



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
Laboratorio de Investigación Farmacéutica



TESIS

OBTENCIÓN DE UNA NUEVA FORMA SÓLIDA DE GLIBENCLAMIDA

QUE PRESENTA

Robles Ortega Amaranta

PARA OBTENER EL GRADO DE:

Química Farmacéutica Bióloga

BAJO LA DIRECCIÓN DE

**Dra. Elizabeth Guadalupe
Sánchez González**

Directora

**Q.F.B. José Ignacio Vázquez
Olvera**

Asesor

Ciudad de México, 2020



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 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.

Esta tesis fue financiada en su totalidad con recursos del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, proyecto PAPIIT IT-201619 “Diseño de matrices multiparticuladas de liberación controlada preparadas mediante el proceso sol-gel, aplicables en el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2”, por lo que se agradece el apoyo a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico.

Agradecimientos

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la Universidad Nacional Autónoma de México por confiar en mí, abrimme las puertas y permitirme perseguir mis sueños desde sus aulas.

A los miembros del Laboratorio de Investigación Farmacéutica los doctores Vicente Jesús Hernández Abad, Elizabeth Guadalupe Sánchez González, la maestra Cynthia Espinosa Contreras y al maestro José Ignacio Vázquez Olvera quienes con sus conocimientos y apoyo en cada etapa, han impulsado la investigación de nuevas alternativas farmacéuticas, enfocadas en el paciente, buscando que sea él quien obtenga el máximo beneficio. Gracias por su compromiso e inspiración.

Agradezco el apoyo a la doctora Lourdes Castillo Granada, responsable del proyecto PAPIME PE206115 del laboratorio de Espectroscopia, por su colaboración en el análisis de las muestras.

Contenido

1	Introducción.....	1
2	Marco teórico	2
2.1	Solubilidad	2
2.2	Teoría de solubilidad	3
2.3	Herramientas para mejorar la solubilidad de fármacos	5
2.4	Química supramolecular	8
2.5	Estado sólido.....	9
2.6	Cocristales	13
2.7	Diseño de cocristales	13
2.8	Preparación de cocristales	17
2.9	Técnicas de caracterización de cocristales	20
2.10	Solubilidad de cocristales.....	24
2.11	Evaluación de la solubilidad de cocristales.....	25
2.12	Sistema de Clasificación Biofarmacéutica.....	29
2.12.1	Enfoques para establecer especificaciones de disolución	32
2.12.2	Glibenclamida	33
2.12.3	Coformadores	34
3	Planteamiento del problema y justificación	36
4	Hipótesis	37
5	Objetivo general	37
6	Objetivos particulares.....	37
7	Material y métodos.....	38
7.1	Matriz experimental de 3 variables y 2 niveles	38
7.1.1	Prueba de solubilidad.....	38
7.1.2	Compatibilidad entre conformadores y glibenclamida.....	39
7.1.3	Criterios de elección de disolventes y coformadores para la fabricación de los cocristales	40
7.1.4	Técnica para formación de cocristales	40
7.1.5	Preparación de solución saturada de glibenclamida.....	41
7.1.6	Cristalización por adición de antidisolvente por goteo	41
7.1.7	Cristalización por evaporación convencional	42
7.1.8	Cristalización por enfriamiento	42
7.1.9	Almacenamiento de los productos obtenidos	42
7.2	Caracterización de los cocristales obtenidos a partir de la matriz exploratoria	42

7.2.1	Espectroscopia infrarroja (IR).....	42
7.2.2	Calorimetría de barrido diferencial (DSC).....	43
7.3	Selección de los productos para la matriz reducida.....	43
7.4	Caracterización de los cocrisales obtenidos a partir de la matriz reducida	43
7.4.1	Valoración	43
7.4.1.1	Análisis por CLAR	44
7.4.1.2	Método para la cuantificación de glibenclamida en el cocrystal	44
7.4.2	Prueba de disolución para la cuantificación de la cantidad de fármaco liberado... 47	
7.4.2.1	Preparación del medio de disolución	48
7.4.2.2	Perfil de disolución.....	48
7.4.2.3	Tratamiento de las muestras	50
7.4.2.4	Construcción de los perfiles de disolución	51
7.5	Resonancia magnética nuclear (RMN).....	52
8	Resultados y discusión.....	52
8.1	Solubilidad de la glibenclamida y los coformadores	52
8.2	Compatibilidad entre coformador y Glibenclamida	55
8.2.1	Interacción ácido succínico y glibenclamida	55
8.2.2	Interacción ácido oxálico y glibenclamida.....	57
8.2.3	Interacción ácido benzoico y glibenclamida.....	58
8.3	Experimentos exploratorios para determinar el método de fabricación.....	58
8.3.1	Caracterización de los productos de la matriz exploratoria. Espectroscopia de infrarrojo (IR).....	60
8.3.1.1	Espectro de infrarrojo de la glibenclamida	60
8.3.1.2	Espectro de infrarrojo del producto 2.1.1	65
8.3.1.3	Espectro de infrarrojo del producto 2.1.2	67
8.3.1.4	Espectro de infrarrojo del producto 2.1.3	68
8.3.2	Caracterización de los productos de la matriz exploratoria. Análisis térmico por calorimetría diferencial de barrido	70
8.3.2.1	Técnica de antidisolvente	74
8.3.2.2	Técnica de enfriamiento	75
8.3.2.3	Técnica de evaporación convencional	77
8.3.2.4	Ác. benzoico	79
8.3.2.5	Ác. succínico	80
8.3.2.6	Ác. oxálico	81
8.4	Matriz experimental reducida	82
8.4.1	Caracterización de los productos seleccionados.....	83

8.4.1.1	Contenido	83
8.4.1.2	Espectro de infrarrojo	86
8.4.1.3	Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido	91
8.4.1.4	Análisis térmico de los productos de la matriz reducida	99
8.4.1.5	Perfil de disolución.....	102
9	Conclusión	108
10	Anexos	109
10.1	Anexo 1: Figuras	109
10.2	Anexo 2: Cuadros	113
10.3	Anexo 3: Espectros de IR.....	115
10.4	Anexo 4: Termogramas de los productos	117
11	Referencias	127

1 Introducción

La efectividad de las terapias farmacológicas depende de dos factores primordiales después de la administración del medicamento: primero, asegurar que el fármaco se libere de la forma farmacéutica, alcance la circulación sistémica y finalmente el sitio de acción y, como segundo factor, que alcance una concentración terapéutica. El fallo de una terapia farmacológica puede ocurrir porque no se alcance una concentración plasmática que sea eficiente para lograr el efecto terapéutico; o bien, porque el fármaco no pueda ser liberado (y disuelto) en el sitio de absorción, con lo cual tampoco se lograría una biodisponibilidad adecuada.

La glibenclamida es un fármaco en estado sólido, de origen sintético, perteneciente a la familia de las sulfonilureas y uno de los hipoglucemiantes orales más potentes que se conoce, cuya administración se realiza en forma de tabletas de 5 mg y micronizada de 6 mg. La glibenclamida presenta una baja solubilidad y alta permeabilidad por lo que pertenece a la clase II en el sistema de clasificación biofarmacéutica. La baja solubilidad del fármaco, y por consiguiente el bajo porcentaje de disolución del medicamento que lo contiene, tienen gran influencia sobre la efectividad terapéutica de los medicamentos.

Los fármacos pueden existir en varias formas sólidas, cada una con diferencias en propiedades de importancia farmacéutica, por ello, el campo de investigación del estado sólido está en crecimiento continuo, junto con la caracterización y control de este, ya que la calidad desde el desarrollo es parte central para la industria farmacéutica. Se han utilizado varias alternativas para mejorar la solubilidad de formas cristalinas, tales como la obtención o utilización de polimorfos, la preparación de dispersiones amorfas, la formación de sales, solvatos o de cocrisales. Los cristales multicomponentes como los

cocristales, son una alternativa para obtener una nueva forma cristalina que puede mejorar el rango de solubilidad y biodisponibilidad de los principios activos con baja solubilidad, como los pertenecientes a la clase II. Además de impactar positivamente en la mejoría del valor de solubilidad, la velocidad de disolución y biodisponibilidad del fármaco, los cocristales en particular pueden presentar una mayor estabilidad en comparación con la forma cristalina de alta energía de la molécula.

En este proyecto se contempla desarrollar una metodología para la obtención de una nueva forma sólida de glibenclamida que tenga una mayor solubilidad que la forma cristalina ya existente.

2 Marco teórico

2.1 Solubilidad

La solubilidad es uno de los parámetros más importantes para alcanzar la concentración deseada del fármaco en la circulación sistémica, y así obtener la respuesta farmacológica. Cualquier fármaco que se absorba debe estar disuelto en el sitio de absorción, en este sentido, un objetivo importante en el desarrollo farmacéutico es aumentar la solubilidad cinética del fármaco mientras se mantiene una estructura química estable.^{1, 2} Los valores de solubilidad cinética son valores aproximados, usualmente basados en una medida en un punto de tiempo. Cuando se habla de solubilidad, no solamente se describe la solubilidad cinética, si no también se habla de solubilidad en equilibrio, es decir, cómo se comporta el fármaco al medir un número de puntos de tiempo hasta garantizar que la solución ha alcanzado equilibrio (termodinámicamente estable).

La solubilidad máxima en equilibrio de un fármaco, en un medio disolvente determinado, es de interés farmacéutico práctico porque dicta la velocidad de disolución del fármaco,

cuanto mayor es la solubilidad, más rápida es la velocidad de disolución (si no hay reacción química involucrada). Cuando una solución contiene un soluto en el límite de su solubilidad a cualquier temperatura y presión dadas, se dice que está saturado. Si se excede este límite, pueden estar presentes partículas sólidas de soluto y la fase de disolución estará en equilibrio con el sólido. En determinadas circunstancias se pueden preparar soluciones sobresaturadas, ya que las fuerzas atractivas entre las diferentes especies determinan la formación de una disolución, cualquier factor que promueva las interacciones entre las moléculas de soluto y de disolvente va a favorecer el proceso de disolución y el fármaco existirá en solución por encima de su límite de solubilidad normal.¹ Considerando los factores que controlan la solubilidad de los fármacos en solución, en particular: la naturaleza de la molécula de fármaco (balance hidrofílico-lipofílico) y la forma cristalina en la que existe, su forma, su superficie, pKa y estado de ionización, la influencia del pH del medio y demás atributos de este, es posible diseñar estrategias que modifiquen alguna de estas propiedades, para incrementar el valor de solubilidad más allá del valor en equilibrio y promover el proceso de disolución global, en condiciones fisiológicas y biofarmacéuticas aceptables.

2.2 Teoría de solubilidad

Recientemente, se ha avanzado en la predicción de la solubilidad de los solutos en medios acuosos, tanto a partir de las estimaciones de su área de superficie molecular como de la naturaleza de los grupos funcionales clave en la estructura molecular. La importancia del área de superficie se vuelve clara si pensamos en los procesos involucrados en la disolución de un cristal (Figura 1).

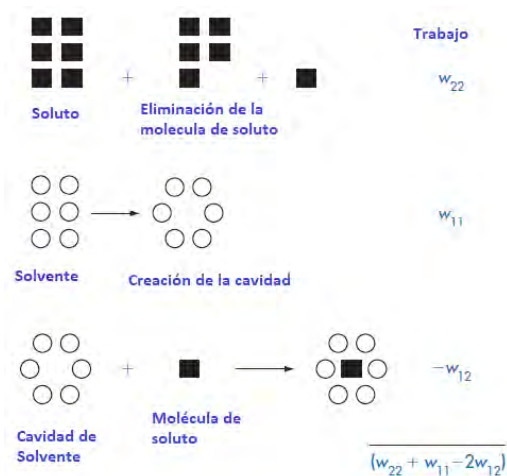


Figura 1. Procesos implicados en la disolución

Diagrama de los tres procesos implicados en la disolución de un soluto cristalino: la expresión del trabajo involucrado es $W_{11} + W_{12} - 2 W_{12}$ (interacción soluto - disolvente en la última etapa es $- 2 W_{12}$ ya que los enlaces se hacen con un soluto y dos moléculas de disolvente). Adaptado de: Florence A.T. et.al. *Physicochemical principles of Pharmacy*.¹

El proceso puede considerarse en tres etapas:

- 1.-Una molécula de soluto (fármaco) se separa de su cristal.
 - 2.- Se crea una cavidad para la molécula en el disolvente.
 - 3.- La molécula de soluto se inserta en esta cavidad. La colocación de la molécula de soluto en la cavidad del disolvente requiere una serie de contactos soluto-disolvente; cuanto mayor es la superficie de la molécula de soluto, más contactos se crean. Si el área de la superficie de la molécula de soluto es A , la interfaz soluto - disolvente aumenta en $\alpha_{12}A$, donde α_{12} es la tensión interfacial entre el disolvente (subíndice 1) y el soluto (subíndice 2). α es un parámetro que no se obtiene fácilmente para las interfaces sólidas en la escala molecular, pero se pueden hacer estimaciones razonables a partir del conocimiento de las tensiones interfaciales de las moléculas en las interfaces normales.¹
- El número de moléculas de disolvente que pueden empaquetarse alrededor de la molécula de soluto se considera en los cálculos de las propiedades termodinámicas de la solución. El área de superficie molecular del soluto es, por lo tanto, el parámetro clave y se pueden obtener buenas correlaciones entre la solubilidad acuosa y este parámetro.¹

La mayoría de los fármacos no son simples hidrocarburos no polares y se tiene que considerar a las moléculas polares y los electrolitos orgánicos débiles. El término W_{12} en la Figura 1, una medida de las interacciones soluto - disolvente, debe descomponerse más para tener en cuenta las interacciones que involucran la parte no polar y la porción polar del soluto. El área de superficie molecular de cada porción se puede considerar por separado: cuanto mayor es el área de la porción hidrófila con respecto a la parte lipófila, mayor es la solubilidad acuosa. Para una molécula lipófila del área A, el cambio de energía libre al colocar el soluto en la cavidad del disolvente es $-\alpha_{12} A$. De hecho, se puede demostrar que el trabajo reversible de la solución es $(W_{11} + W_{12} - 2W_{12}) A$.¹ En esta derivación está implícita la suposición de que la solución formada se diluye, por lo que las interacciones solutos - solutos no son importantes. El éxito del enfoque del área molecular se evidencia por el hecho de que las ecuaciones se pueden escribir para relacionar la solubilidad con el área de la superficie.

Ecuación 1:

$$\ln S = -4,3A + 11.78$$

Donde S es la solubilidad molal (no molar), y A es el área superficial total en nm^2 .¹

2.3 Herramientas para mejorar la solubilidad de fármacos

El desarrollo de nuevos medicamentos plantea dificultades a la hora de resolver problemas relacionados con la solubilidad acuosa de los fármacos candidatos para las nuevas formas farmacéuticas.³ Las técnicas en el Cuadro 1 se utilizan como nuevos enfoques en donde se obtienen fases solidas de fármacos con una mejor solubilidad.

Cuadro 1. Ventajas y desventajas de las técnicas utilizadas para mejorar la solubilidad de los fármacos

Técnica	Ventajas	Desventajas
<p>Ajuste de PH Ajustar el pH de la solución, generalmente mediante el uso de una solución amortiguadora, proporciona un medio eficaz para aumentar la proporción de un fármaco débilmente ácido o básico que está presente en la forma ionizada. A su vez, el aumento de la ionización aumenta la polaridad y, por lo tanto, aumenta la solubilidad del fármaco en soluciones polares (acuosas).⁴</p>	<p>Además de su bajo costo, es un mecanismo simple para mejorar la solubilidad y es de las primeras alternativas para formulaciones de soluciones de fármacos ionizables.⁴</p>	<p>Es necesario que el fármaco sea ionizable.</p> <p>Los extremos de pH pueden llevar a inestabilidad del fármaco. Se utiliza en formas farmacéuticas líquidas.⁴</p>
<p>Formación de sales Las sales se forman a través de una interacción iónica entre fármacos débilmente ácidos o básicos y un contraión básico o ácido de carga opuesta. El aislamiento de fármacos como una forma de sal particular cambia la naturaleza de la red cristalina, dando como resultado diferencias en la velocidad de disolución en las propiedades de estado sólido en comparación con el ácido libre o la base libre.^{4,9}</p>	<p>Es un enfoque común para las vías oral y parenteral, que por su mecanismo simple se considera en las primeras alternativas para abordar la baja solubilidad. Aunque este enfoque solo es aplicable a compuestos ionizables, ácidos débiles y bases débiles explica hasta dos tercios de los fármacos comercializados o en desarrollo.^{4,2}</p>	<p>Se necesitan grupos ácidos o básicos en el fármaco. Problemas con las propiedades físicas de las sales (por ejemplo, su tendencia a formar solvatos e hidratos).²</p>
<p>Formación de cocristales Los cocristales constituyen un complejo molecular entre un fármaco y el coformador de cocrystal y dan como resultado cambios en la red cristalina. En algunos aspectos, los cocristales son análogos a las sales farmacéuticas porque constituyen un complejo entre el fármaco y una especie adicional (contraión, coformador).^{4,9}</p>	<p>Tiene mayor solubilidad y estabilidad termodinámica en estado sólido que la forma cristalina de alta energía. Ofrecen la oportunidad de modificar la composición y sus propiedades, sin alterar los enlaces covalentes ya existentes.⁸</p>	<p>Compuestos homólogos (con los mismos grupos funcionales y los mismos sintones posibles) a menudo presentan diferente reactividad hacia la formación de un cocrystal, mientras que algunas moléculas son capaces de formar cocristales sin tener sintones obvios que las conectan.⁸</p>
<p>Obtención de polimorfos Los polimorfos son formas sólidas que tienen la misma composición química, pero cada una está definido por un diferente arreglo espacial (cada una está representada por una celda cristalina unitaria única). Debido a las diferentes formas de empaquetamiento molecular, los polimorfos de un mismo compuesto puro tienen distintas propiedades físicas.¹⁰</p>	<p>Mejora propiedades físicas como la solubilidad, el punto de fusión, etc. Las diferencias también involucran propiedades espectroscópicas, cinéticas, termodinámicas, mecánicas y algunas propiedades superficiales. Estas mejoras cambia el comportamiento del fármaco.¹⁰</p>	<p>Se debe conocer el tipo de polimorfo con el que se trabaja para prevenir consecuencias inesperadas como la administración de dosis muy altas, dosis terapéutica ineficaz o cambios en la velocidad de disolución y/o de absorción.¹⁰</p>

Técnica	Ventajas	Desventajas
<p>Obtención de amorfos El aislamiento de un compuesto como un polimorfo cristalino de alta energía o en fase amorfa puede tener un profundo impacto sobre la solubilidad aparente del fármaco. De hecho, en la disolución, las diferencias transitorias en la relación de solubilidad del fármaco amorfo a cristalino pueden cubrir varios órdenes de magnitud, lo que conduce a aumentos potencialmente dramáticos en la velocidad de disolución.^{4,10}</p>	<p>Tienden a tener mayor solubilidad ya que no se requiere energía para romper la red cristalina durante el proceso de disolución.^{3,4}</p>	<p>Estas soluciones son, sin embargo, termodinámicamente inestables, y con el tiempo, el fármaco en solución se recrystalizará, volviendo a formas más estables termodinámicamente, esto puede suceder particularmente en la exposición a la humedad o al calor.^{3,4}</p>
<p>Cosolventes Los cosolventes son disolventes orgánicos miscibles en agua que se usan para aumentar la solubilidad de sustancias escasamente solubles en agua. Los cosolventes son menos polares que el agua y, por lo tanto, mejoran la solubilidad del fármaco acuoso al disminuir la polaridad del disolvente a un nivel que refleja la polaridad del soluto no polar.⁴</p>	<p>Los cosolventes se pueden usar tanto para fármacos neutros como ionizables y se han utilizado con éxito en combinación con otras estrategias de solubilización, incluyendo tensioactivos, ciclodextrinas, manipulación del pH y lípidos.¹⁴</p>	<p>La elección es algo limitada como consecuencia de su posible toxicidad o capacidad irritativa, en particular si se destina al uso oral o parenteral, se busca que las mezclas posean valores de constante dieléctrica entre 25 y 80.¹⁴</p>
<p>Surfactantes Los tensioactivos se usan comúnmente para solubilizar fármacos poco solubles en agua a través de la incorporación del fármaco en micelas de tensoactivo, y facilitan la administración mediante mejoras en la humectación y en la estabilización de suspensiones.⁴</p>	<p>Las formulaciones basadas en soluciones micelares son simples y eficaces y, como tales, se han utilizado ampliamente, en gran parte después de administración intra venosa.⁴</p>	<p>Altas concentraciones de surfactante tienen el potencial de causar reacciones adversas locales o sistémicas después de la administración que generalmente es parenteral.⁴</p>
<p>Ciclodextrinas Las ciclodextrinas son oligosacáridos macrocíclicos que consisten en un exterior hidrófilo y una cavidad interna hidrofóbica. Las moléculas de fármaco pueden formar complejos de inclusión dinámicos dentro de esta cavidad, y la mayor solubilidad del complejo fármaco-ciclodextrina en relación con la solubilidad del fármaco solo aumenta la solubilidad aparente, a menudo en varios órdenes de magnitud.⁴</p>	<p>No se absorben en el tracto intestinal y su degradación se lleva en el colon. Baja toxicidad (estudios en ratas y conejos)⁵</p>	<p>En administración parenteral de ciclodextrinas se muestran signos de toxicidad severa tras la administración de altas dosis.⁵</p>
<p>Reducción del tamaño de partícula La reducción del tamaño de partícula conduce a un aumento en el área superficial disponible para la solvatación y un aumento en la velocidad de disolución.⁴</p>	<p>Aumenta el área de superficie consiguiendo de esta manera una mayor velocidad de disolución, en la mayoría de los casos, una mejora en la biodisponibilidad. Esta técnica es eficiente, reproducible y económica.^{3,6}</p>	<p>Se usa para mejorar la biodisponibilidad de fármacos orales y cuando se formulan suspensiones finas (nano) para administración parenteral. A menudo imparten cantidades significativas de estrés físico sobre el producto farmacológico que puede inducir la degradación.^{3,6}</p>

Técnica	Ventajas	Desventajas
<p>Dispersiones solidas (DS) Se refiere a un grupo de productos sólidos que contiene como mínimo dos diferentes componentes, generalmente una matriz hidrofílica y un fármaco hidrofóbico.^{3,4}</p>	<p>La comercialización y la producción a gran escala todavía son limitadas. Las partículas en las DS tienen un mayor grado de porosidad.³</p>	<p>Existe la posibilidad de que durante el procesamiento (estrés mecánico) o almacenamiento (estrés por temperatura y humedad) el fármaco en estado amorfo pueda cristalizar. Muchos de los polímeros que se emplean en la fabricación de DS pueden absorber la humedad.³</p>

Estos enfoques reflejan que una sola estrategia de solubilización a menudo es insuficiente para solubilizar la dosis completa del fármaco. Enfoques combinados permiten, en cambio, el uso de proporciones más bajas de un solo componente que favorezca la solubilidad del fármaco.

2.4 Química supramolecular

La química supramolecular se encarga del estudio de las interacciones no covalentes presentes entre moléculas diferentes o de la misma especie, ya sea en estado sólido o en solución. Estas interacciones se llevan a cabo entre los sitios de reconocimiento de las moléculas (grupos funcionales) y son las responsables de los diferentes arreglos supramoleculares adoptados.

El reconocimiento molecular es la base de la química supramolecular, ya que la construcción de cualquier sistema supramolecular involucra combinaciones moleculares selectivas. Las moléculas que hacen el reconocimiento se llaman receptores (*host*) y aquellas que son reconocidas son llamadas sustratos (*guest*), por lo tanto, a la química supramolecular a veces se le conoce como química receptor- sustrato (*host-guest-chemistry*).⁷

La ingeniería cristalina se puede definir como la aplicación de los conceptos de la química supramolecular al estado sólido con particular énfasis en la idea de que los sólidos cristalinos son de autoensamblaje. Por lo tanto, las estructuras cristalinas pueden ser consideradas como el resultado de un enlace molecular débil pero direccionado por eventos de reconocimiento.⁸

2.5 Estado sólido

Los tipos de sólidos en los que se puede encontrar una sustancia son (Figura 2):

Cristales: son formas sólidas que tienen un orden molecular de largo alcance.¹¹

De acuerdo con su asociación molecular pueden ser:

- a) Sales, si el compuesto y la asociación son de carácter iónico.
- b) Cocristales, si la asociación es de carácter no iónico.

De acuerdo con la naturaleza de la molécula con la que se asocia:

- c) Solvatos, si la molécula que se asocia en estado puro y en el ambiente es un líquido, el resultado de la asociación es una estructura sólida cristalina.

Todos los sólidos cristalinos pueden virtualmente presentar la característica del polimorfismo:¹⁰

- d) Polimorfo, son formas sólidas que tienen la misma composición química y un orden molecular de largo alcance, pero cada una está definido por un diferente arreglo espacial (cada una está representada por una celda cristalina unitaria única).
- e) Amorfos: son formas sólidas que no tienen un orden molecular de largo alcance (es decir, sin cristalinidad).¹¹

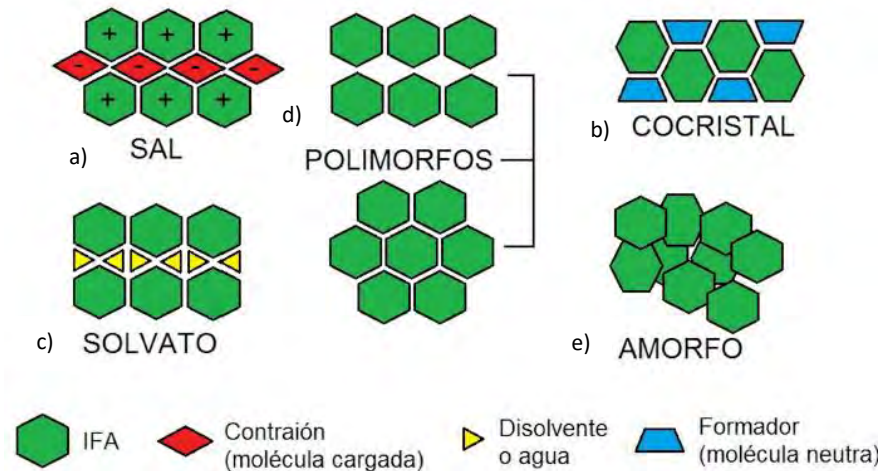


Figura 2. Formas del estado sólido

Tomado de: Saucedo-Balderas M.M., *et al.* *Cocristales farmacéuticos. Conceptos generales.*⁷

Durante el proceso de cristalización; es decir, las condiciones en las que se fabrican los cristales, como la saturación de la solución, la forma como se controla la velocidad de agitación, entre otros factores, afectan las propiedades del producto obtenido, la distribución del tamaño del cristal y su morfología. Cada cristal está caracterizado por una celda unitaria, donde cada una de ellas consiste en exactamente la misma composición elemental, y cada celda unitaria se diferencia de otras por las disposiciones y conformaciones de las moléculas en la red cristalina, cada sistema cristalino genera un polimorfo diferente, el cual puede ser monocomponente o multicomponente, como es el caso de los cocristales.¹¹ Los polimorfos son estructuras cristalinas del mismo compuesto que pueden organizarse al menos de dos formas diferentes, es decir que pueden existir en más de un estado cristalino, y cada uno de ellos puede presentar propiedades físicas y químicas diferentes.^{8,10} Las diferencias en las propiedades son debidas a las distintas interacciones energéticas intra e intermoleculares, que varían en los cristales de la misma molécula.¹¹ Dependiendo del crecimiento cristalino los sólidos tendrán un empaquetamiento u orden definido distinto, ya sea con arreglos repetidos diferentes

(cristales polimórficos) o como es el caso de los solvatos e hidratos con moléculas de disolvente incluidas, ya que estos se forman al quedar atrapadas moléculas del disolvente o de agua dentro de la red cristalina, esto puede presentar un problema si durante el periodo de almacenamiento las moléculas del disolvente se liberan de la red cristalina ya que pueden afectar la estabilidad de la forma farmacéutica.^{8,11}

Otro tipo de sólidos se pueden encontrar en fase amorfa, que por definición son materiales no cristalinos ya que no poseen un orden reticular de largo alcance. Los sólidos amorfos siempre han sido una parte esencial de la investigación farmacéutica. Este tipo de sólidos pueden, o no, formarse intencionalmente durante las operaciones de fabricación farmacéutica. Los amorfos de fármacos poco solubles exhiben significativamente una mayor solubilidad y una cinética de disolución más rápida que sus fases cristalinas correspondientes; así, al ser administrados oralmente, presentan como ventajas una mejor solubilidad y mayor velocidad de disolución, mismas que pueden resultar en una biodisponibilidad mejorada. Si bien hay propiedades de un fármaco que se pueden mejorar en la fase amorfa, también es cierto que hay otras que se ven afectadas, tales como su menor estabilidad, las propiedades que pueden variar entre el estado cristalino y el estado amorfo se enlistan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Propiedades que cambian entre el sólido amorfo y el sólido cristalino

Propiedad	Sólido amorfo	Sólido Cristalino *
Solubilidad	Aumenta	Disminuye
Higroscopicidad	Aumenta	Disminuye
Humectabilidad	Aumenta	Disminuye
Movilidad molecular	Aumenta	Disminuye

Propiedad	Sólido amorfo	Sólido Cristalino *
Velocidad de disolución	Aumenta	Disminuye
Dureza	Disminuye	Aumenta
Reactividad química	Disminuye	Aumenta
Estabilidad física	Disminuye	Aumenta

Tomada de: Sánchez-González E.G., *et.al.* Importancia de la investigación acerca del estado sólido durante las etapas iniciales del desarrollo de medicamentos.¹¹ *Aplica de manera general con cristales puros (que no tienen moléculas de asociación).

Los fármacos cristalinos son preferidos debido a su relativa facilidad de aislamiento, el rechazo de las impurezas inherentes al proceso de cristalización y la estabilidad fisicoquímica que el estado del sólido cristalino permite. En términos de aprobación regulatoria las formas cristalinas de un fármaco se limitan a polimorfos, sales y solvatos estequiométricos (pseudopolimorfos).⁸ Los problemas con el uso de los materiales en estado cristalino son su poca solubilidad y la existencia de más de una forma cristalina. Es aquí donde la ingeniería de cristales ofrece una forma alternativa de presentación de los fármacos en estado cristalino, los cocrystal farmacéuticos.⁷

La industria farmacéutica utiliza dispersiones amorfas, cocrystal o sales para mejorar la solubilidad de compuestos poco solubles, particularmente compuestos no ionizables, aunque para un ácido libre o una base libre, se pueden usar tanto sales como cocrystal para mejorar la solubilidad; sin embargo, no siempre es sencillo determinar si se ha formado una sal o un cocrystal.⁹

Como una nueva alternativa eficaz, el interés en los cocrystal está ganando impulso, la comprensión de la influencia de las propiedades de los componentes del cocrystal en la solubilidad del fármaco es importante para su diseño y mejora de la solubilidad, y por tanto de la biodisponibilidad del fármaco.

2.6 Cocristales

Un cocrystal farmacéutico se define como cristales mixtos que constan de dos o más especies moleculares (que solo son sólidas a condiciones de temperatura ambiente) mantenidas juntas por fuerzas no covalentes. Aunque existe un debate considerable sobre la definición de un cocrystal, aquí se excluyen solvatos de cristal, hidratos y cloratos ya que un componente de cada uno de estos complejos existirá en estado líquido o gaseoso en temperatura ambiente.

Los cocristales se distinguen de las sales por la presencia de especies moleculares neutras dentro del cocrystal en lugar de un complejo molecular que contiene el medicamento y un contraión en una forma cargada. Sin embargo, análogo con las sales, los cocristales pueden proporcionar incrementos dramáticos en la velocidad de disolución en comparación con cristales de medicamentos simples, este efecto se puede atribuir a una mejora en la solubilidad del fármaco.⁴ La formación de cocristales se favorece cuando las interacciones intermoleculares no covalentes entre los grupos funcionales complementarios en el fármaco y el coformador (agentes cristalizantes que contienen grupos funcionales que se complementan con los grupos funcionales del fármaco) son más energéticamente favorables que las interacciones intramoleculares entre dos moléculas de fármaco. Por el contrario, cuando dominan las interacciones fármaco-fármaco más que fármaco-coformador, la recristalización de dos fases sólidas distintas (es decir, fármaco y coformador) es evidente en lugar de la cocrystalización para formar una sola fase sólida.⁴

2.7 Diseño de cocristales

Para el diseño de cocristales farmacéuticos debe tomarse en cuenta a los grupos funcionales del fármaco que permitan el reconocimiento molecular por parte del agente

coformador. Para esto se utilizan diferentes sintones supramoleculares, estos son moléculas que contienen grupos funcionales que se complementan con los grupos funcionales del fármaco, facilitando el reconocimiento molecular. Los agentes coformadores de cocristales farmacéuticos más comunes son: ácidos, amidas, carbohidratos, alcoholes y aminoácidos.⁷ La idea principal de la formación de cocristales se basa en que los componentes moleculares de los complejos de cocrystal son la molécula objetivo (tradicionalmente la molécula del fármaco) y el (o los) formador (es) del cocrystal (también conocido como agente cocrystalizante o coformador), esta interacción se lleva a través de enlaces no covalentes.⁴

La naturaleza compleja de las estructuras del fármaco señala que contienen intrínsecamente grupos funcionales exteriores que participan en eventos de reconocimiento molecular. De hecho, es la propia presencia de estos grupos funcionales la que proporciona actividad biológica pero también proporciona la capacidad de participar en más de un evento supramolecular consigo mismo, como es el ejemplo de un coformador de cocrystal, formando así cocristales. Es importante señalar que hay dos tipos básicos de reconocimiento molecular que facilitan la formación de cocristales,⁸ tomando en cuenta que los cocristales se forman por interacciones intermoleculares, o sintones, que forman entre el fármaco y un posible formador de cocristales, que a su vez conduce a la creación de ensamblajes supramoleculares, sintetizadores comunes a los cocristales farmacéuticos se basan en gran medida en motivos de enlaces de hidrógeno y se categorizan como heterosintonas (por ejemplo, ácido carboxílico-amida, ácido piridina-carboxílico, y dímeros de ácido imidazol-carboxílico) o como homosintónicos (por ejemplo, dímeros ácido carboxílico-ácido carboxílico y amida-amida) (Figura 3). La

formación de cocristales se favorece cuando interacciones intermoleculares no covalentes entre grupos funcionales en el fármaco y el coformador son más favorables energicamente que interacciones intramoleculares entre dos moléculas del fármaco.⁴

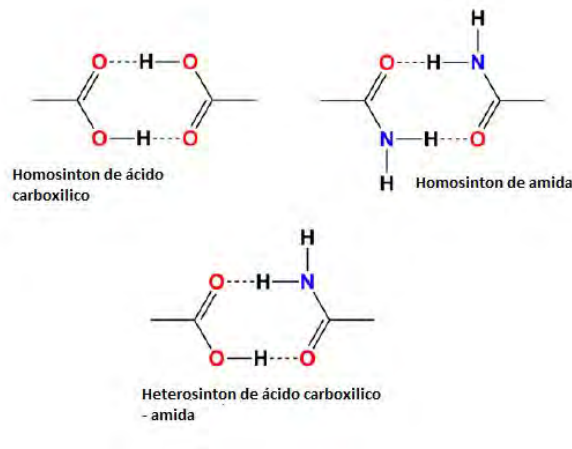


Figura 3. Síntesis supramoleculares comunes que se pueden formar en un cocrystal entre el fármaco y un formador de cocrystal adecuado (coformador)

Adaptado de: Williams HD, et al. Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development.⁴

Las proporciones de solubilidad del fármaco cristalino también deben ser proporcionales a la solubilidad del coformador (Figura 4), y los datos obtenidos para una serie de cocristales de carbamazepina, teofilina y cafeína sugieren que los valores de solubilidad del coformador deben ser al menos 10 veces mayores que la solubilidad del fármaco para generar cocristales con una solubilidad mejorada mayor que la del fármaco cristalino.⁴

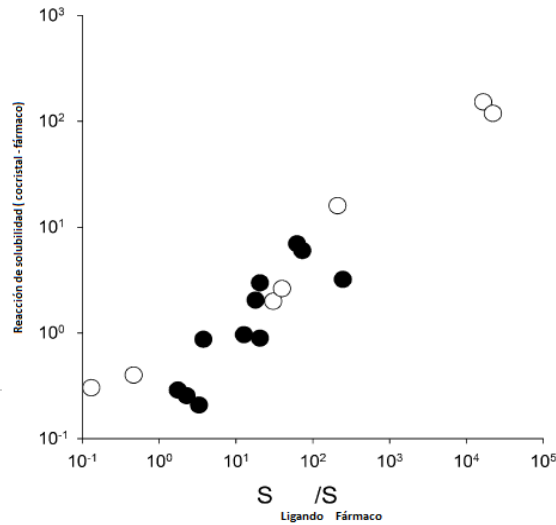


Figura 4. La relación entre la solubilidad de cocristal y la solubilidad del coformador

Los medicamentos utilizados fueron cafeína, teofilina y carbamazepina. Los símbolos abiertos son solubilidades determinadas en agua, símbolos cerrados en solventes orgánicos. Tomado de: Williams HD, et al. *Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development*.⁴

Dado que la solubilidad de cocristal depende de la solubilidad del coformador, el uso de coformadores altamente solubles es común. Éstos pueden elegirse por que comparten los mismos grupos funcionales, y pueden incluirse una mezcla de ácidos y amidas para explorar si las asociaciones de homosintones o heterosintones son preferidas. Para coformadores ionizables, esto da como resultado diferencias significativas en la solubilidad del cocristal con cambios en el pH incluso para cocristales con fármacos no ionizables. Por ejemplo, la Figura 5 ilustra los perfiles teóricos de solubilidad de pH para un cocristal que contiene un fármaco no ionizable y un coformador débilmente ácido (Figura 5A) o zwitteriónico (Figura 5B). Los efectos correspondientes para un fármaco ionizable en presencia de estos mismos coformadores también se ilustran (Figura 5, C y D).⁴

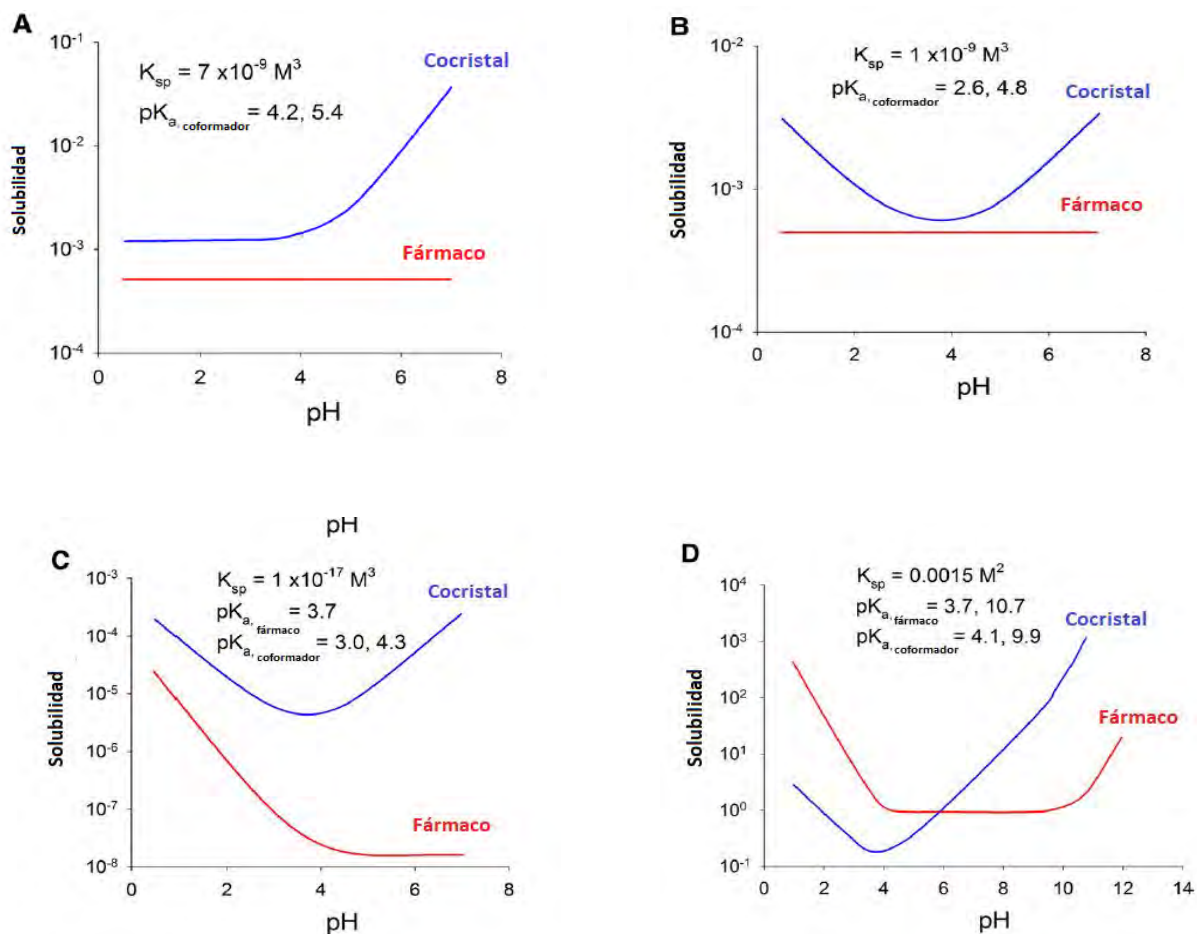


Figura 5. Perfiles teóricos de solubilidad de pH de varios compuestos ionizables y no ionizables y sus cocristales

Adaptado de: Williams HD, et al. *Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development*.⁴

Se debe tener en cuenta que los fármacos ionizables pueden formar cocristales (en lugar de sales) con coformadores ionizables donde la diferencia en pKa entre el fármaco y el coformador es insuficiente para permitir la formación de sal.⁴

2.8 Preparación de cocristales

Los cocristales farmacéuticos se preparan principalmente por métodos en solución y por métodos en estado sólido. Los métodos en solución consisten en mezclar cantidades equimolares del fármaco y del formador en un disolvente adecuado, con la finalidad de que, al evaporarse este, se obtengan los cocristales. Los métodos en estado sólido son una aplicación de la síntesis mecanoquímica. Sin embargo, la aplicación de

mecanoquímica en el contexto de la síntesis de cocristales permanece en sus inicios. Estos métodos en estado sólido consisten en moler en un mortero o en un molino cantidades equimolares del fármaco y del coformador. Una modificación de esta técnica se conoce como molienda asistida con gotas de disolvente ya que a menudo es necesario añadir una pequeña cantidad de disolvente en la molienda para promover la formación del cocrystal.² Otros métodos reportados para la formación de cocristales farmacéuticos son: adición de antidisolventes, cocrystalización asistida por ultrasonido, cocrystalización con fluidos supercríticos y cocrystalización por *slurryng* o suspensión. En el Cuadro 3 se describen las ventajas y desventajas de estas técnicas de preparación de cocristales.

Cuadro 3. Técnicas de preparación de cocristales, ventajas y desventajas de estas

Técnica	Ventaja	Desventaja
<p>Por evaporación convencional o por enfriamiento Los cocristales se pueden preparar a partir de soluciones que contienen cantidades estequiométricas de fármaco y coformador del cocrystal, seguido por la eliminación del disolvente por evaporación o por enfriamiento de la mezcla para inducir la precipitación de la fase sólida.^{15,16}</p>	<p>Tasas más rápidas de cristalización y la ausencia de tensiones físicas y térmicas. La descomposición térmica de fármacos o vehículos puede ser prevenido debido a la baja temperatura requerida para evaporación de los disolventes.⁶</p>	<p>Los métodos de disolvente están limitados por las diferencias a menudo amplias en la solubilidad del fármaco y coformador. Mayor costo de preparación. Dificultad de eliminar completamente el disolvente, la selección de un disolvente volátil y la dificultad de reproducir el cristal. Incumplimiento en preparaciones a gran escala^{15,6}</p>
<p>Adición de antidisolventes Consiste en disolver el compuesto en una cantidad mínima del primer disolvente (el de más bajo de los dos puntos de ebullición) y luego agregar lentamente un segundo disolvente, en el cual el compuesto no es soluble, hasta que la solución se vuelva turbia. Si el antidisolvente tiene un punto de ebullición mucho menor que el del disolvente, se deja que la solución se enfríe lentamente con agitación.^{16,18}</p>	<p>Al realizarse el proceso de cristalización de manera lenta se ven favorecidas las fases termodinámicamente estables. Como en la mayoría de los métodos con disolvente, se puede promover o inhibir las redes de enlaces de hidrógeno que se encuentra en cristales moleculares, lo que dirige la nucleación y el crecimiento de una forma sólida específica a través del reconocimiento molecular.²²</p>	<p>Mayor costo de preparación y dañino para el medio ambiente ya que se utilizan mayor cantidad de disolventes. Los métodos de disolvente están limitados por las diferencias a menudo amplias en la solubilidad del fármaco y coformador.^{6,16}</p>
<p>Cocrystalización asistida por ultrasonido El fármaco y coformador se disuelven juntos en un disolvente, la solución se guarda en un sonoreactor. Se suministra agua fría durante la sonicación para mantener la temperatura constante del sonicador y prevenir la fragmentación, la solución se mantiene durante la noche. Produce cambios físicos y químicos en el medio a través de la generación y subsiguiente colapso de burbujas de cavitación, las cuales aparecen y colapsan dentro del líquido.^{16,19}</p>	<p>Tiempos cortos de reacción y rendimiento alto. Se ha desarrollado para preparación de cocristales de tamaño muy pequeño, es decir, para preparación de nanocristales, y mejorar la solubilidad.^{16,19}</p>	<p>Los equipos que se utilizan, tienen un costo elevado. La energía liberada, así como el choque mecánico asociadas al fenómeno de implosión afectan la estructura de los materiales situados en el microentorno.</p>
<p>Molido en molinos de bolas Consiste en moler en un mortero o en un molino, cantidades equimolares del fármaco y del coformador.^{2,13}</p>	<p>La velocidad de cocrystalización depende de los parámetros del proceso que se pueden controlar, como la temperatura de almacenamiento, las temperaturas de transición vítrea de los reactivos y aditivos, el tiempo de molienda y el tipo de molino.¹³</p>	<p>La aplicación de mecanoquímica en el contexto de la síntesis de cocristales permanece en sus inicios. La molienda crea defectos reticulares y fases amorfas, y la formación de polimorfos como resultado de estas tensiones^{2,13}</p>
<p>Método de la gota de disolvente Consiste en agregar gotas de algún disolvente al momento de hacer molienda.^{2,13}</p>	<p>Mejoras significativas en la cinética de la formación de cocrystal.</p>	<p>Aunque no se requiere la disolución de ambos formadores del cocrystal, pero el disolvente elegido debe ser capaz de disolverlos en parte.</p>

Técnica	Ventaja	Desventaja
	<p>Se pueden concebir pequeñas semillas de cocrystal dentro del disolvente.</p> <p>Durante el proceso de molienda puede aumentar la tasa de cocrystalización.</p> <p>Parece ser un sistema rentable, respetuoso con el medio ambiente, y método confiable para el descubrimiento de nuevos cocrystalales.¹⁶</p>	<p>La polaridad del disolvente, junto con la molienda en estado sólido ofrece un medio para controlar el polimorfismo^{16,17,20}</p>
<p>Método de cristalización de reacción (RCM)</p> <p>Para la formación de cocrystal donde el exceso de fármaco se agrega a soluciones saturadas o casi saturadas de coformador.¹⁶</p>	<p>Da una comprensión del comportamiento de solubilidad de fase del fármaco, el coformador y el disolvente, al no exceder los límites de solubilidad de los componentes, los cocrystalales que precipitan de la solución se consideran puros.¹⁶</p>	<p>Mayor costo de preparación, ya que las concentraciones se controlan mediante HPLC en todo el proceso de cristalización, para evaluar si el sólido observado es un cocrystal.¹⁶</p>

Sin embargo, estas técnicas no aseguran el aislamiento del cocrystal y pueden dar como resultado la cristalización de las fases monocristalinas del fármaco o conformador solo. Los métodos utilizados para preparar cocrystalales pueden influir fuertemente en la posibilidad de éxito, predecir si una reacción de cocrystalización tendrá éxito no es posible, por lo tanto, las reacciones deben llevarse a cabo experimentalmente en condiciones variadas con diferentes técnicas para encontrar los cocrystalales disponibles.

2.9 Técnicas de caracterización de cocrystalales

Existen diversas técnicas para caracterizar sólidos dependiendo de la propiedad a evaluar y del tipo de sólido que se caracteriza, estas técnicas se encuentran descritas en el Cuadro 4:

Cuadro 4. Técnicas para caracterizar sólidos

Propiedades evaluadas	Técnica	Útil para	Tiempo de análisis promedio	Tamaño promedio de la muestra	Tipo de sólido que caracteriza	
Estructurales	Difracción de Rayos X (DRX) de polvos	Caracterizar una forma sólida y el contenido de forma cristalina en una mezcla de polvos. Identificar cambios en los patrones de los solvatos. ¹¹ Es la técnica de caracterización preferida para determinar si se ha generado un material cocrystalino; sin embargo, no siempre se pueden producir cristales de calidad de rayos X adecuado. ²³	3-8 minutos	10-30 mg	Cocrystalos Polimorfos amorfos Mezclas polimorfos amorfos Solvatos	y de y
	Difracción de Rayos X de monocristal	Evaluar el grado de cristalinidad, los defectos del cristal y la geometría de cristal. ¹¹	1-2 días	Un cristal	Polimorfos solvatos	y
	SAXS	Detecta picos de difracción de largo alcance y puede proporcionar la distinción entre una fase cristalina líquida de una y dos dimensiones. ¹¹	Variable	Variable	Polimorfos	

Propiedades evaluadas	Técnica	Útil para	Tiempo de análisis	promedio	Tamaño promedio de la muestra	Tipo de sólido que caracteriza
Estructurales (continuación)	Espectroscopía (IR, NIR, ssRMN, Raman)	<p>Caracterizar de forma cuali-cuantitativa formas sólidas. Diferencia estructura electrónica y dinámica de los sólidos. Tales estructuras determinan las propiedades básicas electrónicas, ópticas, y mecánicas de los materiales. IR es útil para la detección de polimorfismo a nivel molecular y para detectar la formación de cocristales, especialmente cuando se usa un ácido carboxílico como coformador o cuando se forma un enlace de hidrógeno neutro O-H ... N entre un ácido y una base.^{11,23} NIR ha sido empleado para la caracterización de diferentes formas sólidas en a granel y/o nivel de producto de dosificación.¹¹ RMN: Integridad química de las muestras.⁺¹¹</p>	10-60 minutos		2-30 mg	Cocristales Polimorfos, solvatos, isomorfos, amorfos, mezclas de polimorfos
Dimensionales	Microscopía	<p>Caracterizar el tamaño del cristal, hábito cristalino, estructura superficial, así como fracturas cristalinas.¹¹ Caracterizar índices de refracción, birrefringencia y dispersión del color.¹¹ La microscopía de fuerza atómica se ha utilizado para estudiar los mecanismos de crecimiento de los cristales.¹¹</p>	10-60 minutos		5 mg	Polimorfos, solvatos, mezclas de polimorfos, amorfos
	Microscopía de luz polarizada (PLM)	Discriminar entre una fase amorfa y una fase cristalina líquida. ¹¹	Variable		Variable	Polimorfos, solvatos, mezclas de polimorfos, amorfos Más ampliamente usada para caracterizar cristales líquidos.

Propiedades evaluadas	Técnica	Útil para	Tiempo de análisis	promedio	Tamaño	promedio de la muestra	Tipo de sólido que caracteriza
Dimensionales (continuación)	Microscopía de luz polarizada (PLM)	Discriminar entre una fase amorfa y una fase cristalina líquida. ¹¹	Variable		Variable		Polimorfos, solvatos, mezclas de polimorfos, amorfos. Más ampliamente usada para caracterizar cristales líquidos.
	Microscopía de platina caliente (Hot Stage)	Caracterizar: la morfología cristalina / hábito cristalino, el proceso de cristalización (crecimiento de cristales y velocidad de cristalización), de birrefringencia (diferenciación entre material amorfo y cristalino), de cambios estructurales / superficiales de los cristales, de Transiciones de fase (líquido-líquido / sólido-líquido), de comportamiento térmico de los cristales líquidos (fases meso), de proceso de fusión y de ebullición, de solidificación por enfriamiento. ¹¹	10 mg		Variable		Polimorfos, solvatos, isomorfos, amorfos, mezclas de polimorfos, isomorfos, cristales líquidos
	Micrométrica	Caracterizar la distribución del tamaño de partícula y la morfología de la superficie, la porosidad, la forma de las partículas, la densidad y la energía superficial, que se utilizan adicionalmente como herramientas predictivas para reducir posibles fallos de fabricación mediante la predicción de efectos escalares sobre el producto final. ¹¹	10 mg-30 g	Depende de ***			Polimorfos, solvatos, mezclas de polimorfos, amorfos

Propiedades evaluadas	Técnica	Útil para	Tiempo de análisis promedio	Tamaño promedio de la muestra	Tipo de sólido que caracteriza	
Termodinámicas	Calorimetría Diferencial de Barrido	Obtener datos completos del punto de fusión como medio de caracterización o identificación de pureza. ²³ Determinar datos térmicos adicionales, como; la entalpía de fusión. ²⁴ Caracterizar compuestos polimórficos como monotrópicos o enantiotrópicos a partir del punto de fusión y el calor de fusión. ²³	3mg-5mg	***	Cocristales Polimorfos amorfos Mezclas polimorfos amorfos Solvatos Isomorfos	y de y
	Análisis térmico microcalorimetría, determinación de solubilidad, determinación de presión de vapor, determinación de absorción de humedad	Determinación exacta de la entalpía de fusión y de solución. ¹¹ Cada forma cristalina posee una entalpía definida, por lo que se utilizan estas técnicas para el análisis cuantitativo de la forma y determinación de la entalpía de transición correspondiente a la diferencia de entalpías de solución para un par polimórfico. ¹¹ Estimación de la temperatura de transición termodinámica. Caracterizar eventos de cristalización. ¹¹	1-10 mg	***	Polimorfos amorfos Mezclas polimorfos amorfos Solvatos Isomorfos	y de y

*** Varía dependiendo de los equipos

NIR: Infrarrojo cercano; RMN: Resonancia Magnética Nuclear de estado sólido; SAXS: Dispersión de rayos X en ángulo pequeño

+: si no se cuenta con la disponibilidad de RMN para la integridad química se pueden emplear otras técnicas analíticas alternativas, por ejemplo, cromatográficas, para determinar que no haya cambios químicos en la molécula.

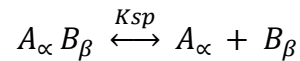
Modificada de: Sánchez-González E.G., et.al. Importancia de la investigación acerca del estado sólido durante las etapas iniciales del desarrollo de medicamentos.¹¹

2.10 Solubilidad de cocristales

Similar a las interacciones entre un fármaco y su contraión en una sal escasamente soluble, la solubilidad de cocristales se puede definir por la constante de equilibrio que describe la disociación de cocrystal. Por lo tanto, para un cocrystal 1:1 de fármaco A y un coformador B en equilibrio con A y B en solución, se puede describir la relación de equilibrio (Ecuación 2) y la constante de equilibrio o producto de solubilidad (K_{sp} en la

Ecuación 3). Teniendo en cuenta que, en este caso, se supone que los coeficientes de actividad para A y B en solución son la unidad y la actividad del cristal sólido invariante, ambas suposiciones que son válidas para los sistemas escasamente solubles.⁴

Ecuación 2:



Ecuación 3:

$$K_{sp} = [A]^{\alpha} [B]^{\beta}$$

El producto de solubilidad K_{sp} es único para un cocrystal en un solvente particular y describe la disociación del complejo molecular en solución. El valor del K_{sp} depende de la fuerza de las interacciones de estado sólido entre el fármaco y el coformador de cristales en relación con su interacción con el disolvente. De la ecuación 3, se deduce que para un complejo coformador de fármaco 1:1 (es decir, $\alpha = \beta = 1$), la solubilidad del cocrystal es igual a la raíz cuadrada de K_{sp} . También es aparente que la solubilidad del cocrystal depende de la concentración de coformador en la solución, de modo que los aumentos en la concentración del coformador reducen la solubilidad del cocrystal de una manera similar al concepto del efecto de ion común para electrolitos escasamente solubles. Dependiendo de la elección del coformador, la solubilidad del cocrystal puede ser más alta o más baja que la solubilidad en equilibrio del fármaco solo. En la práctica, sin embargo, los aumentos significativos en la disolución y la solubilidad aparente son posibles, dependiendo de la tasa de recristalización de la solución sobresaturada.⁴

2.11 Evaluación de la solubilidad de cocristales

Al igual que con los polimorfos de alta energía, la prueba de solubilidad en equilibrio de los cocristales es compleja ya que la solubilidad cinética del cocrystal (que refleja el valor de su K_{ps}) suele ser mayor que la solubilidad en equilibrio del cristal estable del fármaco.

La disolución de un cocrystal, por lo tanto, produce concentraciones de fármaco que son típicamente mayores que la solubilidad del cristal estable, y la precipitación del fármaco se favorece termodinámicamente hasta que el límite de solubilidad intrínseca de la mayoría de las especies sólidas termodinámicamente estables (es decir, la forma polimórfica estable del fármaco) se alcanza.⁴

Se necesitan desarrollar métodos simples pero eficaces para evaluar la solubilidad del cocrystal y para distinguir la solubilidad del cocrystal de la solubilidad de equilibrio del sistema (que se mueve intrínsecamente hacia la solubilidad de la forma cristalina termodinámicamente estable de fármaco puro). Se puede obtener una medida simple de solubilidad de cocrystal a través de la evaluación de la solubilidad cinética del complejo usando los métodos de solubilidad en fase tradicional. En este caso, debe suponerse que se produce una recristalización limitada a partir de la solución metaestable que da como resultado la disolución.⁴

Alternativamente, recientemente se describió un método para determinar con mayor precisión la solubilidad de un cocrystal basado en la comprensión de las relaciones de solubilidad de la fase de cocrystal (Figura 6). Este enfoque se basa en que el aumento de la concentración de coformador en solución disminuye la solubilidad del cocrystal (Ecuación 3) en una situación análoga al efecto de ion común con sales escasamente solubles. Para los cocrystal, donde la solubilidad del cocrystal es más alta que la del fármaco original, la adición de un coformador al sistema reduce la solubilidad del cocrystal, conduciendo finalmente a un punto en el que la solubilidad del fármaco y la del cocrystal son iguales. Este es un punto invariante en el diagrama de solubilidad de fase, y la medición de las concentraciones de solución de fármaco y coformador en equilibrio con fármaco sólido y cocrystal sólido en este punto de transición permite el cálculo del

valor del K_{ps} . A partir del valor K_{ps} , se puede calcular la solubilidad intrínseca del cocrystal. Una ventaja adicional de este método es la identificación de regiones en el diagrama de solubilidad de fase donde el cocrystal es el termodinámicamente más estable de la especie, lo que ayuda en el aislamiento del cocrystal puro.⁴

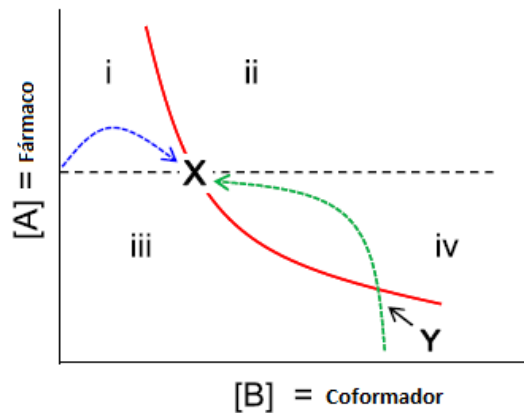


Figura 6. Diagrama de solubilidad de fase que muestra el efecto de la concentración del coformador en la solubilidad de un cocrystal, que se muestra como la línea roja sólida

La línea horizontal discontinua representa la solubilidad del fármaco en ausencia de coformador. Se identifican cuatro regiones del diagrama de solubilidad de fase: i) donde el exceso de material sólido consiste en el fármaco; ii) y iv) cuando el exceso de material sólido consiste en el cocrystal; y iii) donde se disuelven todos los fármacos sólidos y el cocrystal. Las flechas describen métodos de precipitación de cocrystal (flecha verde) y disolución de cocrystal (flecha azul) para determinar la solubilidad del cocrystal. La línea roja está descrita por $[A]^\alpha = \frac{K_{sp}}{[B]^\beta}$. Adaptado de: Williams HD, et al. Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development.⁴

El efecto de aumentar la concentración del coformador sobre la solubilidad de un cocrystal se ilustra en el diagrama de solubilidad de fase en la Figura 6, donde la línea roja sólida representa la solubilidad decreciente del cocrystal con una concentración cada vez mayor de coformador y la línea punteada horizontal representa la solubilidad del cristal en ausencia de coformador. Se supone que la solubilidad del coformador es significativamente superior a la del fármaco y el cocrystal y, por lo tanto, no se muestra. Cuatro regiones son evidentes en el diagrama de fase. La región i es donde el exceso de fase sólida comprende un fármaco cristalino, ya que las concentraciones de fármaco

y coformador en solución son mayores que el límite de solubilidad del cristal del fármaco pero por debajo de la solubilidad del cocrystal; la región ii es donde las concentraciones en solución exceden tanto al fármaco como al cocrystal y el exceso de fase sólida consiste en la especie con la mayor solubilidad (es decir, el cocrystal); la región iii es donde la solución está subsaturada con respecto tanto a fármaco como a cocrystal (y, por lo tanto, no es evidente la fase sólida); y la región iv es donde el cocrystal solo es la fase sólida termodinámicamente estable, ya que las concentraciones son menores que la solubilidad del fármaco pero mayor que la del cocrystal.

En el punto de transición (etiquetado X), las dos fases sólidas (fármaco y cocrystal) coexisten en equilibrio con una solución que contiene fármaco disuelto y coformador. El punto de transición proporciona la concentración de coformador a la que la solubilidad del fármaco es igual a la solubilidad del cocrystal y, en consecuencia, permite el cálculo del valor de K_{ps} y, en última instancia, la solubilidad del cocrystal. A medida que el fármaco se disuelve en la solución coformadora, la concentración de fármaco en solución supera el límite de solubilidad de fase del cocrystal (donde la flecha verde cruza la línea roja, marcada Y en la Figura 6), dando como resultado la precipitación de cocrystal. En definitiva, la concentración de coformador en solución se reduce tal que ya no está en exceso y, por lo tanto, ya no limita a la solubilidad de cocrystal. Esta condición es denotada por el punto de transición X, que refleja el límite de solubilidad de ambos, fármaco y cocrystal en solución. Alternativamente, el mismo punto de transición X puede ser determinado agregando exceso de cocrystal a una solución saturada de fármaco (es decir, la flecha azul en la Figura 6). Finalmente, la concentración de coformador en solución se reduce de manera que ya no excede y, por lo tanto, ya no se limita a la solubilidad de la cristalina. Esta condición se denota por el punto de transición X, que

refleja el límite de solubilidad tanto del fármaco como del cocrystal en solución. En este enfoque, la disolución de cocrystal da como resultado aumentos en las concentraciones del fármaco superiores a la solubilidad de saturación, lo que provoca cristalización del fármaco a partir de la solución sobresaturada. Este proceso continúa hasta que se alcanza la solubilidad del cocrystal, momento en el que aumenta la concentración del fármaco en solución no son posibles al agregar exceso de cocrystal, y se alcanza el punto de transición (es decir, el punto X). Para la disolución de un complejo cocrystal 1: 1, esto ocurre cuando las concentraciones de fármaco y coformador en solución son iguales y la solubilidad en equilibrio del cocrystal es igual a la raíz cuadrada de K_{ps} .⁴

2.12 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB) se basa en el análisis del proceso de absorción, en el que factores inherentes a él, como la solubilidad (en este caso relativa a la dosis) y la permeabilidad intestinal, permiten clasificar un fármaco.^{3, 12}

De acuerdo con el SCB, los fármacos se pueden clasificar en cuatro categorías que se presentan en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Clasificación del SCB

Clasificación	Características	Ejemplos
Clase I: Alta solubilidad y alta permeabilidad.	El principio activo se absorbe bien. El paso limitante de la velocidad de absorción es la velocidad de disolución o el vaciamiento gástrico, si la disolución es muy rápida. ³	Metoprolol, Diltiazem, Verapamilo, Propranolol.
Clase II: Baja solubilidad y alta permeabilidad.	La velocidad de absorción es mayor que la de disolución (con excepción de medicamentos con dosis muy elevadas). La absorción normalmente es más baja que para los de la clase I. ³	Fenitoína, Danazol, Ketoconazol, Ácido Mefenámico, Nifedipino, Glibenclamida.
Clase III: Alta solubilidad y baja permeabilidad.	Tanto la velocidad como la cantidad absorbida del fármaco pueden ser muy variables, pero si la disolución es rápida, esta fluctuación se deberá a la variabilidad en el tracto gastrointestinal, los contenidos luminales y a la permeabilidad de la membrana, más que a factores dependientes de la forma farmacéutica. ³	Cimetidina, Aciclovir, Neomicina B, Captopril.
Clase IV: Baja solubilidad y baja permeabilidad.	Estos compuestos presentan pobre biodisponibilidad. Por lo general, no son bien absorbidos a través de la mucosa intestinal. Estos fármacos no sólo son difíciles de disolver, sino que una vez disueltos, exhiben permeabilidad limitada a través de la mucosa gastrointestinal. ³	Hidroclorotiazida, Furosemida

La absorción de un fármaco desde una forma de dosificación sólida tras la administración oral depende de la liberación del fármaco de la forma farmacéutica, la disolución o solubilización del fármaco bajo condiciones fisiológicas y de la permeabilidad por el sistema gastrointestinal, debido a la naturaleza crítica de estos primeros dos pasos la disolución *in vitro* puede ser relevante a la predicción del rendimiento *in vivo*, en la prueba

de disolución *in vitro* la solubilidad de un fármaco se determina disolviendo la dosis unitaria más alta del fármaco en 250 mL de solución amortiguadora ajustado a un pH de entre 1.0 y 8.0, se considera que un fármaco es altamente soluble cuando la dosis se solubiliza en un volumen; menor de o igual a 250 mL. Por lo general los fármacos de alta permeabilidad son aquellos con un grado de absorción mayor del 90 %, ante la ausencia de inestabilidad documentada en el sistema gastrointestinal o cuya permeabilidad se haya determinado experimentalmente. El SCB sugiere que, para fármacos de alta solubilidad, alta permeabilidad (clase I del SCB) y en algunos casos para fármacos de alta solubilidad, baja permeabilidad (clase III del SCB), una disolución del 85% en 0.1N de HCl en 15 minutos puede asegurar que la biodisponibilidad del fármaco no esté limitada por disolución. En estos casos, el paso limitante de velocidad para la absorción del fármaco es el vaciamiento gástrico.^{25, 26}

El tiempo de residencia (vaciamiento) gástrico, T50 %, medio es de 15-20 minutos bajo condiciones de ayuno, con base a esta información, una conclusión conservadora es que un fármaco que experimenta una disolución del 85 % en 15 minutos bajo condiciones de prueba de disolución suaves en 0.1 N de HCl se comporta como una solución y por lo general no debería tener ningún problema de biodisponibilidad. Si la disolución es más lenta que el vaciamiento gástrico, se recomienda un perfil de disolución con puntos temporales múltiples en medios múltiples.²⁶

En el caso de fármacos de baja solubilidad/alta permeabilidad (clase II del SCB), la disolución del fármaco puede ser el paso de limitación de velocidad para la absorción, se recomienda un perfil de disolución en medios múltiples y para al menos un 85 % de disolución en los diferentes medios. Es posible obtener correlaciones *in vitro- in vivo*, si

el proceso de velocidad de disolución *in vitro* es similar al que se desarrolla *in vivo*, puede esperarse que los principios activos pertenecientes a esa clase tengan una absorción variable y dependiente de las diferentes formulaciones, y sobre todo del tamaño de partícula, al afectar potencialmente la formulación al perfil de disolución tanto *in vitro* como *in vivo*. En este caso el medio de disolución y los métodos que reflejan los procesos fisiológicos *in vivo* son particularmente importante si se desea obtener buenas correlaciones *in vivo- in vitro*. Los medios de disolución pueden incluir; agua purificada, solución ácido clorhídrico 0.1 N, soluciones amortiguadoras, fluidos gástricos o intestinales simulados (con o sin enzimas) y soluciones con tensoactivo (polisorbato 80, lauril sulfato de sodio o sales biliares).²⁵⁻²⁷

En el caso de fármacos de alta solubilidad/baja permeabilidad (clase III del SCB), la permeabilidad es el paso de control de velocidad, según las velocidades relativas de disolución y tránsito intestinal. Los fármacos de la clase IV (es decir, baja solubilidad/baja permeabilidad) presentan problemas significativos para la entrega oral del fármaco.²⁶

2.12.1 Enfoques para establecer especificaciones de disolución

Se deberá establecer las características de disolución del fármaco con base en la consideración del perfil de solubilidad del pH y el pKa del fármaco. La medición de la permeabilidad o el coeficiente de partición de octanol/agua del fármaco puede ser útil en la selección de la metodología y las especificaciones de disolución. Para nuevas formas, las especificaciones deberán basarse en las características de disolución utilizadas en ensayos clínicos fundamentales y/o en estudios de biodisponibilidad confirmativos.²⁶

Se deberá realizar las pruebas de disolución bajo condiciones de prueba suaves, método de canastilla a 50/100 rpm o método de paleta a 50/75 rpm, en intervalos de muestreo

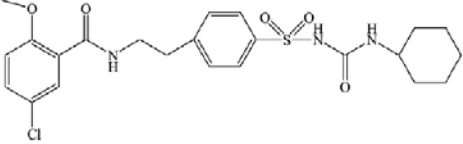
cada 15 minutos, para generar un perfil de disolución. Para fármacos que se disuelven rápidamente, tal vez haga falta generar un muestreo de perfiles adecuados a intervalos de 5 o 10 minutos. Para productos medicinales altamente solubles y de disolución rápida (clases I y III del SCB), basta una especificación de prueba de disolución de punto único de 85% (Q=80%) en 60 minutos o menos como prueba de control de calidad rutinaria de uniformidad. Para fármacos que se disuelven lentamente o que son poco solubles en agua (clase II del SCB), se recomienda una especificación de disolución de dos puntos, uno a los 15 minutos) y el otro en un punto posterior (30, 45 ó 60 minutos) para asegurar una disolución del 85% para caracterizar la calidad del producto. Se espera que el producto cumplirá las especificaciones de disolución a lo largo de su vida de estante.²⁶

2.12.2 Glibenclamida

La glibenclamida es un medicamento en forma sólida de origen sintético de la familia de las sulfonilureas y uno de los hipoglucemiantes orales más potentes que se conoce.^{10, 21}

En el Cuadro 6 se describen las propiedades de la glibenclamida.

Cuadro 6: Propiedades de la glibenclamida

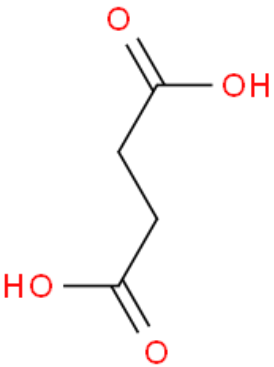
Fármaco	Formula desarrollada	Propiedades
Glibenclamida		<p>Apariencia: polvo blanco Formula condensada: $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ Nombre sistemático: 1-4-[2-(5-cloro-2-metoxibenzamida) etil]bencenosulfonil-3-cicloexilurea Otro nombre: Gliburida Numero CAS: 10238 -21 -8 Peso molecular: 494.00352 g/ mol Temperatura de fusión: 169 °C, 174 °C Solubilidad en agua: a 27 °C: 4 mg / L (Es bastante insoluble en agua y, en consecuencia, presenta problemas de biodisponibilidad.) Coeficiente de reparto: Log P: 4.7 Pka: 5.3</p>

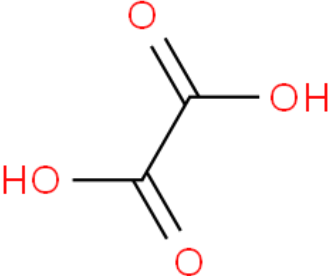
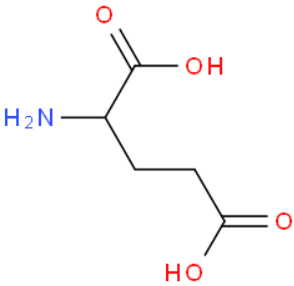
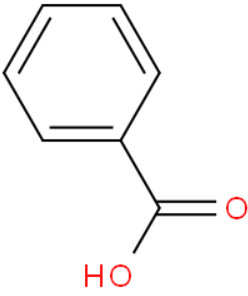
La información de las propiedades fue consultada en; Vázquez-Olvera J.I. Evaluación del efecto de la solubilidad de polimorfos de glibenclamida en su capacidad de incorporación en implantes fabricados por la técnica sol-gel. ²¹, y Royal society of chemistry [Internet]. n.d.Chemspider search and share chemistry.²⁸

2.12.3 Coformadores

Las propiedades de los coformadores elegidos para fabricar el cocrystal con glibenclamida se muestra en el Cuadro 7:

Cuadro 7. Propiedades de coformadores

Coformador	Formula desarrollada	Propiedades
Ác. succínico		<ul style="list-style-type: none"> • Formula condensada: $C_4H_6O_4$ • Numero CAS: 110-15-6 • Peso molecular: 118.088 g/mol • Temperatura de fusión: 186-188 °C • Solubilidad: Soluble en agua (aumentando con la temperatura). Soluble en etanol, etil éter, acetona y metanol. Insoluble en tolueno, benceno, disulfuro de carbono, tetracloruro de carbono y éter de petróleo. • LD 50: Forma oral en ratas 2260 mg/kg, de forma intramuscular 2702 mg/kg, intravenosa 1400 mg/kg. ^{28, 29}

Coformador	Formula desarrollada	Propiedades
Ác. oxálico		<ul style="list-style-type: none"> • Formula condensada: C₂H₂O₄ • Otros nombres: ethano-1,2-dioico acido • Numero CAS: 144-62-7 • Peso molecular: 90.035 g/mol • Temperatura de fusión: 185 °C • Solubilidad: Soluble en agua (aumentando con la temperatura), 14±1 /100 mL (25 °C). • LD 50: Forma oral en ratas 7500 mg/kg, de forma intramuscular 270 mg/ kg. ^{28, 29}
Ác. glutámico		<ul style="list-style-type: none"> • Formula condensada: C₅H₉NO • Numero CAS: 56-86-0 • Peso molecular: 147.129 g/mol • Temperatura de fusión: 192-194 °C • Solubilidad: Soluble en agua ^{28, 30}
Ác. benzoico		<ul style="list-style-type: none"> • Formula condensada: C₇H₆O₂ • Numero CAS: 65-85-0 • Peso molecular: 122.121 g/mol • Temperatura de fusión: 121-124 °C • Solubilidad: Soluble en agua (aumentando con la temperatura), 14±1 /100 mL. • LD 50: Forma oral en ratas 2350 mg/kg, de forma intramuscular 1460 mg/ kg. ^{28, 29}

3 Planteamiento del problema y justificación

El fallo de una terapia farmacológica puede ocurrir porque no se alcance una concentración plasmática que sea eficiente para lograr el efecto terapéutico; o bien, porque el fármaco no pueda ser liberado (y disuelto) en el sitio de absorción con lo cual tampoco se lograría una biodisponibilidad adecuada.

La glibenclamida es un fármaco en estado sólido, de origen sintético, perteneciente a la familia de las sulfonilureas y uno de los hipoglucemiantes orales más potentes que se conoce, cuya administración se realiza en forma de tabletas de 5 mg y micronizada de 6 mg. La glibenclamida presenta una baja solubilidad, con ello, el bajo porcentaje de disolución de esta, tiene gran influencia sobre la eficacia terapéutica.

Algunas de las estrategias propuestas para mejorar la solubilidad de formas cristalinas como la glibenclamida han sido la utilización de polimorfos, la preparación de dispersiones amorfas, la formación de sales, solvatos o de cocristales. El interés en los cocristales está ganando impulso ya que estos pueden mejorar la velocidad de disolución y biodisponibilidad de fármacos poco solubles, además de presentar una mayor estabilidad termodinámica en comparación con la forma cristalina.

Por lo que en este proyecto se desarrollara una metodología para la obtención de una nueva forma sólida de glibenclamida que tenga una mayor solubilidad, tomando en consideración la factibilidad, reproducibilidad y facilidad que demuestren las técnicas seleccionadas.

4 Hipótesis

Un nuevo cocrystal de glibenclamida será más soluble que el fármaco cristalino.

5 Objetivo general

Desarrollar una metodología para obtener un nuevo cocrystal de glibenclamida que tenga una mayor solubilidad con respecto al fármaco cristalino.

6 Objetivos particulares

- Evaluar la serie de condiciones experimentales probables (técnicas, disolvente, coformador) para la obtención de cocristales.
- Caracterizar los productos obtenidos por medio de Calorimetría Diferencial de Barrido, Espectroscopia en el infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear.
- Evaluar la solubilidad de los cocristales obtenidos con las condiciones experimentales seleccionadas, mediante el método del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB).

7 Material y métodos

7.1 Matriz experimental de 3 variables y 2 niveles

Diagrama de flujo de la matriz experimental:

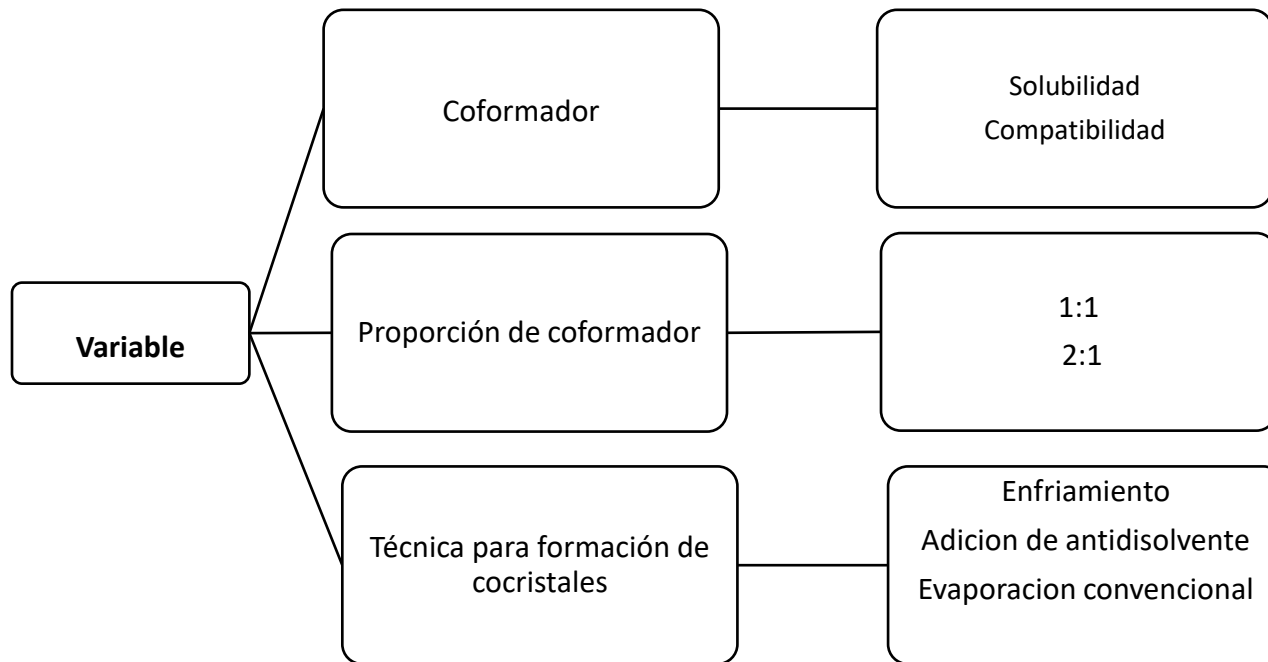


Figura 7: Matriz experimental

7.1.1 Prueba de solubilidad

La formación de cocristales contempla la disolución de ambas especies (fármaco y coformador), en un mismo disolvente, por lo cual fue necesario determinar la solubilidad de la glibenclamida, así como de los ácidos débiles que pudieran fungir como coformadores. Con esta información, se propuso el disolvente que se utilizó de acuerdo con las técnicas de formación de cocristales. Se establecieron los disolventes que se utilizaron para la prueba de acuerdo con los que contaba el Laboratorio de Investigación Farmacéutica, de los cuales se eligieron seis tomando como criterio su polaridad. De polaridad baja se utilizó isooctano (-0.4), como disolventes de polaridad media acetato de etilo (4.3), etanol (5.2), acetona (5.4) y dos disolventes de polaridad alta metanol (6.6)

y agua (9.0).

La prueba de solubilidad se realizó en un tubo de 50 mL (que equivale a 5 partes de disolvente por 1 parte de soluto) por triplicado para cada disolvente, por cada nivel se agregaron 10 mg de glibenclamida. La prueba se llevó a cabo a la temperatura de 25 °C. Cada tubo se identificó con el número de repetición, la especie contenida y el disolvente agregado. Se agregó inicialmente 1 mL (equivalente a 0.1 partes) para llevarlos a agitación por ultrasonido durante 5 minutos, la disolución se verificó visualmente (si no se observaron partículas suspendidas, no tuvo cristales en el fondo, y la solución fue translúcida). En aquellos casos en los que no se observó disolución completa, se agregaron 0.1 partes de disolvente, y se repitió el proceso de agitación durante el mismo periodo de tiempo cada vez que se agregó 0.1 partes, hasta completar 1 parte; en aquellos casos en que no se solubilizó, se agregó de 0.5 en 0.5 hasta llegar a las 3 partes con el mismo proceso de agitación entre cada una, si aún no se observaba que estuviera solubilizado, se agregó de 0.5 en 0.5 partes hasta llegar a los 5 partes con el mismo proceso de agitación en cada una. Este proceso se repitió con cada ácido débil que se seleccionó como posible coformador (ácido succínico, ácido oxálico, ácido benzoico, y ácido glutámico).

Los resultados de solubilidad se reportaron de acuerdo con la clasificación de solubilidades aproximadas que se utiliza en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM).²⁷

7.1.2 Compatibilidad entre conformadores y glibenclamida

La incompatibilidad entre especies es uno de los eventos que contribuyen a la

inestabilidad de los medicamentos, por lo que es necesario conocer posibles interacciones físicas o químicas entre el fármaco y los coformadores, detectables desde su desarrollo y en un periodo corto. Durante el estudio de compatibilidad se sometió a condiciones forzadas de temperatura la mezcla física 1:1 de glibenclamida y coformador. La mezcla se preparó en un tubo de 13x100 que se identificó con el nombre de las especies que conformaban la mezcla y la fecha en la que se realizó la misma, pesando 10 mg de glibenclamida en cada tubo y 10 mg del coformador con el que se encuentra identificado.

La prueba por calorimetría diferencial de barrido (DSC) se realizó sometiendo la mezcla de coformador y glibenclamida a un barrido térmico de 25 a 250 °C, a dos diferentes velocidades de calentamiento 25 °C/ min y 10 °C/ min. Se inició con la calibración del equipo con 3 -5 mg de indio, después de tener calibrado el equipo se pesaron 3 mg de cada mezcla de glibenclamida con coformador en un crisol por separado, se colocó en la celda del DSC y se comenzó el barrido de 25 °C/min. Cuando se leyeron las 4 mezclas a esta velocidad se procedió a realizar el barrido a 10 °C/ min.

7.1.3 Criterios de elección de disolventes y coformadores para la fabricación de los cocristales

A partir de los resultados que se obtuvieron en la prueba de solubilidad y compatibilidad, se seleccionaron los coformadores y los disolventes que formaron parte de la matriz exploratoria.

7.1.4 Técnica para formación de cocristales

La fabricación del cocrystal se dividió en dos etapas: la primera fue la preparación de la solución saturada y la segunda la obtención del producto mediante diferentes técnicas

(antidisolvente, evaporación convencional y enfriamiento)

7.1.5 Preparación de solución saturada de glibenclamida

100 mg de glibenclamida, pesados sobre papel encerado en la microbalanza, se colocaron en un matraz bola de dos bocas de 25 mL o 50 mL (esto dependió del tipo y cantidad de disolvente que se utilizara), donde se agregó la cantidad necesaria de disolvente que, a una temperatura superior al ambiente, pero inferior a la de su punto de ebullición, pudiera disolver a la cantidad agregada. Dentro del matraz se colocó un agitador magnético y se adaptó el refrigerante. Con el matraz dentro de la canastilla de calentamiento, se comenzó el reflujo con agitación a 500 rpm y se calentó a 55 °C. El reflujo continuó hasta que se observó que la glibenclamida estaba solubilizada. La cantidad de conformador equivalente a 2.024×10^{-4} mol (ya que la relación molar debía ser 1:1) se adicionó dentro del matraz de dos bocas y se continuó con el reflujo durante 2 min con agitación a 300 rpm manteniendo la temperatura.

Con la solución saturada de glibenclamida-coformador se procedió a probar las siguientes técnicas con las que se obtuvo el precipitado.

7.1.6 Cristalización por adición de antidisolvente por goteo

Al finalizar los dos minutos con agitación a 300 rpm se vertió la solución saturada a un vaso de precipitado, se continuó con la agitación y se agregó gota a gota a la solución el mismo volumen del antidisolvente para inducir la precipitación. Cada precipitado por vez, se filtró mediante vacío a través de membrana de *nylon*, poro de 0.45 µm con el matraz recolector y el embudo Buchner de filtración fríos hasta el momento de ser empleados, el sólido filtrado se lavó una vez con el antidisolvente frío, y se dejó secar durante 1 h a 60 °C.

7.1.7 Cristalización por evaporación convencional

Al finalizar los dos minutos con agitación a 300 rpm se vertió la solución saturada a un vaso de precipitado, y se continuó con la agitación y calentamiento a 65°C hasta que se evaporó el disolvente.

7.1.8 Cristalización por enfriamiento

Al finalizar los dos minutos con agitación a 300 rpm se vertió la solución saturada a un vaso de precipitado se cubrió con papel parafilm e inmediatamente se colocó en la mezcla frigorífica compuesta por acetona-agua-cloruro de sodio en una proporción 50:45:5 a temperatura constante de -22 °C por 24 h. Cada sólido se filtró, uno por vez, mediante vacío a través de membrana de *nylon*, poro de 0.45 µm, con el matraz recolector y el embudo buchner de filtración fríos hasta el momento de ser empleados, el sólido obtenido se dejó secar durante 1 h a 60 °C.

7.1.9 Almacenamiento de los productos obtenidos

Los productos obtenidos por cada una de las técnicas se colocaron en tubos de ensaye previamente identificados de acuerdo con la técnica, el coformador y disolvente utilizados para su preparación y se mantuvieron en un desecador a vacío para su almacenamiento.

7.2 Caracterización de los cocristales obtenidos a partir de la matriz exploratoria

Las pruebas para la caracterización de los cocristales obtenidos de la matriz exploratoria fueron las siguientes:

7.2.1 Espectroscopia infrarroja (IR)

Cada producto se leyó en espectroscopia infrarroja con el programa *Perkin Elmer Spectrum* Versión 10.4.4, en el intervalo de 4000 - 500 cm⁻¹. La muestra se leyó de forma directa en el equipo por la técnica de Reflexión Total Atenuada (*ATR*). La información de los máximos de absorción obtenidos de cada espectro se comparó con

los correspondientes a los principales grupos funcionales de la glibenclamida y conformador con base en la señal, su similitud y las diferencias de intensidad relativa.

7.2.2 Calorimetría de barrido diferencial (DSC)

Cada producto se pesó con exactitud entre 3 y 5 mg por vez y se colocaron en un crisol de aluminio no hermético, este se colocó en el horno del calorímetro *Perkin- Elmer DSC7*. Bajo una atmósfera de nitrógeno seco se realizó un barrido térmico en el intervalo de 25 a 200 °C a una velocidad de calentamiento de 10 ° C/min. Los termogramas obtenidos de cada producto fueron analizados por el programa *Data Analysis* de la paquetería *Pyris Manager 9.1*. En cada uno de ellos se corrigió la línea base corriendo un blanco; es decir, un crisol vacío. Previo a la determinación se calibró el equipo utilizando indio.

Los termogramas obtenidos de cada producto se compararon contra glibenclamida y el conformador correspondiente.

7.3 Selección de los productos para la matriz reducida

Del análisis de los termogramas y el espectro infrarrojo de cada producto de la matriz exploratoria se seleccionaron aquellos que sugirieron la formación de una diferente forma cristalina, estos formaron parte de la matriz reducida. Se reprodujeron los métodos de acuerdo con la metodología utilizada con los ajustes necesarios para emplear 800 mg de glibenclamida.

7.4 Caracterización de los cocristales obtenidos a partir de la matriz reducida

7.4.1 Valoración

Con base en lo reportado previamente,²⁷ se implementó la metodología analítica basada en la técnica por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) para la cuantificación de: 1, la cantidad de glibenclamida en el cocrystal; 2, la cantidad disuelta de glibenclamida a partir del cocrystal en la prueba de disolución.

7.4.1.1 Análisis por CLAR

Las condiciones iniciales de análisis fueron: técnica CLAR de fase reversa; empleando una fase estacionaria de sílice C₈, de 150 x 4.6 mm y un tamaño de partícula de 5 µm; una fase móvil compuesta por solución amortiguadora de fosfatos 1X10⁻² M/octil-sulfonato de sodio 1X10⁻⁵ M, pH 3.5:Acetonitrilo, (45:55); velocidad de flujo de 2.2 mL/min; muestras de 25 µL con estándar interno de felodipino a 5 µg/mL y detectado por UV a λ=254 nm. El factor de respuesta se obtuvo como el cociente del área bajo la curva correspondiente al fármaco entre el área bajo la curva del estándar interno, de acuerdo con la Ecuación 4.

Ecuación 4 Cálculo de la señal analítica (S.a.)

$$(S.a.) = \frac{ABC F}{ABC EI}$$

7.4.1.2 Método para la cuantificación de glibenclamida en el cocrystal

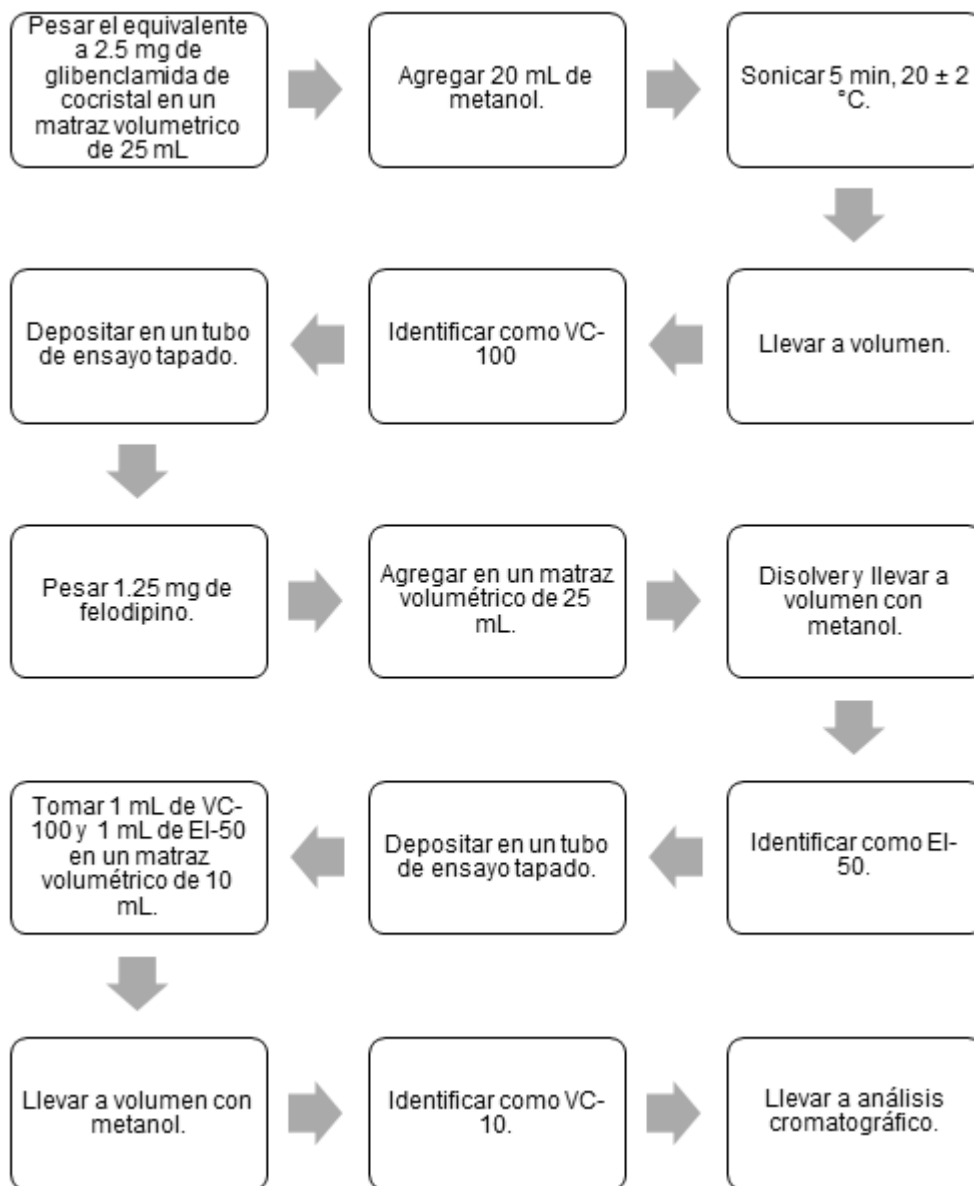
Procedimiento

En la Figura 8 se resume el procedimiento a continuación descrito, de cada producto obtenido, se pesó el equivalente a 2.5 mg de glibenclamida y se agregó a un matraz volumétrico de 25 mL con 20 mL de metanol, el papel encerado que se utilizó se lavó con un par de porciones de 1 mL del mismo disolvente para arrastrar cualquier remanente. El matraz y su contenido se llevaron a ultrasonido en baño de agua a 20 ± 2 °C durante 5 minutos para finalmente ser llevados a volumen con el mismo disolvente. Esta solución, que contiene 100 µg/mL de glibenclamida, se identificó como “VC-100” (por valoración de contenido).

Para la calibración metodológica, se consideró la utilización de un estándar interno para calcular la señal analítica de las muestras (Ecuación 5). El analito seleccionado como estándar interno fue el felodipino, este fue preparado a una concentración de 50 µg/mL utilizando metanol como disolvente. Esta solución se identificó como “EI-50”.

En un matraz volumétrico de 10 mL se colocó 1 mL de la solución VC-100 y 1 mL de la solución EI-50 y se llevaron a volumen con metanol. Esta solución, que contenía 10 µg/mL de glibenclamida y 5.0 µg/mL de felodipino, se identificó como “VC-10” y se colocó en vial para ser llevado a análisis cromatográfico.

Figura. 8: Diagrama de flujo del procedimiento para la valoración del contenido de glibenclamida en el cocrystal



Se construyeron 3 VC-100 a partir de pesadas independientes.

Construcción de curva de calibración

A partir de una solución de glibenclamida en metanol, preparada a 200 µg/mL, se tomaron los volúmenes necesarios para preparar soluciones a 8, 9, 10, 11 y 12 µg/mL (cuadro 8). Las soluciones fueron tratadas con la adición de estándar interno y analizadas

como se establece en el método para la cuantificación del contenido de fármaco en el cocrystal. Los datos de peso de los estándares de glibenclamida y estándar interno, así como los factores de dilución correspondientes, fueron registrados debidamente.

Se construyeron 3 curvas de calibración.

Cuadro 8. Soluciones con las que se construyó la curva de calibración del método para la valoración del contenido de glibenclamida en el cocrystal

Nivel	Alícuota (μL)	C ($\mu\text{g/mL}$)
Doble cero	-	-
Cero	1mL de EI 50	-
80%	400	8
90%	450	9
100%	500	10
110%	550	11
120%	600	12

La solución de partida, VC 200, tiene una concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$ de fármaco

Tratamiento de los datos

A partir de los resultados obtenidos se construyó el modelo de regresión lineal por mínimos cuadrados de la señal analítica en función de la concentración adicionada. El modelo fue construido en *SPSS Statistics* v. 23.0 para registrar los coeficientes, así como el coeficiente de correlación y otros parámetros a ser utilizados para la verificación de este método.

La ecuación que describe el modelo fue empleada para interpolar las señales analíticas de muestras de concentración desconocida.

7.4.2 Prueba de disolución para la cuantificación de la cantidad de fármaco liberado

La solubilidad de la glibenclamida, y la de los productos obtenidos, se determinó disolviendo la dosis unitaria más alta, o el peso equivalente a esta, (5 mg) en 250 mL de medio de disolución (5 medios de disolución con valores de pH entre 1.0 y 8.0). La prueba se realizó bajo condiciones de prueba suaves con el aparato II de disolución a 75 rpm, y

la toma de muestra en intervalos de 15 minutos, hasta completar 120 minutos.

7.4.2.1 Preparación del medio de disolución

Con probeta, se midió 1 L de agua desionizada y se colocó en un vaso de precipitado de 1 L, se mantuvo el contenido del vaso en agitación y se agregaron las especies químicas para el pH que se necesitó (Cuadro 9), las especies químicas que se encontraban en estado líquido se tomaron con micropipeta, y las especies en estado sólido se pesaron en papel encerado y se depositaron en el vaso correspondiente, para asegurar que todo el material fuera transferido al vaso de disolución y que no se perdiera muestra, el papel encerado que se utilizó se lavó con un par de porciones de 1 mL del mismo medio de disolución para arrastrar cualquier remanente.

Con el potenciómetro se midió el pH y se ajustó cuando fue necesario. Se filtró y se desgasificó el medio de disolución por ultrasonido en baño de agua a 20 ± 2 °C durante 30 minutos.

Cuadro 9. Cantidades que fueron utilizadas para la preparación de medios de disolución

Medio para la prueba de disolución	pH	HCl (mL)	H ₃ PO ₄ (μL)	KH ₂ PO ₄ (g)	K ₂ HPO ₄ (g)
HCl (0.1M)	1	8.3509	---	---	---
H ₃ PO ₄ / KH ₂ PO ₄	4.5	---	13.9950	6.7762	---
KH ₂ PO ₄ / K ₂ HPO ₄	5.25	---	---	6.7307	0.0944
KH ₂ PO ₄ / K ₂ HPO ₄	6.8	---	---	4.8987	2.4392
KH ₂ PO ₄ / K ₂ HPO ₄	8	---	---	0.9496	7.4937

Las celdas vacías representan que la especie química no fue tomada en cuenta para la preparación del medio de disolución en cuestión.

7.4.2.2 Perfil de disolución

Cada cocristal fue evaluado en los 5 medios de disolución, uno por vez, y por triplicado.

Para comenzar la prueba, se colocaron las paletas en los ejes de transmisión del aparato

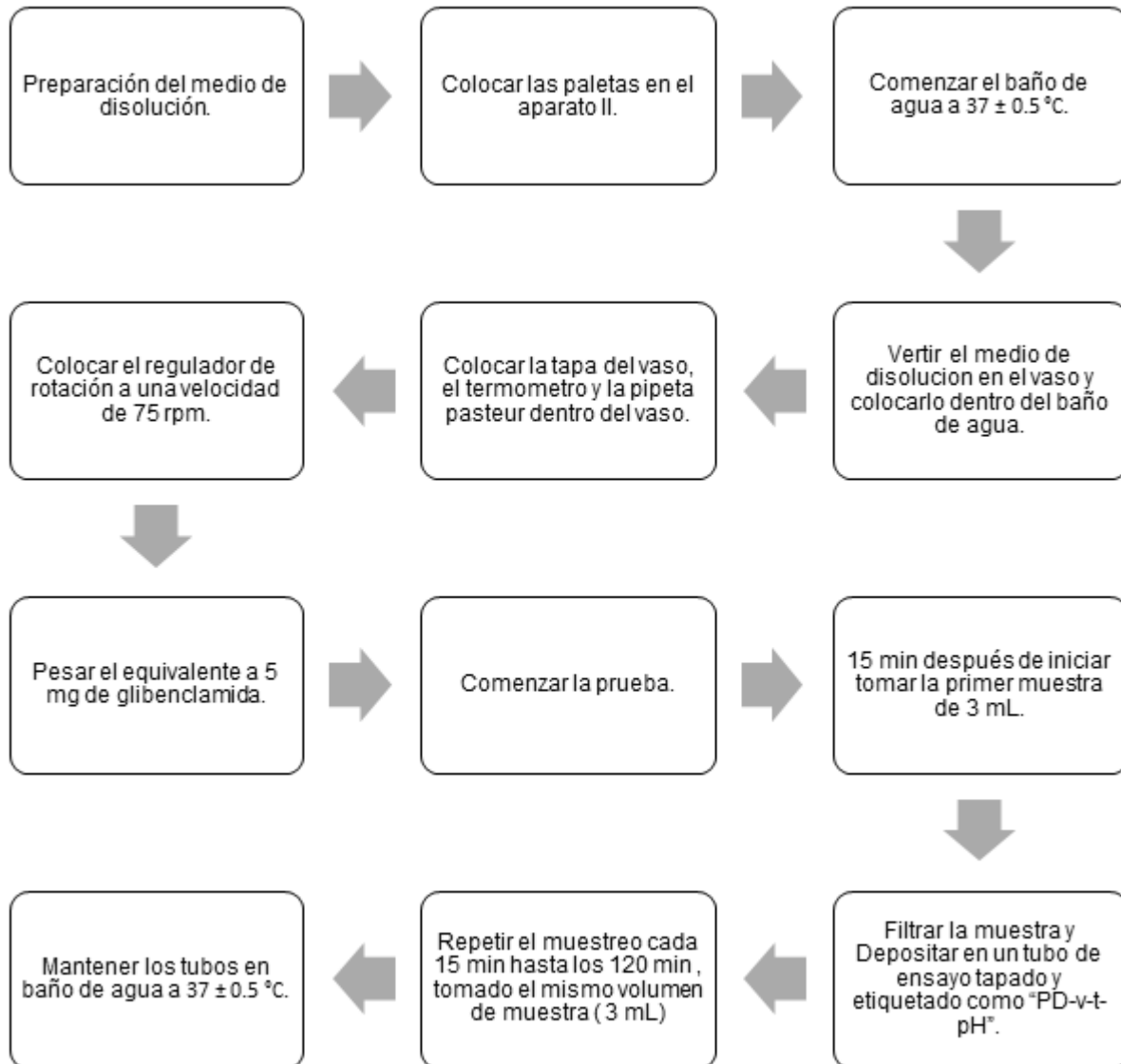
II de disolución, asegurando el límite inferior de estas a una distancia de 25 ± 2.0 mm del

fondo del vaso. En cada vaso de prueba, se colocaron los 250 mL del medio y repetición correspondiente, y este se mantuvo firmemente ajustado y tapado para contener la condensación y permitir la inserción de un termómetro. Cada vaso se sumergió en el baño de agua a 37 ± 2 °C y la rotación de las paletas se ajustó a una velocidad de 75 rpm. La prueba se inició con la cantidad de cocrystal (que se pesó en papel encerado) equivalente a 5 mg de glibenclamida, por cada vaso de disolución y que se depositó en el vaso correspondiente. Para asegurar que todo el cocrystal fuera transferido al vaso de disolución y que no se perdiera muestra, el papel encerado que se utilizó se lavó con un par de porciones de 1 mL del mismo medio de disolución para arrastrar cualquier remanente. Hasta que la muestra estuviera en el fondo del vaso, se inició la rotación de la paleta.

Para la toma de muestra se utilizó una pipeta Pasteur de vidrio claramente identificada con el número de vaso y el medio de disolución, y se aseguró que esta nunca interfiriera con la rotación de la paleta; mientras que fuera de la tapa del vaso la pipeta estaba adaptada a una jeringa de 5 mL. Todo el sistema para la toma de muestras estuvo colocado para permitir la visualización del desarrollo de la prueba, a fin de ocupar el mismo lugar siempre en el aparato. 15 min después de iniciar la rotación de las paletas se tomaron 3 mL de muestra, que se filtraron inmediatamente a través de membrana de celulosa y se depositó en un tubo de rosca con tapa de 13x100 previamente identificado como "PD-v-t-pH"; donde "v" fue sustituido por el número de vaso de la prueba correspondiente, "t" por el tiempo de muestreo respectivo, y "pH" por el pH del medio de disolución, la toma de muestra se realizó cada 15 min hasta a completar 120 min. En cada ocasión se tomó el mismo volumen de muestra, en tiempo y forma, y las muestras

se mantuvieron en baño de agua a 37 ± 0.5 °C hasta recibir el tratamiento correspondiente.

Figura. 9. Diagrama de flujo del procedimiento para la prueba de perfil de disolución de glibenclamida en el cocrystal



7.4.2.3 Tratamiento de las muestras

Las muestras tomadas se mantuvieron en un baño de agua a 37 ± 0.5 °C. Para evitar la precipitación de la glibenclamida por descenso de la temperatura y proceder a la cuantificación, se utilizó una alícuota de fase móvil que contuviera estándar interno (felodipino) preparado a una concentración de $10 \mu\text{g/mL}$ (EI-10). Suficientes tubos con

tapa de rosca se identificaron como “TPD v-t-pH” (donde “v” fue sustituido por el número de vaso de prueba correspondiente, “t” por el tiempo de muestreo respectivo, y “pH” por el pH del medio de disolución), y se agregó 1.0 mL de EI-10 y 1 mL de la muestra que correspondía con el vaso, el tiempo y el pH. Cada tubo se agitó con vórtex durante 10 s, y se colocó en viales para llevar a análisis cromatográfico.

7.4.2.4 Construcción de los perfiles de disolución

Preparación de la curva de calibración

Por cada medio de disolución (pH) se construyeron tres curvas de calibración.

A partir de una solución de glibenclamida en metanol, preparada a 250 µg/mL, se tomó el volumen necesario para preparar soluciones a 1, 5, 10, 15, 20 y 25 µg/mL (cuadro 10), y se llevaron a volumen con medio de disolución. En tubos con tapa de rosca que se identificaron con la concentración correspondiente en µg/mL, se agregó 1 mL de EI-10 y 1 mL de la solución correspondiente. Cada tubo se mantuvo en agitación con vórtex durante 10 s, y se colocó en viales para llevar a análisis cromatográfico.

Cuadro 10. Soluciones que se utilizaron para construir la curva de calibración del método para el perfil de disolución del cocrystal de glibenclamida

Nivel	Alícuota (mL)	C (µg/mL)
Doble cero	-	-
Cero	1mL de EI 50	-
5%	0.04	1
25%	0.2	5
50%	0.4	10
75%	0.6	15
100%	0.8	20

La solución de partida, VC 250, tiene una concentración de 200 µg/mL de fármaco

Tratamiento de los datos

A partir de los resultados obtenidos se construyó el modelo de regresión lineal por mínimos cuadrados de la señal analítica en función de la concentración adicionada. El

modelo fue construido en SPSS Statistics v. 23.0 para registrar los coeficientes, así como el coeficiente de correlación y otros parámetros a ser utilizados para la verificación de este método.

La ecuación que describe el modelo fue empleada para interpolar las señales analíticas y obtener las concentraciones y porcentajes de disolución para construir los perfiles de disolución.

7.5 Resonancia magnética nuclear (RMN)

Se obtuvo el espectro de la glibenclamida, y de los productos seleccionados (AB 1:1 y el AS 1:1.) utilizando el Espectrómetro Bruker Avance III HD 400 con el software TOPSPIN 3.5 y la sonda PH MAS 400MHz SB 4mm, con el método de resonancia Magnética Nuclear en estado sólido, Espectros de C^{13} -CPMAS (Carbono 13 con Polarización Cruzada en el Ángulo Mágico). Para correr la muestra se utilizó como estándar externo Glicina, ya que RMN en estado sólido de C^{13} no es posible hacer integración de las señales por lo que las muestras se corrieron a dos velocidades debido a que se generan señales satélites debido al giro de la muestra, los picos que se traslapan al comparar los espectros a las dos velocidades se tomaron como las señales reales del compuesto.

La información de las señales de cada producto seleccionados se comparó con las señales correspondientes a los C^{13} de la glibenclamida con base en la señal, su similitud y las diferencias de intensidad.

8 Resultados y discusión

8.1 Solubilidad de la glibenclamida y los coformadores

La disolución del fármaco y los coformadores se verificaron visualmente (es decir, no se

observaron partículas suspendidas, no tenía cristales en el fondo, y la solución era translúcida), los resultados de solubilidad se muestran en el Cuadro 11, la clasificación que se utilizó para reportar los resultados fue de acuerdo con la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM).²⁷

Cuadro 11. Solubilidad de la glibenclamida y coformadores

Disolventes	Glibenclamida	Ác.	Ác.	Ác.	Ác.
		succínico	benzoico	oxálico	glutámico
Agua	*	****	**	****	***
Acetona	****	****	****	****	*
Etanol	***	****	****	****	*
Metanol	****	****	****	****	*
Acetato de etilo	***	****	****	****	*
Isooctano	**	***	****	*	**

Se utiliza el término no soluble para: 1mg que no se disolvió completamente en 50 mL (*), **soluble *** fácilmente soluble **** muy soluble.

Las partes de disolvente que se utilizaron para disolver una parte del soluto (Cuadro 12) entendiéndose como una parte, 10 mg para glibenclamida y 1 mg para los coformadores, ya que al iniciar la prueba se observó la cantidad de disolvente que se gastaba al utilizar como 1 parte 10 mg y se optó por pesar una menor cantidad para la prueba de solubilidad en los coformadores por lo que se tomó como 1 parte 1 mg.

Cuadro 12. Partes de disolvente que se utilizaron para disolver una parte del soluto

Compuesto	Partes de disolvente necesarias					
	Etanol	Acetato de etilo	Isooctano	Agua	Acetona	Metanol
Gb	2	2	3	50 **	0.4	0.5
Ác. Succínico	0.1	0.5	10	0.1	0.1	0.1
Ác. Oxálico	0.1	0.1	50 **	0.1	0.1	0.1
Ác. Benzoico	0.2	0.2	0.3	25	0.3	0.3
Ác. Glutámico	50**	50**	16	2	50**	50**

(Gb) glibenclamida, los datos que se encuentran marcados con ** se llevaron hasta un gasto de 50 mL ya que se consideró un gasto innecesario de disolvente.

Se decidió que el gasto máximo de disolvente fuera de 50 mL, una solubilidad menor no

serviría para este experimento, ya que de acuerdo con la bibliografía tanto la glibenclamida como el coformador tienen que estar solubilizados en el disolvente elegido para la fabricación del cocrystal, la cantidad de disolvente a utilizar se vuelve una característica importante, por lo que se optó por evitar el gasto innecesario. La solubilidad, de acuerdo con los datos anteriores, de la glibenclamida y de los coformadores, en cada disolvente, se reportó en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Solubilidad (mg/mL)

Compuesto	Solubilidad (mg/mL)					
	Etanol	Acetato de etilo	Isooctano	Agua	Acetona	Metanol
Gb.	0.5	0.5	0.3333	0.004*	2.5	2.0
Ác. Succínico	10.0	2.0	0.1	10.0	10.0	10
Ác. Oxálico	10.0	10.0	0.02	10.0	10.0	10
Ác. Benzoico	5.0	5.0	3.3333	0.04	3.3333	3.3333
Ác. Glutámico	0.02	0.02	0.0625	0.5	0.02	0.02

(Gb) glibenclamida, el * corresponde con el valor teórico, considerando que el valor real no se pudo determinar con la metodología descrita.

Para elegir a los disolventes que se utilizaron en las diferentes técnicas, se obtuvo la relación de solubilidad del coformador con respecto a la glibenclamida (Cuadro 14). En este, se puede observar que el ácido benzoico es 10 veces más soluble que la glibenclamida en Etanol, Acetato de Etilo e Isooctano, pero de acuerdo con el valor de solubilidad de la glibenclamida en estos disolventes (Cuadro 13), se tienen dos alternativas para preparar la solución: etanol y acetato de etilo (0.5 mg de Gb. /mL), y ya que en ambos se tiene la misma relación, se eligió al etanol para preparar la solución. Para los ácidos succínico y oxálico, se encontró una relación de 20 veces más soluble en etanol y de 5 veces más soluble en metanol, ya que en la literatura no se encuentran valores de la relación de solubilidad diferentes a 10 veces más soluble el coformador con

respecto al fármaco, ambos disolventes representan una alternativa para ser utilizados. Finalmente, considerando la solubilidad de la glibenclamida en etanol (0.5 mg/mL) y en metanol (2 mg/mL) se seleccionaron ambos disolventes para preparar la solución de partida en las técnicas de obtención, ya que ambos cubrieron la necesidad de solubilidad del coformador y de la glibenclamida. A pesar de que con agua se obtienen altos valores de relación, no es factible de ser usado este disolvente, ya que el fármaco es prácticamente insoluble en el agua; por lo que preparar una solución de éste es inviable.

Cuadro 14. Relaciones de solubilidad (S.cf/S Gb)

Compuesto	Relación de solubilidad con respecto a la glibenclamida					
	Etanol	Acetato de etilo	Isooctano	Agua*	Acetona	Metanol
Ác. Succínico	20 ⁺⁺	4 ⁺	0.3 ^x	2500	4 ⁺	5 ⁺
Ác. Oxálico	20 ⁺⁺	20 ⁺⁺	0.2 ^x	2500	4 ⁺	5 ⁺
Ác. Benzoico	10 ⁺⁺	10 ⁺⁺	10 ⁺⁺	10	1.3333 ^x	1.6666 ^x
Ác. Glutámico	0.04 ^x	0.04 ^x	0.1875 ^x	125	0.008 ^x	0.01 ^x

(Gb) glibenclamida, (Cf) coformador, los datos que se encuentran marcados con superíndice X no cumplen con la relación de solubilidad requerida para este experimento, los que se encuentran marcados con superíndice ++ tienen la relación solubilidad reportada en la literatura como óptima o relación de solubilidad mayor a la reportada como óptima, y los que se encuentran marcados con superíndice + serían una alternativa viable para este experimento. El superíndice * denota que la cantidad de disolvente para obtener una solución de fármaco es muy alta.

El ácido glutámico se descartó ya que es poco soluble en la mayoría de los disolventes, esta característica evita que pueda ser utilizado como coformador del cocrystal con glibenclamida ya que para preparar la solución inicial ambas especies tienen que estar solubilizadas, se optó por evitar el gasto innecesario de disolvente.

8.2 Compatibilidad entre coformador y Glibenclamida

La compatibilidad se determinó a través de un análisis térmico por calorimetría diferencial de barrido.

8.2.1 Interacción ácido succínico y glibenclamida

La evidencia de que existe una probable interacción física entre las moléculas de ác.

succínico y glibenclamida (Figura 10) fue considerando la presencia de la señal endotérmica de la mezcla y una aparente transición vítrea (cambio de línea base) que se presentan entre 140 y 190 °C, como se aprecia en la Figura 10a. Esta última coincide con el inicio de la fusión del ác. succínico (Figura 10c) por lo que dicha transición vítrea es debida a la presencia de estas moléculas en la mezcla; es decir, la fusión del ác. succínico se ve inhibida por la interacción física que existe con las moléculas de glibenclamida y reemplazada por esta transición. La endoterma que se presenta entre 140 y 170 °C no es debida a la glibenclamida (la cual tiene un punto de fusión de 175 °C) ni a la fusión del ác. succínico, si lo comparamos con la Figura 10b. Con base en estos resultados no se aceptó que exista evidencia de la generación de un producto de degradación (porque no hay eventos exotérmicos adicionales) ni se descartó que se deba a un cambio sólido-sólido entre ambas especies.^{31, 32} Si se tratara de un cambio de estado sólido, la transición vítrea que se observa posteriormente reforzaría esta premisa.

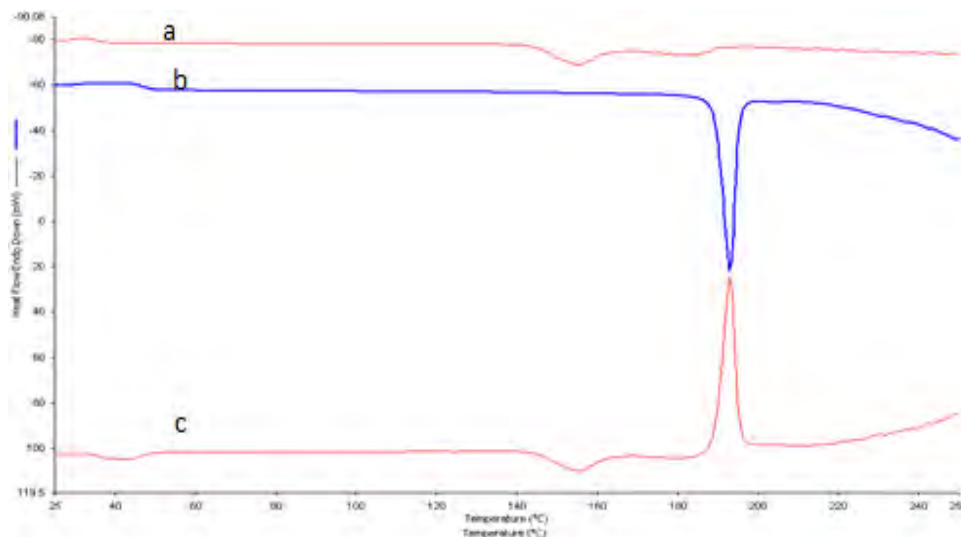


Figura 10. Interacción ácido succínico y glibenclamida

a: Mezcla de Gb con ácido succínico, b: ácido succínico, c: diferencia de a-b

8.2.2 Interacción ácido oxálico y glibenclamida

En la Figura 11. Se muestra que existe una interacción física entre las moléculas de ácido oxálico (dihidratado) y glibenclamida, esta interacción se vuelve evidente al considerar la transición vítrea que se presentó entre 90 y 110 °C en la Figura 11a, que coincide con la pérdida de las moléculas de agua del dihidrato. La siguiente transición térmica que se observa, entre 130 y 150 °C, no es debida al punto de fusión de la glibenclamida ni a la fusión del ácido oxálico, si lo comparamos con los puntos de fusión determinados por calorimetría (punto de fusión de la glibenclamida de 175 °C y el punto de fusión del ácido oxálico de 190.62 °C) con esta comparación no se puede aceptar que el cambio sea generado por un producto de degradación (porque no hay eventos exotérmicos adicionales), ni descartar que se deba a un cambio sólido-sólido entre ambas especies.^{31, 32} Los eventos que se observan a partir de los 190 °C en la Figura 11a coinciden con el punto de fusión del ácido oxálico (Figura 11b) mismo que se ve inhibido en la mezcla física, y podrían corresponder con degradaciones térmicas de uno o ambos componentes de la mezcla (por el comportamiento errático de los eventos térmicos en esta región).

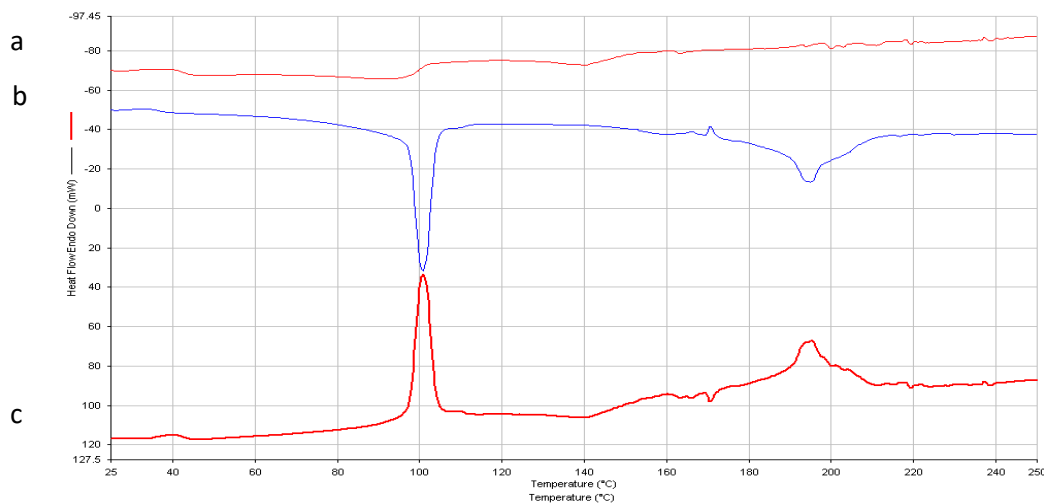


Figura 11. Interacción ácido oxálico y glibenclamida

a: Mezcla de Gb con ácido oxálico, b: ácido oxálico, c: diferencia de a-b

8.2.3 Interacción ácido benzoico y glibenclamida

En la evaluación de la posible interacción física entre la mezcla de ác. benzoico y glibenclamida (Figura 12.) se consideró como evidencia de esta a la endoterma que se presentan entre 110 y 120 °C en la figura 12a. Es posible que, en presencia de glibenclamida, el ác. benzoico, funda a una temperatura menor a la que se observa en la Figura 12b (solo ác. benzoico), en la mezcla física entre el ác. benzoico y glibenclamida no se observa el punto de fusión de esta última, quizá debido a que el primero disuelve a ésta, o en todo caso inhibe su fusión, la presencia de una interacción sólido-sólido no necesariamente indica incompatibilidad farmacéutica, pero podría ser ventajoso, por ejemplo, como una forma más deseable del sistema de administración de fármacos.³²

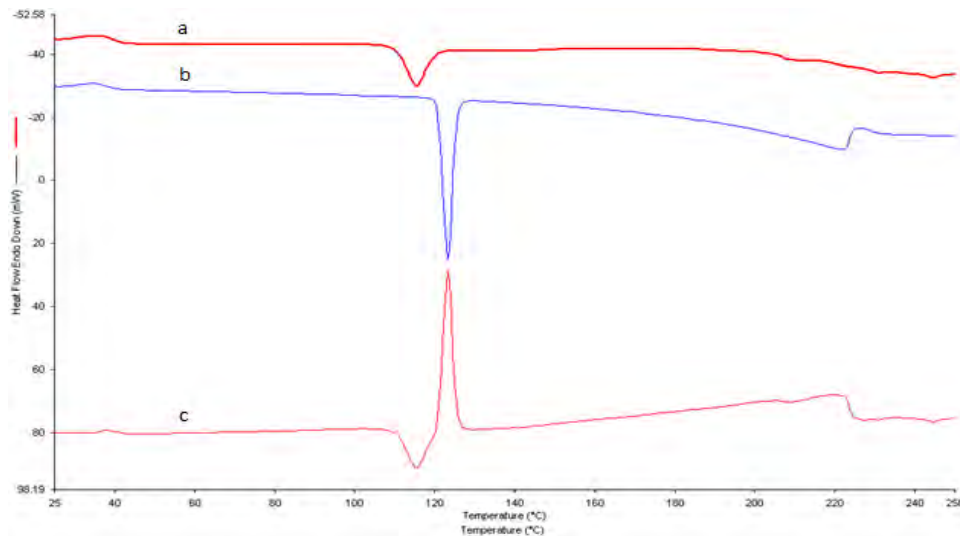


Figura 12. Interacción ácido benzoico y glibenclamida

a: Mezcla de Gb con ácido benzoico, b: ácido benzoico, c: diferencia de b-a

8.3 Experimentos exploratorios para determinar el método de fabricación

De la prueba de solubilidad se eligieron los coformadores y los disolventes con los que

se integrarían los experimentos de la matriz experimental exploratoria (Cuadro 15). En las tres técnicas se utilizaron los disolventes del cuadro para preparar la solución saturada, y en la técnica de antidisolvente se utilizó isooctano como antidisolvente, ya que este, en relación con la solubilidad de fármaco y coformadores en los disolventes elegidos para preparar las soluciones saturadas (es decir, metanol y etanol), presenta una menor solubilidad.

Cuadro 15. Matriz exploratoria

Compuesto	Técnica					
	Disolvente					
	Antidisolvente		Evaporación Convencional		Enfriamiento	
	Etanol	Metanol	Etanol	Metanol	Etanol	Metanol
Ác. succínico	1.1.1	1.2.1	2.1.1	2.1.1	3.1.1	3.2.1
Ác. oxálico	1.1.2	1.2.2	2.1.2	2.2.2	3.1.2	3.2.2
Ác. benzoico	1.1.3	1.2.3	2.1.3	2.2.3	3.1.3	3.2.3

Los experimentos están definidos según la denominación *i.j.k*. La clave de cada experimento se asignó a partir de la siguiente clasificación:

i= técnica: antidisolvente (*i* = 1), evaporación convencional (*i* = 2), enfriamiento (*i* = 3)

j= disolvente: etanol (*j* = 1), metanol (*j* = 2)

k= coformador: succínico (*k* = 1), oxálico (*k* = 2), benzoico (*k* = 3)

8.3.1 Caracterización de los productos de la matriz exploratoria. Espectroscopia de infrarrojo (IR)

La interpretación de los espectros de IR ayuda a indicar el ordenamiento de las moléculas y su arreglo en el espacio, considerando la flexión y/o el estiramiento de los enlaces de grupos funcionales característicos. Por lo anterior, se consideró a este análisis como uno de los parámetros para conocer las diferencias entre la glibenclamida y los productos obtenidos a partir de la matriz, respecto con la intensidad y localización de las mencionadas bandas características en cada espectro.

8.3.1.1 Espectro de infrarrojo de la glibenclamida

En la Figura 13 se muestra el espectro IR de la glibenclamida obtenido por *ATR* (reflexión total atenuada, por sus siglas en inglés), en 1713 cm^{-1} se muestra una señal intensa que se asignó a la vibración de estiramiento (*st*) del doble enlace C=O, que corresponde a la amida secundaria. La flexión del enlace N-H, junto con el estiramiento del enlace N-C=O (con el H de la amida secundaria sin interacción con otra molécula) se asignó en 1519 cm^{-1} . La señal en 3313 cm^{-1} se le asignó el estiramiento del enlace N-H de la amida secundaria. Las señales que fueron asignadas a la sulfonilurea fueron: el estiramiento asimétrico (*as*) del doble enlace S=O en 1340.71 cm^{-1} , el estiramiento simétrico (*sy*) del

doble enlace S-O en 1156.44 cm^{-1} ; al estiramiento del enlace S-N la señal en 904.06 cm^{-1} ; en cuanto a la urea, el estiramiento de doble enlace C-O fue asignado la señal en 1615.48 cm^{-1} y al estiramiento del enlace N-H, se le asignó la señal en 3365.2 cm^{-1} .

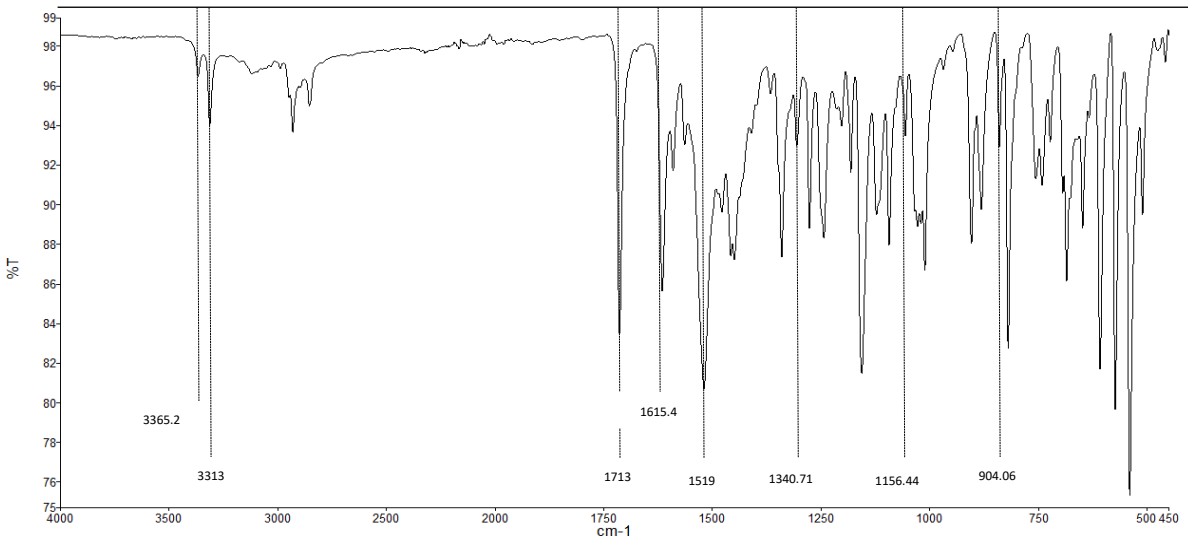


Figura 13. Espectro IR de glibenclamida

Los cuadros número 16 y 17 muestran los cambios en intensidad que se observaron en los IR de acuerdo con el producto obtenido por cada experimento de la matriz exploratoria (Cuadro 15), que se indica en la sección de resultados y discusión con subtítulo experimentos exploratorios para determinar el método de fabricación.

Cuadro 16. Observaciones en los espectros IR, de los productos i.1.k

Producto	Observaciones
1.1.1	No hay nuevas señales, cambio en la intensidad (en la zona de 500-1700), no coincide con ácido succínico.
1.1.2	No hay nuevas señales, cambio en las intensidades relativas (en la zona de 500-1700).
1.1.3	No hay nuevas señales, cambio en la intensidad solamente en 573.42.
2.1.1*	Existen nuevas señales, cambio en la intensidad.
2.1.2*	Existen nuevas señales, cambio en la intensidad.

Producto	Observaciones
2.1.3*	Existen nuevas señales, cambio en la intensidad.
3.1.1	No hay nuevas señales, cambio en la intensidad (en la zona de 1300-1750).
3.1.2	No hay nuevas señales, cambio en la intensidad (en la zona de 1300-1750).
3.1.3	No se obtuvo material suficiente, por lo que no se le realizó la prueba.

La clave asignada a cada producto corresponde con la matriz del cuadro 15, los productos marcados con (*) muestran señales que podrían corresponder a la formación del cocristal. Donde los productos i.1.k son los formados en etanol.

Cuadro 17. Observaciones en los espectros IR, de los productos i.2.k

Producto	Observaciones
1.2.1	No hay nuevas señales, cambio en la intensidad (en la zona de 500-1700).
1.2.2	No hay nuevas señales, cambio en la intensidad relativas (en la zona de 500-1700), y en la zona del enlace N-H.
1.2.3	No hay nuevas señales, cambio en la intensidad.
2.2.1	Existen nuevas señales, cambio en la intensidad (en la zona del enlace N-H).
2.2.2	Existen nuevas señales, cambio en la intensidad (en la zona del enlace N-H).
2.2.3	Existen nuevas señales, cambio en la intensidad (en la zona del enlace N-H).
3.2.1	No hay nuevas señales, cambio en la intensidad (en la zona del enlace N-H).
3.2.2	No hay nuevas señales, cambio en la intensidad (en la zona del enlace N-H).
3.2.3	No hay nuevas señales, cambio en la intensidad (en la zona del enlace N-H).

La clave asignada a cada producto corresponde con la matriz del Cuadro 15, Donde los productos i.2.k son los formados en etanol.

Los cuadros número 18, 19, 20 y 21 muestra los cambios en localización de los principales grupos funcionales de la glibenclamida que se observaron en los IR de acuerdo con producto obtenido por cada experimento de la matriz exploratoria (cuadro 15) que se indica en la sección de resultados y discusión con subtítulo: experimentos exploratorios para determinar el método de fabricación.

Cuadro 18. Localización de las señales más importantes de los grupos funcionales de la glibenclamida en los productos obtenidos con etanol

Movimiento	GB (cm^{-1})	1.1.1 (cm^{-1})	1.1.2 (cm^{-1})	1.1.3 (cm^{-1})	2.1.1* (cm^{-1})	2.1.2* (cm^{-1})	2.1.3* (cm^{-1})	3.1.1 (cm^{-1})	3.1.2 (cm^{-1})
v N-H de la urea	3365.2	3369.6	3369.6	3367.0	3374.0	3369.6	3372.1	3369.6	3365.2
v N-H de la amida	3313.2	3314.2	3314.3	3313.3	3067.6	3318.8	3317.0	3314.7	3314.0
v C-O doble enlace de la amida	1713.8	1713.9	1714.0	1713.6	1697.9	1714.3	1713.8	1713.9	1714.0
δ N-H amidas secundarias	1519.6	1519.8	1520.1	1519.3	1533.0	1525.4	1531.9	1519.3	1519.6
v C-O doble enlace de la urea	1615.5	1615.3	1615.7	1615.1	1628.1	1617.4	1619.4	1616.2	1615.9
v S-O doble enlace	1340.7	1341.1	1341.2	1340.8	1334.8	1343.1	1343.0	1340.7	1341.2
δ S-O doble enlace	1156.4	1156.5	1156.7	1156.1	1158.2	1157.8	1158.0	1157.0	1156.6
v S-N	904.1	904.4	904.6	904.0	903.7	905.5	904.8	904.5	904.5

GB es utilizada como abreviación de glibenclamida, la clave asignada a cada producto corresponde a la matriz del cuadro 15, la letra δ es utilizada para marcar la flexión del enlace, y la letra v es utilizada para marcar el estiramiento del enlace, los productos marcados con (*) muestran señales que podrían corresponder a la formación del cocrystal.

Cuadro 19 Diferencia de la localización de las señales más importantes de los grupos funcionales de la glibenclamida en los productos obtenidos con etanol

Movimiento	GB (cm^{-1})	1.1.1 (cm^{-1})	1.1.2 (cm^{-1})	1.1.3 (cm^{-1})	2.1.1* (cm^{-1})	2.1.2* (cm^{-1})	2.1.3* (cm^{-1})	3.1.1 (cm^{-1})	3.1.2 (cm^{-1})
v N-H de la urea	3365.2	-4.4	-4.4	-1.8	-8.8	-4.4	-6.9	-4.4	0.0
v N-H de la amida	3313.2	-1.0	-1.2	-0.1	245.6	-5.6	-3.8	-1.5	-0.8
v C-O doble enlace de la amida	1713.8	-0.1	-0.2	0.2	15.9	-0.5	0.0	-0.1	-0.2
δ N-H amidas secundarias	1519.6	-0.2	-0.5	0.3	-13.5	-5.8	-12.3	0.3	0.0
v C-O doble enlace de la urea	1615.5	0.1	-0.2	0.3	-12.7	-2.0	-4.0	-0.7	-0.4
v S-O doble enlace	1340.7	-0.4	-0.5	0.0	5.9	-2.4	-2.2	0.0	-0.5
δ S-O doble enlace	1156.4	0.0	-0.3	0.4	-1.7	-1.3	-1.6	-0.5	-0.2
v S-N	904.1	-0.4	-0.5	0.0	0.3	-1.4	-0.8	-0.5	-0.4

GB es utilizada como abreviación de glibenclamida, la clave asignada a cada producto corresponde a la matriz del cuadro 15, la letra δ es utilizada para marcar la flexión del enlace, y la letra v es utilizada para marcar el estiramiento del enlace, los productos marcados con (*) muestran señales que podrían corresponder a la formación del cocrystal.

Cuadro 20. Localización de las señales más importantes de los grupos funcionales de la glibenclamida en los productos obtenidos con metanol

Movimiento	GB (cm ⁻¹)	1.2.1 (cm ⁻¹)	1.2.2 (cm ⁻¹)	1.2.3 (cm ⁻¹)	2.2.1 (cm ⁻¹)	2.2.2 (cm ⁻¹)	2.2.3 (cm ⁻¹)	3.2.1 (cm ⁻¹)	3.2.2 (cm ⁻¹)	3.2.3 (cm ⁻¹)
v N-H de la urea	3365.2	3369.6	3367.54	3369.6	3369.6	3369.6	3369.6	3365.2	3369.6	3369.6
v N-H de la amida	3313.17	3314.03	3314.08	3313.69	3315.1	3312.7	3313.33	3312.56	3312.7	3313.2
v C-O doble enlace de la amida	1713.8	1713.99	1714.1	1714.01	1713.9	1713.8	1713.97	1713.28	1713.8	1713.8
δ N-H amidas secundarias	1519.59	1520.42	1520.48	1519.94	1519.9	1519.3	1519.73	1519	1519.2	1519.9
v C-O doble enlace de la urea	1615.48	1615.09	1615.29	1615.66	1616.2	1616	1615.6	1614.77	1615.6	1615.4
v S-O doble enlace	1340.71	1340.86	1341.06	1341.06	1341.6	1341.1	1341.04	1340.62	1340.7	1340.8
δ S-O doble enlace	1156.44	1156.08	1156.26	1156.54	1157.4	1156.7	1156.6	1156.96	1156.4	1157.1
v S-N	904.06	904.83	904.97	904.51	904.77	904.53	904.46	904.05	904.17	904.35

GB es utilizada como abreviación de glibenclamida, la clave asignada a cada producto corresponde a la matriz del cuadro 15, la letra δ es utilizada para marcar la flexión del enlace, y la letra v es utilizada para marcar el estiramiento del enlace.

Cuadro 21. Diferencia de la localización de las señales más importantes de los grupos funcionales de la glibenclamida en los productos obtenidos con metanol

Movimiento	GB (cm ⁻¹)	P1.2.1 (cm ⁻¹)	P 1.2.2 (cm ⁻¹)	P 1.2.3 (cm ⁻¹)	P 2.2.1 (cm ⁻¹)	P 2.2.2 (cm ⁻¹)	P 2.2.3 (cm ⁻¹)	P 3.2.1 (cm ⁻¹)	P 3.2.2 (cm ⁻¹)	P 3.2.3 (cm ⁻¹)
v N-H de la urea	3365.2	-4.4	-2.34	-4.4	-4.4	-4.4	-4.4	0	-4.4	-4.4
v N-H de la amida	3313.17	-0.86	-0.91	-0.52	-1.95	0.47	-0.16	0.61	0.47	-0.04
v C-O doble enlace de la amida	1713.8	-0.19	-0.3	-0.21	-0.07	0.03	-0.17	0.52	0	0.03
δ N-H amidas secundarias	1519.59	-0.83	-0.89	-0.35	-0.29	0.34	-0.14	0.59	0.4	-0.26
v C-O doble enlace de la urea	1615.48	0.39	0.19	-0.18	-0.67	-0.49	-0.12	0.71	-0.13	0.06
v S-O doble enlace	1340.71	-0.15	-0.35	-0.35	-0.85	-0.35	-0.33	0.09	0.04	-0.1
δ S-O doble enlace	1156.44	0.36	0.18	-0.1	-0.99	-0.28	-0.16	-0.52	0.02	-0.62
v S-N	904.06	-0.77	-0.91	-0.45	-0.71	-0.47	-0.4	0.01	-0.11	-0.29

GB es utilizada como abreviación de glibenclamida, la clave asignada a cada producto corresponde a la matriz del cuadro 15, la letra δ es utilizada para marcar la flexión del enlace, y la letra v es utilizada para marcar el estiramiento del enlace.

Considerando las diferencias en la posición de las bandas características, que tienen los productos obtenidos a partir de la técnica de evaporación convencional en etanol (P

2.1.1, P 2.1.2, P 2.1.3) con respecto a la glibenclamida, se eligió a estos como los que podrían corresponder a un cocrystal. A continuación, se muestra un análisis detallado como soporte de esto.

8.3.1.2 Espectro de infrarrojo del producto 2.1.1

Al realizarse la comparación de espectros entre la glibenclamida (Figura 13) y el P 2.1.1 (Figura 14). Se observaron varios cambios con respecto a la localización e intensidad, la presencia de un enlace intermolecular alteraría la energía con el que un enlace intramolecular vibra ante la radiación infrarroja, por lo que el desplazamiento de las bandas en donde puede originarse un enlace de hidrógeno se toma como evidencia de la existencia de dicho enlace.³²

Las moléculas de glibenclamida presentan grupos funcionales en los que se promueven la formación de enlaces intermoleculares. La formación de enlaces de hidrógeno podría tener lugar entre el hidrogeno del ácido carboxílico del conformador con el oxígeno del carbonilo que forma parte de la urea (-NHCONH-), o el carbonilo que forma parte de la amida secundaria (-CONH-). La posible formación de estos enlaces se estableció, en el espectro IR del P 2.1.1, al observarse un desplazamiento de la señal del enlace de ν N-H de la amida secundaria con respecto a la señal correspondiente a la glibenclamida. El número de onda de este enlace, en la urea, se encuentra en 3374 cm^{-1} , un número de onda superior que el de la glibenclamida por 8.8 unidades , y el de la amida secundaria ya no se exhibe o, en todo caso, éste y el de la urea se vuelven una sola señal en 3374 cm^{-1} . La señal del enlace de ν C-O, en ambos grupos funcionales, muestran un desplazamiento en su número de onda. En la amida secundaria, se ubicó en 1697.9 cm^{-1} (un desplazamiento de 15.87 unidades) y en 1628.1 cm^{-1} en la urea (cambiando en 12.65

cm^{-1}). El movimiento en la localización y el aumento en la profundidad de la zona comprendida entre 450 a 1750 cm^{-1} se tomó como evidencia de la presencia de un enlace entre el ác. succínico y la glibenclamida.³² También se observaron cambios en el desplazamiento del resto de los grupos funcionales representativos de la glibenclamida:, como en el enlace de δ N-H de amidas secundarias, que se observó en 1533 cm^{-1} (un aumento de 13.45 *unidades*, con respecto a la glibenclamida); estos cambios son más evidentes en los enlaces que conforman a la amida secundaria, ya que el cambio en los números de onda de los enlaces de *stas* S-O doble enlace, el *stsy* S-O doble enlace y el ν S-N de la sulfonilurea no sugiere un cambio significativo, como se muestra en el Cuadro 19.

El enlace de hidrogeno es una interacción electrostática entre un átomo de hidrogeno de una molécula o de un fragmento molecular X-H en el que X es más electronegativo que H, y un átomo A o un grupo de átomos A en la misma o diferente molécula en la que se forma un enlace de manera local, X-H actúa como un donador de protón hacia A;³³ es decir, en el caso del producto 2.1.1 el hidrogeno en el ácido carboxílico del ác. succínico podría unirse de manera electrostática al oxigeno del carbonilo ya sea de la sulfonilurea o de la amida secundaria. Como ya se ha mencionado en el párrafo anterior, la presencia de un enlace intermolecular alteraría la energía con el que un enlace intramolecular vibra ante la radiación infrarroja, por lo que el desplazamiento de las bandas en donde puede originarse un enlace de hidrógeno (en el oxígeno del carbonilo ya sea de la sulfonilurea o de la amida secundaria y en el enlace ν N-H de ambas) sugieren la formación de este.^{32,33}

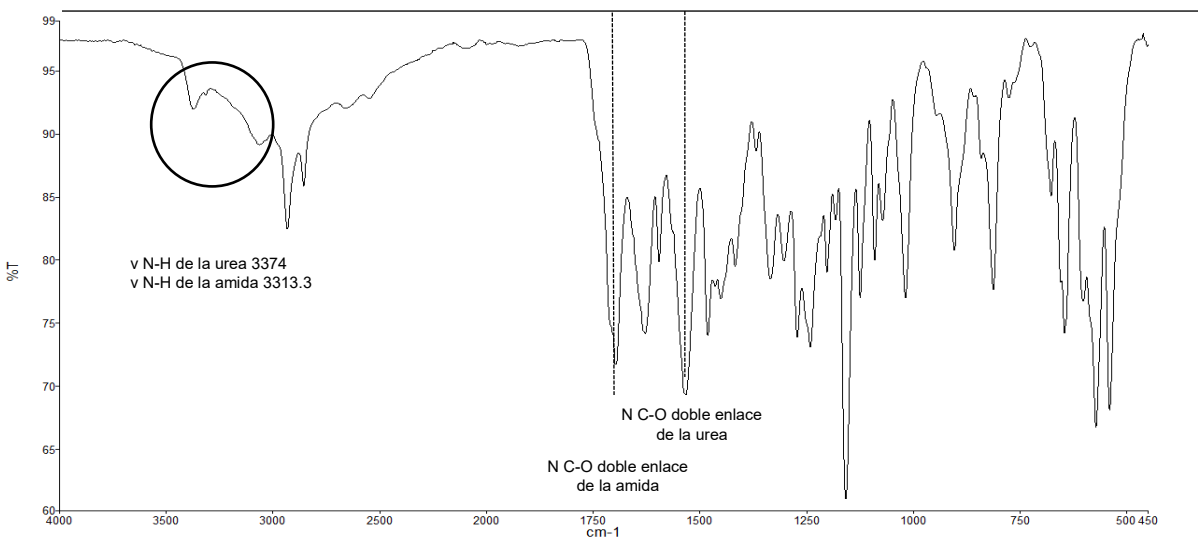


Figura 14: Espectro IR del producto 2.1.1

8.3.1.3 Espectro de infrarrojo del producto 2.1.2

Al realizarse la comparación de espectros entre la glibenclamida (Figura 13) y el P 2.1.2 (Figura 15). Se encontraron cambios respecto con la localización e intensidad de las bandas de los enlaces, de los grupos funcionales principales en los que es probable que se generara el enlace entre el ác. oxálico y la glibenclamida; es decir cambios en la sulfonilurea (-NHCONH-), o la amida secundaria (-CONH-), como se ha mencionado anteriormente.

En el espectro IR del P 2.1.2 se observó un desplazamiento (por 4.4 *unidades*) de la señal del enlace de v N-H de la amida secundaria, con respecto a la glibenclamida, ubicándose en un número de onda superior, mientras que el enlace análogo de la sulfonilurea de este producto se ubicó en 3067.6 cm^{-1} , desplazándose 5.63 cm^{-1} hacia un número de onda superior. La señal del enlace de v C-O en ambos grupos funcionales se vio desplazada. En la amida secundaria se ubicó en 1714.3 cm^{-1} con un desplazamiento hacia un número de onda mayor, pero con una diferencia de solo 0.45 *unidades* y, en la sulfonilurea, se

ubicó en 1617.4 cm^{-1} cambiando a un número de onda mayor, por 1.95 unidades . También se observaron cambios en el desplazamiento del resto de los grupos funcionales representativos de la glibenclamida, el enlace de δ N-H de amidas secundarias se observó en 3318.8 cm^{-1} . Los enlaces de *stas* S-O doble enlace, el *stsy* S-O doble enlace y el *v* S-N de la sulfonilurea no sugiere un cambio significativo, como se muestra en el Cuadro 18.

Los cambios observados en los grupos funcionales de la glibenclamida muestran evidencia de la posible generación de enlace de hidrógeno entre el átomo tal del ác. oxálico y el átomo tal de la glibenclamida, considerando el desplazamiento en las señales de los enlaces tal, tal y tal.

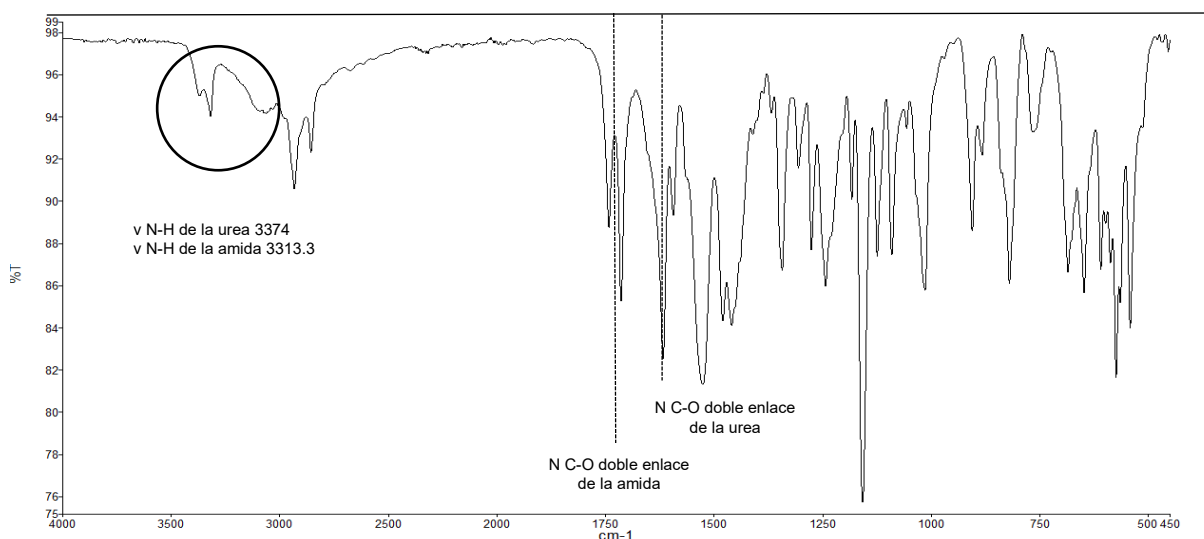


Figura 15: Espectro IR del producto 2.1.2

8.3.1.4 Espectro de infrarrojo del producto 2.1.3

Con la comparación de espectros entre la glibenclamida (Figura 13) y el P 2.1.3 (Figura 16). Se observaron varios cambios con respecto a la localización e intensidad. Al igual que en el de los productos anteriores, se buscó evidencia de la formación de enlaces intermoleculares en la sulfonilurea (-NHCONH-), o la amida secundaria (-CONH-).

Con respecto al enlace de ν N-H de la urea, su señal se ubicó en 3372.14 cm^{-1} , cambiando 6.94 unidades de la ubicación de la señal del enlace correspondiente a la glibenclamida. Mientras que la señal de la amida secundaria se encontró en 3317 cm^{-1} cambiando de localización hacia un número de onda mayor (por 3.83 unidades) y con una intensidad menor. Además, se muestran diferencias en el espectro en la región de 2500 a 4000 cm^{-1} con picos menos definidos y con una intensidad menor, respecto con la glibenclamida. La señal del enlace de ν C-O en ambas amidas se vio desplazada. En la amida secundaria se ubicó en 1713.78 cm^{-1} , aunque la diferencia respecto con el enlace de la glibenclamida fue de 0.02 unidades , en el espectro del producto se observó la aparición de una señal adicional en 1742.10 cm^{-1} que no forma parte de las señales de los grupos funcionales representativos de la glibenclamida ni del *ác. Benzoico*; lo cual se tomó como evidencia del enlace entre ambas especies. Con respecto al enlace en la urea, este se ubicó en 1619.44 cm^{-1} cambiando a un número de onda mayor (por 3.96 unidades). Al igual que en el experimento 2.1.1, existe movimiento en la localización y el aumento en la profundidad de la zona comprendida entre 450 a 1750 cm^{-1} , lo cual refuerza la posible generación de un enlace intermolecular entre el *ác. benzoico* y la glibenclamida.^{32,33}

También se observaron cambios en el desplazamiento del resto de los grupos funcionales representativos de la glibenclamida, el enlace de δ N-H de amidas secundarias se observó en 1531.93 cm^{-1} con un cambio hacia el número de onda mayor (por 12.34 unidades). Estos cambios son más evidentes en los enlaces de la amida secundaria, ya que los enlaces de *stas* S-O doble enlace, el *stsy* S-O doble enlace y el ν S-N de la sulfonilurea no sugiere un cambio significativo como se muestra en el Cuadro

18.

Los cambios observados en los grupos funcionales de la glibenclamida muestran evidencia de la posible generación de enlace de hidrógeno entre el átomo tal del ácido oxálico y el átomo tal de la glibenclamida, considerando el desplazamiento en las señales de los enlaces tal, tal y tal.

En general, los tres productos muestran la posible generación de un cocrystal, cuya interacción (enlace intermolecular) está favorecido en la amida secundaria, aunque no se descarta que se tenga una interacción intermolecular (tal vez glibenclamida-glibenclamida) en la sulfonilurea.

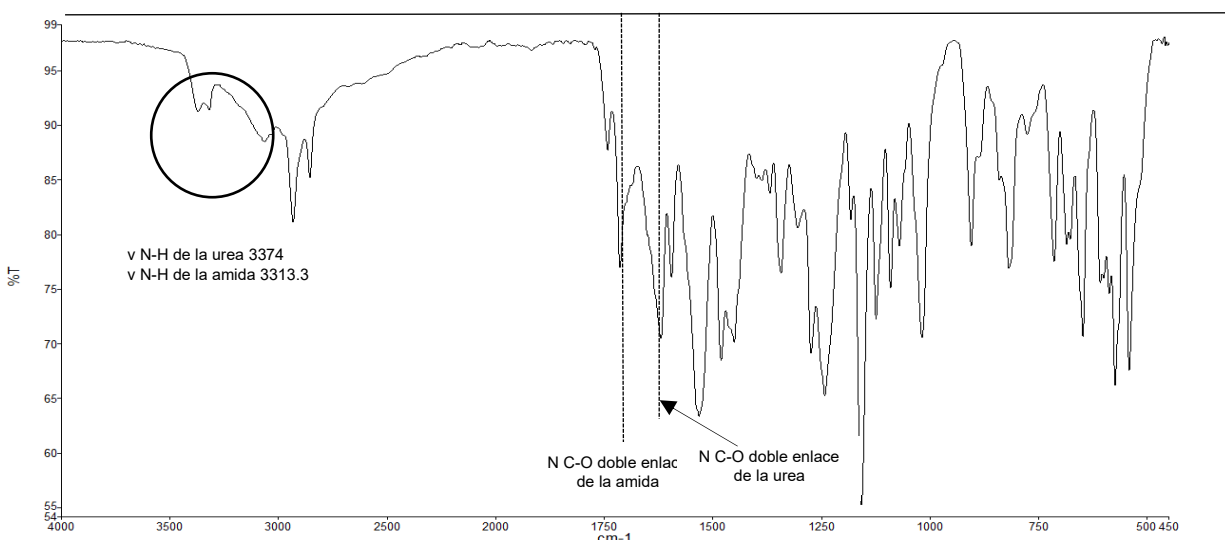


Figura 16: Espectro IR del producto 2.1.3

8.3.2 Caracterización de los productos de la matriz exploratoria. Análisis térmico por calorimetría diferencial de barrido

La información energética asociada a la fusión y otros eventos térmicos por los que atraviesa una muestra, a partir de un diferencial de temperatura, permite estimar las diferencias estructurales entre diferentes sólidos, así como relacionarlos con otras propiedades, como lo es la disolución. Por lo que se consideró a este análisis como uno de los parámetros para conocer las diferencias entre la glibenclamida y los productos

obtenidos a partir de la matriz, respecto con la presencia de eventos térmicos característicos, principalmente la fusión de la glibenclamida, en cada termograma obtenido. En los Cuadros 22 y 23, se muestran los valores obtenidos para este evento térmico, de cada producto y en los Cuadros 24 y 25 se indican las diferencias de estos valores respecto con los valores de la glibenclamida.

Cuadro 22. Propiedades térmicas de los productos obtenidos en etanol como disolvente de la matriz exploratoria

Producto	Inicio (°C)	Máximo (°C)	Término (°C)	ΔH J/g
P 1.1.1	173.25	174.83	175.85	61.8872
P 1.1.2	174.24	175.67	176.47	70.9379
P 1.1.3	174.98	176.5	177.58	77.2097
P 2.1.1	177.33	178	178.89	16.0464
P 2.1.2	160.43	162	169.83	4.5094
P 2.1.3	167.06	172.1786	175.63	89.8822
P 3.1.1	173.47	176.67	179.04	75.238
P 3.1.2	169.34	172	173.53	44.7222
P 3.1.3	168.64	170.67	171.94	36.6684

La clave asignada a cada producto corresponde a la matriz del Cuadro 15. Los termogramas correspondientes se encuentran en el Anexo 4: Termogramas de los productos. El evento térmico en cuestión corresponde con la endoterma de la fusión de la glibenclamida.

Cuadro 23. Propiedades térmicas de los productos obtenidos en metanol como disolvente de la matriz exploratoria

Producto	Inicio (°C)	Máximo (°C)	Término (°C)	ΔH J/g
P 1.2.1	175.06	176	177.12	73.0996
P 1.2.2	175.1	176	176.83	83.5889
P 1.2.3	174.67	176.17	177.2	79.6319
P 2.2.1	176.37	177.5	178.37	5.1116
P 2.2.2	148.8	159.83	169.28	42.8187
P 2.2.3	171.55	173.83	175.5	9.3018
P 3.2.1	170.48	172.5	175.67	82.8913
P 3.2.2	170.76	174.83	177.67	163.7969
P 3.2.3	172.64	174.83	177.19	52.1905

La clave asignada a cada producto corresponde a la matriz del Cuadro 15. Los termogramas correspondientes se encuentran en el Anexo 4: Termogramas de los productos. El evento térmico en cuestión corresponde con la endoterma de la fusión de la glibenclamida.

Cuadro 24. Diferencia de los valores térmicos de los productos obtenidos en etanol con respecto a la glibenclamida

	P1.1.1.	P1.1.2	P1.1.3	P2.1.1	P2.1.2	P2.1.3	P3.1.1	P3.1.2	P3.1.3
Inicio (°C)	1.61	0.63	-0.04	-2.32	14.58	2.83	1.40	5.53	6.20
Máximo (°C)	2.67	1.83	1.33	-0.50	15.50	5.32	0.83	5.50	6.83
Término (°C)	3.19	2.57	1.68	0.3	9.42	3.62	0.00	5.51	7.10
ΔH J/g	13.68	4.13	-0.64	57.80	69.29	-16.08	0.00	30.42	39.78

Los datos son resultado de restar el valor del producto en cuestión (a clave asignada a cada producto corresponde a la matriz del Cuadro 15.) al correspondiente de la glibenclamida.

Cuadro 25. Diferencia de los valores térmicos de los productos obtenidos en metanol con respecto a la glibenclamida

	P1.2.1.	P1.2.2	P1.2.3	P2.2.1	P2.2.2	P2.2.3	P3.2.1	P3.2.2	P3.2.3
Inicio (°C)	-0.17	-0.14	0.3	-1.36	26.23	3.48	4.46	4.17	2.29
Máximo (°C)	1.83	1.83	1.66	0.33	15.18	1.20	5.33	0.10	3.00
Término (°C)	2.12	2.42	2.05	0.87	9.98	3.76	3.58	1.58	2.05
ΔH J/g	5.26	-9.13	-5.92	69.99	31.52	63.92	-7.90	-87.63	22.94

Los datos son resultado de restar el valor del producto en cuestión (a clave asignada a cada producto corresponde a la matriz del Cuadro 15.) al correspondiente de la glibenclamida.

A fin de evaluar sistemáticamente estas diferencias, se fijaron los factores de las variables técnica y coformador, mostrando en cada caso lo obtenido con ambos disolventes. Es decir, gráficamente se presentan los datos de aquellos productos obtenidos, ya sea con una técnica, o bien, con un coformador particular, y agrupando en cada gráfica los termogramas de acuerdo con las otras variables no fijadas, como se muestra en las figuras 17 a 22.

La primera comparación se realizó con los niveles del factor técnica, como se discute a continuación. Los datos de los Cuadros 22 y 23 corresponden con las endotermas formadas por cada experimento de acuerdo con la clave asignada en la matriz exploratoria (Cuadro 15).

8.3.2.1 Técnica de antidisolvente

Los termogramas de los productos obtenidos con esta técnica (Figura 17), que según la notación i,j,k , son aquellos donde $i=1$ (primeras tres filas en los Cuadros 22 y 23), no muestran una diferencia significativa en la ubicación de la endoterma de la glibenclamida, ni tampoco se visualiza la endoterma del coformador (Anexo 4: Termogramas de los productos). Además de lo anterior, es evidente que las diferencias entálpicas, respecto con la glibenclamida, no infieren la generación de una estructura que sea más soluble que ésta (El ΔH_f tiene una relación inversa con respecto a la velocidad de disolución).³²,

33

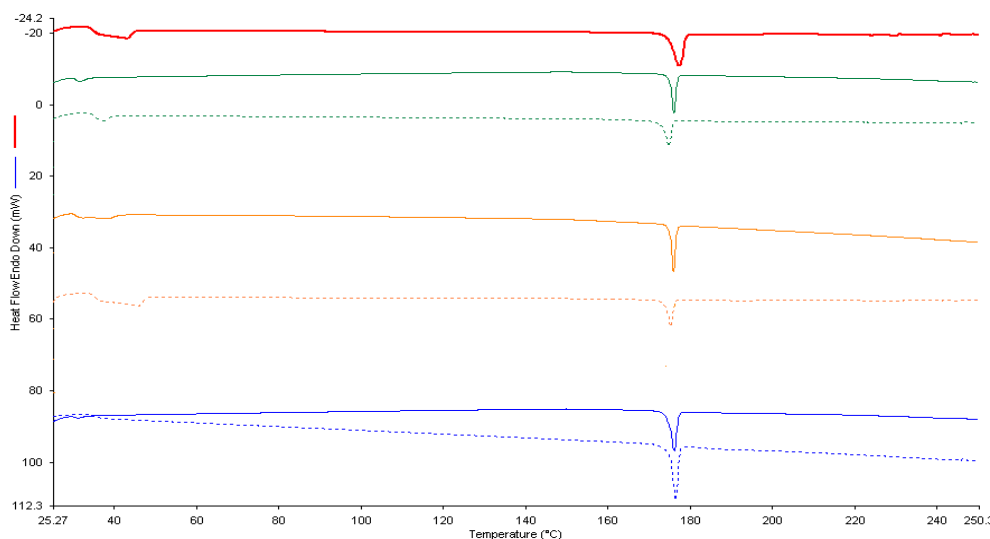


Figura 17. Endotermas de los cocrystalos fabricados por la técnica de Antidisolvente

El termograma en rojo corresponde a la glibenclamida, los termogramas en color verde, naranja y azul dependen del tipo de coformador que se utilizó (ácidos succínico, oxálico y benzoico, respectivamente). Para diferenciar a los que se obtuvieron a partir de etanol de aquellos obtenidos a partir de metanol, se usó línea punteada y sólida, respectivamente.

Estas nulas diferencias (Cuadros 24 y 25) sugieren, en todo caso, que la glibenclamida se vuelve a obtener como un producto puro, quizá solamente formando otras estructuras sólidas (polimorfos, hidratos o isomorfos)³², considerando que la energía involucrada en el proceso no es la suficiente para favorecer la formación de un cocrystal; por lo que se

toma como evidencia que el coformador, al ser más soluble que la glibenclamida, se perdió en la etapa del filtrado en esta técnica, comparando estos datos con los termogramas que se obtuvieron al realizar la mezcla física (Figuras 10,11,y 12), en donde se observa que sí existe una interacción entre ambas moléculas, por lo que el termograma de un cocrystal, producto de esta técnica, debiese mostrar cambios significativos en su comportamiento térmico. Esto se ve reforzado en el análisis de los espectros de IR de estos productos, ya que en ellos solo se identifican los grupos funcionales de la glibenclamida, sin interacciones o movimientos significativos (Cuadros 18 - 21).

8.3.2.2 Técnica de enfriamiento

Los termogramas de los productos obtenidos con esta técnica, que según la notación $i.j.k$, son aquellos donde $i=3$ (últimas tres filas en los Cuadros 22 y 23) y se presentan en la Figura 18, que, como se observa en dicha figura y en el Cuadro 25, los termogramas de los productos que se obtuvieron en metanol no demuestran una diferencia importante en la ubicación de la endoterma, respecto con la glibenclamida, mientras que los que se obtuvieron en etanol sí (Cuadro 24).

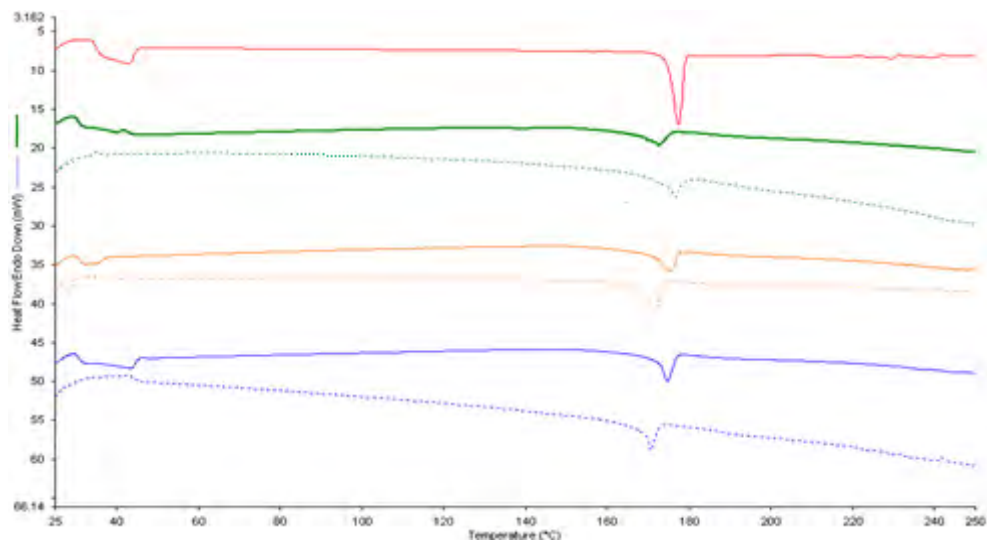


Figura 18. Endotermas de los cocrystal fabricados por la técnica de enfriamiento

El termograma en rojo corresponde a la glibenclamida, los termogramas en color verde, naranja y azul representan el tipo de coformador que se utilizó (ácidos succínico, oxálico y benzoico, respectivamente). Para diferenciar a los que se obtuvieron a partir de etanol de aquellos obtenidos a partir de metanol, se usó línea punteada y sólida, respectivamente.

Aunque con ambos disolventes existe una entalpía y apariencia diferente de la endoterma de la glibenclamida, la línea base en el termograma de cada producto obtenido en etanol presenta una tendencia endotérmica, que caracteriza un diferencial de la capacidad calorífica;³² es decir, que la capacidad calorífica del material no es constante en el intervalo de temperaturas de la prueba. Mientras que los productos obtenidos en metanol exhiben una pendiente positiva (exotérmica) hasta antes de que se presente la endoterma y, después de que sucede ésta, la tendencia se convierte en negativa (endotérmica), sin embargo, la pendiente es notoriamente más constante que en el caso de los productos obtenidos a partir de etanol.

Al igual que con la técnica de adición de antidisolvente, tampoco se visualiza la endoterma del coformador, probablemente porque (teniendo en cuenta que los datos de IR que más adelante se muestran de estos productos, no sugieren la formación de un cocrystal -al menos en los enlaces susceptibles para ello-) el producto haya perdido al

coformador en la parte de filtración a pesar del enfriamiento previo. Comparando estos datos con los termogramas que se obtuvieron al realizar la mezcla física (Figura 10, 11, y 12), en donde se observa que sí existe una interacción entre ambas moléculas, sería de esperarse que, si el coformador se mantuvo presente tras la filtración, el termograma del producto sería similar al de la mezcla física.

Estas evidencias sugieren, también, que la glibenclamida se vuelve a obtener como un producto puro, quizá solamente como otras estructuras sólidas (polimorfos, hidratos o isomorfos) claramente diferenciadas de la estructura de origen, considerando que la energía involucrada en el proceso no fue la suficiente para favorecer la formación de un cocrystal, o no de largo alcance.³⁴

8.3.2.3 Técnica de evaporación convencional

Los termogramas de los productos obtenidos con esta técnica, que según la notación *i.j.k*, son aquellos donde $i=2$ (tres filas intermedias en los Cuadros 21 y 22) se presentan en la Figura 19. Estos termogramas presentan cambios en la ubicación de la endoterma, respecto con la de la glibenclamida (Cuadro 23 y 24). Con ambos disolventes existe una entalpía y apariencia diferente de la endoterma de la glibenclamida, y la línea base en el termograma de cada producto obtenido presenta una tendencia endotérmica, que caracteriza un diferencial de la capacidad calorífica; es decir, que la capacidad calorífica del material no es constante en el intervalo de temperaturas de la prueba.³²

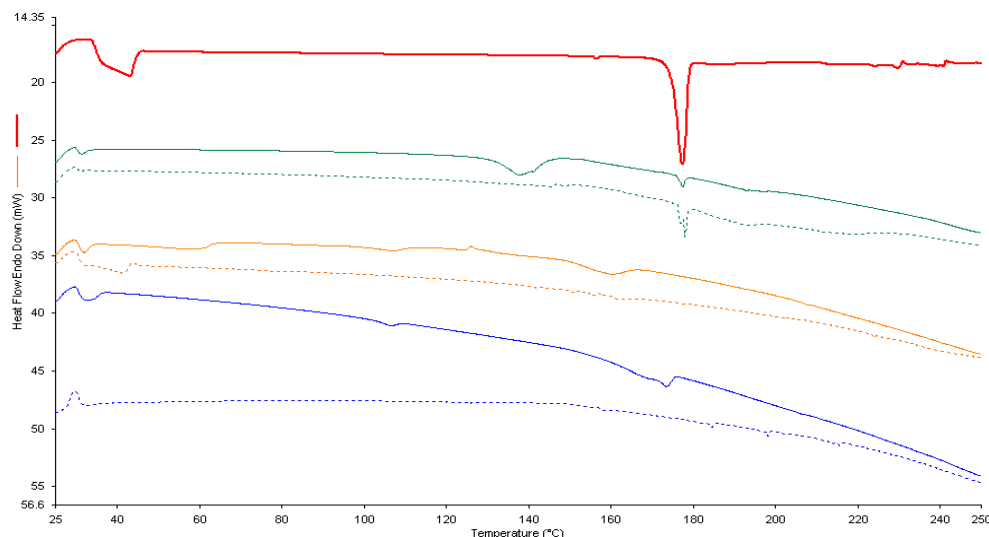


Figura 19: Endotermas de los cocristales fabricados por la técnica de evaporación convencional

El termograma en rojo corresponde a la glibenclamida, los termogramas en color verde, naranja y azul dependen del tipo de coformador que se utilizó (ác. succínico, oxálico, benzoico respectivamente) los que se prepararon en etanol se encuentran en línea punteada y los que se prepararon en metanol en línea sólida.

A diferencia de las técnicas anteriores en donde no se observa la endoterma del coformador, situación que también está presente en estos productos, en estos no es evidencia de que este se perdiera en alguna etapa del proceso, ya que los espectros de IR de estos productos muestran cambios de localización e intensidad (Anexo 3 Figuras Espectros de IR) de los grupos funcionales característicos de la glibenclamida, y que son susceptibles de formar un enlace intermolecular para la obtención de un cocrystal.

Derivado de lo anterior, la técnica de evaporación convencional es la que presenta evidencia de la formación de un cocrystal tanto en el espectro de IR como es el análisis térmico; es decir, la energía suministrada en esta técnica favorece la formación de un enlace intermolecular. Sin embargo, los datos de los espectros de IR arrojan que es solo en etanol donde se favorecen los movimientos de los grupos funcionales que son susceptibles de formar enlaces intermoleculares.

En las Figuras 20, 21 y 22 se muestran los resultados ya discutidos, pero agrupados por coformador empleado. A continuación, se amplía la discusión con base en esta agrupación.

8.3.2.4 Ác. benzoico

Todos los productos obtenidos con ácido benzoico (Figura 20) en metanol muestran un diferencial de su capacidad calorífica (pendiente negativa), además del producto obtenido por evaporación convencional a partir de etanol. Los datos térmicos (Cuadro 22 y 23) y todas las diferencias discutidas a partir de las Figuras 17 y 18 sugieren que en estas técnicas (antisolvente y enfriamiento) la glibenclamida se vuelve a obtener como un producto puro, quizá solamente formando otras estructuras sólidas diferentes (polimorfos, hidratos o isomorfos). Mientras que los dos productos obtenidos por evaporación convencional (Figura 19, termogramas de color azul) muestran un comportamiento térmico muy diferente al de la glibenclamida, ya que la posición de la endoterma presenta un inicio 2.83 °C antes, para el caso del obtenido a partir de etanol y 3.48 °C antes, para el caso del obtenido en metanol, y sus entalpías son 1.22 veces más grande y 7.87 veces más pequeño, respectivamente. A pesar de que el producto obtenido en metanol sugiera presentar una mayor solubilidad (ΔH_s),³² es el producto obtenido a partir de etanol el que sí presenta evidencias de generación de un cocrystal, por análisis de su espectro de IR anteriormente discutido.

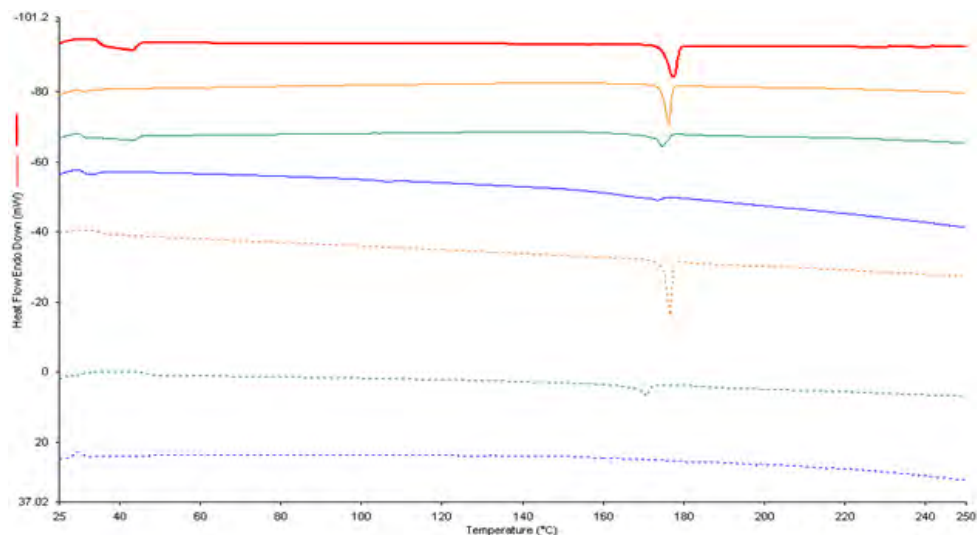


Figura 20. Endotermas de los cocrystalos fabricados con ác. benzoico como coformador

El termograma en rojo corresponde a la glibenclamida, los termogramas en color naranja, verde y azul dependen del tipo de técnica que se utilizó para su fabricación (antidisolvente, enfriamiento y, evaporación convencional, respectivamente) los que se prepararon en metanol se encuentran en línea punteada y los que se prepararon en etanol en línea sólida.

8.3.2.5 Ác. succínico

El análisis de los termogramas de la Figura 21 es análogo con lo discutido en ác. benzoico. Es decir, las técnicas de antidisolvente y enfriamiento generan otras estructuras que no son necesariamente cocrystalos. Asimismo, los productos obtenidos por evaporación muestran diferencias térmicas importantes (Figura 19 termogramas de color verde), ya que la posición de la endoterma presenta una diferencia con respecto al inicio de la endoterma de la glibenclamida en 1.36°C después, para el caso del obtenido a partir de etanol y 2.32 °C antes, para el caso del obtenido en metanol, y sus entalpías son 4.60 y 14.67 veces más pequeñas, respectivamente. Aún con el hecho de que el producto obtenido en metanol sugiere presentar una mayor velocidad de disolución (ΔH_f es lineal con respecto a la velocidad de disolución)³², es el producto obtenido a partir de etanol el que sí presenta evidencias de generación de un cocrystal, por análisis de su espectro de IR anteriormente discutido.

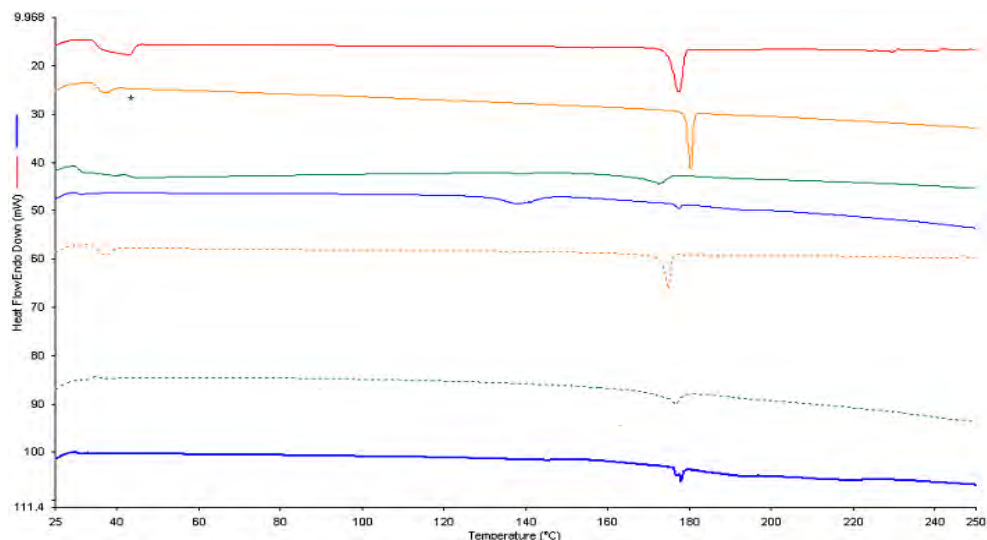


Figura 21. Endotermas de los cocrystalos fabricados con ác. succínico como coformador

El termograma en rojo corresponde a la glibenclamida, los termogramas en color verde, naranja y azul dependen del tipo de técnica que se utilizó para su fabricación (enfriamiento, antidisolvente, evaporación convencional) los que se prepararon en etanol se encuentran en línea punteada y los que se prepararon en metanol en línea sólida.

8.3.2.6 Ác. oxálico

El análisis de los termogramas de la Figura 22 es análogo con lo discutido en los ácidos benzoico y succínico. Es decir, las técnicas de antidisolvente y enfriamiento generan otras estructuras que no son necesariamente cocrystalos. Los productos obtenidos por la técnica de evaporación convencional y usando ácido oxálico como coformador, presentan diferencias térmicas muy importantes y relevantes, si se considera la relación de ΔH_f como factor predictor de la solubilidad cinética: un máximo de la temperatura de fusión en 15.5 y 15.18 °C antes que el del fármaco libre, para el obtenido en etanol y metanol, respectivamente; así como una disminución en la entalpía de fusión de 16.36 y 7.87 veces, respectivamente.

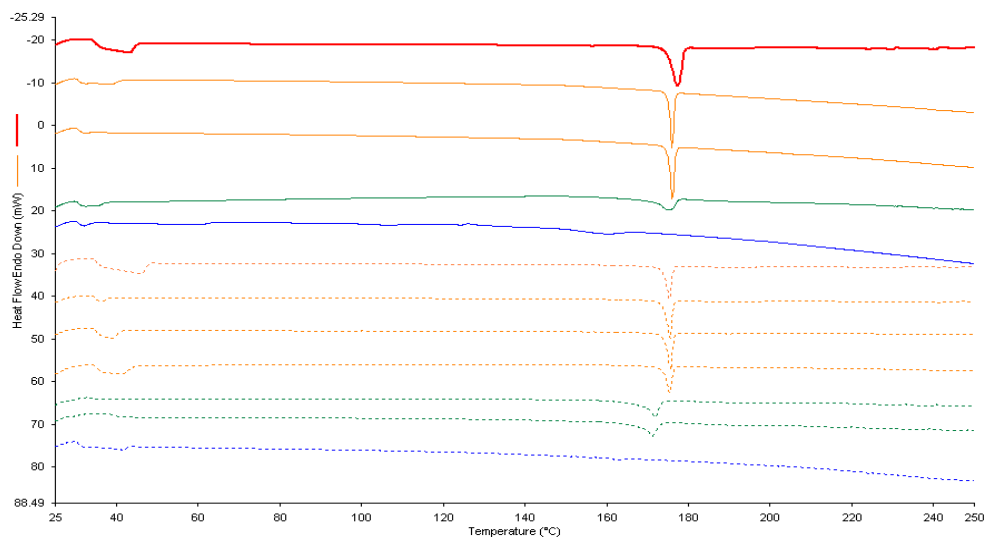


Figura 22. Endotermas de los cocristales fabricados con ác. oxálico como coformador

El termograma en rojo corresponde a la glibenclamida, los termogramas en color verde, naranja y azul dependen del tipo de técnica que se utilizó para su fabricación (verde-enfriamiento, naranja antidisolvente, azul- evaporación convencional) los que se prepararon en etanol se encuentran en línea punteada y los que se prepararon en metanol en línea sólida.

Los datos recuperados en el análisis del espectro de IR de estos dos productos sugieren la presencia del coformador como parte de la estructura final, sin embargo, la modificación de los valores no fue la más significativa, al menos en los términos en que se establecieron los parámetros de decisión de esta metodología, para elegir o descartar a uno u otro coformador.

8.4 Matriz experimental reducida

El resultado de este análisis térmico y de espectroscopia de IR en conjunto permiten establecer que las técnicas más evidentes para la obtención de cocristales son aquellas en que se utilizan los ácidos succínico y benzoico, a partir de etanol y finalmente obtenidos por evaporación convencional. Sin dejar de lado la evidencia de cada análisis individual en la generación de estructuras más solubles o que no necesariamente fuesen cocristales. Con la información antes mencionada se estableció la matriz reducida

(Cuadro 26) de esta experimentación.

Cuadro 26. Matriz reducida

Coformador	Proporción	
	1:1	2:1
Ác. benzoico	AB.1:1	AB.2:1
Ác. succínico	AS.1:1	AS.2:1

La técnica que se utilizó fue la de evaporación convencional y el disolvente que se utilizó etanol, estos dos factores se mantuvieron en todos los experimentos a continuación discutidos.

i = coformador: ác. succínico, AS; ác. benzoico, AB

j= proporción 1:1; proporción 2:1

8.4.1 Caracterización de los productos seleccionados

Los productos seleccionados (obtenidos con ácido succínico o benzoico, a partir de etanol y por evaporación convencional) se escalaron, en relaciones molares 1:1 y 2:1, fármaco: coformador, para obtener las cantidades necesarias para poder ser analizados en sus propiedades de aspecto (microscopía) su contenido (valoración por CLAR-UV), información estructural acerca de la generación del cocrystal (IR y RMN), comportamiento térmico (CDB) y finalmente en la cantidad disuelta tras la prueba del sistema de clasificación biofarmacéutica (perfil de disolución).

Los productos se denotaron de acuerdo con las claves establecidas en Cuadro 26.

8.4.1.1 Contenido

La curva de calibración obtenida para estas valoraciones está descrita por la Ecuación 4 y la gráfica de la Figura 23.

Ecuación 4

$$S.a. = 0.0851|C| - 0.0097$$

Donde:

S.a. = señal analítica

|C|= concentración en $\mu\text{g}/\text{mL}$

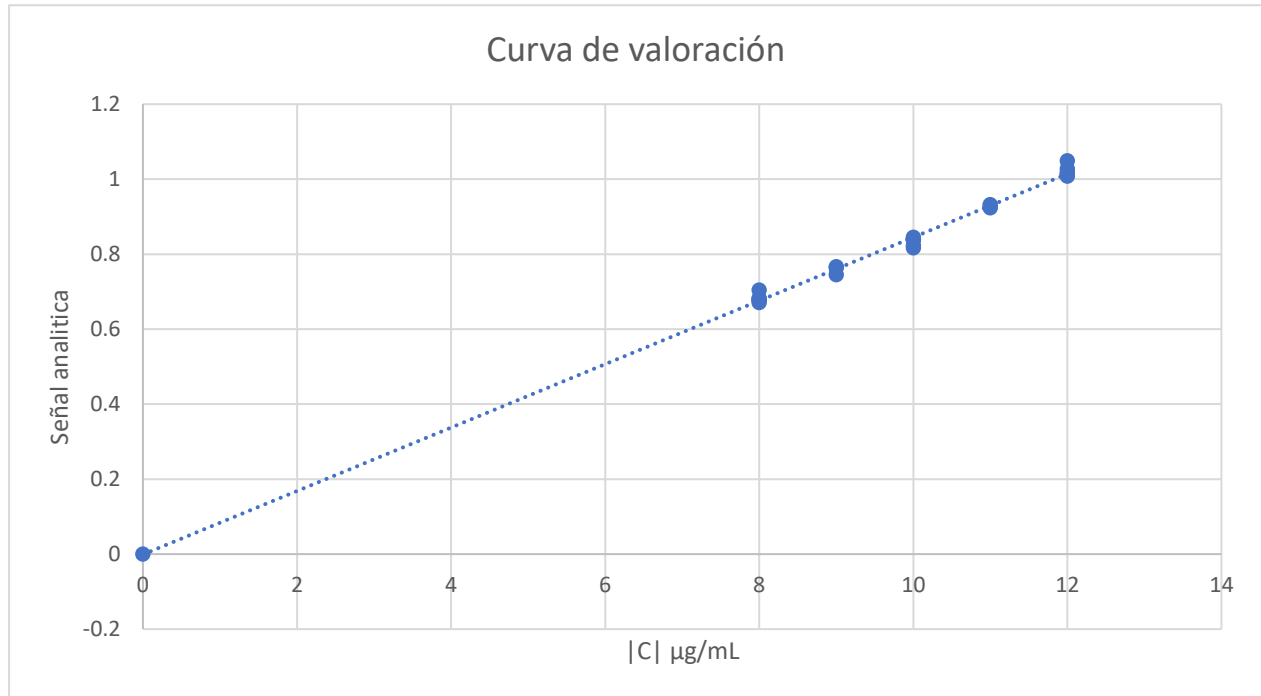


Figura 23: Curva de calibración para la valoración

Esta gráfica fue evaluada estadísticamente, demostrando que b es igual a 0 y m es diferente de cero, así como que r^2 es > 0.99 , con un 95 % de confianza.

En el Cuadro 26 se muestran los resultados interpolados de cada producto y corregidos por el factor de dilución para finalmente obtener los mg recuperados en cada muestra.

Cuadro 27. Resultados de valoración para los productos obtenidos en la matriz reducida

Producto	Promedio de mg recuperados	Desviación estándar (mg)	Desviación estándar relativa (%)
AS 1:1	0.53	0.0243	4.60
AS.2:1	1.01	0.0096	0.95
AB.1:1	1.93	0.0404	2.09
AB.2:1	1.26	0.0546	4.31

El 100% teórico equivale a 2.5 mg de glibenclamida

Acido succínico, proporción 1:1 y 2:1

Con el método de extracción descrito en el apartado de metodología, desarrollado para glibenclamida como materia prima, no se recuperó el 100% de esta en los productos (lo que se esperaría asumiendo que la glibenclamida dentro del cocrystal pudiera liberarse por este método). Del producto de AS 1:1 se recuperó el 20.88% de fármaco, es decir que se recuperan 1.0682×10^{-6} mol. Y del producto AS 2:1 se recupera el 40.02% lo que equivale a 2.0450×10^{-6} mol.

Lo anterior, deja ver que la proporción de glibenclamida que se utilizó en la fabricación guarda una estrecha relación con los valores de porcentaje de recobro de ambos productos, como se describe en la literatura se favorece la estabilidad del cocrystal al aumentar dentro de la solución el número de posibles interacciones entre los sintones que formaran el enlace en la estructura final del este.³⁵

Acido benzoico proporción 1:1 y 2:1

Con el mismo método, del producto AB 1:1 se recupera el 76.66% de glibenclamida; es

decir, se recuperaron 3.9151×10^{-6} mol. y del producto AB 2:1 se recuperó el 49.45%, es decir, 2.5602×10^{-6} mol. En este caso se vuelve a ver la relación que existe entre la proporción de glibenclamida y coformador, ya que de acuerdo con lo descrito en la literatura, el aumentar la proporción de glibenclamida en la generación del cocrystal, implica una disminución del número de posibles interacciones entre los sintones que forman los enlaces de este, ya que el ácido benzoico solamente tiene disponible un grupo carboxilo para formar el enlace.³⁵

La eficacia del método para extraer a la glibenclamida y al coformador de estos productos, se comprobó ya que en cada repetición se observó una disolución completa de cada uno de ellos. Lo que además se reafirma con la baja variabilidad entra las repeticiones de cada producto.

Los bajos porcentajes de recobro (en función de la cantidad agregada para generar cada producto) pueden ser atribuibles a la máxima relación molar que admite cada sistema (cocrystal), de acuerdo con los posibles enlaces intermoleculares que forme cada uno de ellos.³⁵

8.4.1.2 Espectro de infrarrojo

En el Cuadro 28 se enumeran los valores de las señales características para la posible formación de un enlace intermolecular, y sus diferencias (Cuadro 29) respecto con los valores de la glibenclamida, de cada producto seleccionado.

Cuadro 28. Localización de las señales más importantes de los grupos funcionales de la glibenclamida en los productos seleccionados

Movimiento	GB	AB 1:1	AB 2:1	AS 1:1	AS 2:1
v N-H de la urea	3365.2	3365.2	3369.6	3365.2	3369.6
v N-H de la amida secundaria	3313.17	---	---	---	---
v C-O doble enlace de la amida	1713.8	1695.5	1697.6	1693.07	1699.8
δ N-H amidas secundarias	1519.59	1532.62	1532.46	1536.19	1534.11
v C-O doble enlace de la urea	1615.48	1627.26	1629.64	1639.42	1630.79
v S-O doble enlace	1340.71	1336.65	1338.7	1339.74	1335.13
δ S-O doble enlace	1156.44	1157.39	1158.17	1160.27	1156.85
v S-N	904.06	903.71	903.14	905.43	903.97

Las claves son las que se asignan en la matriz reducida (Cuadro 25)

Los productos seleccionados (matriz reducida) y los productos obtenidos en la matriz exploratoria de manera general presentan la misma información espectroscópica en los grupos funcionales representativos de la glibenclamida. Por lo que la técnica de obtención de cocrisales es reproducible.

El cambio en las señales más relevantes, para la inferencia de formación de un enlace intermolecular entre el fármaco y el ácido succínico (Figura 24), del producto que se generó en los productos seleccionados (Cuadro 26) es comparable, con el espectro que se discutió en la sección Espectro de infrarrojo del producto 2.1.1; es decir, con el espectro del producto que se generó a partir de la matriz exploratoria. Los cambios más relevantes, entre estos productos, fueron: el movimiento v C-O doble enlace de la amida (1713.8 cm^{-1}), en el que se generó un cambio de intensidad importante (se reduce) y la

desaparición de la señal de ν N-H, tanto en comparación con el fármaco libre como con el producto obtenido en la matriz exploratoria. Estas diferencias en particular pueden deberse a un mayor impedimento otorgado por el coformador, para que los enlace puedan estirarse. Estas diferencias en la posición y la intensidad pueden deberse al proceso de escalamiento en sí, ya que hubo un cambio en los factores del proceso, es decir: el tiempo en que se disuelven las especies, el que permanecen disueltas a una temperatura constante para evaporar el disolvente, el tamaño de los contenedores y el tiempo de secado, entre otros.

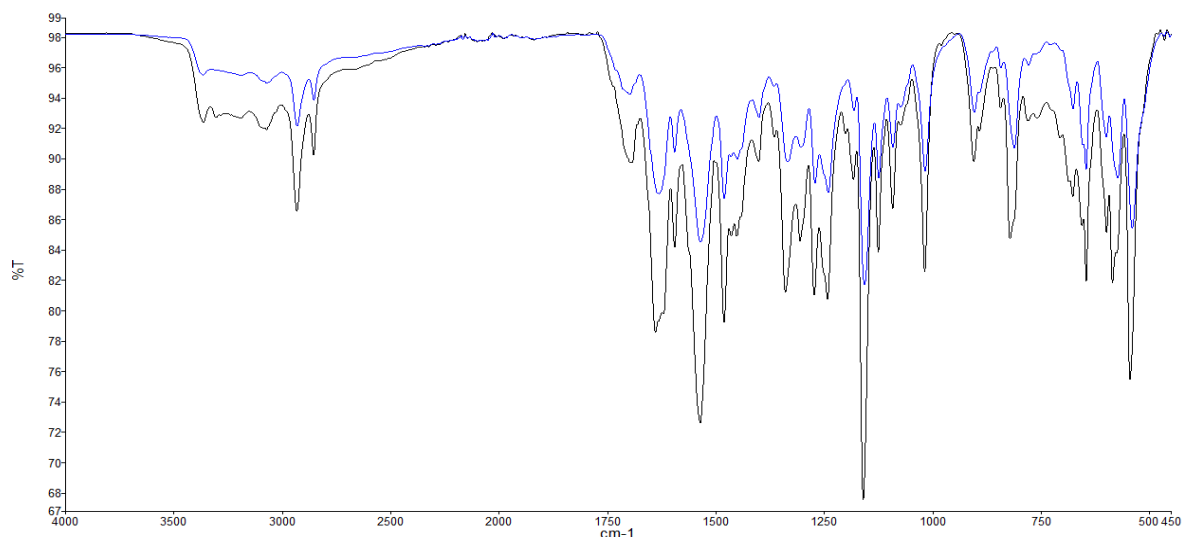


Figura 24. Espectros IR de los productos con ácido succínico proporción 1:1 y 2:1

De color negro se encuentra el producto de proporción 1:1 y, de color azul, el producto de proporción 2:1

Comparando el espectro de ambas proporciones molares entre sí, destacan diferencias en las intensidades de aquellas regiones adyacentes a los picos más relevantes, pero no propiamente en ellos. Primero, la zona adyacente a la señal del enlace ν N-H de la amida secundaria (localizado en 3313.17 cm^{-1} en el fármaco puro) es más intensa en la proporción molar 1:1 que en la 2:1, de igual manera la región comprendida entre 800 y 650 cm^{-1} .

Lo anterior sugiere que el entorno químico de un enlace en particular, dentro de una molécula, se ve afectado por las asociaciones intermoleculares en que participe alguno de los átomos de dicho enlace (como es el caso de los enlaces de hidrógeno) y si estas asociaciones son diferentes en el mediano y largo alcance de la red de la estructura sólida.

Las diferencias entre la localización de los grupos funcionales de ambos productos seleccionados se muestran en el Cuadro 29.

Cuadro 29. Diferencia de la localización de las señales más importantes de los grupos funcionales de la glibenclamida en los productos seleccionados

Movimiento	AB 1:1	AB 2:1	AS 1:1	AS 2:1
v N-H de la urea	0	-4.4	0	-4.4
v N-H de la amida secundaria	---	---	---	---
v C-O doble enlace de la amida	18.3	16.2	20.73	14
δ N-H amidas secundarias	-13.03	-12.87	-16.6	-14.52
v C-O doble enlace de la urea	-11.78	-14.16	-23.94	-15.31
v S-O doble enlace	4.06	2.01	0.97	5.58
δ S-O doble enlace	-0.95	-1.73	-3.83	-0.41
v S-N	0.35	0.92	-1.37	0.09

Las claves son las que se asignan en la matriz reducida (Cuadro 26) La técnica que se utilizó fue la de evaporación convencional y el disolvente que se utilizó etanol.

i = coformador: ác. succínico, AS; ác. benzoico, AB

j= proporción 1:1; proporción 2:1

Productos seleccionados obtenidos con ácido benzoico

En el espectro IR que se obtuvo en la matriz exploratoria (Cuadro 15), se encontraron

cambios significativos en las señales más relevantes de la glibenclamida, lo cual se tomó como evidencia para la inferencia de formación de un enlace intermolecular entre el fármaco y el ácido benzoico (Figura 16), como se discutió en la sección Espectro de infrarrojo del producto 2.1.3, estas mismas diferencias se observaron en los productos seleccionados de ácido benzoico (Cuadro 26 y Figura 25), con movimiento más evidentes en la amida secundaria; es decir; se generó un cambio de intensidad importante (se reduce) en el movimiento ν C-O doble enlace de la amida AB 1:1 y AB 2:1 con diferencia de 18.3 y 16.2 respectivamente con la glibenclamida y se unen las señales que antes se ubicaban en 1742.10 cm^{-1} y 1713.78 cm^{-1} en ambos casos señal correspondiente al ν C-O doble enlace de la amida, además que ya no aparece la señal de ν N-H de la amida (3313.17 cm^{-1}), estas diferencias se observaron tanto en comparación con el fármaco libre como con el producto obtenido en la matriz exploratoria. Además, estas diferencias (Cuadro 28) en particular, pueden deberse a un mayor impedimento otorgado por el coformador, para que los enlaces puedan estirarse. Estas diferencias tanto en la posición como en la intensidad pueden deberse al proceso de escalamiento en sí como se discutió con el coformador anterior.

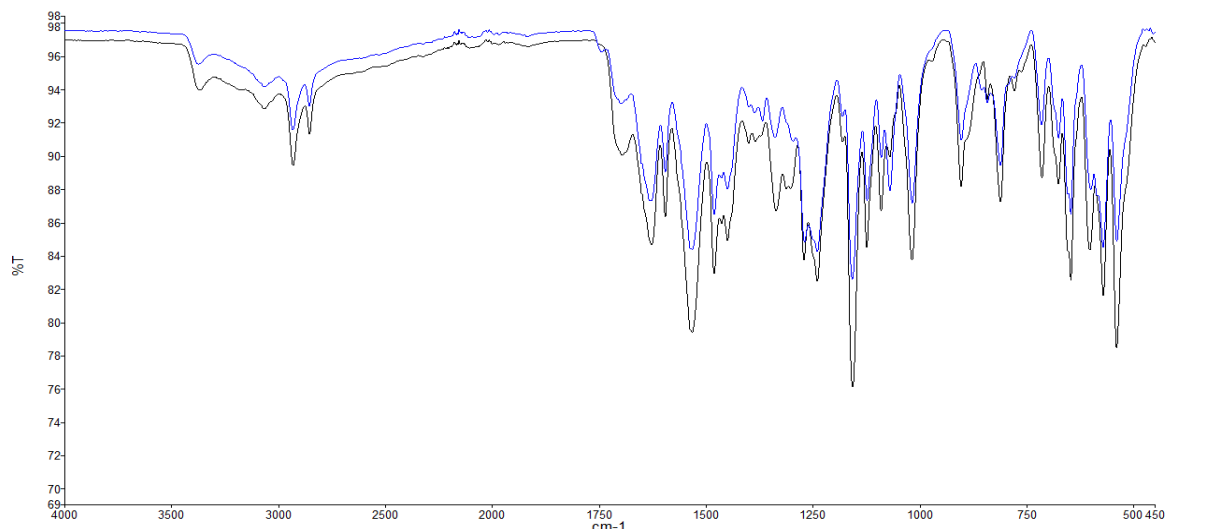


Figura 25. Espectros IR de los productos con ác. benzoico

En color negro se encuentra el producto de proporción 1:1 y, de color azul, el producto de proporción 2:1

Comparando el espectro de ambas proporciones molares entre sí, destacan diferencias en las intensidades de aquellas regiones adyacentes a los picos más relevantes, pero no propiamente en ellos. Primero, la zona adyacente a la señal del enlace ν N-H de la amida secundaria es menos intensa en la proporción molar 2:1 que en la 1:1, mientras que la región adyacente a la señal de 1338.7 cm^{-1} ν S-O doble enlace es menos intensa en la proporción 2:1. al igual que 1697.6 cm^{-1} , ν C-O doble enlace de la amida .

Las diferencias entre la localización de los grupos funcionales de ambos productos seleccionados se muestran en el Cuadro 29.

8.4.1.3 Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido

La existencia de una interacción entre el coformador y el fármaco altera el entorno químico de ambos y, por tanto, perturba todos los núcleos activos (^{13}C). La evidencia de variaciones en los desplazamientos químicos de los núcleos (ppm) se tomó como un indicio de la existencia de interacción y con esto se pudo inferir el sitio de reconocimiento molecular.

Los carbonos de la glibenclamida se enumeraron como se muestra en la Figura 26 y los desplazamientos químicos entre esta y los productos seleccionados, en cuanto a localización e intensidad, se muestran en el Cuadro 30.

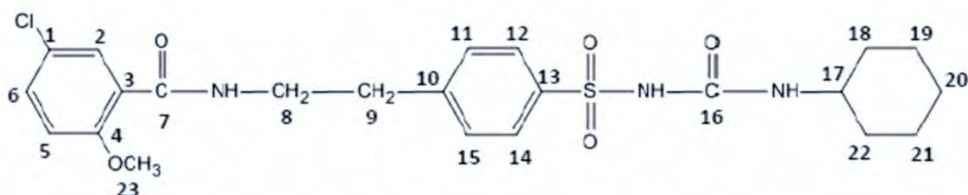


Figura 26: Glibenclamida

Figura tomada de: thongnopkoon T., et al. New metastable form of glibenclamide prepared by redispersion from ternary solid dispersions containing polyvinylpyrrolidone K-30 and sodium lauryl sulfate.³⁶

Cuadro 30. Localización de las señales de la glibenclamida en los productos seleccionados con proporción 1:1

Posición del C	Reportado ³⁶	GB (ppm)	AS 1:1	Intensidad	AB 1:1	Intensidad
7	167.0	166.7	165.973	+	164.032	---
16	151.4	151.172	150.444	---	151.658	---
4	157.4	157.81	156.995	+	156.025	--
13	139.6	139.284	140.739	0	137.283	---
10	145.3	145.1	143.651	+	143.894	---
11,15	126.1	125.939	126.182	+++	125.939	--
12,14	126.1	128.365	130.306	+++	125.939	--
3	120.2	119.873	119.631	+	a	a
5	118.0	117.69	114.293	+	113.08	--
8	41.4	41.2622	43.689	+	40.777	---
23	55.5	55.3346	57.761	0	55.8198	---
17	50.7	50.4821	48.056	-	49.512	---
9	36.2	35.1966	36.652	0	a	a
18,22	32.9, 35.3	32.7703, 34.9539	33.013*, 34.954	+,0	33.256*	---

Posición del C	Reportado ³⁶	GB (ppm)	AS 1:1	Intensidad	AB 1:1	Intensidad
19,21	23.6, 25.9	23.3078, 26.462	25.006, 25.977*	+,+++	25.006* 25.006*	--, --
20	26.0	26.7046	25.977*	+++	25.006*	--
6	135.4	134.916	a	a	a	a
1	124.1	123.513	a	a	121.329	0
2	129.5	132.005	a	a	a	a

Los datos marcados en color amarillo muestran los cambios más evidentes en cuanto a localización. Los datos de los carbonilos tanto de la amida secundaria como de la sulfonilurea se marcaron de color anaranjado y los carbonos que se encuentran más cerca de los sitios de interacción tanto en el enlace de la amida secundaria como en el de la sulfonilurea se muestran en color verde y azul, respectivamente.

Cambios en la intensidad

+, aumento menor al 25 %;

++, aumento mayor al 25 % pero menor o igual al 50 %.

-, disminución de hasta el 25%

--, disminución de entre el 25% y el 50%

---, disminución mayor al 50%

0, la intensidad es la misma entre la glibenclamida y el AS1:1

a, representa la desaparición de la señal.

Productos seleccionados obtenidos con ácido succínico

En el producto obtenido con ác. succínico, en proporción 1:1, se observan diferencias (Cuadro 30) en los desplazamientos químicos de los carbonos de carbonilo de la amida secundaria y el de la sulfonilurea (C7 y C16, respectivamente), ambos incrementan su desplazamiento químico, con una diferencia de 0.727 y 0.728, en comparación con la glibenclamida.

Aunque ambos desplazamientos químicos tienen una diferencia similar en posición, el pico del C16 se ve inhibido, lo cual sugiere que este grupo funcional se tautomerizó a su

forma enólica, ^{36,37} y de este, el hidrógeno del grupo hidroxilo, formó el enlace de hidrogeno con el oxígeno del carbonilo del ác. succínico. Esta suposición se ve reforzada por los cambios que se observan en carbonos vecinos a éste.

El desplazamiento químico del C10 (perteneciente al anillo aromático y en posición *para*, en relación con el grupo sulfonilo) aumenta hasta 143.651 ppm. Mientras que el C13 (perteneciente al anillo aromático y directamente enlazado al grupo sulfonilo) disminuye su desplazamiento hasta 140.739. De manera tal que ambos desplazamientos (C10 y C13) se fusionan en la base, sugiriendo así un cambio de polaridad de ambos carbonos, (el C13 se encuentra más cercano a un doble enlace – del enol – por lo que se generó el aumento de su polaridad en el espectro, el C10 al estar más alejado de este mismo efecto, disminuye su polaridad). La disminución del desplazamiento de los carbonos C12 y C14, los cuales se encuentran en posición -orto respecto con el enlace al grupo sulfonilo, hasta 130.306 y, la disminución del desplazamiento químico de los C11 y C15, que se encuentran en posición -meta, ahora en 126.186, indican un cambio de polaridad; es decir, que se incrementa esta propiedad en estos carbonos. Todos estos cambios en los desplazamientos indican y apoyan la suposición de que el carbonilo de la sulfonilurea se tautomerizó a una forma enólica y, de esta manera, es como interactúa con los ácidos carboxílicos del coformador, la Figura 27 muestra de manera gráfica lo ya descrito con respecto a la sulfonilurea.

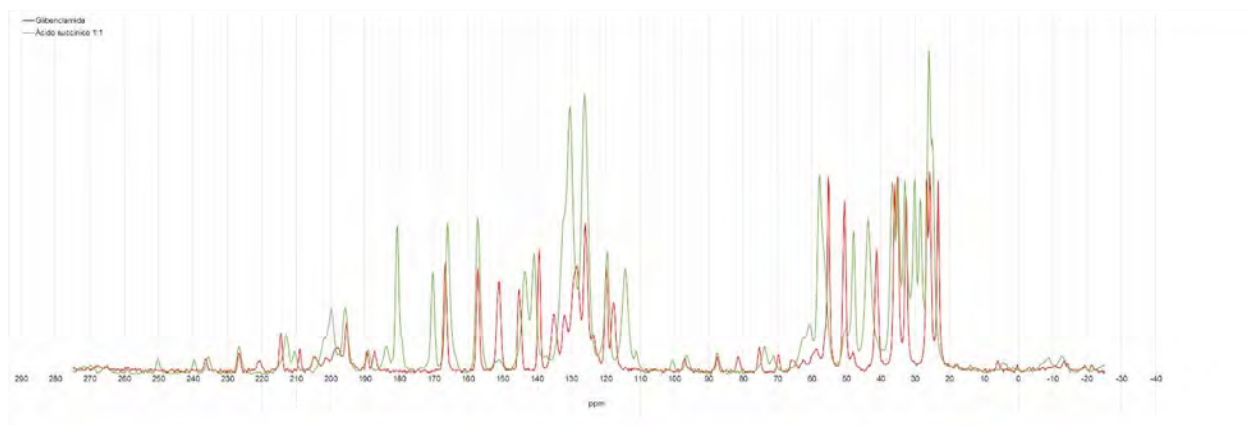


Figura. 27. Comparación del espectro de RMN del producto de AS 1:1 y la glibenclamida

El espectro de la glibenclamida se encuentra de color rojo y el espectro del producto AS 1:1 se encuentra en color verde.

La evidencia de que el enlace de hidrogeno intermolecular con el coformador también se está dando en el carbonilo de la amida secundaria fue el incremento del desplazamiento químico del carbonilo (C7), junto con los movimientos del carbono del metóxido (C23) y de otros cercanos a éstos. Por lo que esta suposición no se descarta, al menos no con las pruebas realizadas.

El átomo de oxígeno del C23 atraería de manera intermolecular, y por un enlace de hidrógeno al protón de la amida secundaria, lo que se comprueba por la disminución de su desplazamiento químico. El C4 incrementa su desplazamiento químico, lo mismo que el C3; los C1, C2, C6 se inhiben, el C5 disminuye su desplazamiento. El incremento de C4 se debe a que la densidad electrónica del átomo de oxígeno mantiene el enlace intramolecular de hidrógeno (con el protón de la amida), el C3 no muestra un cambio significativo, considerando que su entorno químico inmediato no se modifica, los desplazamientos de los C1, C2 y C6 son desconocidos ya que están integrados en la señal que comprende entre 120 - 140 de los aromáticos, y el C5 es el único que disminuye porque se asocia con el grupo metilo que es repelido por la formación del

enlace de hidrógeno intramolecular ya descrito. Esta asociación dejaría libre al átomo de oxígeno del carbonilo de la amida secundaria.

Una asociación intermolecular, por enlace de hidrógeno, estaría presente cuando la forma ceto sea la que se presente en la amida secundaria; entre el protón del ácido carboxílico en el ácido succínico y el carbonilo de la amida, por esto el cambio no es tan evidente como en la sulfonilurea ya que el C7 no pasa a la forma enólica como en el caso del C16,^{36,37} si no se queda en la forma ceto y así es como interacciona con el coformador.

Contrastando estos resultados con los obtenidos en IR, con respecto a la señal del metóxido de la glibenclamida, se destacó que el enlace $C_{ar}-O-C_{al}$ *stas* (estiramiento asimétrico del carbono 4 y 23) cambia en los cocristales a AB1:1 a 1240.07 cm^{-1} , con una intensidad mayor y ensanchamiento del pico y la señal de $C_{ar}-O-C_{al}$ *stsy* no aparece en el espectro ya que tendría que estar ubicada en 1020 Y 1075 cm^{-1} . Con respecto al producto AB 2:1, el enlace el enlace $C_{ar}-O-C_{al}$ *stas* se localiza en 1240.14 cm^{-1} , con una intensidad mayor y ensanchamiento del pico y la señal que describe el estiramiento simétrico desaparece, con respecto a los productos obtenidos con ácido succínico en el AS 1:1 el enlace $C_{ar}-O-C_{al}$ *stas* se ubicó en 1242.70 cm^{-1} con una intensidad mayor ensanchamiento del pico (no con la intensidad como en benzoico, pero al igual que en este la señal de estiramiento simétrico desaparece) y en el producto AS 2:1 el enlace $C_{ar}-O-C_{al}$ *stas* se ubicó en 1240.69 cm^{-1} . Esto indicaría que al estar unido el metóxido con enlace de hidrogeno con el grupo N-H la señal de este se ve inhibida al mismo tiempo que el estiramiento simétrico del metóxido no se logra.

Productos seleccionados obtenidos con ácido benzoico

En el producto obtenido con ác. benzoico, en proporción 1:1 (Figura 28), se observan diferencias (Cuadro 30) en los desplazamientos químicos de los carbonos de carbonilo de la amida secundaria y el de la sulfonilurea (C7 y C16, respectivamente), ambos modifican en diferente sentido su desplazamiento químico. Con una diferencia de 2.668 unidades (aumento la polaridad del carbono que forma parte del carbonilo de la amida secundaria) y -0.486 unidades (disminuyo su polaridad el carbono de la sulfonilurea), en comparación con la glibenclamida. En ambos casos disminuye la intensidad de la señal y se ensancha el inicio de ambos.

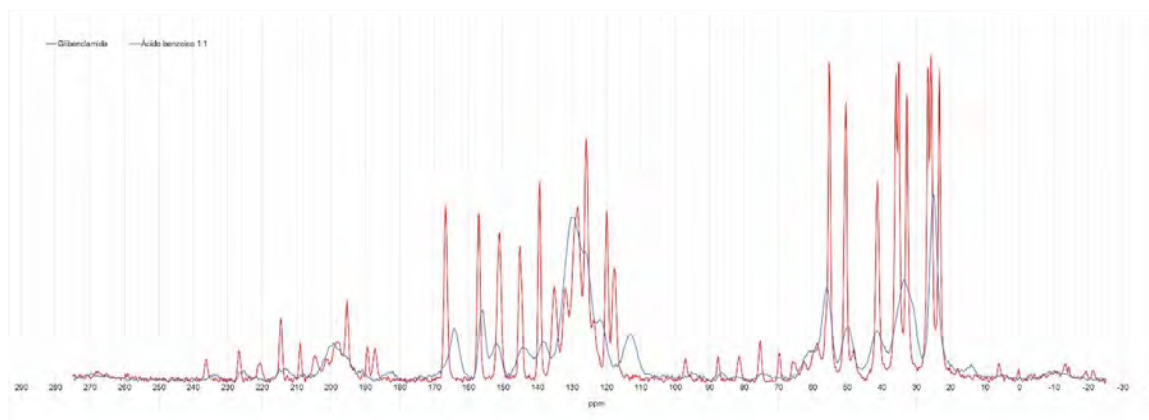


Figura. 28. Comparación del espectro de RMN del producto de AB 1:1 y la glibenclamida

El espectro de la glibenclamida se encuentra de color rojo y el espectro del producto AS 1:1 se encuentra en color verde.

El desplazamiento químico del C10 (perteneciente al anillo aromático y en posición *para*, en relación con el grupo sulfonilo) aumenta hasta 143.894 ppm (por 1.206 unidades). Mientras que el C13 (perteneciente al anillo aromático y directamente enlazado al grupo sulfonilo) aumenta su desplazamiento hasta 137.283 ppm (por 2.001 unidades). De manera tal que ambos desplazamientos (C10 y C13) se fusionan en la base, sugiriendo así un cambio de polaridad de ambos carbonos, es decir su polaridad disminuye. Con

respecto a los C12 y C14, los cuales se encuentran en posición orto con respecto con el enlace del sulfonilo, en 125.939 ppm (un aumento de 2.426 unidades, respecto con la glibenclamida), sugieren también un cambio (disminución) de la polaridad en estos carbonos. Estos cambios en el desplazamiento indican que los enlaces se están formando entre la sulfonilurea y la amida secundaria de la glibenclamida, de manera análoga a como fue discutido para el ác. succínico.

Tal como se observa en la Figura 28, muchas de las señales, bien diferenciadas en la glibenclamida y en el producto obtenido a AS 1:1 (Figura 27), se encuentran en este producto agrupadas en amplias bandas con una intensidad significativamente menor. Esto, por un lado, impide la correcta localización de cada banda correspondiente a cada carbono y, a fin de interpretación del espectro, sugiere una interacción más dinámica con este coformador.

Sin embargo, la discusión anterior, para ambos productos, no permite establecer el efecto de contar con un doble donador-aceptor de protones, como lo es el ácido succínico, en comparación con un donador aceptor simple, como lo es el ácido benzóico. Considerando que ambos sitios, susceptibles de formar un enlace intermolecular por puente de hidrógeno (en la glibenclamida) muestran diferencias químicas importantes, en ambos productos, la información de estos análisis solo puede inferir la generación de diferentes interacciones intermoleculares, pero no apoya la comprensión de la estructura que se esté generando en el largo alcance.

8.4.1.4 Análisis térmico de los productos de la matriz reducida

Producto de AS 1:1

Como se discutió en la sección del análisis térmico de los termogramas de la matriz exploratoria, no se observa la endoterma característica del coformador, y solo aparece la endoterma cercana a la glibenclamida alrededor de 180 °C (Figura 29). Además de lo anterior, es evidente que las diferencias entálpicas, respecto con la glibenclamida, infieren la generación de una estructura que sea más soluble que ésta (ΔH_f tiene una relación inversa con respecto a la velocidad de disolución).³²

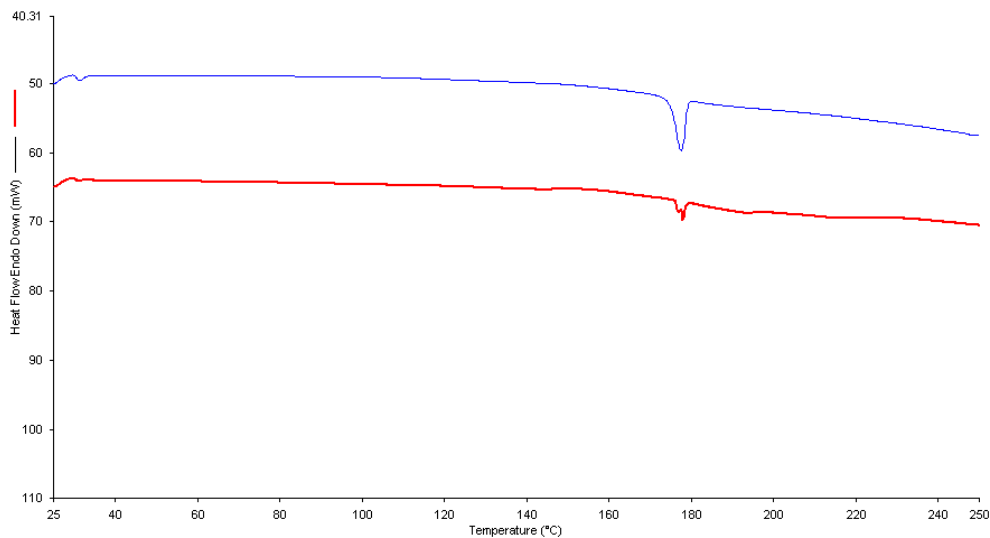


Figura 29. Termograma de glibenclamida y AS 1:1

De color azul se encuentra el termograma de la glibenclamida y de color rojo el termograma del producto de AS 1:1

Producto de AS 2:1

A diferencia del producto de AS1:1, en el termograma del AS 2:1 (Figura 30) no aparece una endoterma, sino que se observa una pendiente negativa a lo largo de todo el termograma lo que sugirió que la capacidad calorífica del material no es constante en el intervalo de temperaturas de la prueba, por lo que esta diferencia entálpica sugirió una mayor solubilidad con respecto a la proporción 1:1 y el fármaco, así como de un

comportamiento de un material amorfo, por la transición vítrea que se observa alrededor de 80 °C.

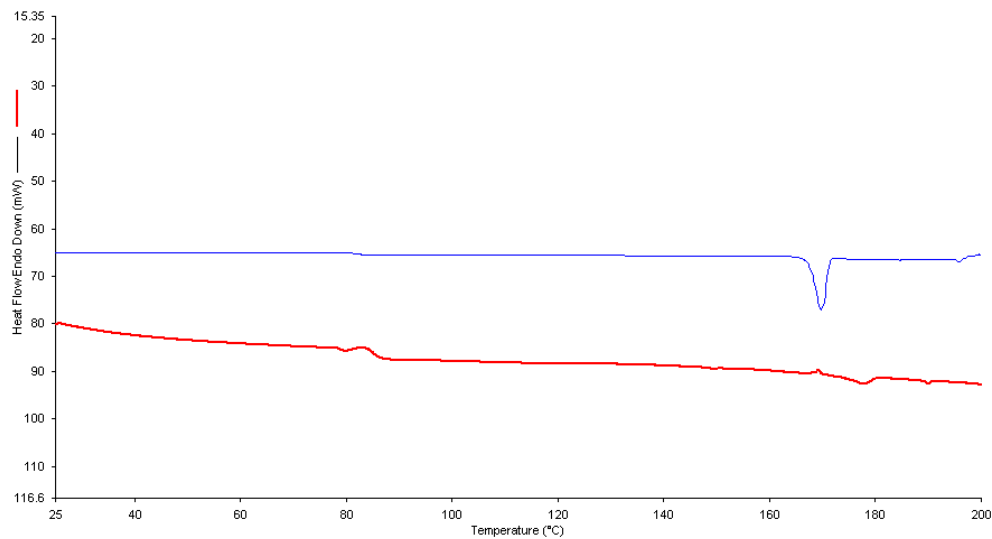


Figura 30. Termograma de glibenclamida y AS 2:1

De color azul se encuentra el termograma de la glibenclamida y de color rojo el termograma del producto de AS 2:1

Producto de AB 1:1

Como se discutió en la sección del análisis térmico de los termogramas de la matriz exploratoria, en la Figura 31 no se observó la endoterma característica del coformador, ni tampoco se observó la endoterma de la glibenclamida. En este caso se mantiene una pendiente negativa a lo largo de todo el termograma (diferencia de capacidad calorífica), que, como se discutió anteriormente, sugiere una mejora en la solubilidad. La ausencia de una transición vítrea en este producto descartaría la posibilidad que se tratase de un material amorfo (como podría sugerirse por la interpretación de la Figura 28. Comparación del espectro de RMN del producto de AB 1:1 y la glibenclamida).

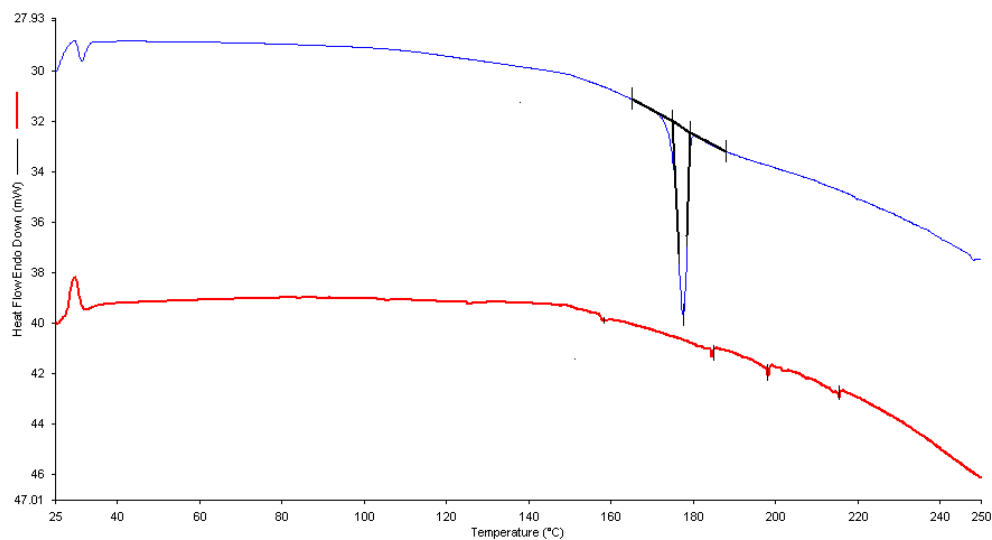


Figura 31. Termograma de glibenclamida y AB 1:1

De color azul se encuentra el termograma de la glibenclamida y de color rojo el termograma del producto de AB 1:1

Producto de AB 2:1

Al igual que el producto AB1:1, en el termograma del AB 2:1 (Figura 32) no aparece una endoterma, sino que se observa una pendiente negativa a lo largo de todo el termograma lo que sugirió que la capacidad calorífica del material no es constante en el intervalo de temperaturas de la prueba, por lo que esta diferencia entálpica sugirió una mayor solubilidad con respecto a la proporción 1:1 y el fármaco. Así como de un comportamiento de un material amorfo, por la transición vítrea que se observa alrededor de 80 °C.

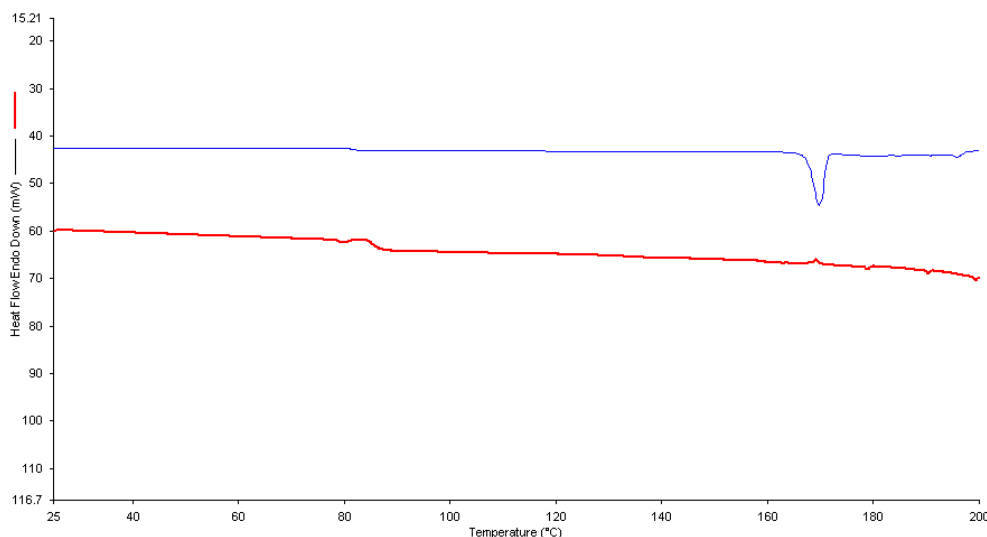


Figura 32: Termograma de glibenclamida y AB 2:1

De color azul se encuentra el termograma de la glibenclamida y de color rojo el termograma del producto de AB 2:1

A pesar del comportamiento térmico de los productos seleccionados, su contenido de glibenclamida ha sido establecida por la valoración por CLAR y por los análisis espectroscópicos de IR y RMN, como ya ha sido discutida anteriormente.

8.4.1.5 Perfil de disolución

Glibenclamida

Los perfiles de disolución de la glibenclamida se muestran en la Figura 33. Es contra estos con los que se comparan los perfiles de los productos seleccionados. La solubilidad de la glibenclamida es creciente conforme va aumentando el pH del medio de disolución, esto se debe a que su pKa es de 5.3, por lo que esta, en medios básicos, se encuentra en forma ionizada, aumenta su polaridad y por lo tanto su solubilidad. La mayor solubilidad se obtiene en pH 8 liberando y solubilizándose 0.0035 mg/mL (equivalente al 16.45% de muestra sometida a la prueba) de glibenclamida a los 120 minutos, mientras que en el resto de los medios de disolución (pH 1, 4,5. 5.25 y 6.8) no se alcanza una solubilidad mayor a 0.0005 mg/mL.

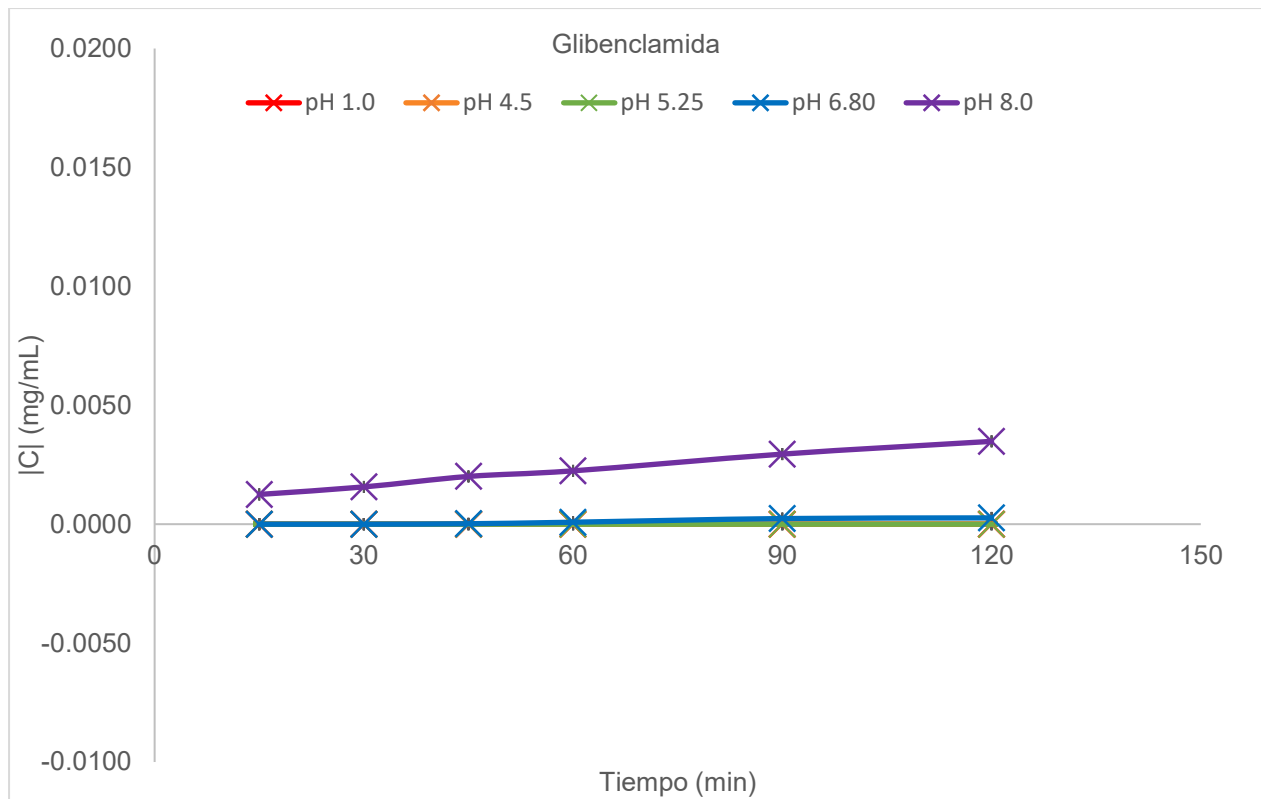


Figura 33. Perfil de disolución de la glibenclamida

Ác. succínico 1:1

En la Figura 34 se muestran los perfiles de disolución del producto AS 1:1. Al igual que con la glibenclamida, se observa una solubilidad creciente conforme va incrementando el pH del medio, alcanzando la mayor solubilidad en pH 8 a los 90 minutos, liberando y solubilizándose 0.0023 mg/mL (equivalente al 10.95 % de la cantidad teórica) de glibenclamida. Con respecto al resto de los medios de disolución, hubo modificación a partir del de pH 5.25 alcanzando una máxima solubilidad en 120 min solubilizándose 0.0007 mg/mL y en pH 6.8 alcanzando una solubilidad máxima a los 120 min de 0.0009 mg/mL.

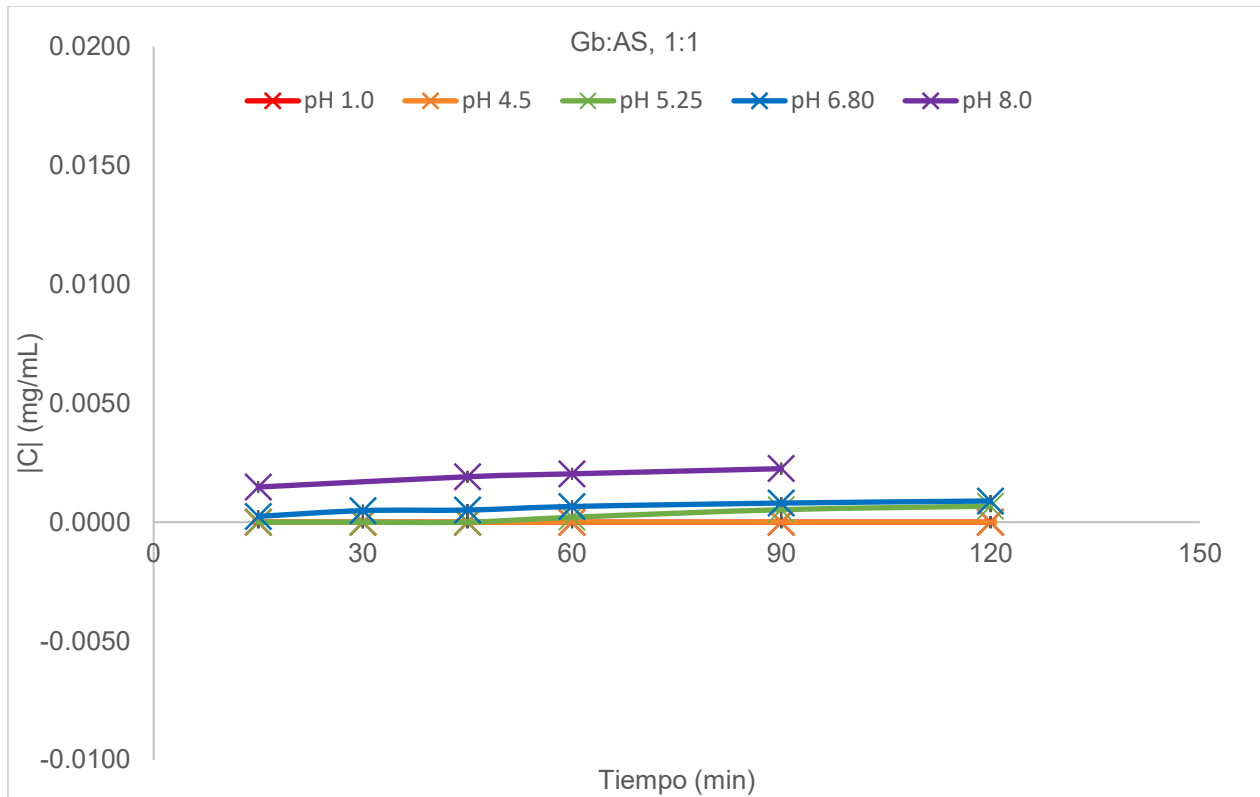


Figura 34. Perfil de disolución del producto AS 1:1

Ác. benzoico 1:1

En la Figura 35, se muestran los perfiles de disolución del producto AB 1:1. Donde se observó el mismo comportamiento que con la glibenclamida respecto con el pH del medio, alcanzando la mayor solubilidad en pH 8 a los 120 minutos liberando y solubilizándose 0.0122 mg/mL (equivalente al 57.34% de la cantidad teórica) de glibenclamida, en este caso la liberación en pH 6.8 alcanza a los 120 min una solubilidad de 0.0058 mg /mL, y una liberación solo en el punto d 120 min en pH 1 de 0.0026 mg/mL.

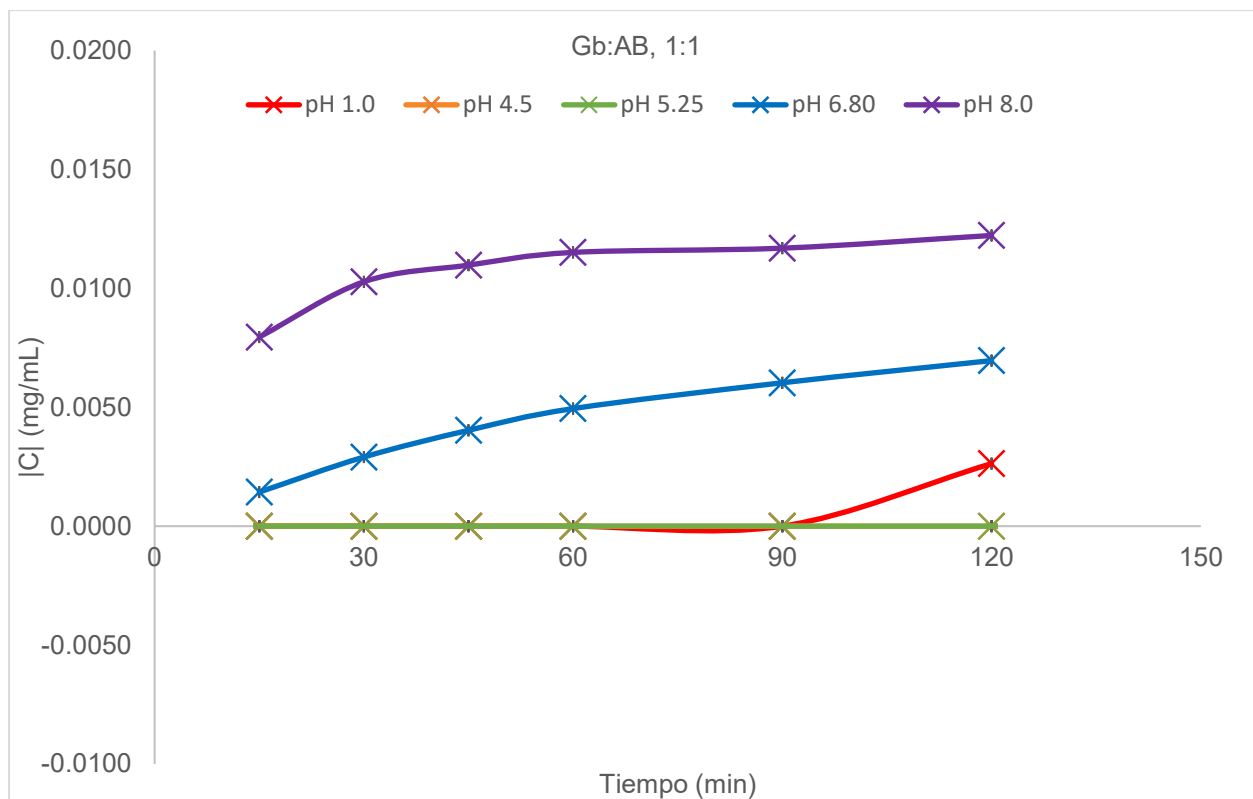


Figura 35. Perfil de disolución del producto AB 1:1

Ác. succínico 2:1

En la Figura 36 se muestran los perfiles de disolución del AS 2:1. Nuevamente se observó el comportamiento pH-dependiente: alcanzando la mayor solubilidad en pH 8 a los 120 minutos liberando y solubilizándose 0.0043 mg/mL (equivalente al 20.21% de la cantidad teórica) de glibenclamida. En este caso, la liberación en pH 6.8 alcanzó a los 120 min una solubilidad de 0.0040 mg/mL; en pH 5.25 se alcanzó una solubilidad máxima de 0.0011 mg/mL; mientras que, en el mismo tiempo, pero en el pH 4.5 se alcanzó una solubilidad de 0.0008 mg/mL. En el medio de disolución pH 1.0 no se alcanzó una solubilidad mayor de 0.0005 mg/mL.

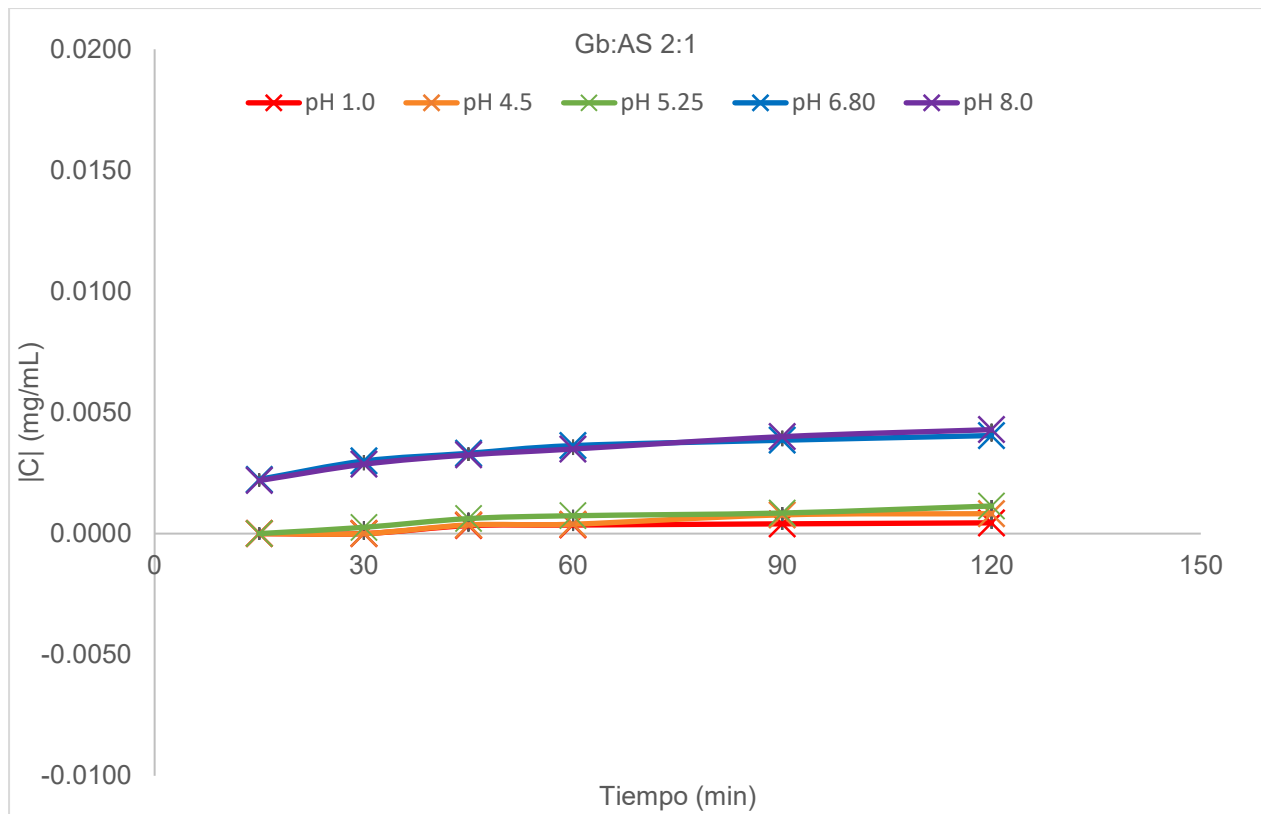


Figura 36. Perfil de disolución del producto AS 2:1

Ác. benzoico 2:1

En la Figura 37 se muestran los perfiles de disolución del producto AB 2:1. El comportamiento pH-dependiente se mantiene alcanzando la mayor solubilidad en pH 8 a los 120 minutos, liberando y solubilizándose 0.0103 mg/mL (equivalente al 48.51% de la cantidad teórica) de glibenclamida. A los 120 minutos en pH 5.25 y 6.8 se alcanza una solubilidad máxima de 0.009 mg/mL y 0.0077 mg/mL, respectivamente.

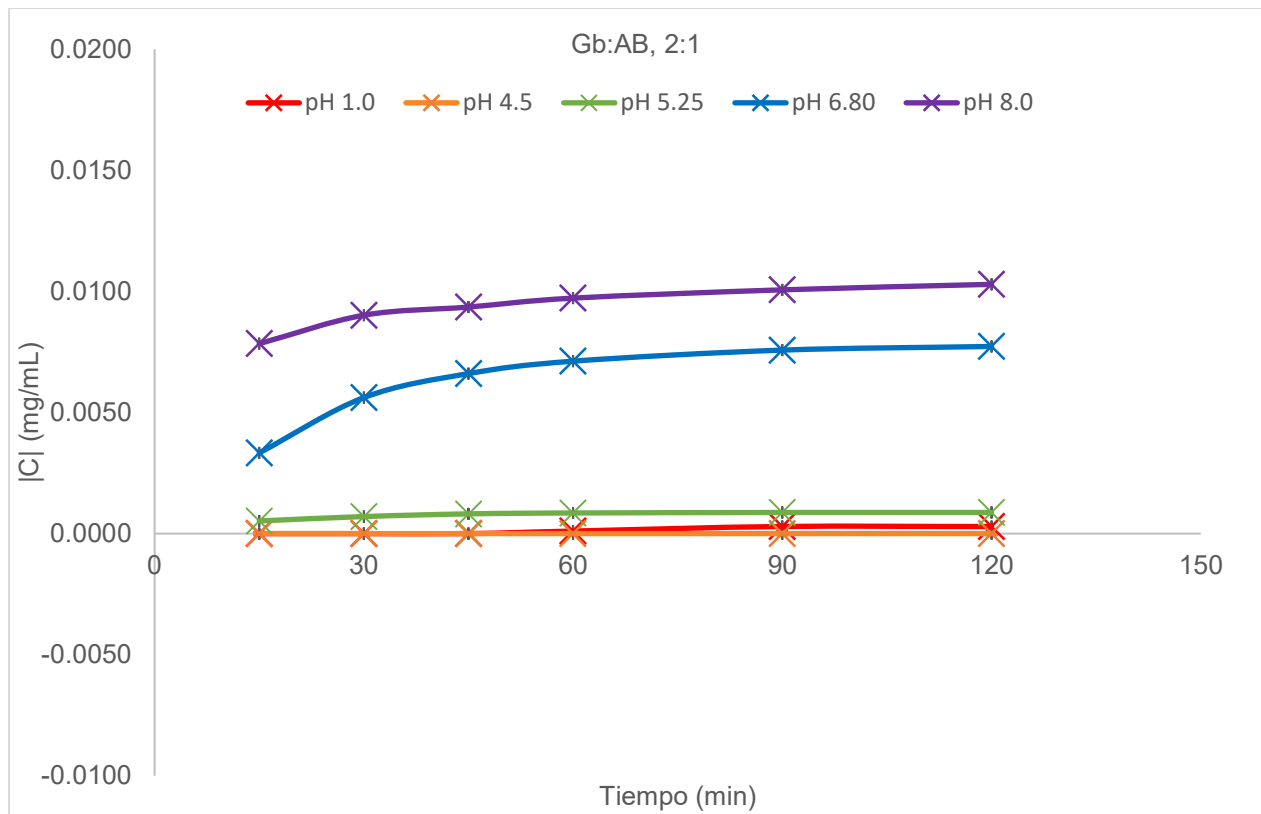


Figura 37. Perfil de disolución del producto AB 2:1

Comparando los productos AS 1:1 y AS 2:1, se observó que este último tiene el doble de solubilidad que el primero, coincidentemente con lo observado en valoración, donde se recuperó el doble de fármaco en el producto AS 2:1, respecto con AS 1:1. Además, es de resaltar que, mientras el producto AS 1:1 no rebasa la máxima solubilidad de la glibenclamida, el producto AS 2:1 sí lo hace en dos medios de disolución diferentes (pH 6.8 y 8.0) con casi los mismos valores de solubilidad en cada punto. El hecho de que el ácido succínico sea una molécula orgánica con dos grupos carboxilo en el producto AS:2:1 puede implicar que cada molécula de ácido succínico pueda sostener a dos moléculas de glibenclamida (por enlace intermolecular), y es esta organización lo que permite, si se ve como un soporte, liberar el doble de glibenclamida; incluso a un valor

de pH no tan básico (6.8), en donde ni el fármaco base ni el producto AS 1:1 alcanzaron una solubilidad significativa.³⁵

Por otra parte, los productos AB 1:1 y AB 2:1 no son tan diferentes entre sí, aunque este último no tiene una solubilidad mayor que el primero (es decir que el aumentar la cantidad de glibenclamida no tuvo un efecto directo en aumentar la solubilidad). Esto puede ser explicado porque, a diferencia del ácido succínico, el benzoico solo tiene un ácido carboxílico que puede participar en una interacción intermolecular por enlace de hidrógeno, provocando que no haya una diferencia práctica en la generación de una posible red cristalina de largo alcance si hay una o dos moléculas de glibenclamida por cada molécula de ácido benzoico. Lo anterior se ha discutido en la caracterización espectroscópica y térmica de este producto.

El producto AB 1:1 es el que mostró una mayor solubilidad (3.48 veces más) que la glibenclamida en su fase cristalina.

9 Conclusión

Se establecieron los parámetros (temperatura - tiempo de fabricación y de secado) y factores (disolvente, coformador y la técnica) para la obtención de todos los productos de la matriz reducida (Cuadro 26) y fue el cocrystal AB 1:1 quien alcanzo una solubilidad 3.48 veces más que la glibenclamida en las condiciones evaluadas. Las pruebas de caracterización de los productos de la matriz reducida arrojaron evidencia de la modificación de los grupos funcionales de la glibenclamida (amida secundaria y sulfonilurea) que son más probables de generar interacciones intermoleculares por enlace de hidrogeno con los ácidos carboxílicos de los coformadores, sin embargo, para

describir por completo el comportamiento del cocrystal hará falta conocer el orden a lo largo de la red cristalina del sólido obtenido por lo que se sugiere realizar las pruebas de microscopia óptica, difracción de rayos X, resonancia magnética de protón (bidimensional) y espectroscopia de masas. La prueba de perfil de disolución no cumplió con las características del SCB considerando que la prueba se tenía que realizar con la concentración máxima del mercado (5 mg) y al considerar de manera paralela a la valoración, los resultados que esta última arrojó demuestran que en ningún caso se solubiliza el 100 % del producto. Adicional a las pruebas ya sugeridas para conocer el arreglo a largo alcance del cocrystal es necesario realizar el estudio de estabilidad y describir el comportamiento de disolución intrínseca en condiciones del SCB.

10 Anexos

10.1 Anexo 1: Figuras

Figura 1. Procesos implicados en la disolución

Figura 2. Formas del estado sólido

Figura 3. Síntesis supramoleculares comunes que se pueden formar en un cocrystal entre el fármaco y un formador de cocrystal adecuado (coformador)

Figura 4. La relación entre la solubilidad de cocrystal y la solubilidad del coformador

Figura 5. Perfiles teóricos de solubilidad de pH de varios compuestos ionizables y no ionizables y sus cocristales

Figura 6. Diagrama de solubilidad de fase que muestra el efecto de la concentración del coformador en la solubilidad de un cocrystal, que se muestra como la línea roja sólida

Figura 7: Matriz experimental

Figura. 8: Diagrama de flujo del procedimiento para la valoración del contenido de glibenclamida en el cocrystal

Figura. 9. Diagrama de flujo del procedimiento para la prueba de perfil de disolución de glibenclamida en el cocrystal

Figura 10. Interacción ácido succínico y glibenclamida

Figura 11. Interacción ácido oxálico y glibenclamida

Figura 12. Interacción ácido benzoico y glibenclamida

Figura 13. Espectro IR de glibenclamida

Figura 14: Espectro IR del producto 2.1.1

Figura 15: Espectro IR del producto 2.1.2

Figura 16: Espectro IR del producto 2.1.3

Figura 17. Endotermas de los cocrystal fabricados por la técnica de Antidisolvente

Figura 18. Endotermas de los cocrystal fabricados por la técnica de enfriamiento

Figura 19: Endotermas de los cocrystal fabricados por la técnica de evaporación convencional

Figura 20. Endotermas de los cocrystal fabricados con ác. benzoico como coformador

Figura 21. Endotermas de los cocrystal fabricados con ác. succínico como coformador

Figura 22. Endotermas de los cocrystal fabricados con ác. oxálico como coformador

Figura 23: Curva de calibración para la valoración

Figura 24. Espectros IR de los productos con ác. succínico proporción 1:1 y 2:1

Figura 25. Espectros IR de los productos con ác. benzoico

Figura 26: Glibenclamida

Figura. 27. Comparación del espectro de RMN del producto de AS 1:1 y la glibenclamida

Figura. 28: Comparación del espectro de RMN del producto de AB 1:1 y la glibenclamida

Figura 29. Termograma de glibenclamida y AS 1:1

Figura 30. Termograma de glibenclamida y AS 2:1

Figura 31. Termograma de glibenclamida y AB 1:1

Figura 32. Termograma de glibenclamida y AB 2:1

Figura 33. Perfil de disolución de la glibenclamida

Figura 34. Perfil de disolución del producto AS 1:1

Figura 35. Perfil de disolución del producto AB 1:1

Figura 36. Perfil de disolución del producto AS 2:1

Figura 37. Perfil de disolución del producto AB 2:1

Figura 38. IR de glibenclamida con datos

Figura 39. IR de la referencia de ác. succínico con datos

Figura 40. IR de la referencia de ác. oxálico con datos

Figura 41. IR de la referencia de ác. benzoico con datos

Figura 42. IR del experimento 2.1.1 con datos

Figura 43. IR del experimento 2.1.2 con datos

Figura 44. IR del experimento 2.1.3 con datos

Figura 45. Termograma de ác. benzoico con datos

Figura 46. Termograma de ác. succínico con datos

Figura 47. Termograma de ác. oxálico con datos

Figura 48. Cocrystal fabricado con la técnica de antisolvente formado en etanol utilizando ác. succínico como coformador

Figura 49. Cocrystal fabricado con la técnica de antidisolvente formado en metanol utilizando ác. benzoico como coformador

Figura 50. Cocrystal fabricado con la técnica de antidisolvente formado en metanol utilizando ác. succínico como coformador

Figura 51. Cocrystal fabricado con la técnica de antidisolvente formado en metanol utilizando ác. oxálico como coformador

Figura 52. Cocrystal fabricado con la técnica de antidisolvente formado en metanol utilizando ác. benzoico como coformador

Figura 53. Cocrystal fabricado con la técnica de evaporación convencional formado en etanol utilizando ác. succínico como coformador

Figura 54. Cocrystal fabricado con la técnica de evaporación convencional formado en etanol utilizando ác. oxálico como coformador

Figura 55. Cocrystal fabricado con la técnica de evaporación convencional formado en etanol utilizando ác. benzoico como coformador

Figura 56. Cocrystal fabricado con la técnica de evaporación convencional formado en metanol utilizando ác. succínico como coformador

Figura 57. Cocrystal fabricado con la técnica de evaporación convencional formado en metanol utilizando ác. oxálico como coformador

Figura 58. Cocrystal fabricado con la técnica de evaporación convencional formado en metanol utilizando ác. benzoico como coformador

Figura 59. Cocrystal fabricado con la técnica de enfriamiento formado en etanol utilizando ác. succínico como coformador

Figura 60. Cocrystal fabricado con la técnica de enfriamiento formado en etanol utilizando ác. oxálico como coformador

Figura 61. Cocrystal fabricado con la técnica de enfriamiento formado en etanol utilizando ác. benzoico como coformador

Figura 62. Cocrystal fabricado con la técnica de enfriamiento formado en metanol utilizando ác. succínico como coformador

Figura 63. Cocrystal fabricado con la técnica de enfriamiento formado en metanol utilizando ác. oxálico como coformador

Figura 64. Cocrystal fabricado con la técnica de enfriamiento formado en metanol utilizando ác. benzoico como coformador

10.2 Anexo 2: Cuadros

Cuadro 1. Ventajas y desventajas de las técnicas utilizadas para mejorar la solubilidad de los fármacos

Cuadro 2. Propiedades que cambien entre el sólido amorfo y el sólido cristalino

Cuadro 3. Técnicas de preparación de cocristales, ventajas y desventajas de estas

Cuadro 4. Técnicas para caracterizar sólidos

Cuadro 5. Clasificación del SCB

Cuadro 6: Propiedades de la glibenclamida

Cuadro 7. Propiedades de coformadores

Cuadro 8. Soluciones con las que se construyó la curva de calibración del método para la valoración del contenido de glibenclamida en el cocrystal

Cuadro 9. Cantidades que fueron utilizadas para la preparación de medios de disolución

Cuadro 10. Soluciones que se utilizaron para construir la curva de calibración del método para el perfil de disolución del cocrystal de glibenclamida

Cuadro 11. Solubilidad de la glibenclamida y coformadores

Cuadro 12. Partes de disolvente que se utilizaron para disolver una parte del soluto

Cuadro 13. Solubilidad (mg/mL)

Cuadro 14. Relaciones de solubilidad (S.cf/S Gb)

Cuadro 15. Matriz exploratoria

Cuadro 16. Observaciones en los espectros IR, de los productos i.1.k

Cuadro 17. Observaciones en los espectros IR, de los productos i.2.k

Cuadro 18. Localización de las señales más importantes de los grupos funcionales de la glibenclamida en los productos obtenidos con etanol

Cuadro 19 Diferencia de la localización de las señales más importantes de los grupos funcionales de la glibenclamida en los productos obtenidos con etanol

Cuadro 20. Localización de las señales más importantes de los grupos funcionales de la glibenclamida en los productos obtenidos con metanol

Cuadro 21. Diferencia de la localización de las señales más importantes de los grupos funcionales de la glibenclamida en los productos obtenidos con metanol

Cuadro 22. Propiedades térmicas de los productos obtenidos en etanol como disolvente de la matriz exploratoria

Cuadro 23. Propiedades térmicas de los productos obtenidos en metanol como disolvente de la matriz exploratoria

Cuadro 24. Diferencia de los valores térmicos de los productos obtenidos en etanol con respecto a la glibenclamida

Cuadro 25. Diferencia de los valores térmicos de los productos obtenidos en metanol con respecto a la glibenclamida

Cuadro 26. Matriz reducida

Cuadro 27. Resultados de valoración para los productos obtenidos en la matriz reducida

Cuadro 28. Localización de las señales más importantes de los grupos funcionales de la glibenclamida en los productos seleccionados

Cuadro 29. Diferencia de la localización de las señales más importantes de los grupos funcionales de la glibenclamida en los productos seleccionados

Cuadro 30. Localización de las señales de la glibenclamida en los productos seleccionados con proporción 1:1

10.3 Anexo 3: Espectros de IR

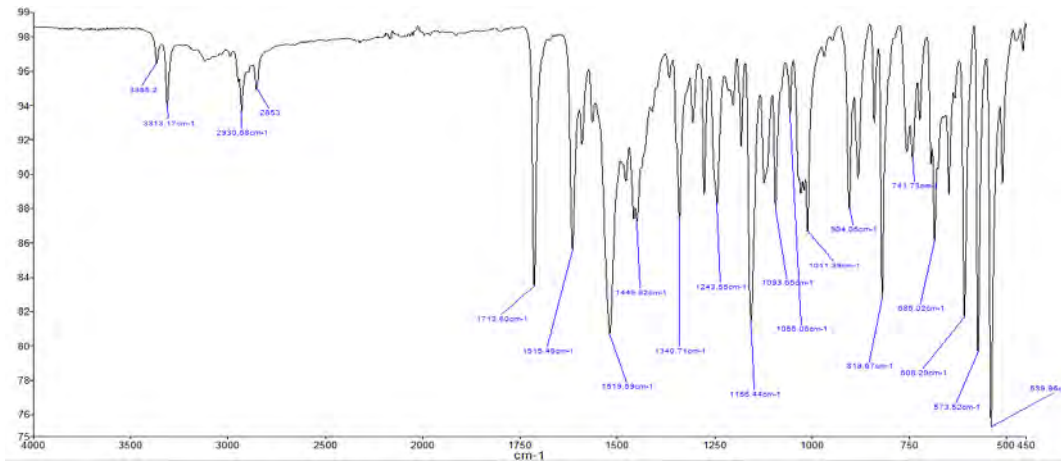


Figura 38. IR de Glibenclamida con datos

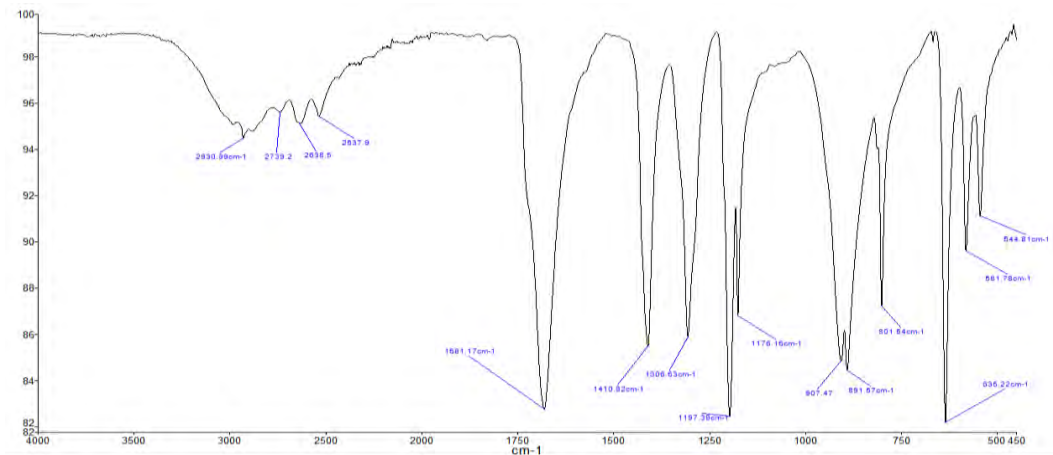


Figura 39. IR de la referencia de ác. succínico con datos



Figura 40. IR de la referencia de ác. oxálico con datos

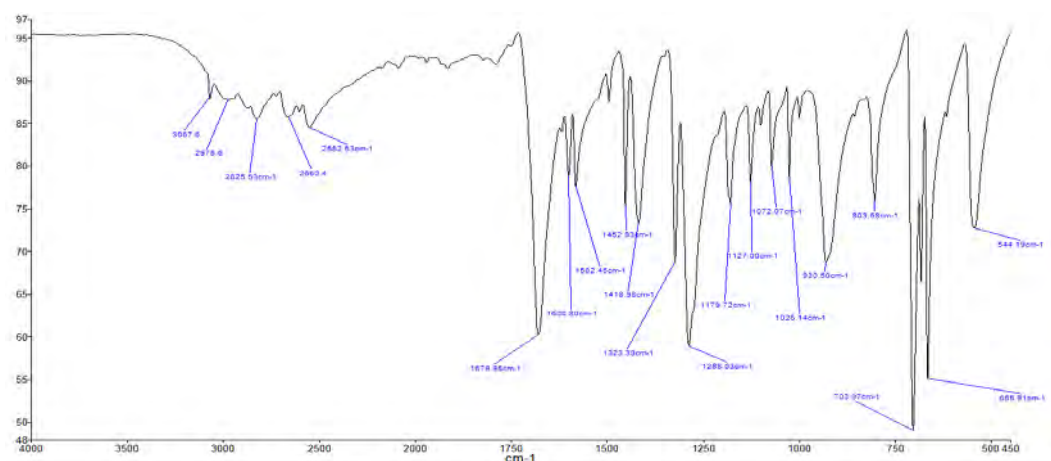


Figura 41. IR de la referencia de ác. benzoico con datos

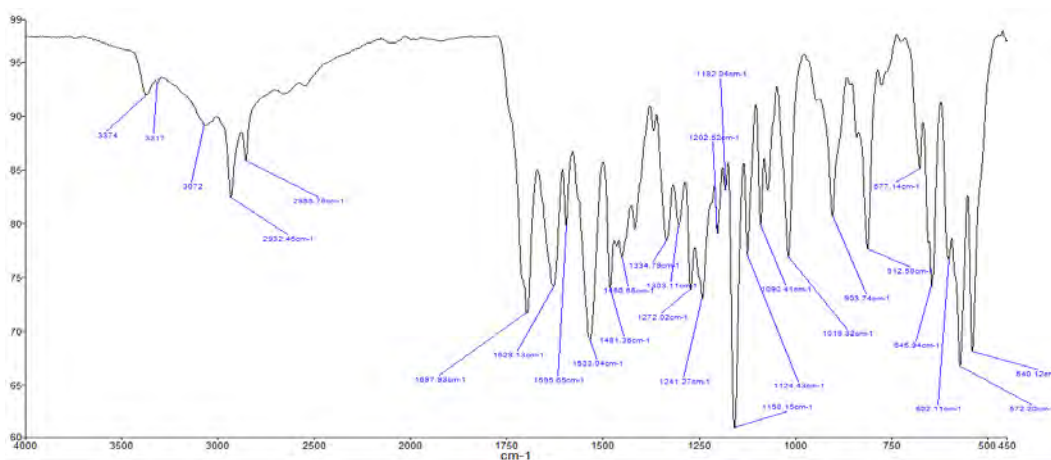


Figura 42. IR del experimento 2.1.1 con datos

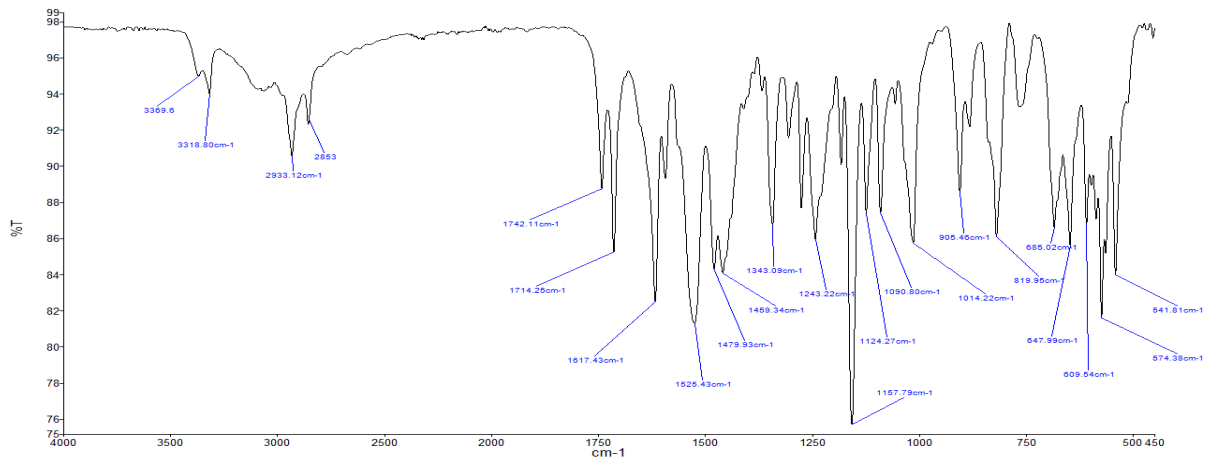


Figura 43. IR del experimento 2.1.2 con datos

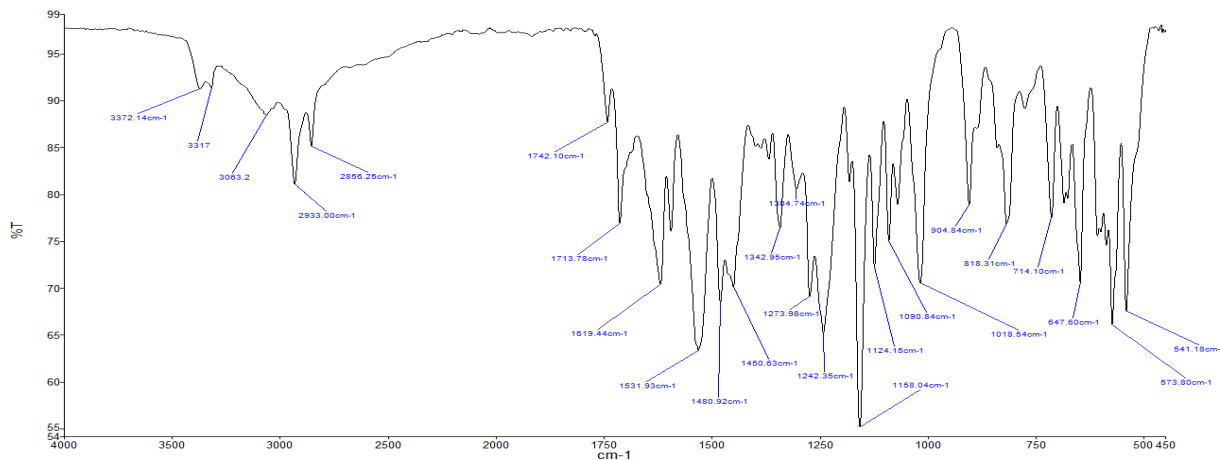


Figura 44. IR del experimento 2.1.3 con datos

10.4 Anexo 4: Termogramas de los productos

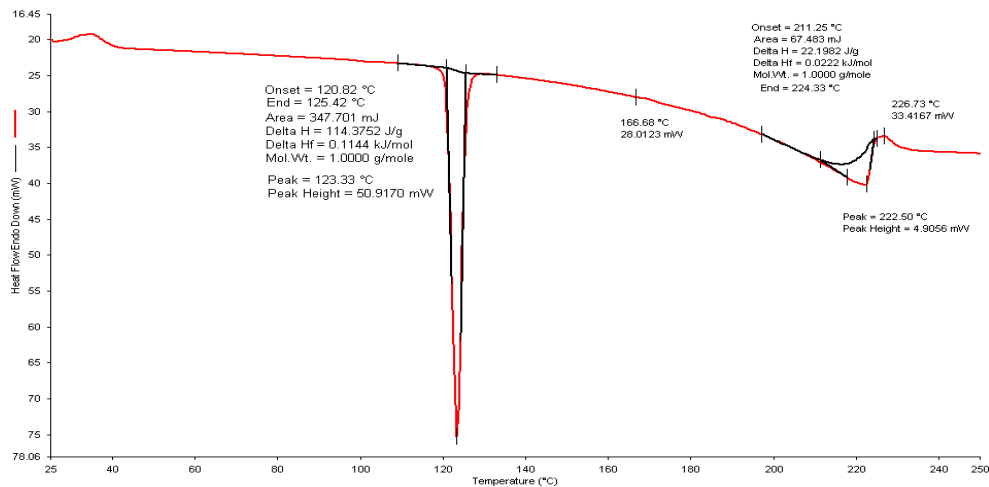


Figura 45. Termograma de ác. benzoico con datos

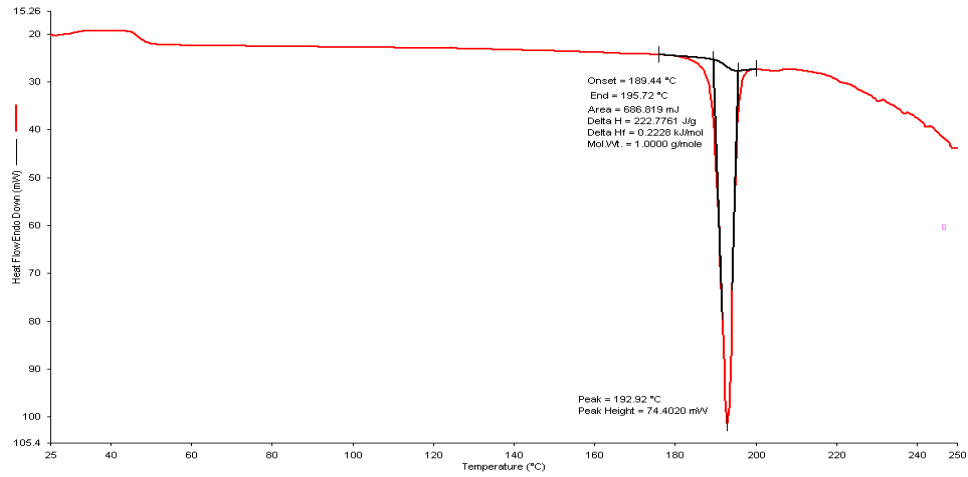


Figura 46. Termograma de ác. succínico con datos

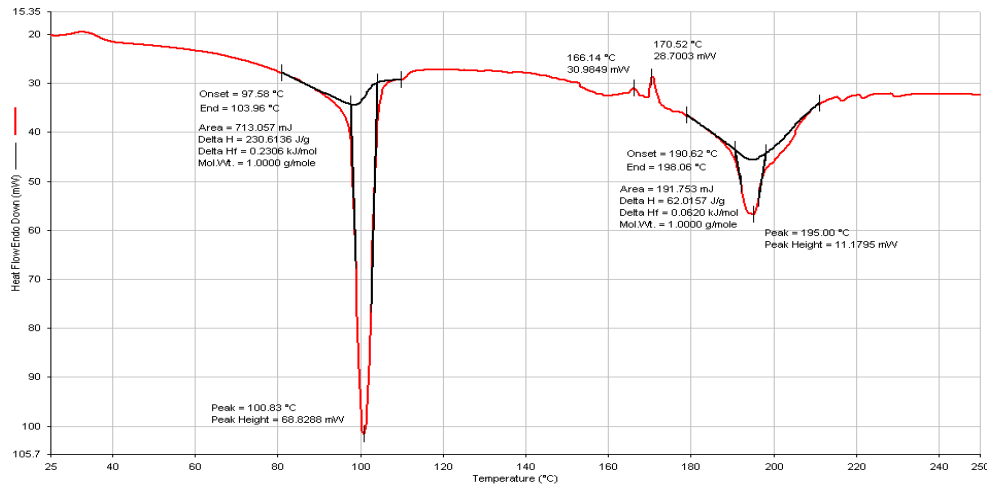


Figura 47. Termograma de ác. oxálico con datos

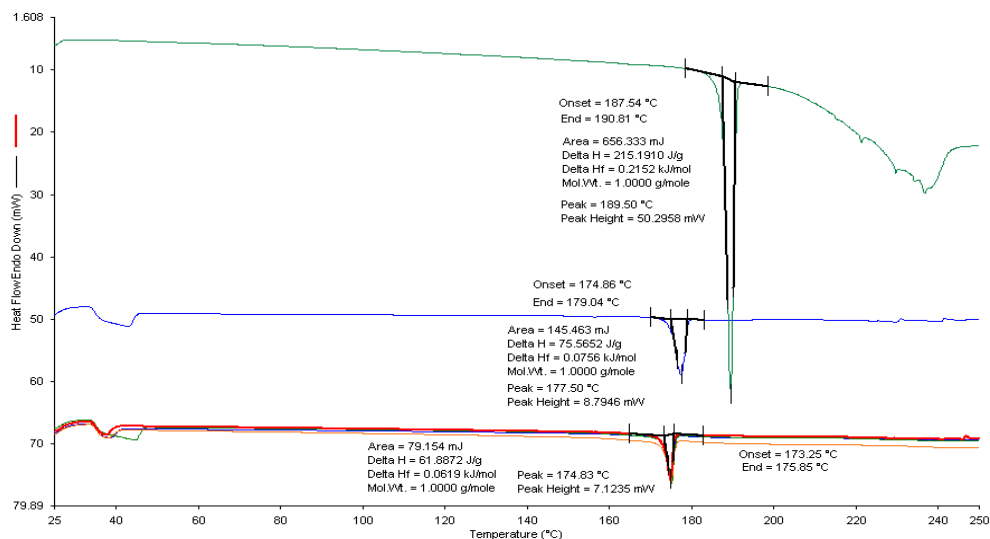


Figura 48. Cocrystal fabricado con la técnica de antidisolvente formado en etanol utilizando ác. succínico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. succínico, el de color azul corresponde a la glibenclamida y los últimos termogramas representan el experimento

1.1.1.

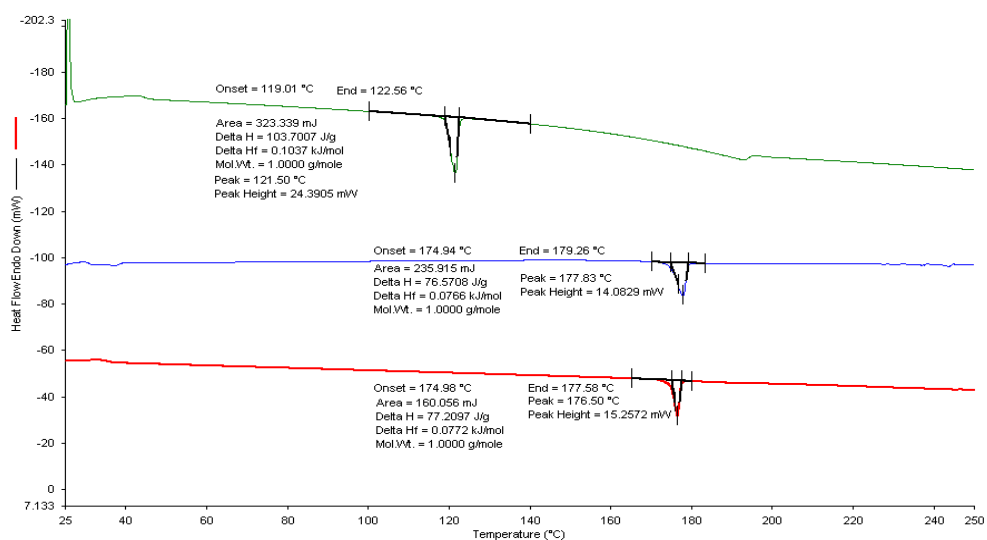


Figura 49. Cocrystal fabricado con la técnica de antidisolvente formado en metanol utilizando ác. benzoico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. benzoico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y los últimos termogramas representan el experimento 1.2.3.

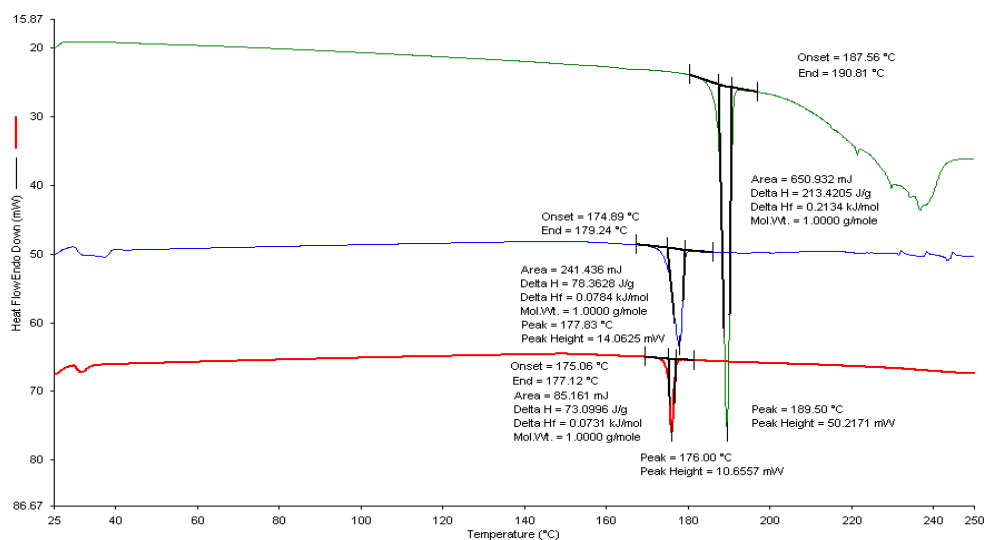


Figura 50. Cocrystal fabricado con la técnica de antidisolvente formado en metanol utilizando ác. succínico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. succínico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y los últimos termogramas representan el experimento 1.2.1.

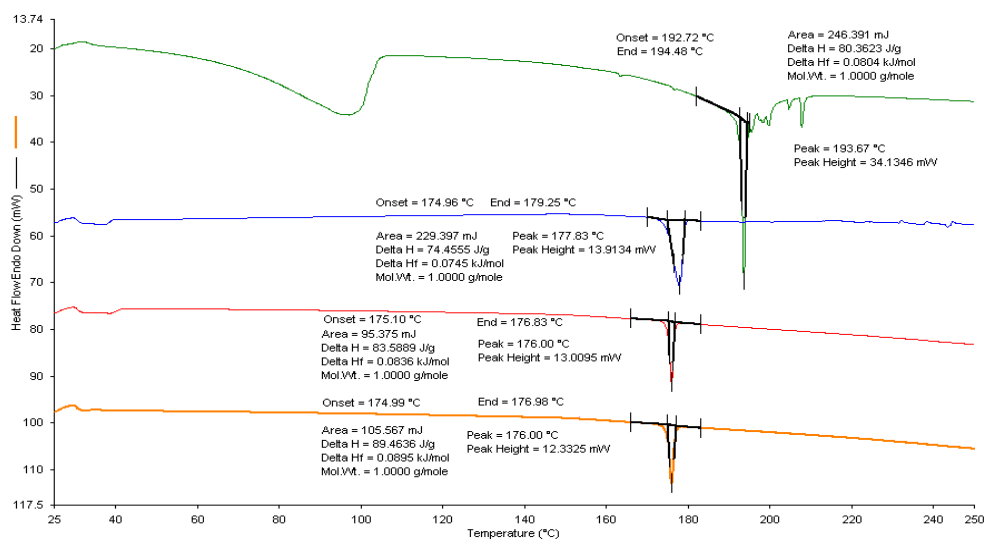


Figura 51. Cocrystal fabricado con la técnica de antidisolvente formado en metanol utilizando ác. oxálico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. succínico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y los últimos termogramas representan el experimento 1.2.2.

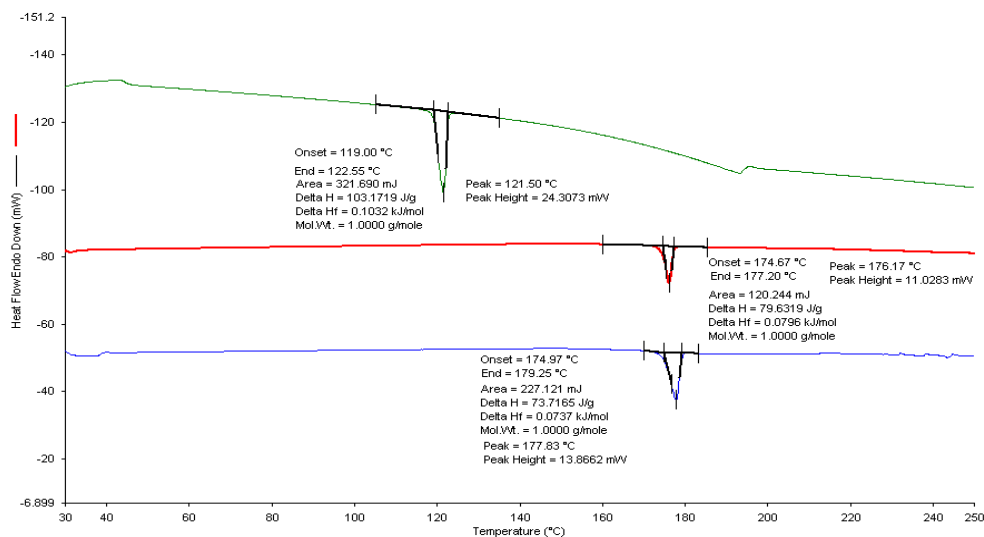


Figura 52. Cocrystal fabricados con la técnica de antidisolvente formado en metanol utilizando ácido benzoico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ácido succínico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y el último termograma representa el experimento 1.2.3.

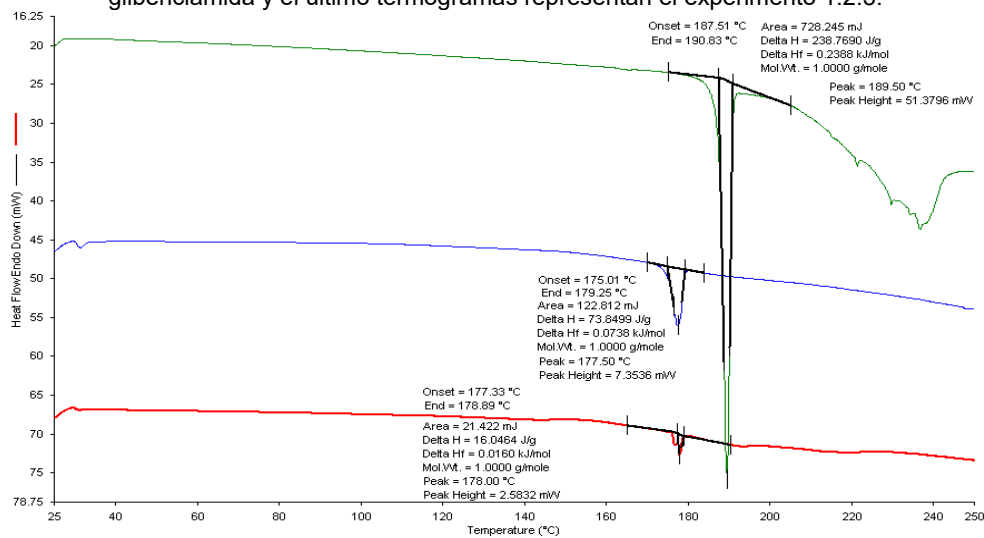


Figura 53. Cocrystal fabricados con la técnica de evaporación convencional formado en etanol utilizando ácido succínico como coformador.

El termograma de color verde corresponde al ácido succínico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y el último termograma representa el experimento 2.1.1.

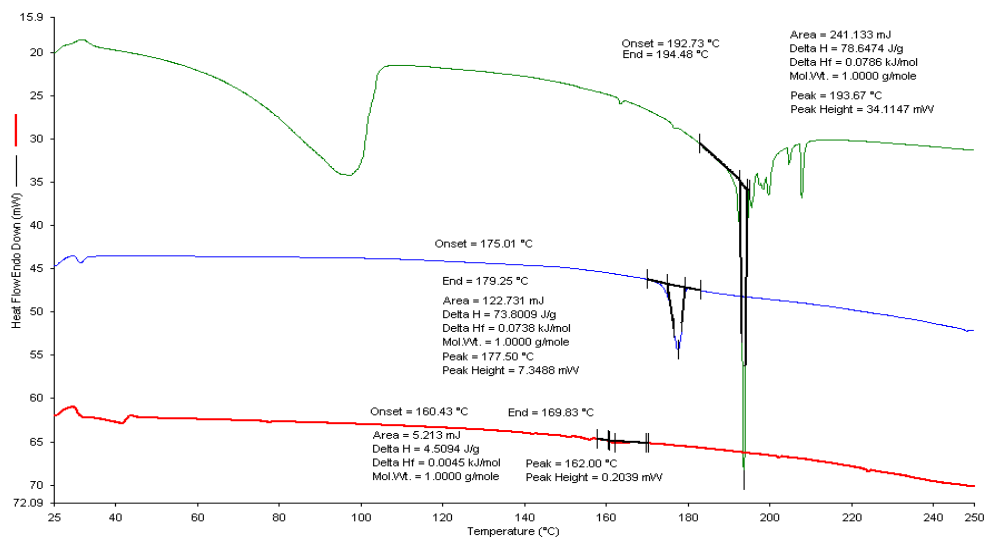


Figura 54. Cocrystal fabricado con la técnica de evaporación convencional formado en etanol utilizando ác. oxálico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. succínico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y el último termograma representan el experimento 2.1.2.

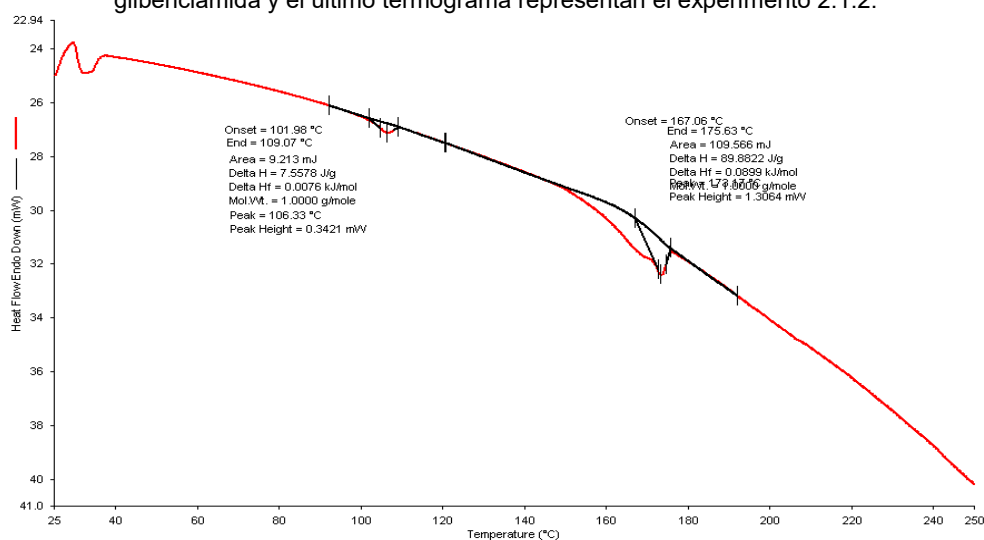


Figura 55. Cocrystal fabricado con la técnica de evaporación convencional formado en etanol utilizando ác. benzoico como coformador

El termograma representan el experimento 2.1.3.

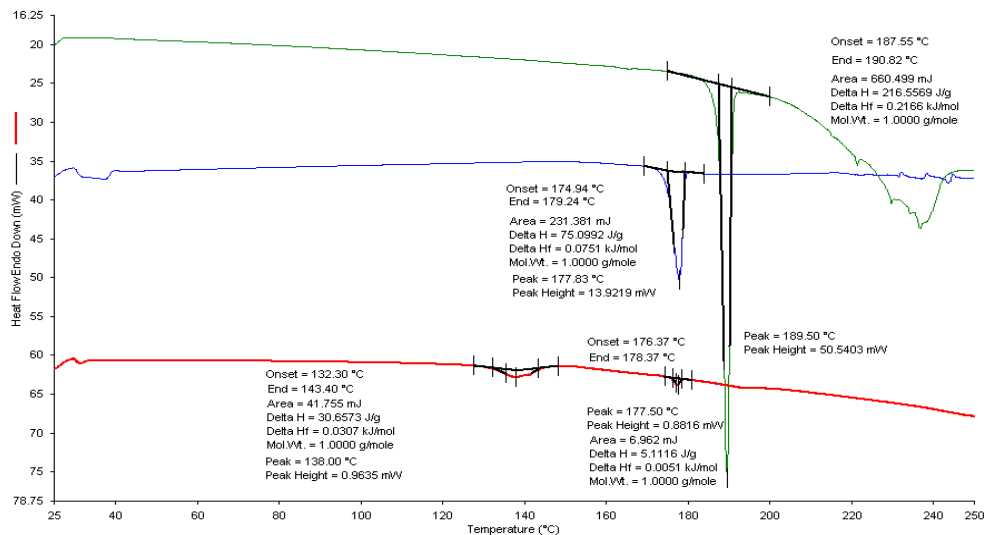


Figura 56. Cocrystal fabricado con la técnica de evaporación convencional formado en metanol utilizando ác. succínico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. succínico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y el ultimo termogramas representan el experimento 2.2.1.

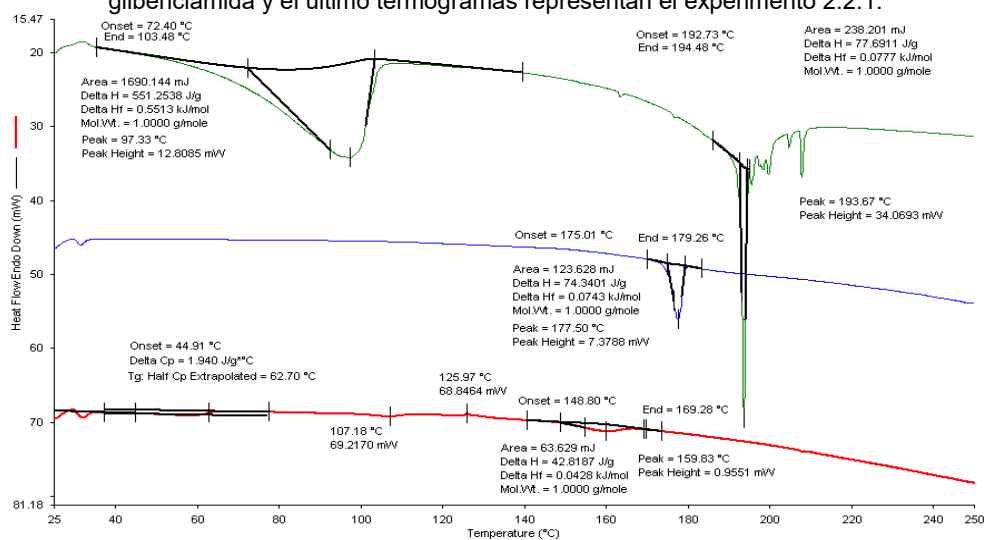


Figura 57. Cocrystal fabricado con la técnica de evaporación convencional formado en metanol utilizando ác. oxálico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. oxálico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y el último termogramas representan el experimento 2.2.2

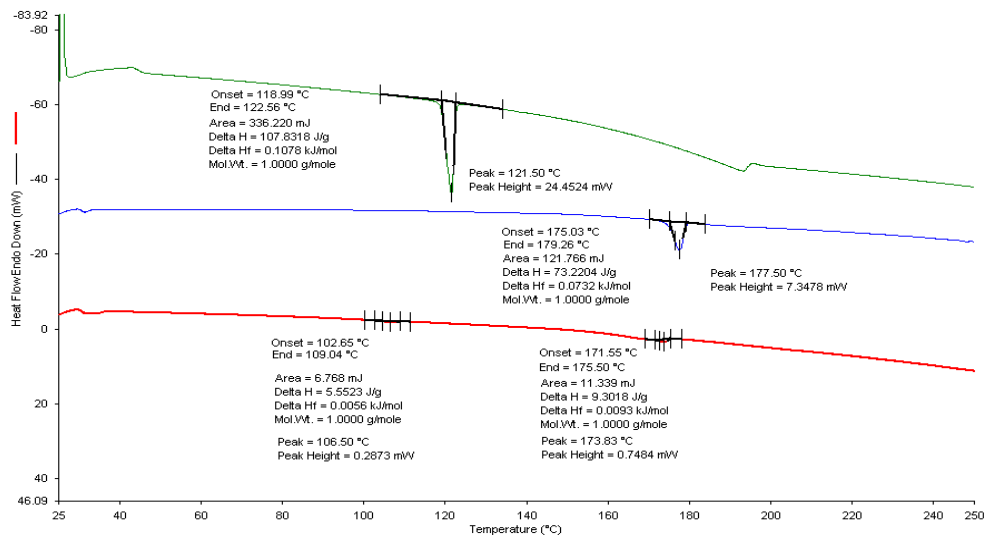


Figura 58. Cocrystal fabricado con la técnica de evaporación convencional formado en metanol utilizando ác. benzoico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. benzoico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y el ultimo termogramas representan el experimento 2.2.3

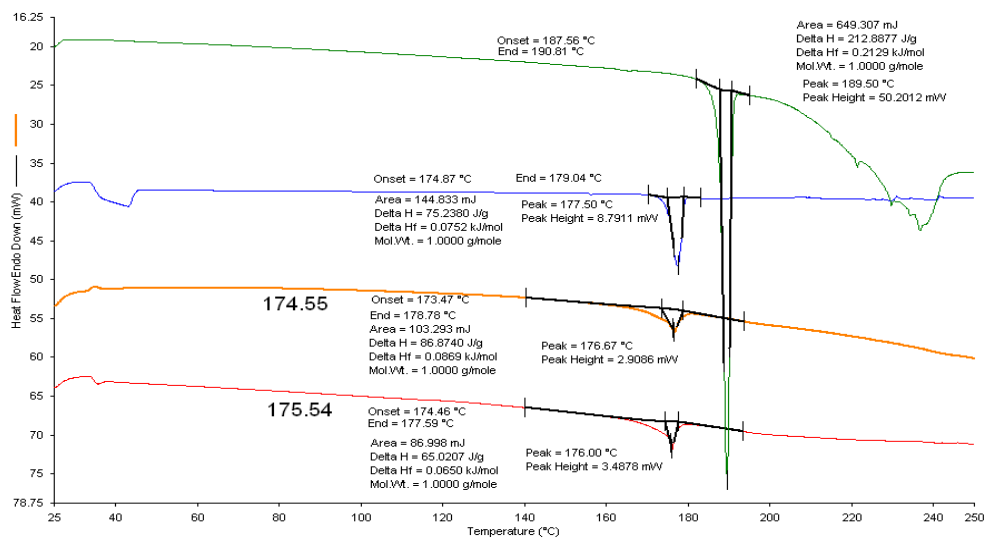


Figura 59. Cocrystal fabricado con la técnica de enfriamiento formado en etanol utilizando ác. succínico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. succínico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y los últimos termogramas representan el experimento 3.1.1

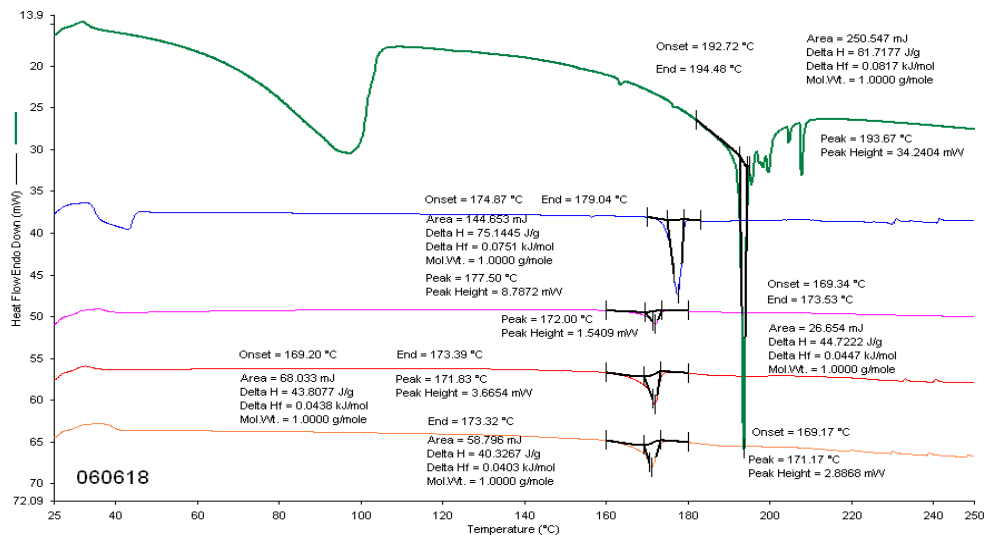


Figura 60. Cocrystal fabricado con la técnica de enfriamiento formado en etanol utilizando ác. oxálico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. oxálico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y los últimos termogramas representan el experimento 3.1.2

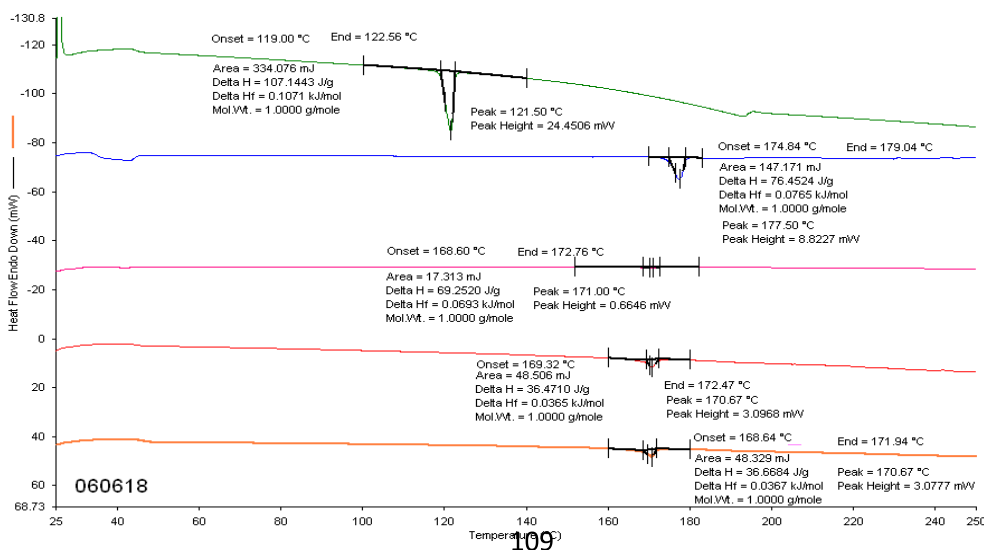


Figura 61. Cocrystal fabricado con la técnica de enfriamiento formado en etanol utilizando ác. benzoico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. benzoico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y los últimos termogramas representan el experimento 3.1.3

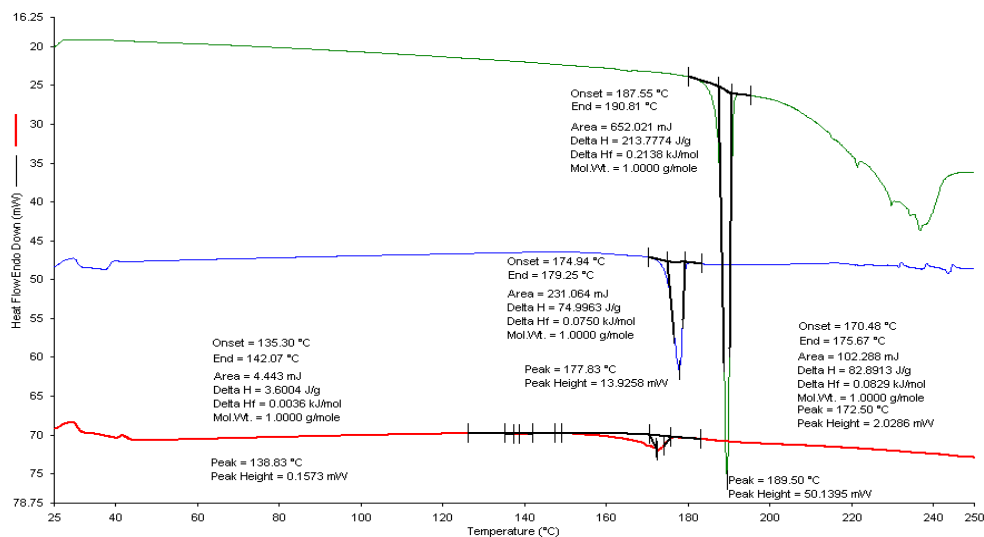


Figura 62. Cocrystal fabricado con la técnica de enfriamiento formado en metanol utilizando ác. succínico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. succínico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y el último termogramas representan el experimento 3.2.1

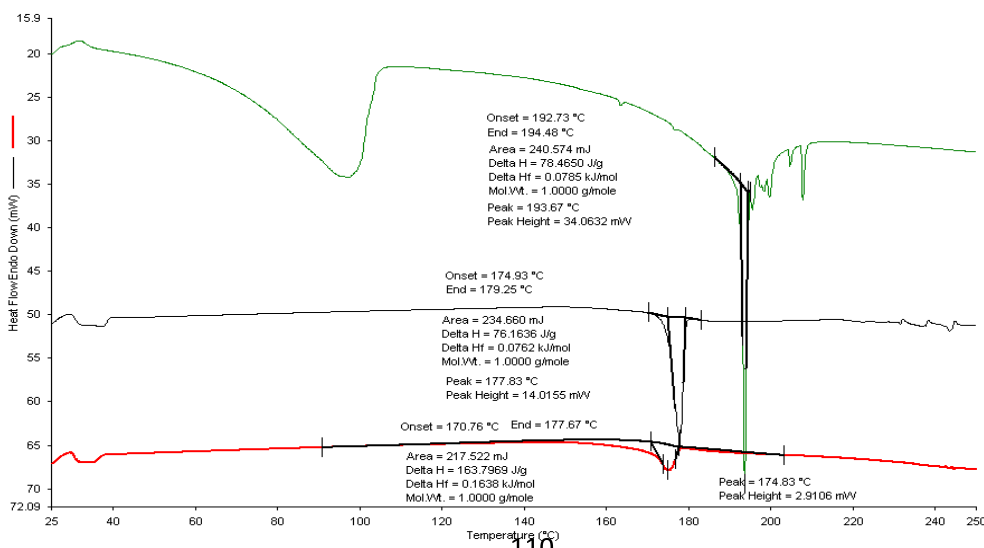


Figura 63. Cocrystal fabricado con la técnica de enfriamiento formado en metanol utilizando ác. oxálico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. oxálico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y el último termogramas representan el experimento 3.2.2

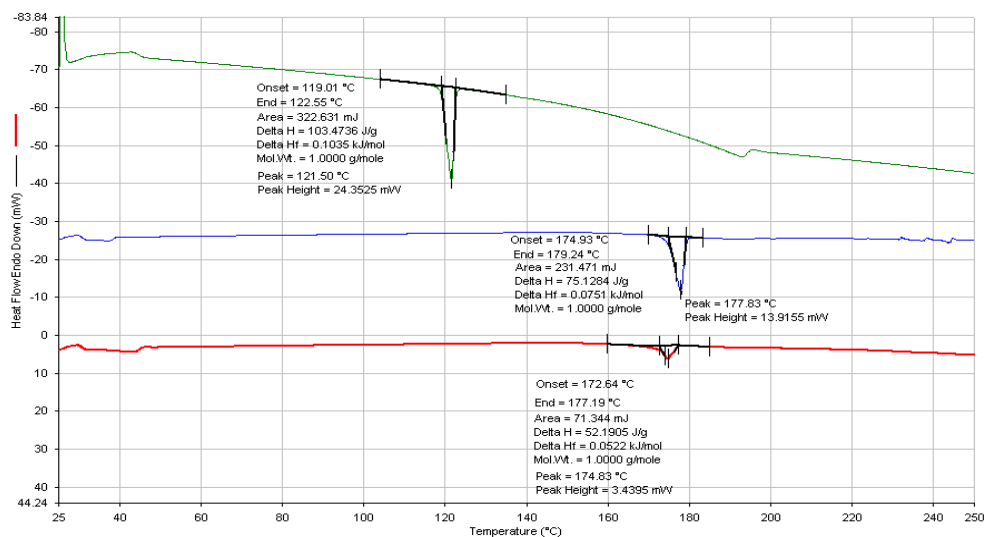


Figura 64. Cocrystal fabricados con la técnica de enfriamiento formado en metanol utilizando ác. benzoico como coformador

El termograma de color verde corresponde al ác. benzoico, el termograma de color azul corresponde a la glibenclamida y el último termogramas representan el experimento 3.2.3

11 Referencias

1. Florence A.T., Attwood D. Physicochemical principles of Pharmacy. J Chem Inf Model. 2013;53(9):99-1689
2. Alvarado-López K. Uso de cocrystal para mejorar la solubilidad y velocidad de disolución de los fármacos. Revista pensamiento actual ,universidad de costa rica. 2015;15(25):15-207
3. Bermúdez J, Simonzzi A, Palma D.S. Dispersiones sólidas:Una estrategia tecnológica para aumentar la velocidad de disolución de fármacos en formas farmacéuticas sólidas. Pharm Technol. 2015;137:64–70
4. Williams HD, Trevaskis NL, Charman SA, Shanker RM, Charman WN, Pouton CW, et al. Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development. Pharmacol Rev [Internet].2013;65(1):315–499. Available from: <http://pharmrev.aspetjournals.org/cgi/doi/10.1124/pr.112.005660>
5. Pineda-del Rey A. M. Utilidad de las ciclodextrinas y derivados en el campo farmacéutico. [Tesis]. Sevilla. Universidad de Sevilla Facultad de farmacia Departamento de farmacia y tecnología farmacéutica. 2017

6. Savjani KT, Gajjar AK, Savjani JK. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. *ISRN Pharm* 2012;2012:1-10
7. Saucedo-Balderas M.M., Zúñiga-Lemus O., Ortegón-Reyna D., González-González J.S. Los cocristales farmacéuticos: Conceptos generales. *An la Real Acad Nac Farm.* 2014;80(2):73-265
8. Almarsson Örn, Zaworotko MJ. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines? *Chem Commun [Internet]*. 2004;(17): pág 1889 - 1896. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b402150a>
9. Sekhon BS. Pharmaceutical Co-Crystals - An Update. *Psychopharmacol Bull.* 1(2):24-39
10. Rodríguez MS, Luna J, Carlucci A, Bregni C. Relación de estabilidad termodinámica relativa entre polimorfos de glibenclamida. *Acta Farm Bonaer.* 2004;23(2):169–75.
11. Sánchez-González E.G., Vázquez-Olvera J. I., Marroquín-Segura R., Espinosa-Contreras C., Hernández-Abad V.J. Importancia de la investigación acerca del estado sólido durante las etapas iniciales del desarrollo de medicamentos. *Rev Mex Cienc Farm.* 2016;47 (3):7-28
12. Amidon G.L., Lennernäs H., Shah V.P., Crison J.R. A theoretical basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm Res.* 1995;12(3):413-419
13. Hickey M., Örn A., Peterson M., Crystal Engineering and crystallography in the pharmaceutical industry. *Cryst Eng Comm.* 2012; 7:2350–2362
14. Sánchez de Dios A.B., Mecanismo de acción y óptima selección de codisolventes en formas farmacéuticas. [Tesis]. Madrid. Departamento de Ciencias Biomédicas Universidad de Alcalá; 2013
15. Sanjay A. N., Shinkar D. M., Bhanudas S.R. Pharmaceutical Cocrystallization: A Review. *J. Adv. Pharm. Edu. & Res.* 2014; 4:388-196
16. Kumar S., Nanda A. Pharmaceutical Cocrystals: An Overview. *Indian J Pharm Sci.* 2017; 79(6):858-871

17. Trask A.V., Motherwell W. D., Jones W. Solvent-drop grinding: green polymorph control of cocrystallisation. *Chem Commun.* 2004;890 – 891
18. Ober C.A., Montgomery S. E., Gupta R.B. Formation of itraconazole/L-malic acid cocrystals by gas antisolvent cocrystallization. C.A. Ober et al. / *Powder Technology.* 2013; (236):122–131
19. Ulloa J.A., Ulloa P., Ramírez J.C., Ulloa B.E. Ultrasonido: aplicaciones en el campo de los alimentos. *Revista Fuente nueva época.*2013;14:1-13
20. Weyna D.R., Shattock T., Vishweshwar P., Zaworotko M.J. Synthesis and Structural Characterization of Cocrystals and Pharmaceutical Cocrystals: Mechanochemistry vs Slow Evaporation from Solution. *Cryst Growth Des.* 2009; 9 (2).1106–1123
21. Vázquez-Olvera J.I. Evaluación del efecto de la solubilidad de polimorfos de glibenclamida en su capacidad de incorporación en implantes fabricados por la técnica sol-gel. [Tesis]. Ciudad de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Laboratorio de Investigación Farmacéutica; 2016
22. Lee A.Y., Erdemir D., Myerson A.S. Crystal Polymorphism in Chemical Process Development. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* 2011; 2:259-280
23. Schultheiss N., Newman A., Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties., *Cryst Growth Des.* 2009; 9 (6)
24. Sugandha K., Kaity S., Mukherjee S., Isaac J., Ghosh A., Solubility Enhancement of Ezetimibe by a Cocrystal Engineering Technique. *Cryst Growth Des.*
25. Gonzales-Álvarez I., Cabrera-Pérez M.A. Bermejo-Sanz M.V. Metodología biofarmacéutica en el desarrollo de medicamentos. Editorial; Universidad Miguel Hernández de Elche. 2015
26. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Center for drug evaluation and research (CDER). Guidance for Industry Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. 1997
27. Secretaría de Salud, Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 11 ed. México; 2014.
28. Royal society of chemistry [Internet]. n.d.Chemspider search and share chemistry .[Consultado el 24,diciembre,2018] Disponible en: <http://www.chemspider.com/DatasourceDetails.aspx?id=130#msds.chem.ox-glyburide>.

29. Alfa Aesar [Internet]. n.d. Alfa Aesar by thermo Fisher scientific .[Consultado el 24,diciembre,2018] Disponible en: <https://www.alfa.com/es/catalog/033272/>
30. LabNetwork Corporate Profile. n.d. WuXi LabNetwork. [Consultado el 24,diciembre,2018] Disponible en: <https://www.labnetwork.com/frontend-app/p/#!/aboutus>
31. Reading M, Craig DQM, editores Thermal Analysis of Pharmaceuticals. EUA: CRC Press;2007.
32. Ymén I., Storey A.R. Solid State Characterization of Pharmaceuticals. United Kingdom: Wiley- Blackwell. 2011.
33. Elangannan A., Gautam R., Roger A., Joanna S., S., et,al. Defining the hydrogen bond: An account (IUPAC Technical Report). Pure Appl. Chem. 2011;83(8), pp. 1619–1636
34. Yoshihashi Y., Kitano H., Yonemochi E., Terada K., Quantitative correlation between initial dissolution rate and heat of fusion of drug substance. International Journal of Pharmaceutics 2000
- 35.-Sekhon BS, Pharmaceutical co-crystals- a review. ARS Pharmaceutica. 2009; 50(3): 99-117
36. Thongnopkoon T, Puttipipatkachorn S. New metastable form of glibenclamide prepared by redispersion from ternary solid dispersions containing polyvinylpyrrolidone K-30 and sodium lauryl sulfate. Drug Dev Ind Pharm. 2015; 1(1):1-10
37. Sanz D, Claramunt RM, Alkorta I, Sánchez Snaz G, Elguero J. The Structure of Glibenclamide in the Solid State. Magn Reson Chem. 2012; 50(1): 246-255