. Adriana Altamirano Bautista y al M.V.Z. Roman Hernández Meza por su amabilidad y ayuda en la dispensación de los animales de experimentación, siempre fueron muy atentos y les estoy sumamente agradecida.*

---

---

*Reitero mis agradecimientos al Dr. Marroquín y al Dr. Mora, muchas gracias por todo, fue un placer trabajar con ustedes en su laboratorio con aroma a café, las buenas anécdotas y las risas. Me divertí y aprendí mucho.*

*Muchas gracias a mis sinodales porque sus comentarios, observaciones y preguntas; hicieron de éste un trabajo muy completo.*

*Especial agradecimiento a mis amigos Laura y Jonathan por el apoyo durante el trabajo experimental de esta tesis, por su compañía en las largas jornadas de trabajo, mil gracias.*

*Gracias a cada persona que fue parte de esta aventura; a quienes han permanecido y a quienes se han ido, de todos mantengo bellos recuerdos, les deseo lo mejor hoy y siempre, gracias.*

---

---

## CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	2
2.1. Diabetes mellitus.....	2
2.1.1. Diabetes Mellitus tipo 2.....	2
2.1.2. Diagnóstico y tratamiento.....	3
2.2. Glibenclamida.....	4
2.3. Implantes.....	6
2.3.1. Sistema basado en polímeros.....	7
2.4. Monolitos de glibenclamida.....	8
2.5. Farmacocinética.....	10
2.5.1. Proceso ADME.....	11
2.6. Farmacocinética de glibenclamida en animales.....	13
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	15
4. HIPÓTESIS.....	16
5. OBJETIVOS.....	16
6. TIPO DE ESTUDIO.....	17
7. MATERIAL.....	18
8. METODOLOGÍA.....	20
9. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	25
10. CONCLUSIONES.....	35
11. ANEXO I. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES.....	36
12. ANEXO II. FÓRMULAS.....	38
13. ANEXO III. CERTIFICADO DE ANÁLISIS GLIBENCLAMIDA.....	39
14. REFERENCIAS.....	40



---

---

## 1. INTRODUCCIÓN

La *diabetes mellitus* tipo 2 se presenta en el 80 al 90% de los pacientes con diabetes; la alteración subyacente en esta enfermedad es la dificultad para la acción de la insulina que se denomina insulinoresistencia y una secreción inadecuada de insulina por las células encargadas de su producción en el páncreas generando hiperglucemia.<sup>1</sup> El tratamiento de este tipo de diabetes, es a través del uso de medicamentos orales que pueden ser sulfonilureas, biguanidas, tiazolidinedionas, o inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa.<sup>1, 2</sup>

La glibenclamida es una sulfonilurea que tiene un efecto hipoglucemiante agudo, ya que actúa sobre las células beta ( $\beta$ ) del páncreas, estimulando la secreción de insulina. Asimismo, presenta actividad hipoglucemiante crónica debido a la potenciación de la acción de esta hormona, a través de un aumento en el número de sus receptores.<sup>3</sup>

Sin embargo, se ha identificado que después de su administración puede causar una hipoglucemia grave y trastornos alimenticios. Además un 50% de los pacientes no se apega al tratamiento.<sup>4, 5</sup> Con el propósito de evitar dichas desventajas se han desarrollado implantes para mantener una liberación de fármaco modificada a través del tiempo.<sup>6</sup>

En el presente trabajo se evaluó la biodisponibilidad de glibenclamida en ratones CD1, a través de su administración transdérmica en monolitos de silicio fabricados por la técnica sol-gel; se comparó con una administración vía oral y en ambos casos se valoró el efecto hipoglucemiante.

---

---

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Diabetes mellitus

La *diabetes mellitus* es una enfermedad o síndrome metabólico caracterizado por la aparición de hiperglucemia secundaria a defectos de la secreción de insulina, de la acción de la insulina, o de ambas. Es una enfermedad progresiva que depende de la evolución y del grado de control que se consiga de la hiperglucemia, así como de la coexistencia de otros factores, ya sea genéticos o ambientales, que acelerarán el deterioro, agravándose su situación.<sup>8</sup>

#### 2.1.1. Diabetes Mellitus tipo 2

La alteración subyacente en esta enfermedad es la dificultad para la acción de la insulina que se denomina insulinoresistencia y una secreción inadecuada de insulina por las células encargadas de su producción en el páncreas.<sup>9, 10</sup>

Aunque todavía no se conocen las causas del desarrollo de la diabetes tipo 2, hay varios factores de riesgo importantes. Por ejemplo:

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> La obesidad           | <input type="checkbox"/> La edad avanzada            |
| <input type="checkbox"/> La mala alimentación  | <input type="checkbox"/> Los antecedentes familiares |
| <input type="checkbox"/> La inactividad física | <input type="checkbox"/> El grupo étnico             |

La enfermedad puede diagnosticarse sólo cuando ya tiene varios años de evolución y han aparecido complicaciones; produciéndose síntomas y signos tales como:

- Sed anormal y sequedad de boca (polidipsia)
- Micción frecuente (poliuria)
- Falta de energía, cansancio extremo

- 
- 
- Hambre constante (polifagia)
  - Pérdida repentina de peso
  - Heridas de cicatrización lenta
  - Infecciones recurrentes
  - Visión borrosa <sup>10, 11</sup>

### **2.1.2. Diagnóstico y tratamiento**

Según los nuevos criterios, se diagnostican como *diabetes mellitus*, los casos que presenten:

1. Signos de diabetes (poliuria, polidipsia, pérdida de peso sin causa aparente) + Glucemia plasmática casual  $\geq 200$  mg/dL.
2. Glucemia plasmática en ayunas  $\geq 126$  mg/dL.
3. Glucemia plasmática a las 2 h de la prueba de tolerancia oral a la glucosa  $\geq 200$  mg/dL.<sup>10</sup>

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana para la prevención, tratamiento y control de la diabetes, NOM-015-SSA2-2010, el tratamiento debe considerar el establecimiento de metas, manejo no farmacológico que incluye educación y automonitoreo, manejo farmacológico y la vigilancia de complicaciones.<sup>10, 12</sup>

Entre las intervenciones, la más importante es el control moderado de la glucemia:

- Los pacientes con diabetes de tipo 1 necesitan insulina
- Los pacientes con diabetes de tipo 2 pueden tratarse con medicamentos orales (sulfonilureas, biguanidas, tiazolidinedionas, inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa), aunque pueden llegar a requerir insulina.<sup>2, 10</sup>

---

---

## 2.2. Glibenclamida

Es una sulfonilurea de segunda generación; derivada de la sulfamida, en la cual la estructura sulfonilurea constituye el grupo esencial de la actividad hipoglucemiante. Diversas sustituciones en el anillo bencénico y en el grupo urea han originado compuestos cuya potencia y propiedades farmacocinéticas difieren notablemente.<sup>2</sup>

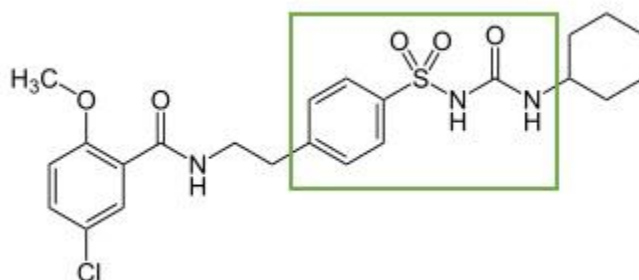


Figura 1. Estructura de la glibenclamida<sup>13</sup>

Este grupo de fármacos son los más prescritos para el control de la glucemia, dado que entre el 50 y 80% de los pacientes elegidos de manera apropiada responden a esta clase de fármacos.<sup>13</sup> La NOM-015-SSA2-2010, señala que el tratamiento farmacológico se debe llevar a cabo conforme a las guías de recomendaciones para la promoción de la salud, prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la prediabetes. En estas guías se encuentra en segundo lugar el tratamiento con glibenclamida.<sup>12, 14</sup>

Su mecanismo de acción consiste en provocar la liberación de insulina preformada en las células  $\beta$  del páncreas. Para ello, actúa con gran afinidad sobre receptores asociados a los canales de  $K^+$  sensibles a ATP ( $K_{ATP}$ ), fijándose de manera específica a la proteína SUR1 (receptor de sulfonilureas 1) adjunta a dicho canal.

---

---

Como consecuencia, el canal se cierra y la despolarización causada facilita la secreción de insulina. Se ha reportado que la glibenclamida tiene efectos extrapancreáticos, puesto que reduce la producción de glucosa hepática, aumenta la unión y la sensibilidad de insulina en tejidos periféricos.<sup>2, 3</sup>

La farmacocinética de la glibenclamida en humanos después de administrar una dosis de 20 mg se describe mediante un modelo abierto de dos compartimientos (MADC). Al no presentar un metabolismo significativo de primer paso su biodisponibilidad es del 100% vía oral, alcanzando niveles plasmáticos máximos dentro de 2 a 4 h.<sup>15-17</sup>

El efecto de los alimentos es incierto debido a que algunos autores reportan que no hay interferencia o tienen un escaso efecto en el perfil farmacocinético, y otros sugieren que la toma con comidas puede retrasar su absorción<sup>16, 17</sup>; en un estudio se encontró que una dosis de 2.5 mg de glibenclamida administrada en el pre-desayuno presenta mayor efecto que 7.5 mg en el desayuno.<sup>18</sup>

En dosis única presenta una vida media de 2 a 5 h, con una duración de efecto entre 10 a 24 h, se une fuertemente a proteínas plasmáticas en un 99%, se metaboliza en el hígado principalmente en dos derivados hidroxilados: 4-trans-hidroxi-glibenclamida (M1) y 3-cis-hidroxi-glibenclamida (M2) y su eliminación es por vía renal en un 50% de la dosis administrada.<sup>18-20</sup>

Antiguos trabajos mencionan que los metabolitos no presentaban actividad hipoglucemiante significativa; no obstante, en investigaciones recientes se ha encontrado que el M1 presenta aproximadamente un 75% de la actividad de la glibenclamida y el M2 un 50%, lo que es un efecto considerable.<sup>18</sup>

---

---

En el mercado se puede encontrar a la glibenclamida en forma farmacéutica de tableta para administración oral en cantidades de 2.5 - 5 mg, para una dosis máxima de 20 mg diarios <sup>21</sup>; sin embargo, al administrar la dosis más baja su rápida absorción en el tubo digestivo puede causar un efecto hipoglucemiante grave. Cabe mencionar que su consumo se ha asociado con trastornos gástricos como náuseas, vómito, anorexia y aumento del apetito.<sup>4</sup> Además, se han realizado estudios que indican que aproximadamente un 50% de los pacientes no se apegan al tratamiento, aumentando el daño a su salud. <sup>5, 13, 19</sup>

### **2.3. Implantes**

Un implante es definido como un dispositivo inerte que es colocado en el cuerpo del paciente con fines terapéuticos. Estos dispositivos presentan varias ventajas en comparación con la administración oral; las incertidumbres y variaciones en el proceso de metabolismo de primer paso están completamente eludidas, se evitan fluctuaciones por la administración repetitiva del fármaco e idealmente pueden proporcionar una velocidad de suministro de orden cero, que consigue diseñarse para mantener las concentraciones del fármaco dentro de la ventana terapéutica y ser eficaz para la administración de fármacos con semividas cortas, lo que mejora el cumplimiento del tratamiento.<sup>22</sup>

Dependiendo del rendimiento de liberación, los implantes pueden clasificarse como de liberación pasiva o activa. En el primer tipo, la liberación del fármaco no puede controlarse después de la implantación, y el rendimiento de liberación del fármaco se establece por el material que compone el implante y la formulación del fármaco.

---

---

Por otro lado en el segundo tipo, la liberación de agentes terapéuticos se activa por estímulos externos, por lo que es posible regular la dosis de fármaco de acuerdo con las necesidades y las terapias de los pacientes.<sup>23</sup>

### 2.3.1. Sistema basado en polímeros

El desarrollo de los implantes de liberación de fármacos basados en polímeros comenzó con el descubrimiento del primer sistema de liberación de fármaco de orden cero en el año de 1960 por Folkman y Long.<sup>23</sup>

Los polímeros modifican la liberación (Figura 2); se consigue una liberación controlada por difusión de fármaco si este se libera antes de la degradación del mismo, y una liberación de orden cero del fármaco si se libera simultáneamente con polímeros de erosión de la superficie.<sup>24</sup>

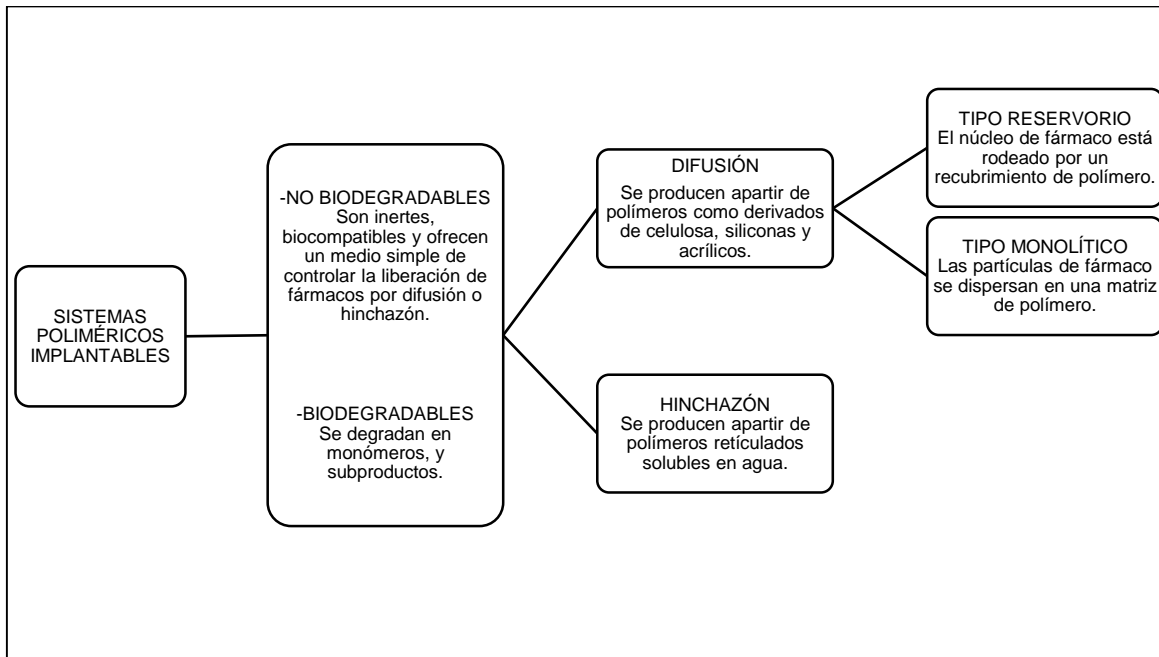


Figura 2. Clasificación de los sistemas poliméricos implantables. <sup>23</sup>

## 2.4. Monolitos de glibenclamida

Los monolitos utilizados para este estudio se elaboraron por un proceso sol-gel (Figura 3), en el cual la ruta química se inicia con la síntesis a partir del alcóxido tetraetil-ortosilicato (TEOS) cuya fórmula molecular es  $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$  en suspensión coloidal (sol), la hidrólisis y condensación de ésta para formar un material sólido lleno de solvente (gel). Durante el envejecimiento, el gel se deja en reposo a temperatura ambiente para permitir la evaporación del disolvente. Al término de éste tiempo el material se somete a un tratamiento térmico para obtener un material denso denominado monolito.<sup>25</sup>

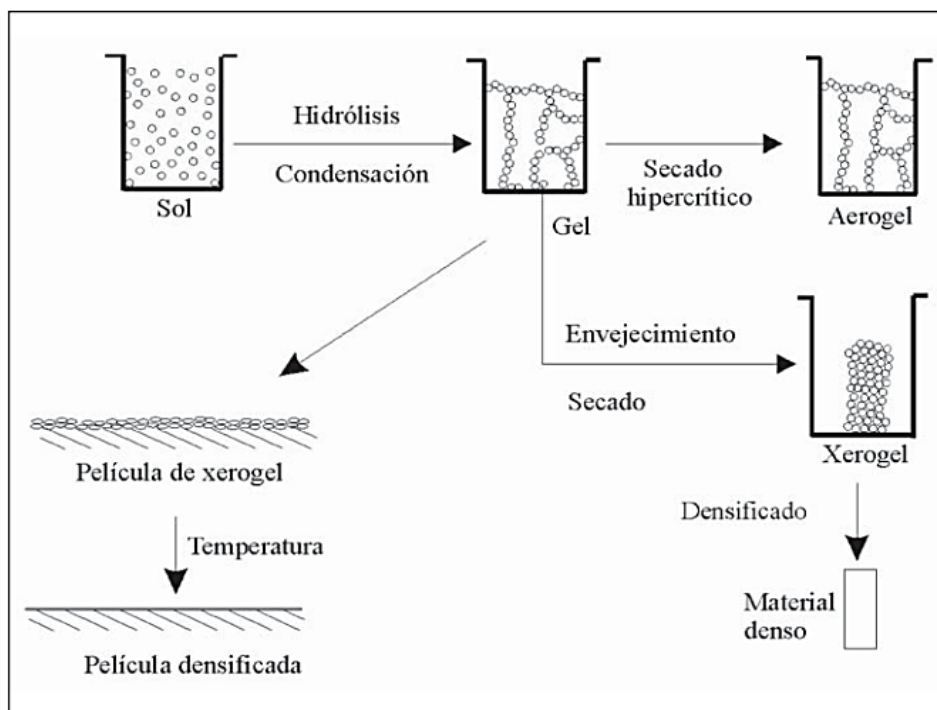


Figura 3. Esquema del proceso sol-gel<sup>25</sup>

El alcóxido TEOS es compatible con sistemas biológicos debido a su naturaleza inerte<sup>26</sup> y la biodegradación de la sílice *in vivo* se produce principalmente por su disolución como ácido silícico, el cual se excreta en orina.<sup>27</sup>



---

---

Las investigaciones sobre los monolitos de glibenclamida se han realizado evaluando los factores con mayor impacto en su fabricación como son la solubilidad del fármaco, la cantidad del mismo y la temperatura de secado. Se ha encontrado que la disolución *in vitro* de glibenclamida a partir de monolitos está fuertemente influenciada por el pH del medio, ya que al evaluarla en pH 5.5 se obtuvo una menor cantidad de fármaco liberado presentando una cinética de modelo Higuchi que está en función de la porosidad de la matriz.<sup>28, 29</sup>

No se cuenta con especificaciones establecidas de dureza; sin embargo, se deduce que si estos presentan una elevada dureza, la liberación del fármaco no se entregaría en la dosis necesaria o sería lenta y si por el contrario es baja el fármaco podría liberarse prematuramente.<sup>29, 30</sup> A su vez se encontró que la dureza del monolito disminuye a medida que se aumenta la concentración del fármaco debido a que éste no se solubiliza completamente durante el proceso y se incorpora a la red cristalina del monolito provocando que no se forme adecuadamente.<sup>31</sup>

Los monolitos utilizados para este estudio fueron secados a 110°C por 12 h, conteniendo  $17.97 \pm 0.41$  mg de glibenclamida por g de monolito, con una dureza de 1.26 kg/F, un área específica de 273.18 m<sup>2</sup>/g y un tamaño de poro de 16.07 nm; lo último genera una mayor velocidad de disolución por la capacidad del medio para penetrar los monolitos.<sup>29</sup>

---

---

## 2.5. Farmacocinética

La farmacocinética es la rama de la farmacología que estudia la relación entre la administración de un fármaco, el tiempo que tarda en distribuirse y la concentración alcanzada en diferentes partes del organismo. También estudia los cambios de concentración del fármaco y/o sus productos de metabolismo en función del tiempo en fluidos biológicos con ayuda de modelos para describir, explicar y/o predecir los procesos que determinan al paso del fármaco a través del organismo.<sup>32, 33</sup>

En la farmacología experimental, el análisis farmacocinético suele contribuir a comprender mejor los mecanismos, la duración de la acción y las interacciones, al realizar mediciones de biodisponibilidad, efectos en condiciones fisiológicas y patológicas en disposición del fármaco y la absorción, correlacionar respuestas farmacológicas con dosis administradas y evaluar interacciones entre fármacos.<sup>33</sup>

En la Tabla 1 se muestran algunos de los parámetros farmacocinéticos que se estiman a partir de datos experimentales, con el fin de comprender su comportamiento en el organismo.

*Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos*<sup>34, 35, 36</sup>

Parámetro	Significado
Concentración máxima <b>C<sub>máx</sub></b>	Concentración máxima de fármaco en el plasma
Tiempo máximo <b>T<sub>máx</sub></b>	Tiempo en el que se observa la <b>C<sub>máx</sub></b>
Constante de absorción <b>K<sub>a</sub></b>	Velocidad que tiene una molécula de absorberse en la unidad de tiempo.

Tiempo de vida media de absorción $t_{1/2a}$	Tiempo que tarda en reducirse a la mitad el número de moléculas disponibles.
Biodisponibilidad <b>F</b>	Fracción de dosis administrada que llega a la circulación sistémica en forma inalterada.
Área bajo la curva <b>ABC</b>	Cantidad de fármaco en el compartimento vascular a lo largo del tiempo.
Volumen aparente de distribución $V_D$	Relaciona la cantidad total de fármaco en el organismo en un momento dado con su concentración plasmática.
Constante de eliminación $K_e$	Velocidad que tiene una molécula de eliminarse en la unidad de tiempo; es la suma de las constantes individuales del metabolismo farmacológico de la excreción.

### 2.5.1. Proceso ADME

ADME es un acrónimo que representa los procesos farmacocinéticos de absorción, distribución, metabolismo y excreción.

Para que un fármaco alcance una concentración crítica en la biofase (medio en el cual el fármaco está en condiciones de interactuar con sus receptores), es preciso primero que se libere de su formulación farmacéutica.<sup>34</sup>

La absorción comprende el paso del fármaco a torrente sanguíneo; entre los factores que influyen en este proceso se encuentran el tamaño de partícula, la

---

---

solubilidad, la liposolubilidad, el grado de ionización, la unión a proteínas plasmáticas; entre otras. Sí el fármaco es administrado por vía intravenosa, éste proceso no se lleva a cabo puesto que pasa directamente a torrente sanguíneo.<sup>37, 38</sup>

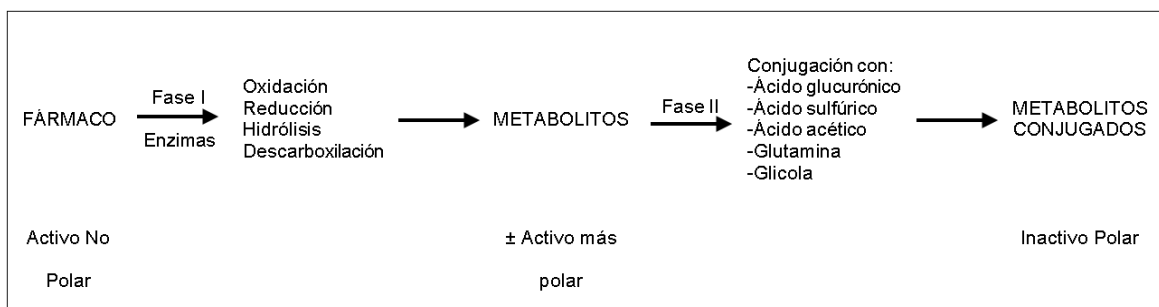
La cinética de absorción cuantifica la entrada del fármaco en la circulación sistémica y estudia la velocidad de absorción, que es la cantidad de fármaco que se absorbe en unidad de tiempo ( $dC/dt$ ) y usualmente puede calcularse mediante una ecuación clásica de orden uno. No obstante, determinados procesos se pueden ajustar a una cinética de orden cero que se caracteriza porque la velocidad del proceso es constante e independiente de la concentración. Existen también procesos activos de absorción de orden mixto.<sup>34</sup>

La distribución se realiza cuando el fármaco pasa del torrente sanguíneo al líquido intersticial y celular, de manera que los cambios en la concentración de fármaco en el plasma son indicativos de cambios en los niveles de fármaco en los tejidos. Algunos factores que intervienen en el proceso de distribución son: el gradiente de concentración entre el fármaco no unido a proteínas plasmáticas y el agua extracelular, el flujo sanguíneo y factores fisicoquímicos del fármaco.<sup>37</sup>

Para el estudio del proceso de distribución es necesario considerarlo estático, dividiendo el organismo en tres compartimentos:

- I. Central. Constituido por el agua plasmática intersticial e intracelular fácilmente accesible.
- II. Periférico Superficial. Constituido por el agua intracelular poco accesible.
- III. Periférico Profundo. Constituido por los depósitos tisulares a los que el fármaco se une fuertemente.<sup>34</sup>

El metabolismo es el proceso de transformación de una especie química a otra, esto ocurre principalmente en el hígado. En su mayoría, el producto metabólico del fármaco resulta ser más soluble para poder ser excretado por los riñones y son farmacológicamente menos activos que el original; en otros casos puede ser más activo o tóxico. El metabolismo de los fármacos tiene lugar en dos etapas que se realizan de forma secuencial y se representan en la Figura 4: <sup>35, 37</sup>



*Figura 4. Fase I y II de la biotransformación de fármacos<sup>35</sup>*

Finalmente, la excreción de fármacos es la salida de éstos y de sus metabolitos desde el sistema circulatorio al exterior del organismo. Las vías principales de excreción son el riñón, el pulmón y el sistema hepatobiliar.<sup>35</sup>

## 2.6. Farmacocinética de glibenclamida en animales

En un estudio farmacocinético en ratones se administró glibenclamida por vía oral en una dosis de 5 mg/kg y por un sistema transdérmico de 2.5 mg, se obtuvo una concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ) y constante de eliminación ( $K_e$ ) mayores por vía oral, lo cual quiere decir que por esta vía la absorción del fármaco es rápida, mientras que por el sistema transdérmico fue lenta y constante. En el mismo estudio los resultados del efecto en la reducción de glucosa sanguínea a corto plazo

---

---

muestran que el sistema podría sostener la liberación del fármaco durante un período de 24 h en comparación con la administración oral, donde el efecto disminuyó después de 6 h de acuerdo con la corta semivida de la glibenclamida.<sup>39</sup>

En otra investigación en ratones donde se aplicó un parche transdérmico que contenía 1.8 mg de glibenclamida, se alcanzó una  $C_{m\acute{a}x}$  de  $6.72 \pm 0.20 \mu\text{g/mL}$  en un tiempo de 12 h.<sup>40</sup>

También se han realizado investigaciones en ratones con diabetes inducida, de modo que es evidente que la farmacocinética de glibenclamida después de la administración oral es significativamente diferente en comparación con ratones sanos, debido a que la glicoproteína-P, cuya función en el epitelio intestinal es la eliminación de fármacos, se inhibe y así aumenta la biodisponibilidad del fármaco, por lo tanto, la absorción intestinal, la  $C_{m\acute{a}x}$  y el  $T_{m\acute{a}x}$  de glibenclamida después de la administración oral es mayor en ratas diabéticas.<sup>20, 41, 42</sup>

Cabe destacar que estudios farmacológicos en animales muestran que la acción de la glibenclamida depende del buen funcionamiento de las células pancreáticas, en consonancia con su mecanismo de acción.<sup>43</sup>

---

---

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La frecuencia de la *diabetes mellitus* está aumentando en el mundo de forma acelerada. En 1997 los datos de prevalencia se encontraban en torno a 124 millones de personas, y se estima que en el año 2025 esta cifra llegará a 300 millones.

El tratamiento de la diabetes consiste principalmente en la reducción de la glucemia y los pacientes con diabetes tipo 2 pueden tratarse con medicamentos orales, siendo la glibenclamida uno de los principales fármacos a seleccionar.

Ahora bien, se ha demostrado que un 50% de estos pacientes tienen dificultades para apegarse al régimen de tratamiento; es por ello que se han desarrollado formas farmacéuticas de liberación modificada como son los implantes a base de monolitos de silicio elaborados por el proceso sol-gel. Para poder desarrollarlos de forma racional, es necesario conocer la biodisponibilidad del fármaco tras su administración en especies animales menores, inicialmente; a fin de comprender los procesos de absorción, distribución y excreción; así como la duración del efecto en comparación con una forma de administración convencional.

Con el propósito de diseñar un estudio completo de biodisponibilidad, resulta necesario una aproximación a nivel "piloto", como la que se plantea en esta investigación, para saber si en realidad existen diferencias en los niveles plasmáticos de glibenclamida alcanzados tras la administración del fármaco en implantes desarrollados por el método sol-gel, para posteriormente desarrollar un estudio completo de biodisponibilidad en animales de laboratorio.

---

---

#### **4. HIPÓTESIS**

Existen diferencias en la biodisponibilidad de glibenclamida en ratones CD1 administrada por implante, en comparación a una administración oral, lo que genera diferencias en la intensidad y duración del efecto farmacológico obtenido.

#### **5. OBJETIVOS**

##### Objetivo general

→ Evaluar la biodisponibilidad de la glibenclamida en ratones CD1 tras su administración transdérmica en monolitos de silicio fabricados por la técnica sol-gel.

##### Objetivos específicos

- Comparar la concentración de glibenclamida a través del tiempo; administrada por implante transdérmico y por vía oral.
- Valorar el efecto hipoglucemiante en la administración transdérmica y oral.



---

---

## 6. TIPO DE ESTUDIO

Experimental, Prospectivo, Transversal, Analítico

### *Crterios de inclusión*

Ratones CD1, machos, de 28  $\pm$ 5 g de peso.

### *Crterios de exclusión*

Ratones machos lactantes.

### *Crterios de eliminación*

Muerte por hipoglucemia.

---

---

## 7. MATERIAL

Tabla 2. Material a emplear

Material	<ul style="list-style-type: none"><li>• Sonda gástrica</li><li>• Antena</li><li>• Bisturí No. 23</li><li>• Tubos Eppendorf</li><li>• Micropipetas (10-100 <math>\mu</math>L y 100-1000 <math>\mu</math>L)</li><li>• Matraces volumétricos (10, 25 y 100 mL)</li><li>• Columna C8, 5<math>\mu</math>m, 150 x 4.6 mm</li><li>• Insertos para viales</li></ul>
Equipo	<ul style="list-style-type: none"><li>• Microcentrífuga. Eppendorf 5417C</li><li>• Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (CLAR). Hitachi Primaide</li><li>• Inyector. Hitachi Primaide</li><li>• Bomba. Hitachi Primaide</li><li>• Sonicador. Branson 3800</li><li>• Bomba de vacío. Arsa</li></ul>
Instrumentos	<ul style="list-style-type: none"><li>• Glucómetro Accu Chek Performa</li><li>• Balanza microanalítica. Mettler Toledo MT5</li><li>• Balanza analítica. Ohaus Explorer Pro</li><li>• Potenciómetro. Hanna</li><li>• Detector UV. Hitachi Primaide</li></ul>

<p>Reactivos</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glibenclamida (<math>C_{23}H_{28}ClN_3O_5S</math>). Materia prima</li> <li>• Monolitos sol-gel "blanco"</li> <li>• Monolitos sol-gel con glibenclamida</li> <li>• Tiras reactivas Accu Chek Performa</li> <li>• Citrato de sodio (<math>Na_3C_6H_5O_7</math>)</li> <li>• Fosfato monobásico de potasio (<math>KH_2PO_4</math>)</li> <li>• Octanosulfonato de sodio (<math>C_8H_{17}O_3SNa</math>)</li> <li>• Felodipino (<math>C_{18}H_{19}Cl_2NO_4</math>)</li> <li>• Ácido acético glacial (<math>CH_3COOH</math>)</li> <li>• Metanol (<math>CH_3OH</math>) grado CLAR</li> <li>• Acetonitrilo (<math>CH_3CN</math>) grado CLAR</li> <li>• Ácido fosfórico (<math>H_3PO_4</math>)</li> <li>• Éter etílico (<math>C_4H_{10}O</math>)</li> </ul>
<p>Soluciones</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Goma Gathi al 1%</li> <li>• Solución desinfectante alcohol-yodo al 1%</li> <li>• Solución inyectable de glucosa al 50%</li> <li>• Solución salina inyectable (0.9%)</li> </ul>
<p>Material biológico</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ratones CD1, machos, de <math>28 \pm 5</math> g de peso</li> <li>• Plasma de ratón CD1</li> </ul>

---

---

## 8. METODOLOGÍA

### Animales y dosificación

Se formaron cuatro grupos de 48 ratones (n=6 por tiempo), con ayuno de 16 horas y agua *ad libitum*. A cada grupo se le administró:

Control I. Goma Gathi al 1% vía oral (0.2 mL)

Grupo I. Glibenclamida en goma Gathi al 1% vía oral (5 mg/kg de peso)

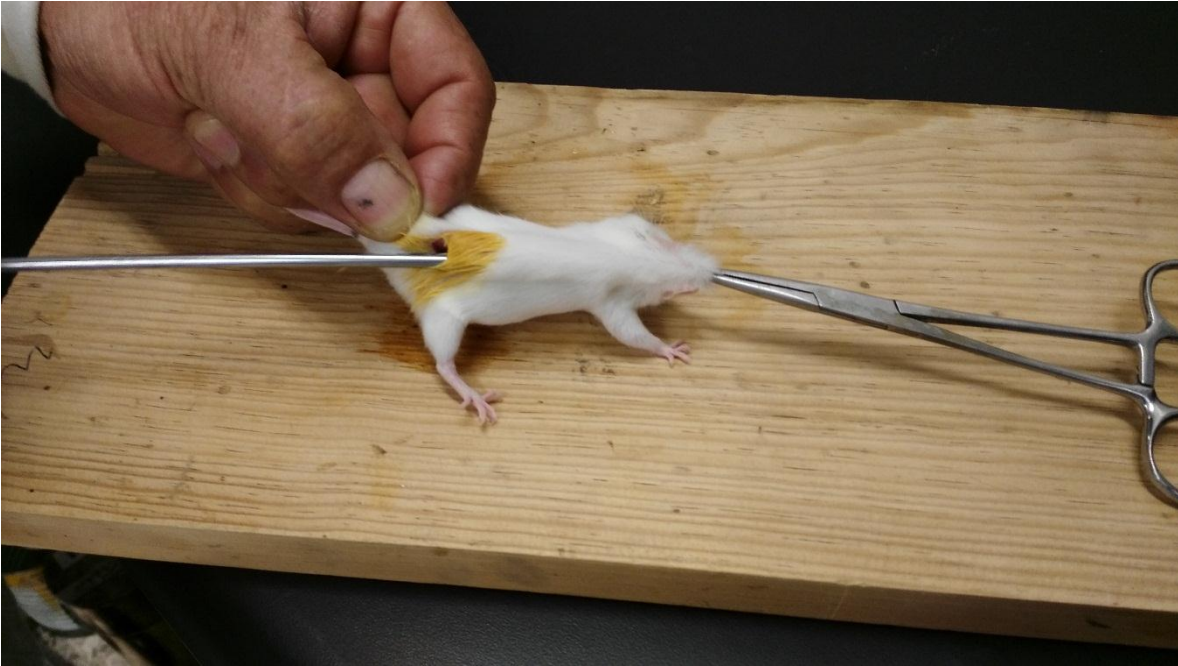
Control II. Monolitos sol-gel “blanco” vía transdérmica (20 ±1 mg)

Grupo II. Monolitos sol-gel con glibenclamida vía transdérmica (20 ±1 mg)

A cada grupo se le administró glucosa al 50% por vía subcutánea (2 g/kg de peso) al inicio del ensayo y una hora posterior al inicio del estudio. Después de las 4 h, se les proporcionó agua y alimento *ad libitum*.

La administración oral se realizó utilizando una sonda gástrica para depositar la glibenclamida a nivel del estómago.

Los monolitos se colocaron haciendo un corte superficial a media espalda e insertándolo con la ayuda de una antena (Figura 5), depositándolo en la zona del hombro de los ratones (Figura 6). La zona de la herida se desinfectó antes y después del procedimiento con solución desinfectante de alcohol-yodo al 1% y la antena con alcohol y calor a la flama.



*Figura 5. Colocación del monolito*



*Figura 6. Ubicación del monolito*

---

---

## **Toma de muestra**

Se obtuvieron por cada tiempo, muestras de sangre de seis ratones por grupo; en los tiempos: 0, 0.5, 1, 1.5, 2.5, 4, 6, y 8 h realizando un corte axilar. La toma de sangre se obtuvo en tubos Eppendorf con solución de citrato de sodio concentrada y se centrifugaron a 4 000 rpm durante 15 min para separar y adquirir el plasma.

Las muestras de sangre se adquirieron realizando un corte por la axila del ratón donde pasa la arteria humeral, con el fin de obtener el mayor volumen posible; ya que estos animales contienen un volumen sanguíneo únicamente del 5 al 6% de su peso; es decir un ratón de 28g contiene sólo de 1.4 a 1.68 mL de sangre.<sup>44</sup> Por otro lado, se debe considerar que dependiendo el porcentaje de sangre que se pierda, el ratón presentara los siguientes síntomas: cuando pierde del 15 al 20% se reduce el gasto cardíaco y la presión sanguínea, la extracción del 30 al 40% puede inducir choque hemorrágico y una pérdida del 40% causará la muerte en la mitad de la población.<sup>45, 46</sup>

Puesto que la glibenclamida se une fuertemente a proteínas es necesario obtener una muestra de sangre sin coagular, por lo que se empleó una solución de citrato de sodio concentrada; este anticoagulante se usa en proporción de una parte de solución de citrato por nueve de sangre; <sup>47</sup> considerando el peso promedio de la población el volumen necesario de citratos fue de 0.08 mL.

---

---

### **Tratamiento de la muestra**

Se preparó una solución de felodipino a concentración de 10 µg/mL en ácido acético-metanol al 1%, como estándar interno. Se adicionó en proporción 2:1, solución del estándar interno y plasma para precipitar proteínas y se centrifugó a 14 000 rpm durante 10 min. Se tomó el sobrenadante y se inyectó bajo las condiciones cromatográficas establecidas en el método de determinación de glibenclamida.

El tratamiento del blanco se llevó a cabo colocando en proporción 2:1, ácido acético-metanol al 1% y pool de las muestras obtenidas al tiempo 0 h.

### **Determinación del contenido de glibenclamida**

Se realizó una curva estándar de glibenclamida en un pool de plasma a las concentraciones de 0.5, 1, 3, 5, 7 y 9 µg/mL con el tratamiento para precipitar proteínas; empleando como patrón interno felodipino a una concentración de 10 µg/mL.

Las condiciones en el equipo CLAR fueron:

Fase móvil: Solución amortiguadora de fosfatos 0.05M pH 3.5 y acetonitrilo grado CLAR (45:55)

Columna C8, 5 µm, 150 x 4.6 mm

Tiempo de corrida de 5.2 min

Longitud de onda de 254 nm UV

Velocidad de flujo de 2.2 mL/min

Volumen de inyección de 25 µL

---

---

El método analítico fue validado en un intervalo de 1 a 9  $\mu\text{g/mL}$ , presentando un límite de cuantificación de 0.25  $\mu\text{g/mL}$  y 0.1  $\mu\text{g/mL}$  de detección. Indicando una estabilidad de las muestras a temperatura ambiente por 24 h, hasta un segundo ciclo de congelación-descongelación y una estabilidad en el automuestreador después del tratamiento por un tiempo de al menos 4 h.<sup>48</sup>

### **Evaluación del efecto**

A los tiempos 0, 1, 1.5, 2.5 y 4 h, se hizo la medición de la concentración de glucosa en sangre con ayuda de un glucómetro Accu Chek Performa. La toma de sangre se realizó por corte en la cola.

### **Manejo de resultados**

La curva estándar se obtuvo graficando la respuesta (ABC de glibenclamida entre el ABC del estándar interno) contra la concentración conocida de glibenclamida.

Por medio de la ecuación de la curva estándar se estimó la concentración plasmática a cada tiempo, se graficó el perfil de glibenclamida concentración plasmática contra tiempo y se determinaron los parámetros de  $C_{\text{máx}}$ ,  $T_{\text{máx}}$ ,  $ABC_{(0-8h)}$ ,  $ABC_{(0-\infty)}$  y la  $K_e$  para ambas vías de administración.

Para evaluar el efecto de la glibenclamida, se graficó la concentración de glucosa en sangre contra tiempo por grupo.

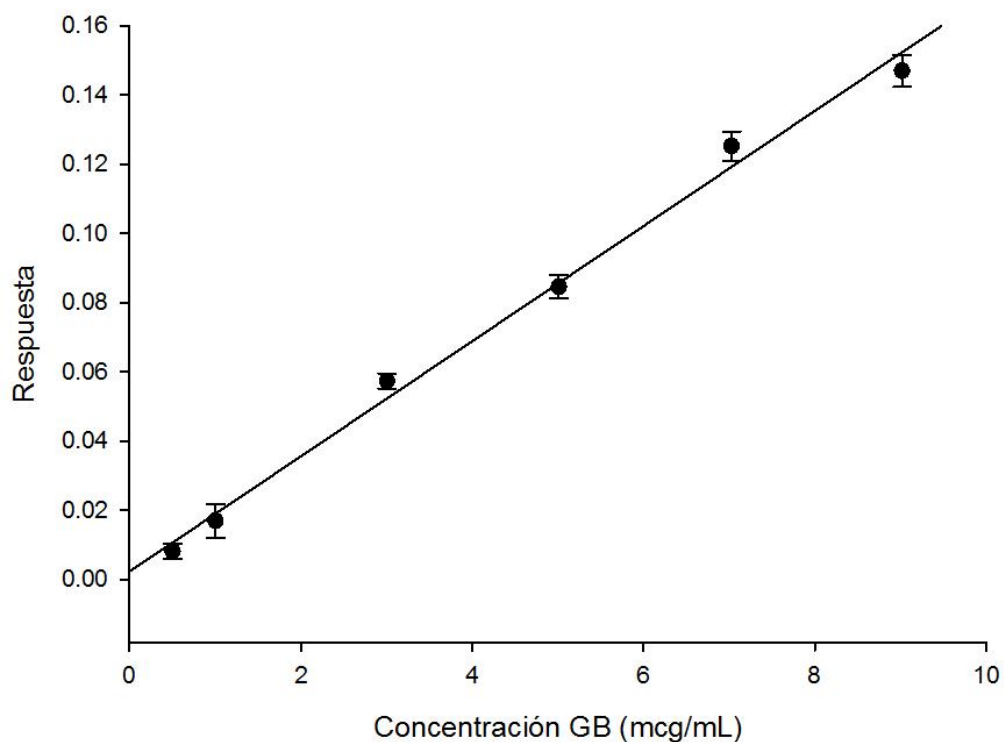


---

---

## 9. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

La curva estándar de glibenclamida en plasma de ratón CD1 (Gráfica 1), se construyó a partir de las concentraciones 0.5, 1, 3, 5, 7 y 9  $\mu\text{g/mL}$ ; la cual sigue la ecuación  $y = 0.016852x + 1.56 \times 10^{-3}$  ( $r^2 = 0.98867$ ) y ésta se empleó para interpolar las respuestas de ambas vías de administración.



*Gráfica 1. Curva estándar de glibenclamida (Promedio  $\pm$  DE) en plasma de ratón CD1 que obedece a la ecuación  $y = 0.016852x + 1.56 \times 10^{-3}$  ( $r^2 = 0.98867$ )*

La dosis utilizada para la vía oral de 5 mg/kg se seleccionó tomando como base los reportes encontrados<sup>20, 39</sup>; mientras que para la vía transdérmica el peso del monolito de 20 mg se eligió por ser de un tamaño poco invasivo para los ratones (Figura 6),

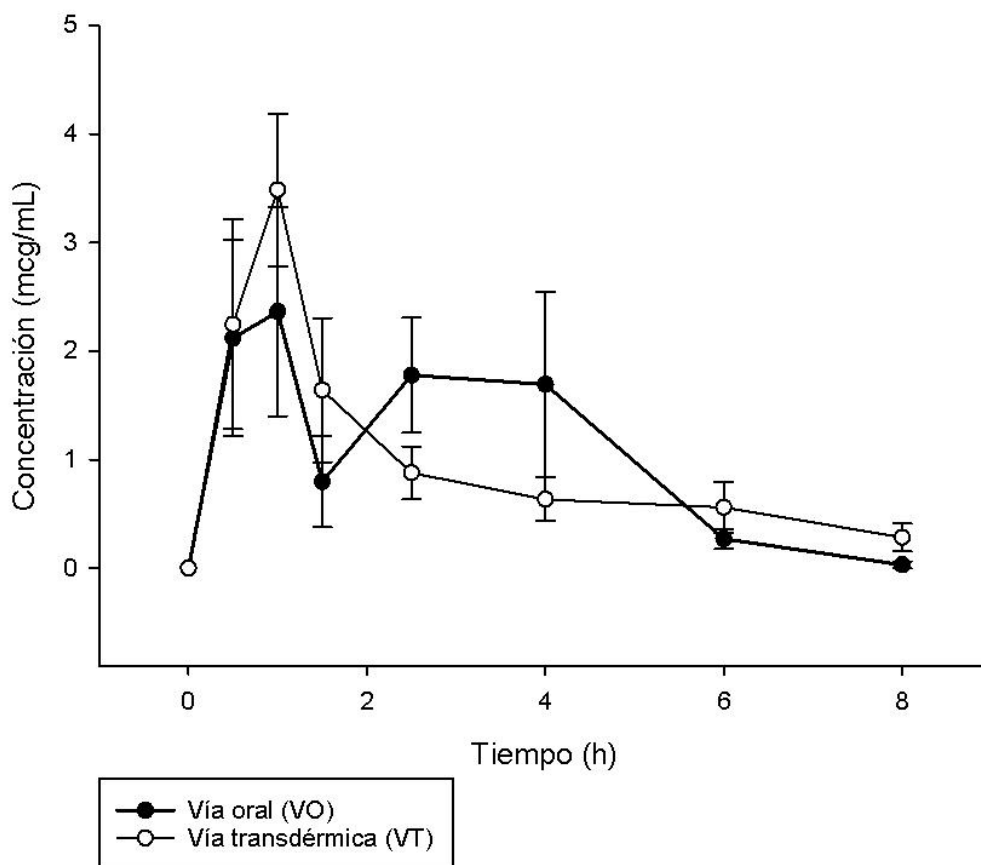
---

---

administrando aproximadamente 0.358 mg de fármaco.<sup>29</sup> En ambos casos no se observaron cambios de conducta en comparación con los ratones de los grupos controles correspondientes.

En la Gráfica 2 de los perfiles de glibenclamida se aprecia que a partir de una dosis oral de 5 mg/kg de peso en el ratón se exhiben dos picos máximos de absorción, esto puede indicar un vaciamiento gástrico interrumpido por un periodo inactivo del tracto intestinal<sup>49</sup> o bien un fenómeno de recirculación enterohepática, donde el fármaco de la circulación sistémica se excreta en la bilis y se reabsorbe desde el intestino delgado hacia el torrente sanguíneo.<sup>50</sup> Cabe señalar que los ratones se encontraban en un estado de hiperglucemia por la administración inicial y a la hora de glucosa, dicho estado alteró la farmacocinética retardando el vaciamiento gástrico.<sup>18</sup>

En la misma gráfica, se observa una eliminación de dos fases a partir de la administración transdérmica. En la primera la glibenclamida se elimina de manera rápida (en 2.5 h, aproximadamente) pasando a una segunda fase de eliminación lenta. Este comportamiento podría representar un comportamiento cercano a un modelo de dos compartimentos e indica una absorción continua de manera que el fármaco se encuentra disponible en el plasma por más tiempo y en consecuencia aumenta el tiempo del efecto.



Gráfica 2. Perfil concentración plasmática-tiempo (promedio  $\pm$  DEM) a partir de una dosis ORAL de 5 mg/kg de glibenclamida (VO) y administración TRANSDÉRMICA de 20 mg de monolito sol-gel con glibenclamida (VT).

En el diseño de nuevas formas farmacéuticas es necesario realizar una correlación *in vitro-in vivo*, estudios previos sobre los monolitos sol-gel de glibenclamida indican que presentan una cinética de liberación del fármaco de tipo Higuchi<sup>28, 29</sup>, este mecanismo de liberación refleja una cinética *in vivo* cercana al orden cero<sup>51</sup> lo cual quiere decir que su absorción no depende de la concentración; mientras que la liberación de glibenclamida por vía oral presenta una cinética de orden uno. A su vez un modelo Higuchi describe la liberación del fármaco mediante un proceso de

---

---

difusión, donde la velocidad de difusión se verá afectada por factores como la solubilidad del fármaco, la temperatura, la relación fármaco/excipiente, el tamaño del poro, la masa y la viscosidad del medio.<sup>28, 29</sup>

Como se muestra en la Tabla 3, la principal diferencia observada es en cuanto a las constantes de eliminación ( $K_e$ ) calculadas por el método de mínimos cuadrados, se encontró que ésta es mucho menor por vía transdérmica, lo que implica que la segunda fase de eliminación de glibenclamida a partir de los monolitos sol-gel es lenta y sostenida en comparación con la administración vía oral. Se ha encontrado que otros sistemas transdérmicos presentan diferencias significativas con valores menores de  $C_{m\acute{a}x}$  y  $K_e$ ; y valores mayores de  $T_{m\acute{a}x}$ , y ABC, que muestran una absorción lenta en comparación con una vía de administración convencional.<sup>39, 40</sup>

*Tabla 3. Parámetros farmacocinéticos de glibenclamida administrada por V. Oral y V. Transdérmica.*

Parámetro	Oral	Transdérmica
$C_{m\acute{a}x}$ ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	$2.310 \pm 0.965$	$3.485 \pm 0.703$
$T_{m\acute{a}x}$ (h)	1.000	1.000
$ABC_{(0-8)}$ ( $\mu\text{g h}/\text{mL}$ )	8.592	7.703
$ABC_{(0-\infty)}$ ( $\mu\text{g h}/\text{mL}$ )	8.603	9.103
$K_e$ ( $\text{h}^{-1}$ )	0.776	0.202

En este caso se puede ver que no hay diferencias significativas de las  $C_{m\acute{a}x}$  y que los valores del  $ABC_{(0-\infty)}$  son diferentes entre ambas vías de administración. Esto se explica por las propiedades de la glibenclamida y las propiedades fisiológicas del lugar donde se absorbe el fármaco. Teniendo en cuenta que la glibenclamida es un

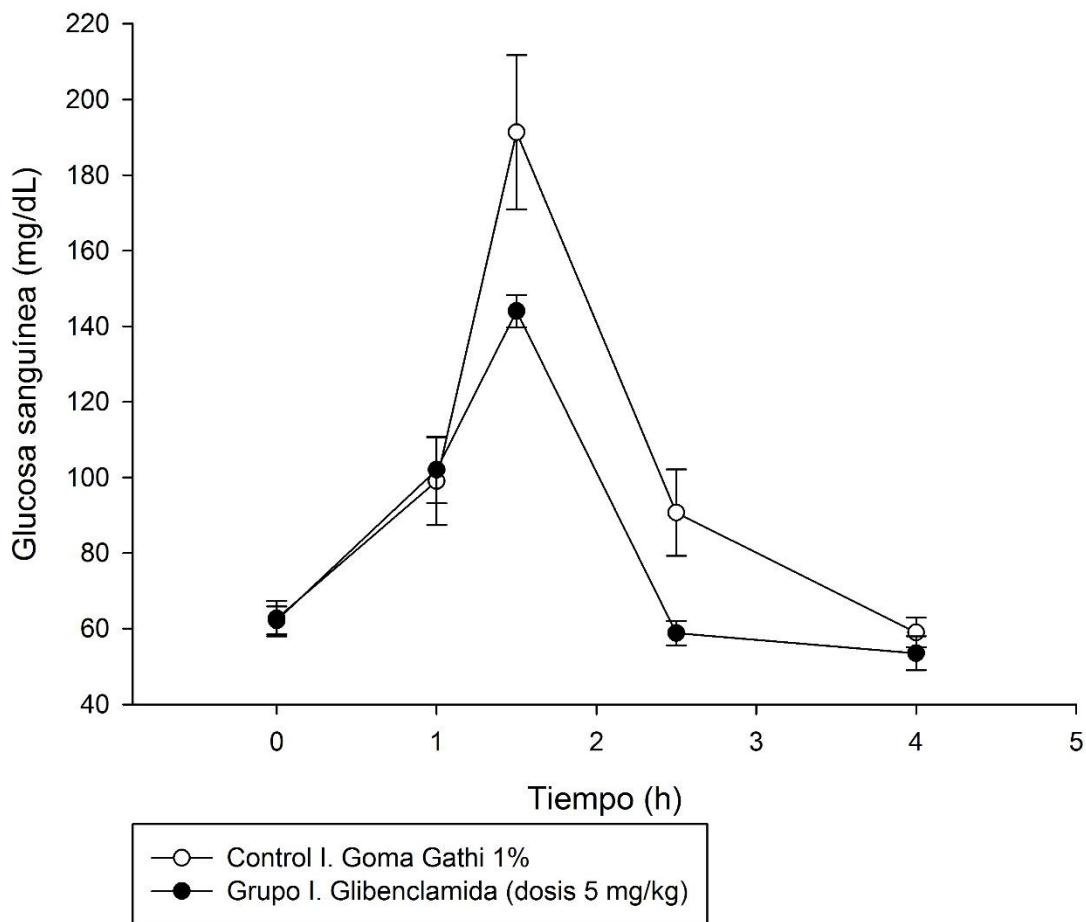
---

---

ácido débil con un pKa de 5.3, por vía oral se facilita su absorción en las condiciones ácidas del duodeno y yeyuno.<sup>20</sup> Con respecto a la administración transdérmica, los monolitos son depositados en la dermis, un medio sumamente irrigado,<sup>52</sup> lo que facilita la absorción del fármaco el cual se libera de la matriz por difusión.<sup>28, 29</sup>

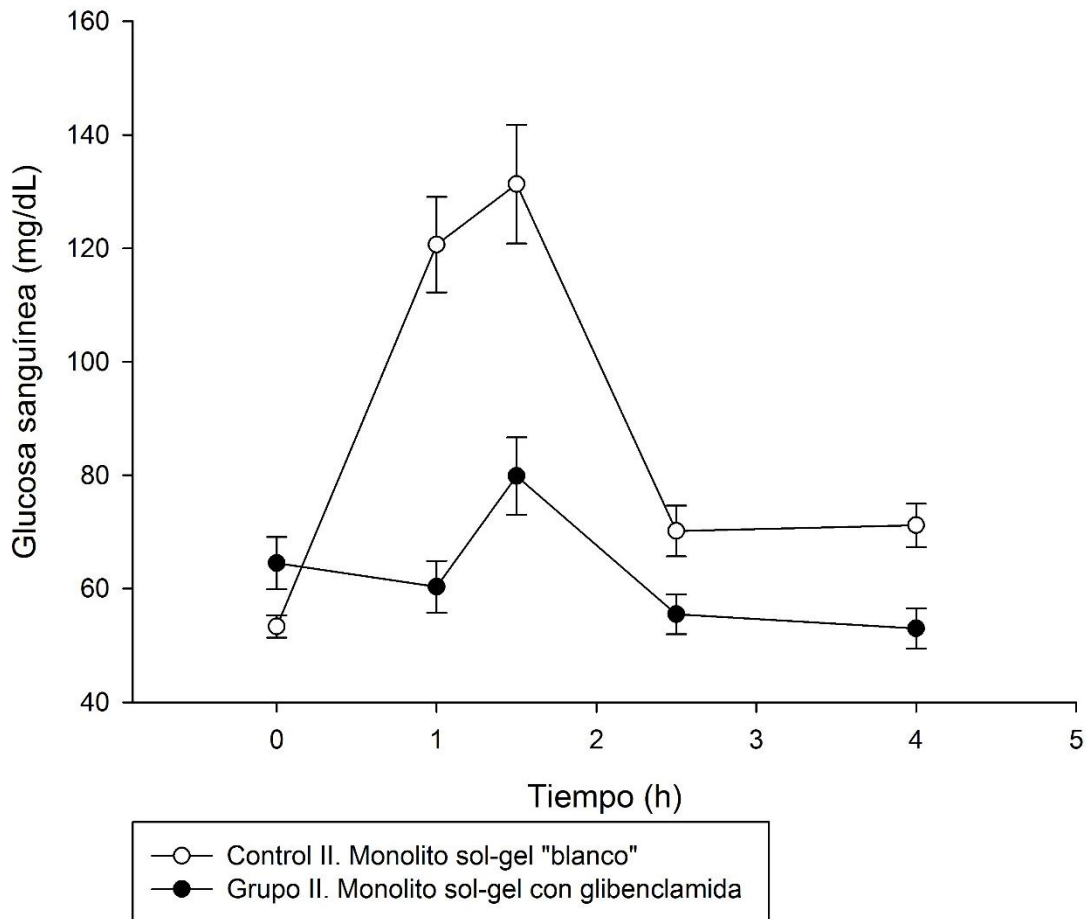
En estudios futuros, se podría considerar un nuevo esquema de muestreo que permita obtener un mayor número de muestras durante periodos más cortos de tiempo con el fin de permitir la caracterización total de las fases de absorción y eliminación de la glibenclamida.

Para poder conocer en que tiempo se presenta el efecto de la glibenclamida, a todos los grupos se les administró una sobrecarga de glucosa y se les hizo la medición de glucemia durante las primeras cuatro horas de estudio. El efecto de la glibenclamida administrada por vía oral se dio alrededor de 1.5 h, esto se sabe por la diferencia de los niveles glucemicos con respecto a su control al cual se le administró goma Gathi al 1% (Gráfica 3).



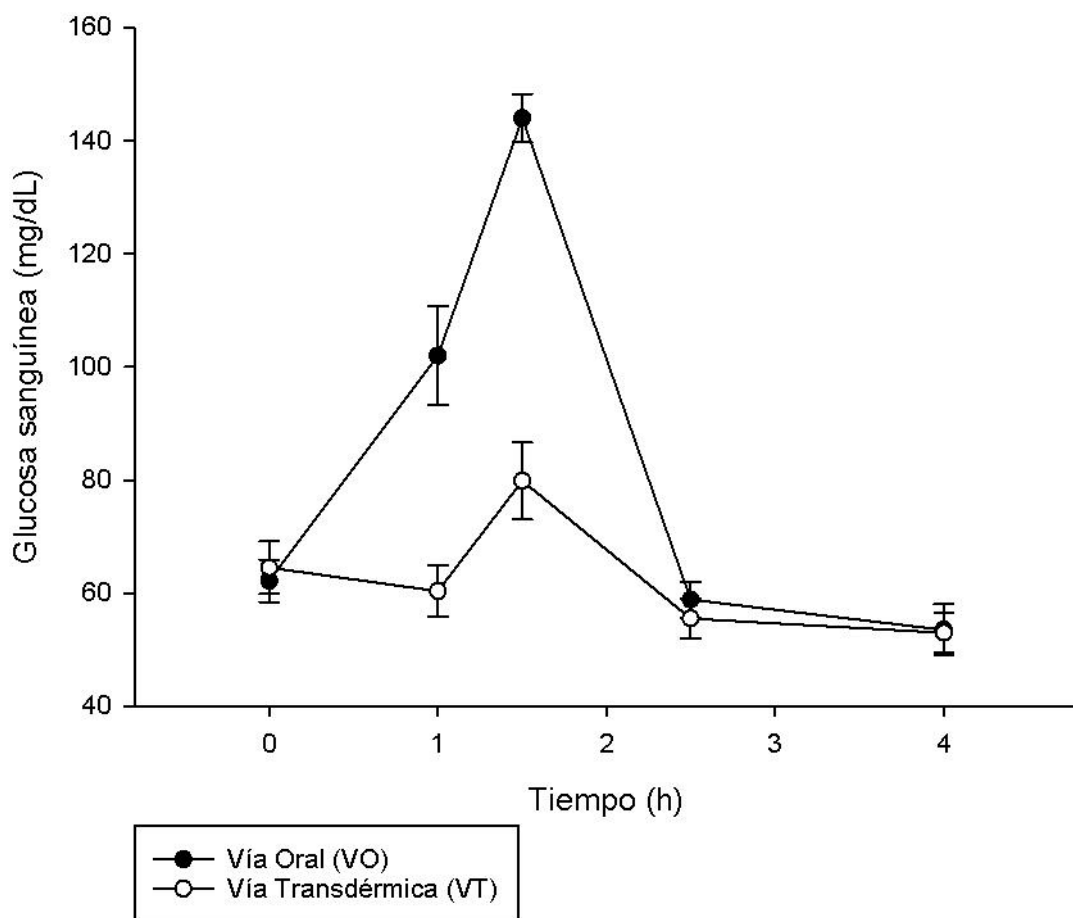
*Gráfica 3. Efecto de la glibenclamida sobre los niveles de glucosa sanguínea-tiempo (promedio  $\pm$  DEM) en ratones con sobrecarga de glucosa por vía ORAL.*

Mientras que el efecto por parte de los monolitos se puede observar desde 1 h en relación a su grupo control al cual se le administró monolito blanco (Gráfica 4).



*Gráfica 4. Efecto de la glibenclamida sobre los niveles de glucosa sanguínea-tiempo (promedio  $\pm$  DEM) en ratones con sobrecarga de glucosa por vía TRANSDÉRMICA.*

En la Gráfica 5, se demuestra que si bien por vía transdérmica los niveles de glucosa sanguínea se mantuvieron bajos a pesar de la administración de una sobrecarga de la misma en una dosis de 2 g/kg al tiempo inicial y una hora después de comenzar el estudio, estos no fueron menores a la glucosa basal tomada en ayunas y los ratones no presentaron síntomas de hipoglucemia como aletargamiento o pérdida total de la motricidad.



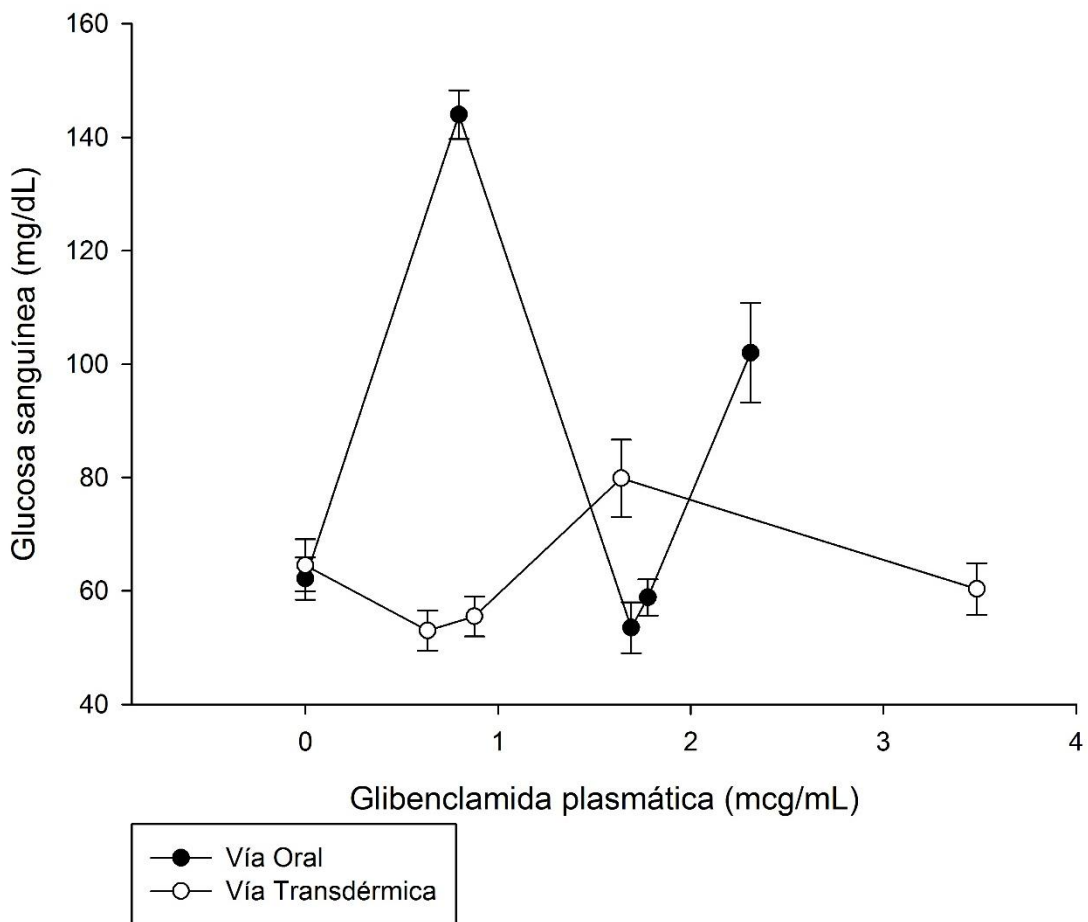
Gráfica 5. Efecto de la glibenclamida sobre los niveles de glucosa sanguínea-tiempo (promedio  $\pm$  DEM) en ratones con sobrecarga de glucosa.

V. ORAL vs V. TRANSDÉRMICA.

Como se muestra en la Gráfica 6 el efecto de la glibenclamida por vía oral no es constante y exhibe altos niveles de variabilidad individual, debido a los factores que afectan su absorción como son las propiedades fisicoquímicas del fármaco, el contenido del tracto gastrointestinal, la hiperglucemia o el estado emocional del individuo.<sup>18, 53</sup> En cambio, por vía transdérmica se demuestra un efecto homogéneo,



sostenido y con menor variabilidad incluso cuando el fármaco se encuentra en mayor concentración, propiedades dadas por la liberación del fármaco de la matriz monolítica donde inicialmente se libera en proporción suficiente para producir su efecto y después de forma lenta, manteniendo la concentración eficaz durante más tiempo, exhibiendo una absorción continua e independiente de la concentración.<sup>54</sup>



Gráfica 6. Niveles de glucosa sanguínea -- concentración plasmática de glibenclamida

VÍA ORAL vs VÍA TRANSDÉRMICA

---

---

Para disminuir la variabilidad, se propone emplear un modelo biológico de mayor tamaño, como podría ser la rata; de esta manera sería posible realizar un perfil completo con un sólo individuo con la finalidad de hacer determinaciones farmacocinéticas y farmacodinámicas con datos individuales.

---

---

## 10. CONCLUSIONES

La biodisponibilidad de glibenclamida reflejada por la  $C_{m\acute{a}x}$  no presentó diferencias significativas entre la administración oral y la transdérmica; no obstante se obtuvo un valor de  $ABC_{0-\infty}$  mayor por su administración en monolitos de silicio, demostrando que es posible mantener un efecto constante a través del tiempo sin generar problemas de hipoglucemia.

Se plantearon recomendaciones para diseñar futuros estudios de biodisponibilidad con el fin de realizar una evaluación confirmatoria del comportamiento de la glibenclamida después de su administración por monolitos de silicio fabricados por la técnica sol-gel.

---

---

## 11. ANEXO I. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

*a. Solución desinfectante de alcohol- yodo 1%*

Pesar 1g de yodo sublimado (I<sub>2</sub>) y disolverlo en 100 mL de etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) al 70%.

*b. Goma Gathi al 1%*

Pesar 1g de goma Gathi, vaciarla en 100 mL de agua destilada, calentar en microondas por intervalos de 10 segundos, agitando en cada pausa hasta que se disuelva por completo, dejar enfriar.

*c. Suspensión de glibenclamida (5 mg/kg)*

Pesar 17.5 mg de glibenclamida, vaciarla en 25 mL de solución goma Gathi al 1%.

Agitar siempre antes de administrar.

*d. Solución de glucosa (2 g/kg)*

Mezclar 56 mL de solución inyectable de glucosa al 50% con 444 mL de solución salina inyectable al 0.9%.

*e. Ácido acético en metanol al 1%*

En una probeta de 50 mL, verter aproximadamente 20 mL de metanol grado CLAR, adicionar 0.5 mL de ácido acético glacial y completar el volumen con el mismo metanol hasta 50 mL; agitar.

---

---

*f. Solución amortiguadora de fosfatos pH 3.5, 0.05M*

Pesar 3.25 g de fosfato monobásico de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), disolverlo en 500 mL de agua desionizada, adicionar 0.07 mL de ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) y medir el pH con agitación continua; ajustar a pH 3.5 con solución de ácido clorhídrico (HCl) 1 M o de hidróxido de sodio (NaOH) 1 M, según lo requiera. Cuando el pH sea el indicado 3.5, adicionar 2 mg de octanosulfonato de sodio.

---

---

## 12. ANEXO II. FÓRMULAS

- Media aritmética/ Promedio

$$Y = \frac{\sum Yi}{n}$$

- Desviación estándar (s)

$$S = \sqrt{\frac{\sum(Y - Yi)^2}{n - 1}}$$

- Desviación estándar de la media (DEM)

$$DEM = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

- Área bajo la curva (ABC)

$$[ABC]_{t_{n-1}}^{t_n} = \frac{C_{n-1} + C_n}{2} (t_n - t_{n-1})$$

$$[ABC]_0^\infty = \sum [ABC]_{t_{n-1}}^{t_n} + \frac{Cp_n}{k}$$

### 13. ANEXO III. CERTIFICADO DE ANÁLISIS GLIBENCLAMIDA



## Química Alkano, S. A. de C. V.

### CERTIFICATE OF ANALYSIS

<b>NAME OF FINISHED PRODUCT:</b>		GLIBENCLAMIDE BP 2011	
<b>BATCH NO.:</b>		EGAA-B-13-0008	
<b>MANUFACTURING DATE:</b>		JUNE 2013	
<b>EXPIRY DATE:</b>		MAY-2017	
<b>CERTIFICATE No:</b>		131717	
SR. No.	TEST	RESULTS	REQUIEREMENTS
1	Appearance	White crystalline powder	A white or almost white crystalline powder.
2	Solubility	Complies	Practically insoluble in water, sparingly soluble in methylene chloride, slightly soluble in alcohol and in methanol.
3	Identification		
	(A) Melting point	170.9°C to 173.1°C	Between 169°C and 174°C
	(B) By UV	Complies	The solution shows an absorption maximum at 300 nm and a less intense maximum at 275 nm
		Complies	The specific absorbences at the maxima are 61 to 65 and 27 to 32 respectively
	(C) By TLC	Complies	The principal spot in the chromatogram obtained with the test solution is similar in position and size to the principal spot in the chromatogram obtained with the reference solution.
(D) By Color Development	Complies	The test solution should be colorless and shows blue fluorescence in ultraviolet light at 365 nm	
4	Related substances (By HPLC)		
4.1	Impurity A	0.02%	NMT 0.5 per cent
4.2	Impurity B	0.09%	NMT 0.5 per cent
4.3	Unknown Impurity 1	BDL	NMT 0.2 per cent
4.4	Unknown Impurity 2	BDL	NMT 0.1 per cent
4.5	Unknown Impurity 3	BDL	NMT 0.1 per cent
4.6	Total of other Impurity	BDL	NMT 0.5 per cent
5	Heavy Metals	Less than 20 ppm	NMT 20 ppm
6	Loss on drying	0.31%	NMT 1.0% w/w
7	Sulphated ash	0.06%	NMT 0.1% w/w
8	Assay	99.68	Between 99.0 per cent to 101.0 per cent (dried substance)
<b>Remarks:</b> The material complies as per BP 2011 specification.			

ING. VICTOR TEJADA FERNÁNDEZ

RESPONSABLE SANITARIO No. ARM-0839-2002

ESTE CERTIFICADO ES COPIA FIEL DEL PROPORCIONADO POR EL FABRICANTE.

Morelos No. 68 San Lucas Tepetlaco Tlalnepantla, Edo. de México, C.P. 54055  
 Tels.: 53-61-74-93, 53-61-75-63, Fax: 53-61-76-79, E-mail: qalkano@prodigy.net.mx  
 www.alkano.net

---

---

## 14. REFERENCIAS

1. Diabetes. Nota descriptiva N° 312. [Internet]. Organización Mundial de la Salud OMS; 2015 [Acceso 18-agosto-2015]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
2. Flórez J, Freijanes J. Insulina e hipoglucemiantes orales. Glucagón. En: Flórez J. Farmacología humana. 6ª ed. Barcelona: Ed. Elsevier Masson; 2014: 927-943.
3. Chávez A, Ledezma D, Álvarez P, Ferreira G, Gómez L, Galar M. Evaluación de un modelo de diabetes tipo 2 para estudiar la actividad hipoglucemiante de la glibenclamida. Rev Mex Cienc Farm. 2007; 38 (3): 5-11.
4. Davis S, Granner D. Insulin, oral hypoglycemic agents, and the pharmacotherapy. In: Hardman JG, Limberd LE. Goodman and Gillman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 10<sup>th</sup> ed. USA: McGraw Hill; 2001: 1679-1714.
5. International Pharmaceutical Federation FIP. Declaración de las normas profesionales de FIP el papel del farmacéutico en la estimulación de la adherencia a los tratamientos a largo plazo. [Internet]. Sydney: FIP Council; 2003. [Acceso 20-agosto-2015]. Disponible en: [http://www.fip.org/www/uploads/database\\_file.php?id=220&table\\_id=](http://www.fip.org/www/uploads/database_file.php?id=220&table_id=)
6. Allen L, Popovich N, Ansel H. Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems. 9<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia; 2011.
7. Buxton I, Benet L. Farmacocinética: dinámica de la absorción, distribución, metabolismo y eliminación de fármacos. En: Bruton L, Chabner B, Knollman. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª ed. México: McGrawHil; 2012: 17-39.
8. Tébar F, Escobar F. La diabetes mellitus en la Práctica Clínica. Madrid: Panamericana; 2009.



- 
- 
9. Sanofi. Diabetes [Internet]. Barcelona: Sanofi; 2012 [Acceso 17-agosto-2015]. Disponible en: <http://www.sanofi.es//es/sp/layout.jsp?scat=D513F592-400A-4831-88A8-41061CFF07D8>
  10. Federación Internacional de Diabetes FID. Atlas de la Diabetes de la FID. 6° ed. FID; 2013.
  11. Qué es la Diabetes. [Internet]. Organización Mundial de la Salud OMS; 2015 [Acceso 18-agosto-2015]. Disponible en: [http://www.who.int/diabetes/action\\_online/basics/es/index2.html](http://www.who.int/diabetes/action_online/basics/es/index2.html)
  12. Prevención, Tratamiento y control de la diabetes, Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010. Diario Oficial de la Federación; 23 de noviembre de 2010.
  13. Powers A, D'Alesio D. Páncreas endocrino y farmacoterapia de la diabetes mellitus e hipoglucemia. En: Bruton L, Chabner B, Knollman. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª ed. México: McGrawHil; 2012: 1237-1273.
  14. Gobierno Federal de los Estados Unidos Mexicanos. Guía de Práctica Clínica GPC. Diagnóstico y tratamiento de diabetes mellitus en el adulto mayor vulnerable. Catálogo Maestro de GPC: IMSS-657-13
  15. Niopas I, Daftsios A. A validated high-performance liquid chromatographic method for the determination of glibenclamide in human plasma its application to pharmacokinetic studies. J. Pharm. Biomed. Anal. 2002; (28): 653-657.
  16. Coppack S, Lant A, McIntush C, Rodgers A. Pharmacokinetic and pharmacodynamics studies of glibenclamide in non-insulin dependent diabetes mellitus. Br. J. Clin. Pharmac. 1990; 29: 673-684.
  17. Pearson J. Pharmacokinetics of glyburide [abstract]. Am J Med. 1985; 79 (3B): 67-71.

- 
- 
18. Kraft M, Elbert A. farmacocinética de los hipoglucemiantes orales en las distintas etapas de la insuficiencia renal crónica. *Revista de nefrología, diálisis y trasplante*. 2004; 24 (1): 189-194.
  19. DrugBank V. 4.3. Glyburide [Internet]. Canada: DrugBank; 2005 [Acceso 20-agosto-2015]. Disponible en: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01016>.
  20. Li Y, Wei Y, Zhang F, Wang D, Wu X. Changes in the pharmacokinetics of glibenclamide in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2012; 2 (2); 198-204.
  21. Martindale: The complete Drug References. 36<sup>th</sup> ed. Great Britain: Pharmaceutical Press; 2009.
  22. Corish J, Corrigan O. Transdermal diffusion of drug molecules. *J. Chem. Soc. Faraday Trans*. 1990; 86 (8): 1317-1321.
  23. Santos A, Siin M, Bariana M, Kumeria T, Wang Y, Losic D. Drug-releasing implants: current progress, challenges and perspectives. *J. Mater. Chem. B*. 2014; 2: 6157-6182.
  24. Korteso P. Sol-gel derived silica gel monoliths and microparticles as carrier in controlled, drug delivery in tissue administration. Finland: University of Helsinki, 2001.
  25. Castañeda J. Fabricación de materiales amorfos y policristalinos con la ruta sol-gel. *Boletín de la Sociedad Mexicana de Física*. 2006; 20 (1): 13-15.
  26. Llinás C, Sánchez D. Nanopartículas de sílice: preparación y aplicaciones en biomedicina. *Afinidad LXXI*. 2014; 56: 20-22
  27. Nieto A. Aplicaciones biomédicas de materiales mesoporosos de sílice y de carbón [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia; 2011.

- 
- 
28. Santana Y. Diseño de las condiciones experimentales para la construcción de perfiles de disolución de glibenclamida liberada a partir de monolitos elaborados por la técnica sol-gel [Tesis]. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2016.
  29. Romero O. Efecto del secado en la liberación de glibenclamida contenida en matrices sol-gel [Tesis]. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2017.
  30. Barona D. Evaluación de la uniformidad de contenido de glibenclamida en matrices sol-gel monolíticas [Tesis]. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2016.
  31. López J. Producción de matrices poliméricas sol-gel de liberación modificada incorporando el sólido amorfo de glibenclamida [Tesis]. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2016.
  32. Wagner J. Farmacocinética clínica. Barcelona: Reverte, 1983.
  33. Jambhekar, Breen P. Basic pharmacokinetics. 2<sup>nd</sup> ed. London: Pharmaceutical Press; 2012.
  34. Aleixandre A, Puerro M. Administración y distribución de los fármacos. En: Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza J, Moro M, Portolés A. Velázquez Farmacología básica y clínica. 18<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Panamericana, 2008: 13-35.
  35. Aleixandre A, Puerro M. Metabolismo y excreción de fármacos. En: Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza J, Moro M, Portolés A. Velázquez Farmacología básica y clínica. 18<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Panamericana, 2008: 37-55.

- 
- 
36. Rojas J, Mendoza N. Farmacocinética integral: principios y conceptos. En: Mendoza N. Farmacología médica. México: Panamericana: UNAM, Facultad de medicina, 2008: 111-121.
37. Alonso M. Farmacocinética de ciprofloxacina administrada por infusión intravenosa en primate no humano con lesión traumática de médula espinal en fase aguda [Tesis]. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2006.
38. Huerta L. Caracterización de la farmacocinética de acetaminofén en primate no humano en un modelo de lesión medular experimental [Tesis]. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2007.
39. Mutalik S, Udupa N. Formulation development, *in vitro* and *in vivo* evaluation of membrane controlled transdermal systems of glibenclamide. J Pharm Sci. 2005; 8 (1): 26-38.
40. Mutalik S, Udupa N. Glibenclamide transdermal patches: physicochemical, pharmacodynamics and pharmacokinetics evaluations. J Pharm Sci. 2004: 1577-1594.
41. Prosad N, Jyothsna G. Influence of atorvastatin on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide in normal and diabetic rats. European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2004, 293: 1577-1594.
42. Lüllmann, Mohr, Hein. Farmacología: texto y atlas. 6ª ed. Madrid España: Ed. Médica Panamericana; 2008.
43. Adis Editorial. Glibenclamide. A review Drugs. 1971; 1: 116-140
44. Cunliffe TL, Les EP. The laboratory mouse. In: Trevor B. The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals. 6<sup>th</sup> ed. USA: Longman Scientific & Technical, 1987.

- 
- 
45. Górska P. Principles in laboratory animal research for experimental purposes. Med Sci Monit, 2000; 6 (1): 171-180.
46. McGuill MW, Rowan AN. Biological effects of blood loss: implications for sampling volumes and techniques. ILAR Journal, 1989; 31 (4): 5-18.
47. Lynh M, Raphael S, Mellor L, Spare P, Inwood M. Métodos de laboratorio. 2a ed. México: Interamericana.
48. Serrano B. Desarrollo de un método analítico por CLAR para cuantificar glibenclamida en plasma de ratón [Tesis]. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2016.
49. Gerk P, Yu A, Shargel L. Physiologic factors related to drug absorption. En: Shargel L, Yu A. Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics. 7<sup>th</sup> ed. US: McGraw Hill, 2016: 373-414.
50. Riviere J. Comparative pharmacokinetics. Principles, techniques and applications. 2<sup>nd</sup> ed. UK: Wiley-Blackwell, 2011: 39-47.
51. Ding H. Modified-released drug products and drug devices. En: Shargel L, Yu A. Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics. 7<sup>th</sup> ed. US: McGraw Hill, 2016: 567-613.
52. Ross M, Pawlina W. Histología. Texto y atlas color con biología celular y molecular. 5<sup>a</sup> ed. EU: Panamericana, 2007: 480-504.
53. Rowland M, Tozer T. Clinical pharmacokinetics, concepts and applications. 3<sup>rd</sup> ed. US: Williams & Wilkins 1994; 119-128, 130-134.
54. Boletín de información farmacoterapéutica de Navarra. Formas farmacéuticas de liberación modificada y estereoisómeros. Bit. 2005; 13 (1): 2-5.