

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA



“Desarrollo de sistemas de liberación sostenida de fármacos antihipertensivos por intercambio iónico utilizando poli(ácido metacrililoiloxi-*o*-benzoico)”

TESIS

que presenta para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS

Q.F.B Víctor Ernesto Gómez Reséndiz

DIRECTOR DE TESIS/ TUTOR:

Dr. José Manuel Cornejo Bravo

CO-DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Aracely Serrano Medina

Tijuana, B.C.

2013

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Biofarmacia de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California, bajo la dirección del profesor – investigador: Dr. José Manuel Cornejo Bravo y la profesora Dra. Aracely Serrano Medina.

Este trabajo fué apoyado por **SEP-CONACYT(CB2010-1-157173)**.

Quiero hacer un especial y afectuoso agradecimiento a mi gran equipo de biofarmacia el cual siempre estuvo en esos momentos difíciles y alegres de mi carrera en licenciatura como en posgrado, muchas gracias por su apoyo, comprensión y paciencia. Le quiero dedicar un muy sincero y honesto agradecimiento al Dr. José Manuel Cornejo Bravo por la confianza durante todos estos años, su amistad, la manera tan paciente de explicar y brindar apoyo. A la Dra. Aracely Serrano Medina le agradezco de manera infinita en involucrarme de manera activa a la investigación y haberme abierto las puertas de su increíble y amorosa amistad, de no ser por ella este trabajo no pudiera ser concebido, por eso y más muchísimas gracias. Le agradezco a mis compañeros de laboratorio: Claudia, Dalia, Héctor, Kenia, María, Arturo, Carolina por su buena disposición en cooperar de uno u otro modo en la realización de esta tesis, me la pasé estupendo con ustedes a mi lado.

Agradezco a mis compañeros de posgrado (Víctor Iriarte Cortéz, Anahí García Rubio, Ethel Cota Armenta, Dulce Gracia, Dalia De Orta, Jesse, Yaneth, Dodier, Luis Flores, Juanita de los Santos, Elizabeth Sanchez, Brenda Alcantar) por su invaluable amistad, este trayecto sin ustedes no hubiera sido el mismo. Muchas gracias a todos mis

maestros por sus instrucciones en clase y fuera de ella, me han servido tanto en lo personal como en lo profesional, Dra. Gabriela Carrillo Cedillo, Dr. Ernesto Vélez, Dr. Juan Cruz, Dr. Raúl Romero. Dr. Manuel Quintana, Dr. Iván Córdova, Dr. Mario Del Valle, MC Evangelina Herrán.

Este trabajo se lo dedico a la mujer más importante en mi vida, Yolanda Reséndiz Félix, que es una guerrera en todo el sentido de la palabra, por ser la que formó la persona que ahora soy y que siempre seré, este escrito es por y para ti mamá.

ÍNDICE

CONTENIDO	Página
Agradecimientos	II
Índice	IV
Lista de figuras	VI
Lista de tablas	VIII
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	
I.1 Antecedentes	1
I.2 Justificación	4
I.3 Objetivos	5
I.4 Objetivos específicos	5
I.5 Meta	5
I.6 Hipótesis	5
I.7 Metodología	6
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	
II.1 Intercambio iónico	8
II.1.1 Proceso del intercambio iónico	10
II.2 Polielectrolitos	11
II.2.1 Polielectrolitos lineales	12
II.3 Resinas de intercambio iónico	13
II.3.1 Método de síntesis	14
II.4 Clasificación de las resinas de intercambio iónico	14
II.4.1 Características de las resinas intercambiadoras	15
II.5 ¿Por qué la necesidad de un sistema de liberación?	16
II.6 Aplicaciones de las resinas	17
II.6.1 Resinas aplicadas a la farmacéutica	18
II.6.2 Resinas comerciales	20
II.7 Recubrimientos entéricos	21
CAPÍTULO III. EXPERIMENTAL	
III.1 Generalidades	23
III.2 Síntesis de monómero (ácido metacrililoiloxi- <i>o</i> -benzoico)	26
III.3 Síntesis de polímero (ácido metacrililoiloxi- <i>o</i> -benzoico)	27
III.4 Determinación del peso molecular del polímero por SLS	28
III.5 Síntesis de la sal de polímero	28
III.6 Síntesis de complejos polielectrolito-propranolol y polielectrolito labetalol	29

III.7 Elaboración de comprimidos	30
III.8 Diseño del método analítico	31
III.8.1 Preparación de la fase móvil para propranolol	31
III.8.2 Preparación de la fase móvil para labetalol	32
III.8.3 Condiciones cromatográficas	32
III.8.4 Linealidad propranolol	33
III.8.5 Linealidad labetalol	33
III.9 Prueba de solubilidad	33
III.9.1 Solubilidad del polímero	33
III.9.2 Solubilidad de los complejos	34
III.10 Cuantificación de fármaco en los comprimidos	35
III.11 Inclusión de lactosa en las tabletas con diferentes porcentajes	35
III.12 Cálculos y preparación de soluciones de recubrimiento	36
III.12.1 Procedimiento de recubrimiento	38
III.12.2 Cálculos involucrados en la cantidad de recubrimiento para cada superficie de la tableta	38
III.13 Preparación de soluciones amortiguadoras	39
III.13.1 Fluido gástrico simulado a pH 1.2	39
III.13.2 Fluido intestinal simulado a pH 6.8	39
III.13.3 Fluido intestinal simulado a pH 7.4	40
III.13.4 Solución amortiguadora con fuerza iónica de concentración 0.3 N	40
III.14 Cinética de liberación del fármaco	40
III.15 Tamaño de partícula por dispersión de luz estática	41
III.16 Determinación del mecanismo de liberación para cada complejo	41

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1 Síntesis de monómero y caracterización	44
IV.2 Síntesis de polímero y caracterización	48
IV.3 Síntesis de complejo polielectrolito-propranolol y caracterización	50
IV.4 Síntesis de complejo polielectrolito-labetalol y caracterización	52
IV.5 Solubilidad	54
IV.6 Cuantificación de fármaco en los comprimidos de propranolol y labetalol	55
IV.7 Tamaño de partícula por SLS	56
IV.8 Cinética de liberación de propranolol	57
IV.9 Cinética de liberación de labetalol	65
IV.10 Determinación del mecanismo de liberación para cada complejo	67

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

REFERENCIAS	71
ANEXOS	74

LISTA DE FIGURAS

1. Ruta de síntesis para la obtención de ácido 2-metacrililoiloxi-*o*-benzoico.
2. Ruta de síntesis para la obtención de poli(ácido 2-metacrililoiloxi-*o*-benzoico).
3. Ruta de síntesis para la obtención de la sal de polímero.
4. Ruta de síntesis para la obtención del complejo polielectrolito-propranolol.
5. Ruta de síntesis para la obtención del complejo polielectrolito-labetalol.
6. Estructura química del ácido metacrililoiloxi-*o*-benzoico
7. Espectro de FT-IR de MAOB.
8. Espectro de ¹H-RMN de MAOB.
9. Espectro de FT-IR del poli(ácido metacrililoiloxi-*o*-benzoico).
10. Mecanismo de reacción de formación del complejo poli(MAOB)-propranolol
11. Espectro de FT-IR del complejo poli(MAOB)-propranolol.
12. Mecanismo de reacción de formación del complejo poli(MAOB)-labetalol.
13. Espectro de FT-IR del complejo poli(MAOB)-labetalol.
14. Distribución del tamaño de partícula del sobrenadante de la disolución del complejo polielectrolito-propranolol a pH 1.2

15. Comparación de los perfiles de liberación del complejo con propranolol.
16. Comparación de los perfiles de liberación con y sin recubrimiento de las tabletas en complejo con propranolol.
17. Comparación de los perfiles de liberación aumentando la fuerza iónica del medio a pH 6.8.
18. Comparación de los perfiles de liberación la inclusión de lactosa en la formulación.
19. Cinética de las liberaciones del complejo poli(MAOB)-propranolol en diferentes condiciones.
20. Comparación de las 3 liberaciones del complejo poli(MAOB)-labetalol.
21. Gráfica de Debye para la determinación del peso molecular de poli(MAOB).
22. Gráfica de linealidad del método analítico para cuantificar propranolol.
23. Gráfica de linealidad del método analítico para cuantificar labetalol.
24. Gráfica de liberaciones de propranolol con desviación estándar.
25. Gráfica de liberaciones de labetalol con desviación estándar.

LISTA DE TABLAS

1. Condiciones cromatográficas utilizadas en el análisis de fármacos.
2. Cálculos para la elaboración de Eudragit® L 12.5
3. Cálculos para recubrir tabletas
4. Cálculos para saber la cantidad de recubrimiento en superficies de tableta.
5. Datos obtenidos del espectro de infrarrojo para el ácido metacrililoiloxi-*o*-benzoico.
6. Datos obtenidos del espectro de RMN-¹H para el ácido metacrililoiloxi-*o*-benzoico.
7. Datos obtenidos del espectro de infrarrojo para el poli(MAOB).
8. Datos obtenidos del espectro de infrarrojo para el poli(MAOB)-propranolol.
9. Datos obtenidos del espectro de infrarrojo para el complejo poli(MAOB)-labetalol.
10. Datos obtenidos de la cuantificación del polímero y los complejos por HPLC.
11. Datos obtenidos de la cuantificación del complejo poli(MAOB)-propranolol y labetalol.
12. Linealidad de la valoración de propranolol
13. Linealidad de la valoración de labetalol.

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN

I.1 Antecedentes

En las últimas décadas se ha estudiado e investigado un sinnúmero de sistemas que permitan liberar un fármaco o principio activo de manera controlada o ser dirigidas específicamente a cierto tejido u órgano del ser vivo. En cuestión de investigación en preparados farmacéuticos se ha logrado un paulatino y constante desarrollo a través del tiempo.¹

En 1850 Thompson y Way fueron los primeros en observar el fenómeno del intercambio iónico cuando descubrieron que la eliminación de amoníaco de soluciones acuosas que se hacían pasar por cierto tipo de suelos era un intercambio iónico de calcio con un silicato que había en el suelo. No fue hasta el año de 1858 que este fenómeno fue comprendido en su totalidad por Henneberg, Stohmann y Eichorn demostrando la reversibilidad del proceso de intercambio. Para 1870, Lemberg estudió la capacidad que poseían las zeolitas como intercambiadoras de iones, esto ayudó a ampliar el conocimiento del proceso.² En el año de 1905 Gans se dio a la tarea de modificar minerales naturales sintetizando silicatos de sodio y aluminio empleados para la eliminación de la dureza del agua, solo que a pH 7 se disolvían y en 1927 se empleó la primera columna de zeolita mineral para eliminar iones calcio y magnesio.⁸

En 1934, los químicos Basil Adams y Eric Colmes llevaron a cabo la primera síntesis de resinas orgánicas mediante la reacción de condensación de fenol y formaldehído, demostrando que estos polímeros orgánicos pueden ser un sustituto a las zeolitas.²⁻³ Para el año de 1939, las compañías químicas y de resinas comenzaron la investigación sobre la síntesis que lograron Adams y Colmes basándose en su patente y desarrollaron más resinas de intercambio iónico para distintos usos en la industria.³

Aproximadamente en 1940, Hohenstein y Mark describieron la polimerización del estireno entrecruzado con divinilbenceno, las cuales forman partículas esféricas más estables a la temperatura que las resinas de condensación. En 1947 McBurney produjo resinas aniónicas de base fuerte, que al ser funcionalizadas con grupos amino terciarios originó aminas cuaternarias, encontrándole aplicación al tratamiento y purificación del agua. D'Alelio incorporó ácido sulfúrico a un polímero de estireno entrecruzado con divinilbenceno para originar resinas catiónicas de ácido fuerte.²

En 1950 Saunders y Srivatsava estudiaron e investigaron la liberación de alcaloides a través de resinas de intercambio iónico y propusieron que se podría liberar fármacos con la ayuda de estas resinas.²⁻⁴

El desarrollo de una amplia variedad de resinas de intercambio iónico ocurrió entre la década de 1960 a 1970 con una significativa mejora en la estabilidad física de las resinas tipo gel.⁵

En la actualidad es bien sabido que existen en el mercado dispositivos formulados para la administración oral que liberan al fármaco en forma controlada. Sin embargo, la mayoría de estos preparados emplean tecnologías muy sofisticadas y que no están al alcance de países en vías de desarrollo y con mercados reducidos que son dependientes de la compra de esta tecnología.¹ Se ha estudiado anteriormente la liberación de fármaco de complejos de poli(carboxialquil metacrilatos), una nueva clase de polielectrolitos y fármacos básicos (propranolol, diltiazem y verapamilo) utilizando tabletas conteniendo diferentes complejos de fármaco-polielectrolito. Se ha observado que solo una pequeña fracción de fármaco es liberada a pH 1.2 principalmente causado por la formación de una capa fina del precipitado del polímero, impidiendo en consecuencia el vaciamiento del

fármaco como se observa en complejos que contienen polielectrolitos hidrofóbicos preparados por copolimerización de ácido metacrílico y un monómero hidrofóbico no ionizable (alquil metacrilato). Además, se ha encontrado que el índice de hidrofobicidad fue un determinante en la liberación de fármaco a pH 7.4. Para extender el conocimiento respecto a la aplicación de poli(carboxialquil metacrilato) como acarreadores de liberación de fármaco sitio específico por acción de pH, se ha realizado una cinética de liberación a diferentes valores de pH. La liberación de propranolol de complejos con poli(ácido metacrililoiloxipentanoico) (Pn 4), poli(ácido metacrililoiloxioctanoico) (Pn7) o poli(ácido metacrililoiloxiundecanoico) (Pn 10) los cuales fueron estudiados a pH 6.8 y 8. Adicionando, el papel del índice de hidrofobicidad de la liberación de fármaco fue estudiada usando un complejo hecho por Pn 4 (el electrolito con menor hidrofobicidad) y labetalol (el fármaco con menor solubilidad). Finalmente, el efecto en la liberación de fármaco también fue estudiado utilizando complejos hechos por Pn 4-labetalol y Pn 10-propranolol.⁶

Otros sistemas fuertemente catiónicos, como el poli(clorhidrato de trietilamino etil metacrilato/metilmetacrilato)[PTEEAEC/MMA]y poli(clorhidrato de metacrilamidopropil trimetilamonio/metilmetacrilato) [PMAPTAC/MMA] también tiene un perfil similar de liberación que fue dependiente de las propiedades del polímero y el fármaco, más que otras condiciones externas. La liberación de fármaco de acarreadores fue dependiente de las propiedades del fármaco que se le adjuntó, como pka, solubilidad del fármaco (en el caso de PTMAEMC/MMA) y el tipo de aminas utilizadas (en el caso de PSPMK/MMA). Valdría la pena desarrollar polímeros que fueran menos sensibles al tipo de fármacos catiónicos y sus solubilidades.⁷

I.2 Justificación

Durante el 2007, en México, poco más de 87 000 personas fallecieron a causa de alguna enfermedad del corazón. En el mundo, las enfermedades cardiovasculares cobran 17.5 millones de vidas al año. Principalmente en la población de 65 años y más se manifiestan las enfermedades cardiovasculares. En los varones, son mayores los porcentajes de infarto agudo al miocardio y enfermedad isquémica crónica del corazón, en comparación con las mujeres. Sin embargo en las mujeres, se muestran mayores porcentajes para la hipertensión y otras enfermedades cerebro vasculares, en comparación con los varones.

Actualmente se administran diferentes medicamentos para tratar de controlar la hipertensión arterial, sin embargo, como desventaja que tienen algunos medicamentos, tal es el caso de propranolol, que cuenta con una vida media de 3 a 5 horas, es necesario estar administrándolo de forma oral varias veces, al igual que labetalol, teniendo una vida media de 5 a 8 horas. Por tal motivo, es necesario implementar o desarrollar un sistema que permita una farmacoterapia más efectiva, tratando de superar las desventajas que existen y mejorar el tiempo de residencia del fármaco en el cuerpo.

El siguiente proyecto tiene como fin el de desarrollar un sistema de liberación controlada para un tratamiento oral con un antihipertensivo utilizado como modelo (labetalol, propranolol) que logre mantener su efecto terapéutico durante un tiempo prolongado y tener la seguridad de que su efecto tenga lugar en el sitio de acción, además, de tener como ventaja que el sistema de liberación controlada no forme un gel insoluble, que sea fácil de administrar y a un bajo costo.

I.3 Objetivo general

Síntesis y elaboración de un sistema de liberación sostenida por intercambio iónico utilizando al poli(metacrililoiloxi-*o*-benzoico) en complejo con fármacos antihipertensivos modelo.

I.4 Objetivos específicos.

- Síntesis y caracterización del ácido metacrililoiloxi-*o*-benzoico (MAOB).
- Síntesis y caracterización del poli(ácido metacrililoiloxi-*o*-benzoico) poli(MAOB).
- Preparación de tabletas utilizando complejos poli(MAOB)-fármacos antihipertensivos como el propranolol y labetalol.
- Caracterización de los complejos formados utilizando FT-IR
- Estudios de liberación controlada de los complejos sintetizados.

I.5 Meta

Demostrar que se puede desarrollar un eficiente sistema de liberación sostenida de fármacos antihipertensivos en complejo con un polielectrolito catiónico de ácido débil.

I.6 Hipótesis

Un complejo constituido por un polielectrolito ácido tiene la capacidad de hacer más efectiva la carga de fármacos catiónicos así como la liberación prolongada.

I.7 Metodología

1. Síntesis de ácido metacrililoiloxi-*o*-benzoico (MAOB).
2. Caracterización de MAOB utilizando FT-IR y RMN-¹H.
3. Síntesis de polimerización de ácido metacrililoiloxi-*o*-benzoico (poli-MAOB).
4. Caracterización de poli(MAOB) por FT-IR.
5. Preparación de complejos fármaco-polielectrolito.
6. Caracterización de complejos fármaco-polielectrolito por FT-IR.
7. Elaboración de comprimidos.
8. Diseño del método analítico para cada fármaco por HPLC.
9. Cinética de liberación de tabletas en complejo con propranolol y labetalol.

CAPÍTULO II
MARCO TEÓRICO

II.1 Intercambio iónico.

La interacción entre las ciencias de los materiales y las ciencias farmacéuticas ha permitido que la tecnología para la obtención de innovadores sistemas de liberación de fármacos sea llevada a un nivel superior con el resultado de conseguir el diseño y la síntesis de los llamados materiales inteligentes por su capacidad de estímulo frente a ciertas condiciones fisiológicas.⁸ La tecnología de la liberación de fármacos representa una de las áreas de mayor crecimiento en los últimos años y en la cual muchos científicos han aportado sus ideas y avances para el cuidado de la salud humana.

Tales sistemas de liberación ofrecen una gran variedad de ventajas con respecto a la administración de fármacos que comúnmente se emplean, como son, la alta eficiencia que puede llegar a presentar el sistema, la baja toxicidad y la comodidad del paciente. Todos los sistemas de liberación controlada tienen en común el de mejorar la terapia farmacológica del paciente, esta mejora se puede traducir en aumentar la actividad farmacológica y reducir el número de efectos secundarios, también el de reducir el número de dosificación que originalmente se receta y cambiarla por una dosis única manteniendo concentraciones plasmáticas dentro de la ventana terapéutica. Una amplia gama de mecanismos se han empleado en la liberación de fármacos utilizando polímeros, esta diversidad es consecuencia de los fármacos que imponen restricciones sobre el sistema de liberación que se emplea, por ejemplo, un fármaco que será liberado en el estómago de un paciente donde las condiciones de pH y ambiente ácido, va a requerir un sistema muy diferente al que se necesita para liberar en el torrente sanguíneo donde debe ser pulsátil. Se debe considerar el diseño del polímero para la liberación del fármaco, si se pretende recuperar de nuevo o no el sistema después de la administración. Pueden ser excretados

directamente por el riñón o ser biodegradados en moléculas más pequeñas y posteriormente excretadas.⁹

El intercambio iónico ha sido extensamente estudiado como medio de liberación controlada de fármacos de complejos de polielectrolito-fármaco con cargas opuestas. Este mecanismo también ha sido utilizado para inhibir la liberación de fármaco en medio ácido para evitar los efectos adversos del aparato gastrointestinal.⁶⁻⁹ Las resinas de intercambio iónico son básicamente polímeros insolubles, tales como polímeros de poliestireno o polimetacrilato que contienen grupos no ionizables, por lo que han sido ampliamente utilizados como adsorbentes para la purificación del agua.

Saunders y Srivatsava⁶ sugirieron que las resinas de intercambio iónico pueden ser utilizadas para formulaciones de liberación controlada. La tasa de liberación de fármaco del resinato (complejo fármaco-resina) depende de la fuerza iónica y el pH del sitio de liberación de fármaco. Esa es la razón mediante la cual el resinato libera el fármaco en forma controlada.

Los resinatos pueden ser administrados en cápsulas, recubiertos con polímeros de liberación controlada, comprimidos en pastillas, y dispersos en líquidos. El fármaco unido a la resina de intercambio iónico no puede extraerse fácilmente en agua y alcohol, y es difícil de oler.⁴ Estos materiales forman complejos insolubles en agua con fármacos de carga opuesta. Dichos complejos pueden ser formulados como tabletas para obtener un mecanismo combinado de liberación entre erosión de la tableta e intercambio iónico con las sales del medio.¹⁰

II.1.1 Proceso del intercambio iónico.

El intercambio iónico se define como una reacción química reversible, se produce cuando el ión de una disolución llamado contraión, se intercambia por otro que se encuentra atrapado en una matriz sin modificar la estructura del sólido. El intercambiador de iones es considerado como un electrolito inmovilizado o fijo sobre un sólido poroso llamado matriz, que tiene la propiedad de ser insoluble. El ión fijo proporciona la característica del intercambiador, si se trata de una resina aniónica o catiónica.



En este esquema se representa a A^* como el ión inmovilizado en la matriz polimérica, a B^- como el ión en disolución, cuando se lleva a cabo el intercambio iónico, ahora el ión de la disolución queda fijo en la matriz mientras que el ión que estaba inmovilizado ahora está en disolución.²

Por lo general el sólido utilizado es un material sintético con un alto poder de intercambio iónico. En la naturaleza existen diversas sustancias con capacidad de intercambio iónico como la sílice, la celulosa, la lignina y el vidrio.

En la actualidad el intercambio iónico se ha vuelto un valioso proceso de conversión química, su utilización a nivel industrial se ha extendido más que nada en los procesos de desmineralización del agua.

II.2 Polielectrolitos.

Los polielectrolitos han sido extensamente evaluados como acarreadores para liberaciones controladas de fármacos iónicos. Los polímeros a base de ácido salicílico pueden ser utilizados como agentes quelantes selectivos y pueden formar estructuras ordenadas. En general, la mayoría de los derivados poliméricos de ácido salicílico son polielectrolitos aromáticos debido a sus grupos ionizables en el ácido benzoico.¹¹ Los polielectrolitos son polímeros que soportan grupos cargados a lo largo de la cadena macromolecular, esta característica los ha llevado a diversas aplicaciones en las últimas décadas, por ejemplo como instrumentos para la liberación controlada de fármacos, además de aplicaciones en cirugía y medicina. Para la mayoría de estas aplicaciones, particularmente en el área de liberación controlada, la característica más importante es la habilidad de los polielectrolitos débiles para cambiar su grado de ionización en respuesta a los cambios de las condiciones del medio, tal como el pH y la fuerza iónica. En algunos casos, el cambio en el grado de ionización lleva a una transición del polímero, de un estado extendido (disuelto) a un estado colapsado (precipitado) en solución.

Las condiciones de la transición dependen de la densidad del polímero cargado, la constante de acidez de los monómeros ionizables y el balance hidrofóbico/hidrofílico de la cadena polimérica.¹¹ El cargado puede incrementarse o descender dependiendo de la composición del acarreador polimérico, esto es el número de grupos funcionales iónicos que pueden unirse al fármaco, una vez que el fármaco es liberado, el polímero se disuelve. Nujoma y Kim⁷ reportaron que una liberación de cinética lineal de fármacos catiónicos cargados en tabletas a base de copolímeros fuertemente aniónicos como de poli(sulfopropilmetacrilato de potasio / metilmetacrilato) [PSPMK/MMA], la liberación de

fármaco es independiente del pH y de la fuerza iónica del medio de liberación, esto para fuerzas iónicas mayores a 0.1 M.

II.2.1 Polielectrolitos lineales

Recientemente han sido utilizados a los polielectrolitos lineales como acarreadores, puesto que siguen una cinética de pseudo orden cero de reacción obtenida gracias a una sincronía entre el intercambio iónico del fármaco y la erosión del sistema de liberación.⁶

Algunas propiedades de los polielectrolitos pueden modificarse cambiando la estructura del monómero, copolimerizando con otros monómeros o mezclando al polielectrolito con otros materiales. Nandini Konar, Cheng-Ju Kim¹¹⁻¹² reportaron la síntesis de los derivados de ácido metacrílico con espaciadores alifáticos, con el fin de proteger a los carboxilatos con grupos metilo, así como la caracterización del mismo y una conversión para crear nuevos polielectrolitos.⁷ Para la aplicación farmacéutica es necesario que el material tenga cierto grado de hidrofobicidad, medida como la capacidad de los materiales para absorber vapor de agua, de tal forma que los complejos con fármacos sean insolubles en agua pura de manera que puedan ser recuperados, y para que el proceso de hidratación del complejo en las formas farmacéuticas sea lento, permitiendo una liberación prolongada de fármaco.¹⁰ Para poder erosionar de manera lenta al acarreador, necesita de ser soluble, esto es posible mediante una preparación de copolimerización entre un monómero hidrófilo con uno hidrofóbico, para tal fin, previos estudios han investigado el efecto del índice de hidrofobicidad del acarreador en la liberación controlada de fármacos utilizando complejos a base de electrolitos con menor hidrofobicidad, por ejemplo el uso de poli(ácido metacrililoiloxipentanoico) [Pn 4] con labetalol, un fármaco hidrofóbico.⁷

II.3 Resinas de intercambio iónico.

Las resinas de intercambio iónico son polímeros insolubles de alto peso molecular que contienen grupos funcionales ácidos o básicos además de poseer la habilidad de intercambiar contraiones de una solución acuosa que rodea a la resina.²⁻¹³

Esta estructura suele estar constituida por polímeros de la familia de los estirenos, los divinilbencenos o incluso de los polímeros acrílicos o metacrílicos, que aseguran la insolubilidad en agua de la resina y actúan como soporte de los grupos funcionales, caracterizando así las propiedades de la resina. Asimismo esta estructura macromolecular confiere a estas resinas características mecánicas de resistencia al impacto, a la fricción, a la compresión, a la elasticidad y de resistencia química y térmica que permiten soportar los diversos requerimientos durante su empleo.

Anteriormente se mencionó que los intercambiadores iónicos son materiales sólidos, que pueden contener cationes, aniones o grupos quelantes. Hay tres formas de generar estos materiales.

- a) Polimerizar un monómero previamente funcionalizado.
- b) Injertar un polímero previamente preparado con algún grupo funcional.
- c) Modificar un polímero entrecruzado a través de una reacción química.

El copolímero comercialmente más usado en resinas de intercambio es el estireno (St) divinilbenceno (DVB); presentan una mayor estabilidad térmica y mecánica que otros copolímeros, arriba de 150 °C; también poseen una estructura porosa en estado seco.

II.3.1 Método de síntesis

El método más común es el que se prepara por copolimerización entre dos monómeros hidrocarbonados (estireno y divinilbenceno).

El estireno forma un polímero en dos dimensiones, lineal y soluble, y la copolimerización con el DVB produce entrecruzamiento que une las cadenas y forma un polímero insoluble. Variando el contenido de DVB, el hinchamiento y el entrecruzamiento se puede ajustar, una manera de indicar el grado de entrecruzamiento es cuantificando la cantidad de DVB que se ha utilizado. Los productos comerciales usualmente contienen entre un 40-50 % de isómeros de DVB y un 45-60% de estireno. Como regla, el DVB se utiliza como agente entrecruzante.¹³

II.4 Clasificación de las resinas de intercambio iónico

Dependiendo del pKa del grupo funcional que la resina contenga, se va a clasificar de la siguiente forma: A estas dos resinas se les denomina resina de intercambio catiónico ya que el ion móvil es un catión.

a) Resina catiónica de ácido fuerte: Se produce por la sulfonación de ácido sulfúrico, donde el grupo químico $-\text{SO}_3\text{H}$ está presente en la matriz polimérica.

b) Resina catiónica de ácido débil: el grupo funcional será un ácido carboxílico COOH , y que es generado principalmente del ácido acrílico o metacrílico.

A estas dos resinas se les denomina resina de intercambio aniónico ya que el ion móvil es un anión.

c) Resina aniónica de base fuerte: el grupo funcional es una sal de amonio cuaternario.

- d) Resina aniónica de base débil: se obtiene a partir de aminas primarias, secundarias y terciarias, presentan buena capacidad de adsorción para ácidos fuertes pero se observa una cinética lenta.²
- e) Intercambiadores selectivos: quelantes.
- f) Intercambiadores de iones para aplicaciones en disolventes orgánicos: catálisis heterogénea.
- g) Intercambiadores de iones con poder adsorbente.

II.4.1 Características de las resinas intercambiadoras

Las características ideales de una resina intercambiadora de iones es que deben estar finas y libres de polvo, el tamaño de partícula debe estar en el rango entre 25-150 μm , debe de ser capaz de intercambiar iones o grupos iónicos completos, deben ser insolubles en todos los solventes y en todos los rangos de pH, no deben de ser absorbidas por el cuerpo.¹⁴

Una característica importante de mencionar es que se forman grupos ionizables a lo largo de la cadena de la resina. En cuanto a las propiedades esenciales que se deben de considerar en la resina de intercambio iónico es el entrecruzamiento, ya que este tiene gran efecto en la estructura física, porosidad e hinchamiento de la resina, si se baja el grado de entrecruzamiento la resina va a aumentar su tamaño por la entrada de agua incrementando el hinchamiento pero si se incrementa el entrecruzamiento, se endurecerá la resina. El tamaño de partícula es una propiedad que es de vital importancia, ya que, a menor tamaño de partícula, mayor es la velocidad de intercambio iónico. El pH es una determinante en la eficiencia de carga de fármaco y en el intercambio que pudiera llegar a suceder en la resina, un exceso de H^+ en la solución disminuye el acomplejamiento entre resina y fármaco. La

forma en la cual la resina se sintetiza es importante, ya que las de tipo protonada tiene una capacidad mayor de carga al fármaco por la acción de que se obtienen a pH's más bajos que las de tipo sodio.

El tiempo de agitación demostró que puede obtenerse un alto grado de carga de fármaco en la resina porque existe un fenómeno de absorción en la superficie.¹⁴

II.5 ¿Por qué la necesidad de un sistema de liberación?

La tecnología de la liberación de fármacos representa una de las áreas de mayor crecimiento en los últimos años y en donde muchos químicos e ingenieros químicos han aportado sus ideas y avances para el cuidado de la salud humana. No es de sorprenderse que con el avance tecnológico que hoy en día se emplea en distintas áreas de las ciencias, tengan un especial enfoque en cuanto al tratamiento farmacológico se refiere, novedosos y muy versátiles sistemas han permitido una posología más estricta y con más conciencia en cuanto a dosificación se refiere, no solo a terapia en sí, sino en el verdadero compromiso que los especialistas en salud tienen hacia los pacientes en cuanto a mejorar la salud se refiere.

Un sistema de liberación no solo permite una reducción de dosis al día, sino una disminución en efectos adversos, una mayor capacidad de liberación del principio activo al tejido u órgano que se desea restaurar, y no solo de manera específica sino que también controlada al predecir la fracción de fármaco que está siendo liberada a un tiempo en concreto. La necesidad de un sistema de liberación controlada de fármaco permitirá en un futuro no muy lejano el desarrollo de nuevos y mejores sistemas que ayuden a la humanidad a recobrar el estado de salud que nos corresponde por derecho y así poder combatir con los diversos factores químicos/biológicos que nos acechan día con día.

II.6 Aplicaciones de las resinas

Las resinas han sido utilizadas ampliamente para el tratamiento de aguas, ya que estas han remplazado a materiales naturales haciendo más fácil su utilización y empleando materiales de laboratorio menos voluminosos. Se han utilizado también en la producción de coloides que es el método general para la obtención de sales orgánicas y las resinas en este campo ofrecen la ventaja de que la sal que se obtiene no sufre la precipitación de electrolitos. Se ha reportado el uso de resinas en la fase heterogénea de una purificación donde se utiliza un catalizador que se pueda separar por medios físicos. Las resinas de intercambio iónico tienen aplicación en procedimientos de purificación o de concentración que forman parte de un gran número de métodos analíticos. Estas resinas también permiten reducir el número de sales y componentes orgánicos con ausencia de azúcar en soluciones, todo esto aplicado al proceso de refinado del azúcar. Pueden servir para la desmineralización, decoloración de productos farmacéuticos, para el desarrollo de sistemas de liberación, para aislar y concentrar antibióticos, aminoácidos, pesticidas y hormonas.

II.6.1 Resinas aplicadas a la farmacéutica

En farmacia, la mayoría de los sistemas de transporte y liberación modificada están basados en sistemas poliméricos que engloban al principio activo en su interior.

La velocidad de liberación está controlada por las propiedades del polímero, y de otros factores como el pH del medio de la disolución. Teniendo en cuenta estos factores, es posible conseguir sistemas de liberación que actúen de manera lenta y continua durante largos periodos de tiempo. Además de que estos sistemas poliméricos ofrecen la ventaja de

que son capaces de mantener las concentraciones plasmáticas de fármaco dentro de niveles terapéuticos.¹⁵

Las resinas intercambiadoras de iones se han utilizado como acarreadores de fármacos para mantener y liberar el fármaco del complejo por aproximadamente 8-12 horas en el tracto gastrointestinal. La liberación de fármaco del complejo depende del ambiente iónico, tal como, el pH o la concentración electrolítica del tracto GI y así como también de las propiedades de la resina.

La formación del complejo puede incrementar la estabilidad del fármaco protegiéndolo de la hidrólisis y de enzimas que lo puedan degradar además de que le brinda una mejora al sabor de la formulación, lo hace más agradable.

El complejo fármaco-resina se prepara mezclando la resina con una solución de fármaco dejándolo en contacto por un tiempo prolongado en el contenedor, una vez hecho este paso, se lava la resina y se seca. Lo que sucede es que las moléculas de fármaco que tienen contacto con la resina se intercambian por iones apropiados que están en contacto con grupos iónicos intercambiables. Las moléculas de fármaco difunden fuera de la resina y la velocidad de difusión está controlada por el área de difusión, la velocidad de liberación de fármaco va a depender de la formulación utilizada.

La utilización de estas resinas para prolongar el efecto de los fármacos esta basado en el principio de que fármacos con cargas positivas o negativas combinados con las resinas apropiadas crean resinatos implicando una liberación lenta del principio activo.

La ruta mas estudiada de administración para estas resinas ha sido la oral, ya que tiene la capacidad de pasar aproximadamente 2 horas en medio gástrico con pH de 1-2, después, estas resinas pasan al intestino, donde por seis horas o mas, están en contacto con

fluidos ligeramente básicos y una fuerza iónica equivalente a 0.1 N de NaCl, el fármaco puede ser liberado lentamente por intercambio con iones sodio o cloruro presentes en el tracto GI.¹³

Como ejemplos de dosificación basadas en la incorporación de principios activos a polímeros se pueden citar a los geles hidrófilos, estos proporcionan al producto mejoras organolépticas; las microcápsulas o nanocápsulas, estas protegen al principio activo frente a la humedad u oxidación, mejoran el sabor y separa materias incompatibles entre si; comprimidos matriciales y comprimidos flotantes, prolongan el tiempo de tránsito gástrico e intestinal. Para que un fármaco pueda ser considerado en una formulación de liberación controlada, especialmente en una formulación con resinas, debe presentar ciertas condiciones, como: debe ser un fármaco que en su estructura química presente grupos ácidos o básicos, el tiempo de vida media debe oscilar entre 2- 6 h, deben presentar un estabilidad en el jugo gástrico de otra manera la efectividad de la terapia decrecería significativamente.¹³

II.6.2 Resinas comerciales

El sistema Pennkinetic fue patentada originalmente por la corporación Pennwalt, en el cual utilizan dos tipos de sistemas de liberación, el de intercambio iónico y un control de difusión mediante membrana. Este sistema se elabora haciendo reaccionar un fármaco en su estado iónico con una matriz polimérica, este complejo se somete a polietilenglicol 4000, impartiendo plasticidad y estabilidad al complejo, el recubrimiento se adiciona por aire (spray) y es de etilcelulosa para crear un recubrimiento insoluble en agua pero iónico y permeable al fármaco.

La concentración iónica en el tracto GI es consistente, los fármacos liberados por el sistema Pennkinetics es muy preciso y no se ve afectado por el pH, la temperatura o por algún contenido en estómago o intestino.

Por estas características, Pennwalt ha utilizado este sistema para liberar una variedad de fármacos para hacerlos de larga duración. Su primer producto fue delsym, un fármaco inhibidor de la tos que contiene dextrometorfano, lo liberaron a un tiempo de 12 horas. Pennwalt también introdujo al mercado productos para la tos en liberaciones de 12 horas como el corsym y el factor de frío 12, estas son preparaciones antihistamínicas y descongestionantes, emplean el mismo sistema de liberación para suministrar clorfeniramina y fenilpropanolamina.

En adición de prolongar y hacer mas precisa la liberación controlada, los sistemas Pennkinetics hacen al fármaco insaboro, lo que es de gran ayuda en enmascarar el sabor amargo de muchos fármacos, especialmente en formulaciones pediátricas.³⁻¹³

II.7 Recubrimientos entéricos

El principio de recubrimiento se puede aplicar a gránulos, microesferas y a toda una tableta, y la liberación del fármaco dependerá de la degradación y permeabilidad del recubrimiento lo cual es dependiente de su formulación y su densidad.¹³

La absorción del fármaco de la resina recubierta va a ser consecuencia de la entrada de contraiones en la resina, la liberación de iones de fármaco del complejo fármaco resina se va a producir por el proceso de intercambio iónico y la difusión de estos iones de fármaco a través de membrana para llegar al ambiente líquido en donde se pretenda liberar.

Comúnmente se utilizan materiales para recubrir que son insolubles en agua como las ceras y etilcelulosa. La velocidad de liberación deseada se puede ajustar tan solo con el hecho de optimizar el grosor del recubrimiento.

El recubrimiento se puede lograr con una suspensión en aerosol, por una polimerización interfacial, por la evaporación del solvente o por recubrimiento en lote.⁴

CAPÍTULO III

EXPERIMENTAL

III.1 Generalidades

Equipos y reactivos utilizados.

a) Equipos

1. Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC)

El equipo utilizado HPLC es de la marca Perkin Elmer y consta de una columna de separación de lecho mezclado conectada en serie, Supelco LC-8, tamaño 5 μm x 15 cm x 4.6 mm. Esta columna se utilizó para los análisis de cuantificación de

propranolol, para los análisis correspondientes en labetalol se utilizó una columna de la marca Agilent Eclipse XDB-C18 5 μm x 15 cm x 4.6 mm. Detector UV-Vis, Software Turbochrom Navigator Advanced LC Sampler Processor ISS 900.

2. Resonancia magnética nuclear de protón (RMN- H^1)

El equipo utilizado es un Bruker de 200 MHz. Los análisis se realizaron a temperatura ambiente y se utilizó como disolvente al CDCl_3 .

3. Espectrofotómetro de infrarrojo con transformadas de Fourier (FT-IR)

El equipo utilizado de IR es de la marca Perkin Elmer Spectrum GX. Número de barridos: 8, de 450 a 4000 cm^{-1} , resolución 4, intervalo de 2.0 cm^{-1} , los análisis realizados fueron hechos con pastillas de KBr.

4. Dispersión de luz estática (SLS)

Equipo Zetasizer Nano-ZS series, de marca Malvern Instrument, modelo ZEN3500 con laser verde de 520 nm. Para evaluar la medida del peso molecular se requiere una serie de concentraciones a ser medidas, la primera un estándar para establecer una referencia y después la serie de concentraciones menores a 1g/L con metanol como diluyente y las soluciones filtradas con miliporo de 0.2 μm de diámetro.

5. Potenciómetro

Se utilizó un medidor de pH 430 Corning, para preparar los buffers de diferentes pH.

6. Disolutor

Se utilizó el disolutor de marca Distek System para las liberaciones de cada comprimido a una temperatura de 37 $^\circ\text{C}$, con 75 RPM con el método de paletas.

7. Agitador magnético

Se utilizó el agitador magnético de marca VWR Dyla-Dual para las diferentes preparaciones de monómero, polímero, complejos, fases móviles y soluciones amortiguadoras.

8. Balanza analítica

Se utilizó la balanza analítica Denver Instrument M-200 para pesar las distintas cantidades en la síntesis de todas las especies químicas utilizadas en este trabajo.

9. Ultrasonido

Se utilizó el ultrasonido marca Branson para desgasificar las soluciones amortiguadoras, la fase móvil y las muestras ha analizar en el HPLC.

b) Reactivos y solventes

- 1 Clorhidrato de propranolol (Sigma-Aldrich Inc.)
- 2 Clorhidrato de labetalol (Sigma-Aldrich Inc.)
- 3 Ácido clorhídrico 38% (HCl) (Sigma-Aldrich Inc.)
- 4 Anhídrido metacrílico (Sigma-Aldrich Inc.)
- 5 Cloruro de sodio (NaCl) (J.T. Baker)

- 6 Fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) (Productos Químicos Monterrey S.A. de C.V.)
- 7 Fosfato de sodio dibásico anhidro (NaHPO_4) (Mallincrodt)
- 8 Fosfato de sodio monobásico ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (Mallincrodt)
- 9 Hidróxido de sodio (NaOH) (J.T. Baker)
- 10 Sulfato de magnesio anhidro (MgSO_4) (Spectrum Chemical Mfg. Corp.)
- 11 Metanol (Productos Químicos Monterrey S.A. de C.V.)
- 12 Éter etílico (Productos Químicos Monterrey S.A. de C.V.)
- 13 Metanol grado HPLC (Spectrum Chemical Mfg. Corp.)
- 14 Acetona
- 15 Éter de petróleo
- 16 Agua

Gases

1. Argón y nitrógeno grado alta pureza (INFRA S.A. de C.V.)

III.2 Síntesis de monómero (ácido metacrililoiloxi-*o*-benzoico)

Se realizó la síntesis del monómero MAOB según la ruta de síntesis mostrada en la Figura 1. Previamente reportada por Licea et. al.¹¹⁻¹²

Se acondicionó un equipo compuesto por un matraz bola de 100 ml al cuál se le adaptó un septúm, este sistema se colocó sobre un baño de hielo con NaCl y metanol

para obtener una temperatura por debajo de 0°C. Se realizó una solución compuesta de 6.91g (50 mmol) de ácido salicílico y 0.49g (4 mmol) de catalizador 4-dimetilaminopiridina (DMAP) en 8.42 ml de trietilamina y 20 ml de diclorometano, esta solución se llevó a 0°C y con agitación constante hasta que la solución quedará lo mas homogéneamente posible, posteriormente se adicionó gota a gota 7.50g (50 mmol) de anhídrido metacrílico por goteo lento con la ayuda de una bomba de adición, manteniendo la temperatura por debajo de 0°C. Para realizar la purificación del monómero, en un embudo de separación se realizaron 4 extracciones con 100 ml de HCl 2 N para neutralizar el exceso de trietilamina. Se recuperó la fase orgánica la cual se secó con sulfato de magnesio, posteriormente el producto se purificó por recristalización con una mezcla de éter de petróleo/ éter etílico 70:30. El sólido obtenido se filtró al vacío y se lavó con 150 ml de agua a 40°C y 150 ml de agua a 25°C por al menos 4 veces intercaladamente. Se obtuvo un polvo blanco y se caracterizó mediante FT-IR, RMN de protón y de carbón.

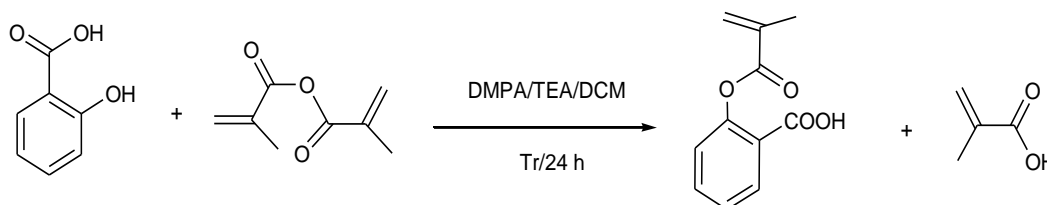


Figura 1. Ruta de síntesis para la obtención de ácido metacrililoixi-*o*-benzoico.

III.3 Síntesis de polímero de (ácido metacrililoixi-*o*-benzoico)

Se realizó la síntesis del polímero según la ruta de síntesis mostrada en la Figura 2. Vía radicales libres en *p*-dioxano como disolvente y utilizando AIBN como iniciador, previamente reportado por Licea et. al¹¹⁻¹²

En un matraz Schlenck de 100 ml se mezclaron 0.5 g de monómero (2.43 mmol) y 4.25g X 10⁻³ g de iniciador (AIBN) (1% mol). A esta mezcla se le añadió 3 ml de *p*-dioxano para tratar de disolver y homogenizar la solución con la ayuda de agitación constante y manteniendo una temperatura de 0⁰C hasta completar la disolución. El matraz Schlenck fue desgasificado a -40⁰C al menos 5 veces con la ayuda de un baño de acetona-hielo seco y desgasificado con argón, para obtener una solución libre de oxígeno al momento de tapar y sellar el matraz con el septum correspondiente. La polimerización se llevó a cabo a 70⁰C por 72 horas para asegurar el máximo rendimiento de la reacción. El contenido del matraz es vertido en un exceso de éter de petróleo para precipitar el producto y purificado en la mínima cantidad de *p*-dioxano, seguido de una precipitación con éter de petróleo (al menos 5 veces). Finalmente el polímero es secado a vacío a 35⁰C por 8 horas y pulverizado con un mortero, el producto es un polvo fino blanco el cual se debe refrigerar hasta su posterior uso y caracterizarlo mediante las técnicas correspondientes.

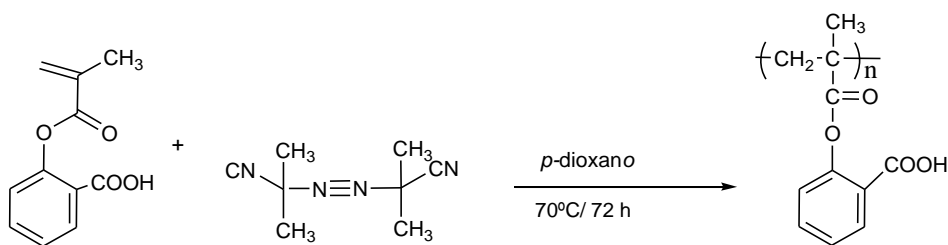


Figura 2. Ruta de síntesis para la obtención de poli(ácido 2-metacrililoiloxi-*o*-benzoico).

III.4 Determinación del peso molecular del polímero por SLS

Se realizó la determinación del peso molecular del polímero previamente sintetizado utilizando al SLS, el peso molecular fue en base a una serie de muestras, en este caso fueron 4 las cuales tuvieron concentraciones de: 200µg/mL, 300 µg/mL, 700 µg/mL y 1

mg/mL, el solvente que se utilizó como blanco fue tolueno, y se procedió a leer las muestras por triplicado. Se aforaron los matraces volumétricos de 10 mL con metanol anhidro y se filtraron con acrodiscos de poro 0.2 μm , para realizar la medición el polímero debe ser soluble y estar libre de polvo ya que afecta a los parámetros del equipo. Con las muestras leídas a diferentes concentraciones se genera un gráfico de Debye el cual mostrará una intersección, indicando el peso molecular aproximado de la muestra en daltons.

III.5 Síntesis de sal de polímero

Se realizó la síntesis de la sal de polímero según la ruta de síntesis mostrada en la Figura 3. Previamente reportada por Cornejo et. al.¹²

En un vaso de precipitados de 100 ml previamente rotulado se agregó 1 g de poli-MAOB y se disolvió en 2 mL de metanol con agitación constante, a esta solución se le etiquetó como A, en otro vaso de precipitados de 100 ml se añadió el peso de 0.271 g de KOH y se disolvió en 3 mL de metanol manteniendo la agitación, a esta solución se le etiquetó como B. Una vez completada la disolución de ambas partes, el frasco que contiene la solución A se sumerge en un baño de hielo para añadirle gota a gota la solución B, se deja homogenizando la mezcla con agitación constante durante una noche tapándola con aluminio para evitar que se volatilice el metanol. Pasado el tiempo de reacción, se agrega gota a gota el producto a un vaso de precipitados de 250 ml conteniendo un exceso de éter etílico, se observará la formación de un precipitado blanco al momento de agregar la primer gota, se filtró y se obtuvo un solido blanco parecido al polvo, se refrigeró hasta su posterior uso y se caracterizó por FT-IR.

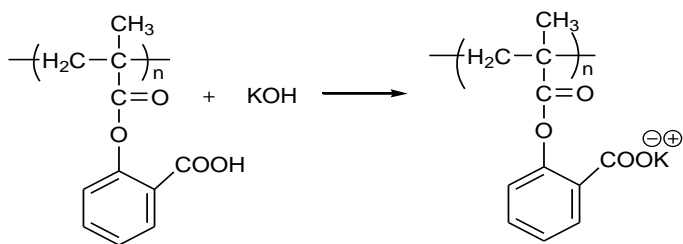


Figura 3. Ruta de síntesis para la obtención de la sal de polímero.

III.6 Síntesis de complejos polielectrolito-propranolol y polielectrolito-labetalol.

Para sintetizar el complejo, la sal de potasio previamente sintetizada (1.0257g) se disolvió en un vaso de precipitados de 100 ml con 3 ml de agua destilada y el fármaco (1.18g) se disolvió en otro vaso de precipitados de 100 ml con 4 ml de agua destilada, ambos en agitación constante. Una vez completa la disolución en ambos frascos, se vierte gota a gota la sal del polímero al vaso de precipitados que contiene el fármaco con agitación constante por 2 horas, se hicieron lavados con agua destilada, se secó al vacío y se pulverizó. Se obtuvo un sólido blanco de partícula fina el cual se refrigeró y se caracterizó mediante FT-IR para verificar que existe un intercambio iónico entre el carbonilo perteneciente al polímero y el grupo amino del fármaco involucrado.

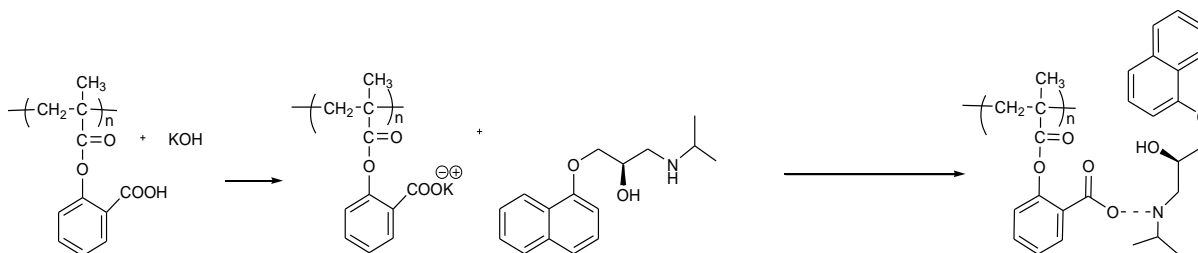


Figura 4. Ruta de síntesis para la obtención del complejo polielectrolito-propranolol.

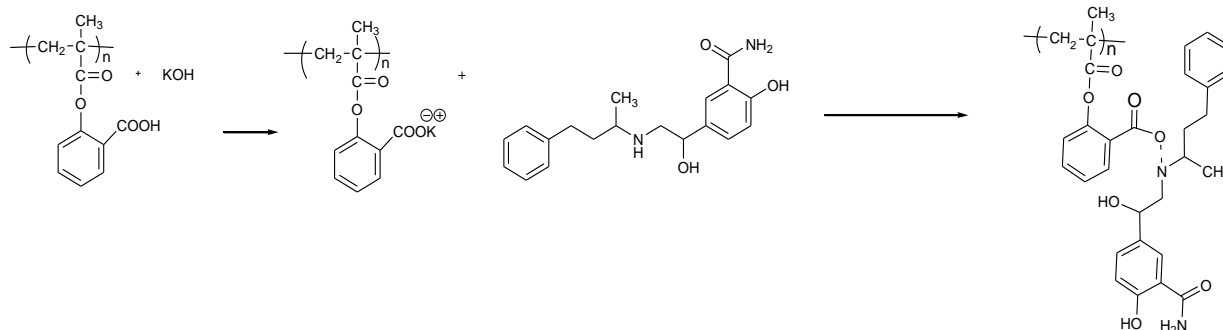


Figura 5. Ruta de síntesis para la obtención del complejo polielectrolito-labetalol.

III.7 Elaboración de comprimidos

Se pesaron 200 mg del complejo sintetizado, se colocaron directamente en un juego de dados con diámetro de 13 mm y sometidos a compresión directa en prensa Carver con una fuerza aproximada de 2500 kg por 5 minutos de exposición hasta obtener tabletas de grosor de 1.3 mm.

III.8 Diseño del método analítico

Una cromatografía se realiza permitiendo que la mezcla de moléculas que se desea separar (muestra) interactúe con un medio o matriz de soporte que se le denomina fase

estacionaria. Un segundo medio, la fase móvil, que es inmisible con la fase estacionaria se hace fluir a través de ésta para lavar o eluir a las moléculas de la muestra.

En la cromatografía de intercambio iónico, tanto la fase estacionaria como la móvil son de naturaleza iónica. Los iones de la fase estacionaria son de carga opuesta a los del eluyente. El material intercambiador de la fase estacionaria tiene un diámetro de 1-10 μm y estructura microporosa o pelicular, las moléculas intercambiadoras se ligan a soportes específicos y se emplea para el análisis de todo tipo de iones, ya sea orgánico como inorgánico.

Para la cuantificación del fármaco en el polielectrolito se diseñó un método analítico por cromatografía líquida de alta resolución. Se trató de separar propranolol y labetalol de sus correspondientes complejos mediante gradientes y distintas proporciones para elegir la mejor condición en la cual se obtuvieran buenos resultados.

III.8.1 Preparación de la fase móvil para propranolol

La fase móvil se preparó utilizando una proporción de 100% en la línea A del HPLC ya que se mezclaron todas las sustancias en el mismo recipiente. Esta fase móvil se preparó pesando 1 g de dodecil sulfato de sodio y colocándolo en un vaso de precipitados con una agitación constante añadiéndole 50 ml de H_2O destilada, una vez que se logró dispersar un poco el dodecil se le añadió 180 ml de metanol grado HPLC y 180 ml de acetonitrilo así como 36 ml de H_2SO_4 0.015 M, una vez hecha la mezcla se vierte el líquido a un matraz volumétrico de 1 L y se afora con agua destilada. Se filtra en un sistema a vacío, se desgasifica con la ayuda del ultrasonido y se guarda bajo refrigeración hasta su próximo uso.

III.8.2 Preparación de la fase móvil para labetalol

La fase móvil se preparó utilizando una proporción de 65: 35 de amortiguador de fosfatos a pH 3: Acetonitrilo. El amortiguador de fosfatos pH 3 0.1 M se preparó pesando 6.2095g de fosfato monobásico de sodio y 0.7098 g de fosfato dibásico de sodio, se colocó en un vaso de precipitado de 1 L, se agregó agua purificada y se agitó hasta disolver. Se ajustó el pH acidificando con hidróxido de sodio 0.2N de ser necesario, se filtra a vacío con un filtro de poro no mayor a 0.45µm, se desgasifica con la ayuda del ultrasonido y en el equipo de cromatografía se selecciona la proporción de 65% de amortiguador de fosfatos en la línea correspondiente y 35% de acetonitrilo en la línea asignada.

III.8.3 Condiciones cromatográficas

Tabla 1. Condiciones cromatográficas utilizadas en el análisis de fármacos.

Condiciones	Propranolol	Labetalol
Columna	Supelco, Supelcosil LC-8, 5µm, 15 cm x 4.6 mm.	Agilent, Eclipse XDB-C18, 5µm, 15 cm x 4.6 mm.
Fase móvil	Dodecil sulfato de sodio, H ₂ SO ₄ (0.15 mol/L), metanol, acetonitrilo, agua (36:36:28).	Amortiguador de fosfatos (pH 3 0.1M) : acetonitrilo (65:35)
Flujo	2.0 ml/min	1.0 ml/min
Detector	UV a 290 nm	UV a 233 nm
Volumen de inyección	20 µl	30 µl
Tiempo de corrida	3 minutos	6 minutos

III.8.4 Linealidad propranolol

La linealidad fue demostrada preparando siete soluciones estándar entre un intervalo de concentraciones de 10, 20, 40, 80, 120, 160 y 200 µg/ml para propranolol.

Cada solución fue preparada por dilución de una solución madre y fue inyectada por triplicado. Se realizó el análisis de regresión lineal, excluyendo el origen.

III.8.5 Linealidad labetalol

La linealidad fue demostrada preparando seis soluciones estándar entre un intervalo de concentraciones de 10, 50, 75, 120, 200 y 250 $\mu\text{g/ml}$.

Cada solución fue preparada por dilución de una solución madre y fue inyectada por triplicado. Se realizó el análisis de regresión lineal, excluyendo el origen.

III.9 Prueba de solubilidad

Se realizó una serie de pruebas para calcular la solubilidad del polímero y complejos, se realizaron soluciones sobresaturadas a los 3 distintos pH's fisiológicos, los cuales se midieron posteriormente en el aparato de dispersión de luz dinámica para observar el tamaño de partícula que forman, el procedimiento para cada sustancia se detalla a continuación.

III.9.1 Solubilidad del polímero

Se pesaron exactamente 100 mg de polímero el cual se colocó en un vial con capacidad de 15 ml, se midieron 10 ml de solución de fluido gástrico simulado (pH 1.2) para obtener una solución sobresaturada de polímero y se realizó lo mismo pero con soluciones amortiguadoras intestinales pH 6.8 y 7.4, se cerraron los viales y se dejaron en agitación en el baño con agitación por dos días a temperatura ambiente y después se le expuso a temperatura de 37°C por dos horas, se decantó el líquido y se refrigeró hasta su

próximo uso, el precipitado se secó, se liofilizó por dos horas para eliminar el exceso de agua y se pesó el producto, se realizó una diferencia entre la masa de polímero pesada al principio y la obtenida al final para hacer los cálculos de solubilidad.

III.9.2 Solubilidad de los complejos

Se pesaron exactamente 1300 mg de complejo polielectrolito-propranolol el cual se colocó en un vial con capacidad de 15 ml, se midieron 10 ml de solución de fluido gástrico simulado (pH 1.2) para obtener una solución sobresaturada de polímero y se pesaron 100 mg de complejo polielectrolito-propranolol para realizar las soluciones correspondientes con 10 ml soluciones amortiguadoras intestinales pH 6.8 y 7.4 , se cerraron los viales y se dejaron en agitación en el baño con agitación por dos días a temperatura ambiente y después se le expuso a temperatura de 37°C por dos horas, se decantó el líquido y se refrigeró hasta su próximo uso, el precipitado se secó en estufa con vacío por aproximadamente 30 minutos, se liofilizó por dos horas para eliminar el exceso de agua y se pesó el producto, se realizó una diferencia entre la masa de complejo pesada al principio y la obtenida al final para hacer los cálculos de solubilidad.

La solución sobrenadante se diluyó hasta obtener una concentración de 100 µg/ml para poder leerla por cromatografía líquida, para este efecto se tomó una alícuota de 0.1 ml del sobrenadante de las muestras que tenían una concentración de 10 mg/ml para aforarlas con 10 ml del amortiguador correspondiente, una vez obtenida la concentración deseada se filtró con acrodiscos de tamaño de 0.45 µm, cada muestra se leyó por triplicado y se obtuvo la cantidad de fármaco presente en la solución con la ayuda de la ecuación de la recta para cada fármaco.

III.10 Cuantificación de fármaco en los comprimidos

Se analizó mediante HPLC la cantidad de fármaco unido al polímero, utilizando la ecuación de la recta de cada fármaco estudiado. Se pesaron exactamente 10 mg de los complejos sintetizados, se diluyeron con 10 ml de buffer de fosfatos pH 7.4 para tener una solución madre de concentración 1 mg/ml, se tomó una alícuota de 1 ml para diluirla con otros 10 ml de solución amortiguadora pH 7.4 para obtener una solución de concentración 100 µg/ml, se filtró con acrodiscos de 0.45µm, se llevó a ultrasonido por 15 minutos y se le analizó por triplicado en el HPLC, el volumen de inyección fue de 20 µl para propranolol y 30 µl para labetalol a las correspondientes longitudes de onda para cada fármaco, tal cual viene especificado en las condiciones cromatográficas de la USP (Tabla 1).

III.11 Inclusión de lactosa en las tabletas con diferentes porcentajes

Del complejo con polímero-propranolol se decidió incluir cierto porcentaje de lactosa para observar como se comportaba la velocidad de liberación del fármaco del complejo y verificar si realmente sufría un mecanismo de erosión o si la difusión era la que predominaba en estos complejos. Se realizó un triplicado de tabletas con un 20 % de lactosa en la formulación, se pesó 160 mg del complejo y se mezcló con 40 mg de lactosa monohidratada para obtener un total de 200 mg los cuales se colocaron en una matriz para ser comprimidos y elaborar la tableta, el resultado fue una tableta compacta de 13 mm de diámetro con 1.3 mm de grosor color blanca. Asimismo se realizó un triplicado de tabletas incluidas con 40% de lactosa en la formulación, se pesaron 120 mg de complejo previamente pulverizado y se mezclaron con 80 mg de lactosa monohidratada para lograr

obtener un total de 200 mg y poder someterlos a la acción de la compresión por 5 minutos a 2500 kg de fuerza y obtener tabletas uniformes de color blanco con las especificaciones antes descritas.

III.12 Cálculos y preparación de soluciones de recubrimiento

Se optó por recurrir al recubrimiento de las tabletas ya que al ser liberadas a pH ácido sufrían de un efecto de vaciado en menos de 5 minutos, este recubrimiento evitaría el efecto indeseado asegurando una estabilidad de la tableta por al menos 3 horas, estos cálculos fueron ajustados a nuestros requerimientos.

Tabla 2. Cálculos para la elaboración de Eudragit® L 12.5

Compuesto	Proporción (%)	Para preparar 5 g
Eudragit® L-55	12.5	0.625 g
Alcohol Isopropílico ($\rho=0.785$ g/ml)	87	4.35 g ó 5.541 ml
H ₂ O destilada	0.5	0.025g
	100	5g

En un vaso de precipitados de 150 ml se colocó la mitad del volumen total de alcohol Isopropílico, a esto se le agregó poco a poco la cantidad de Eudragit® L-55 bajo constante agitación por espacio de 10 minutos. Se agrega el resto del volumen de alcohol isopropílico, se tapa el sistema y se deja en agitación hasta que se aprecie solubilizado la

mayor parte del copolímero, para tal efecto se observará una solución turbia de color blanca de consistencia viscosa.

El agua destilada se le agrega gota a gota, la solución se aclarará automáticamente hasta quedar transparente y la agitación se continuó por 45 minutos más.

El recipiente se selló y se guardó en el refrigerador (con el fin de que no varíe mucho la concentración).

Tabla 3. Cálculos para recubrir tabletas

Compuesto	Proporción (%)	Peso
Eudragit® L 12.5	48.0	0.409 g
Alcohol isopropílico ($\rho=0.785$ g/ml)	50.2	0.4287 g
Polietilenglicol 6000	0.6	0.00511 g
	98.8	0.8428 g

Se pesó la cantidad correcta de polietilenglicol 6000 y colocar en un vaso de precipitados de 150 ml, se solubilizó con aproximadamente 6 gotas de agua destilada. Se agregó inmediatamente el volumen entero de alcohol isopropílico al vaso de precipitados que contiene el polietilenglicol y se montó un sistema de agitación constante. Posteriormente se agregó gota a gota la solución de Eudragit® L 12.5 hasta que se homogenizó la solución, la velocidad de agitación se aumentó para evitar que se plastificara, el envase se selló y se guardó bajo refrigeración.

III.12.1 Procedimiento de recubrimiento

A continuación se detallan los pasos seguidos para el recubrimiento de las tabletas que se utilizaron en la liberación a pH 1.2 de complejos polielectrolito-propranolol. Se pesaron las cantidades correspondientes para cada superficie de la tableta, con un pincel se realizó el proceso de recubrimiento mientras una secadora para cabello proporcionaba el aire caliente que hacía que el recubrimiento se adhiriera a la superficie, así mismo se realizó ese paso para la cara anterior, posterior y grosor de la tableta mediante una serie de cálculos para saber qué cantidad de Eudragit® L 12.5 se le asignaría a cada parte. Se dejaron las tabletas secando a una temperatura de 28°C evitando que se pegaran completamente de un lado, así que se voltearon constantemente para evitar este posible problema.

III.12.2 Cálculos involucrados en la cantidad de recubrimiento para cada superficie de la tableta

Una vez que estuvieron preparadas las soluciones de recubrimiento, solamente se necesitaba saber que cantidad se le debería de asignar a cada superficie, por lo cual los siguientes cálculos fueron realizados con tal efecto.

Tabla 4. Cálculos para saber la cantidad de recubrimiento en superficies de tableta.

Compuesto	Peso para 5 g
Eudragit® L 12.5	0.818 g

Polietilenglicol 6000	0.01022 g
Alcohol Isopropílico ($\rho=0.785$ g/ml)	0.8575 g
	1.685 g

III.13 Preparación de soluciones amortiguadoras

III.13.1 Fluido gástrico simulado a pH 1.2

Se pesó y disolvieron 2 g de NaCl en 750 ml de H₂O destilada, se añadió 7 ml de HCl concentrado, se aforó con H₂O destilada hasta obtener 1 L de solución, se ajustó hasta llegar al pH deseado. La solución se filtró a vacío y se colocó en el ultrasonido, se calienta hasta llegar a una temperatura de 40°C y se agitó constantemente con una varilla de vidrio.

III.13.2 Fluido intestinal simulado a pH 6.8

Se pesó y disolvieron 6.8 g de fosfato monobásico de potasio en 500 ml de H₂O destilada, posteriormente se agregaron 77 ml de solución NaOH 0.2 N, se ajustó el pH con ayuda de potenciómetro añadiendo para tal efecto HCl 0.2 N o NaOH 0.2 N, una vez alcanzado el pH deseado se afora hasta llegar a un volumen de 1 L con H₂O destilada. La solución se filtra a vacío y se somete a la acción del ultrasonido, se calienta hasta llegar a una temperatura de 40°C y se agita constantemente con una varilla de vidrio.

III.13.3 Fluido intestinal simulado a pH 7.4

Se pesó y disolvió 6.8 g de Fosfato monobásico de potasio en 250 ml de H₂O destilada, se mantuvo en agitación constante para posteriormente agregar 190 ml de

solución NaOH 0.2 N y 500 ml de H₂O, se ajusta al pH deseado con potenciómetro previamente calibrado con solución de HCl 0.2 N o NaOH 0.2 N y se afora con H₂O hasta 1L. La solución se filtra a vacío y se somete a la acción del ultrasonido, se calienta hasta llegar a una temperatura de 40°C y se agita constantemente con una varilla de vidrio.

III.13.4 Preparación de solución amortiguadora con fuerza iónica de concentración 0.3 N

Se seleccionó el ácido débil con un pka aproximado al pH que se usará en el amortiguador. Se calculó la relación de base/ácido necesaria para el pH indicado. Se consideró la concentración de las sales y los ácidos para generar una buena capacidad amortiguadora. La concentración de sales utilizada fue de 0.3 N

III.14 Cinética de liberación de fármaco

La cinética de liberación de las tabletas compuestas por el complejo fármaco-polielectrolito fueron llevadas a cabo a 37°C en 900 ml de buffer de fosfatos pH 1.2, pH 6.8 con fuerza iónica de 0.1 N de NaCl así mismo con una fuerza iónica de 0.3 N de NaCl para observar la rapidez en que se podría realizar el proceso de intercambio iónico a distintas concentraciones de sal además de incluir en la formulación un contenido de 20% de lactosa como excipiente y otro de 40% del mismo para observar el fenómeno de regulación de velocidad de liberación que este excipiente pudiera ejercer en este pH en específico y buffer de fosfatos pH 7.4.

La liberación se llevo a cabo en disolutor Distek Dissolution System utilizando el método de paletas a 75 rpm, con una alícuota de muestreo de 5 ml cada 15 minutos la primera hora y después cada hora por un total de muestreo de 12 horas. Cada muestra fue

repuesta con medio fresco en la cantidad correspondiente para mantener siempre el mismo volumen de disolución. La cuantificación de fármaco (filtrada en acrodiscos de 0.45 μm) fue determinada por análisis mediante HPLC, cada experimento fue realizado por triplicado.

III.15 Tamaño de partícula por SLS

Las soluciones sobrenadantes se analizaron por SLS para conocer el tamaño de partícula de los complejos a los tres distintos fluidos simulados, a continuación se detalla el procedimiento de preparación de las muestras. Se leyeron las soluciones concentradas y diluidas a una concentración de 1 mg/ml, se tomó una alícuota de cada especie de 1 ml de la solución sobrenadante de concentración de 10 mg/ml y se diluyó con fluido gástrico simulado previamente filtrado con acrodisco de 0.45 μm hasta alcanzar un volumen de 10 ml, ya aforada la solución se filtró nuevamente y se tomó una alícuota de esta solución de 1 ml para colocar en la celda correspondiente e iniciar la corrida.

III.16 Determinación del mecanismo de liberación para cada complejo

En cuanto a la determinación del mecanismo de liberación del fármaco se utilizó la siguiente ecuación, en donde, se ajustaron los valores en aquellos donde la liberación superará el 80% de liberado.¹⁶⁻¹⁷

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad \text{ó} \quad \ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = n \ln(t) + \ln(k)$$

Los términos de ésta ecuación son los siguientes: M_t , la cantidad de fármaco liberada a tiempo t ; M_∞ , el total del fármaco liberado a tiempo infinito; k es la constante cinética; n , es el mecanismo de liberación del fármaco. Valores de n con rangos de 0.5

(generalmente se refiere a una liberación tipo Fick) a 1 (representa el caso II donde ocurre la relajación controlada de la cadena polimérica). Los valores entre 0.5 y 1 representa un comportamiento anómalo indicando una combinación de difusión/relajación.

El mecanismo de disociación/erosión de la cinética de liberación del fármaco fue evaluado utilizando la siguiente ecuación.¹⁸⁻¹⁹

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \left(1 - \frac{k_e t}{C_o r_o}\right)^2 \left(1 - \frac{2k_e t}{C_o l}\right)$$

donde k_e , C_o , r_o y l son las constantes de disociación/erosión, la concentración inicial del fármaco en el comprimido, el radio de la tableta y el grosor respectivamente.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1 Síntesis de monómero y caracterización

La síntesis de este monómero se basa en la alta reactividad de la *N,N*-dimetilaminopiridina como catalizador de la acilación, el paso clave en esta reacción es la formación de la sal de *N*-acilpiridinonio como un par iónico altamente activo con el

metacrilato, mientras la trietilamina actúa neutralizando el ácido metacrílico formado simultáneamente. El grupo acilo formado es activado por deslocalización de cargas y es fácilmente atacado por un nucleófilo. Los anhídros carboxílicos son mejores para estas acilaciones que los cloruros de acilo correspondiente.⁵

Se obtuvo el monómero correspondiente a la unión del ácido salicílico con anhídrido metacrílico, en su estructura química esta presente el ácido carboxílico en posición *orto* y el metacrilato en posición *ipso* del anillo aromático, se observa la presencia del éster en la estructura como el grupo funcional principal reportado en la literatura y como indicativo de que la reacción efectivamente se logró sintetizar en el laboratorio. Figura 6. El porcentaje de rendimiento para este monómero fue de 91 % debido al ajuste de un goteo lento y controlando la temperatura a 0°C del anhídrido metacrílico respectivamente.

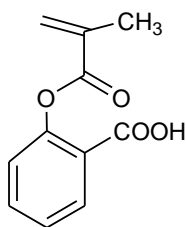


Figura 6. Estructura química del ácido metacrilatoiloxi-*o*- benzoico

El producto obtenido es un polvo blanco, el cuál presenta las siguientes señales de infrarrojo.

En el espectro de infrarrojo presenta a 3075 cm^{-1} una señal ancha con intensidad media que se le asignó al estiramiento O-H del grupo carboxilo, a 2985 cm^{-1} una señal con intensidad media que se asignó al estiramiento C-H de tipo alifático, a 1890-2660 cm^{-1}

aproximadamente aparecen unas bandas de intensidades muy débiles que son características de los sobretonos del benceno, a 1737 cm^{-1} una banda de intensidad muy fuerte que se asignó a la vibración del estiramiento C=O del carbonilo, a 1694 cm^{-1} una banda de intensidad muy fuerte que se asignó a la vibración del estiramiento C=O del carboxilo, a 1608 cm^{-1} una banda de intensidad media que se asignó al estiramiento C=C de tipo alifático, entre 1000 y 1300 cm^{-1} se asignó a las vibraciones C-O y finalmente entre 800 - 950 cm^{-1} las bandas de absorción C-H asignadas a la flexión fuera del plano, características de los anillos sustituidos.

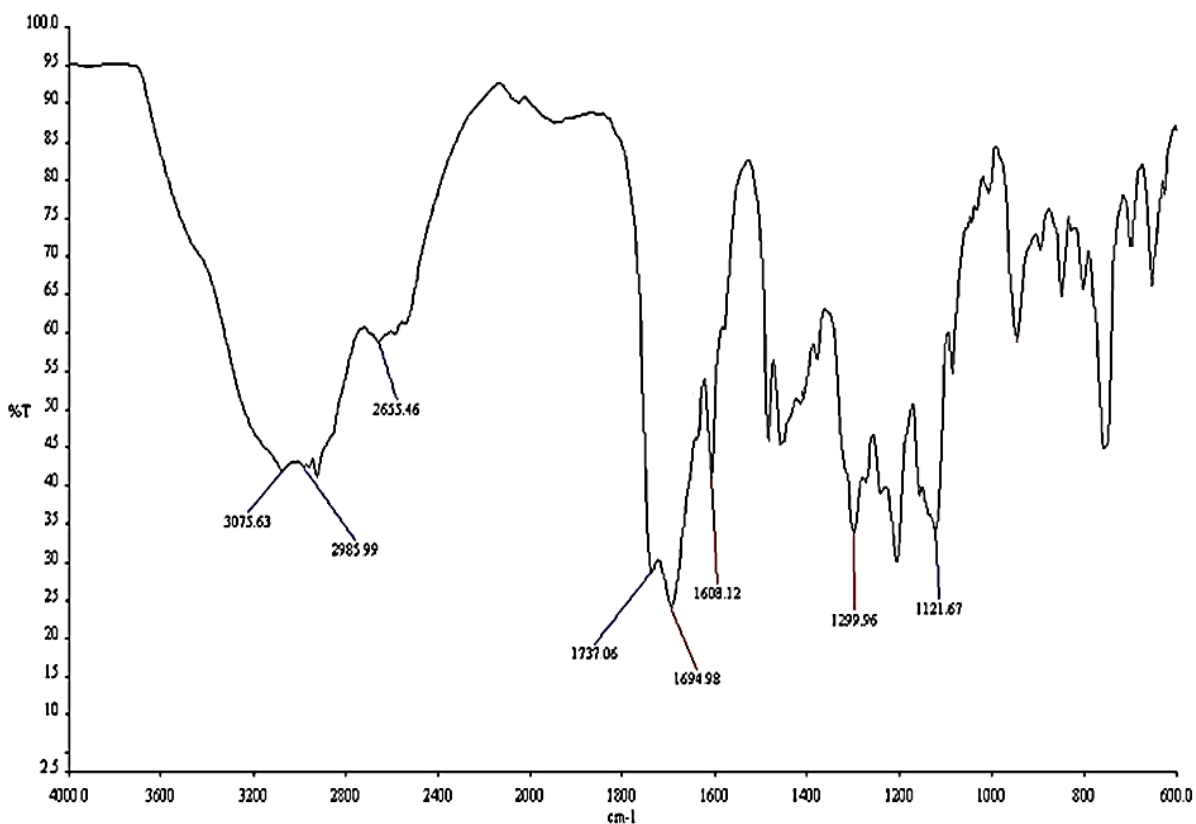


Figura 7. Espectro de FT-IR de MAOB.

Tabla 5. Datos obtenidos del espectro de infrarrojo para el ácido metacrililoiloxi-*o*-benzoico.

ν (cm-1)	Tipo de vibración	Grupo funcional
3075	Estiramiento	O-H (ácido carboxílico)
2985	Estiramiento	C-H (alifático)
1737	Estiramiento	C=O (éster)
1694	Estiramiento	C=O (ácido carboxílico)

Las señales correspondientes del espectro de ^1H -RMN se describen a continuación. A un desplazamiento de 2.069 p.p.m. se observa un singulete, que integra para 3H y se asignó a los hidrógenos del metilo; un singulete a 5.747 p.p.m. que integra 1H y se asignó al hidrógeno vinílico que se encuentra en posición *cis* con respecto al metilo; un singulete a 6.353 p.p.m. que integra a 1H y se asignó al hidrógeno vinílico que se encuentra en posición *trans* con respecto al metilo; entre 7.152 y 8.122 p.p.m. una señal múltiple en cuatro paquetes que integra para 4H y se asignaron a la porción aromática, a 9.802 p.p.m. un singulete ancho apenas perceptible que integra para 1H y se asignó al ácido carboxílico.

El producto obtenido es un polvo fino de color blanco, el cual presenta las siguientes señales de infrarrojo. El espectro de infrarrojo presenta a 3423 cm^{-1} una señal amplia con intensidad media la que se asignó al estiramiento O-H del grupo carboxilo, a 2900 cm^{-1} una señal con intensidad media se asignó al estiramiento C-H de tipo alifático, a 1725 cm^{-1} una banda de intensidad fuerte se asignó a la vibración del estiramiento C-O del carbonilo, entre $1800\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$ aproximadamente aparecen unas bandas de intensidades muy débiles que son características de los sobretonos del anillo aromático, a 1454 cm^{-1} una banda de intensidad media se asignó a la flexión del C-H, entre 1000 y 1300 cm^{-1} varias señales C-O y finalmente entre $614\text{-}873\text{ cm}^{-1}$ aparecen las bandas de absorción C-H asignadas a la flexión fuera del plano, características de los anillos aromáticos sustituidos.

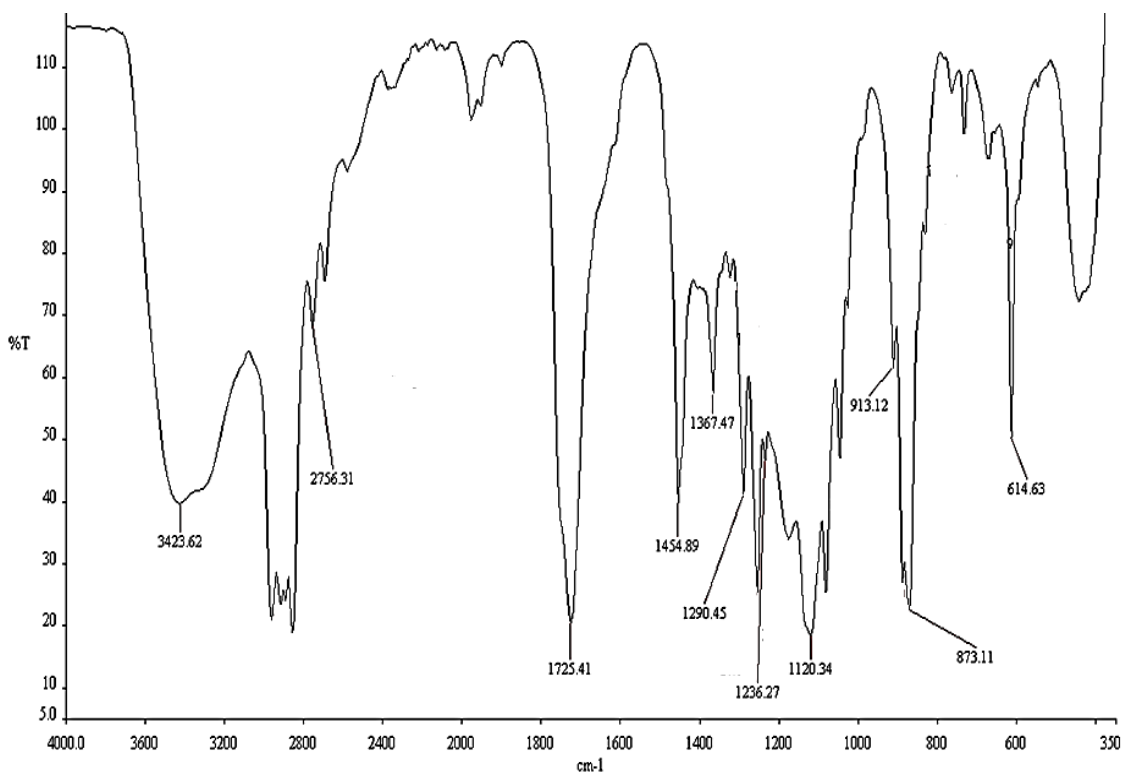


Figura 9. Espectro de FT-IR del Poli (ácido metacrililoiloxi-*o*-benzoico).

Tabla 7. Datos obtenidos del espectro de infrarrojo para el poli(MAOB).			
ν (cm ⁻¹)	Intensidad	Tipo de vibración	Grupo funcional
3423	Media	Estiramiento	O-H
2756	Media	Estiramiento	C-H (alifático)
1800-2660	Débil	Estiramiento	Sobre tonos (aromático)
1725	Fuerte	Estiramiento	C=O (éster)
1120	Media	Tensión	C-C

IV.3 Síntesis de complejo polielectrolito-propranolol y caracterización

El análisis por medio de espectrofotometría por infrarrojo mostró las siguientes señales que a continuación se describen en este apartado.

En el espectro de FT-IR se observan las señales a 3323 cm⁻¹ una señal un poco ancha que representa el estiramiento de la amina secundaria, a 2964 cm⁻¹ se observa una señal débil que representa el estiramiento que se le asignó al anillo aromático, a 1579 cm⁻¹ la vibración del grupo carboxilato resultante de la formación de sal entre el propranolol y el polímero, a 1400 cm⁻¹ que representa el estiramiento del enlace C-N del propranolol. La incorporación del fármaco al polielectrolito es por enlace iónico.

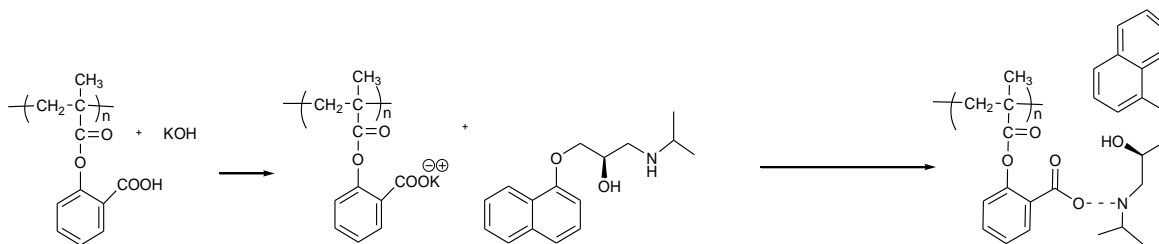


Figura 10. Mecanismo de reacción de formación del complejo poli(MAOB)- propranolol

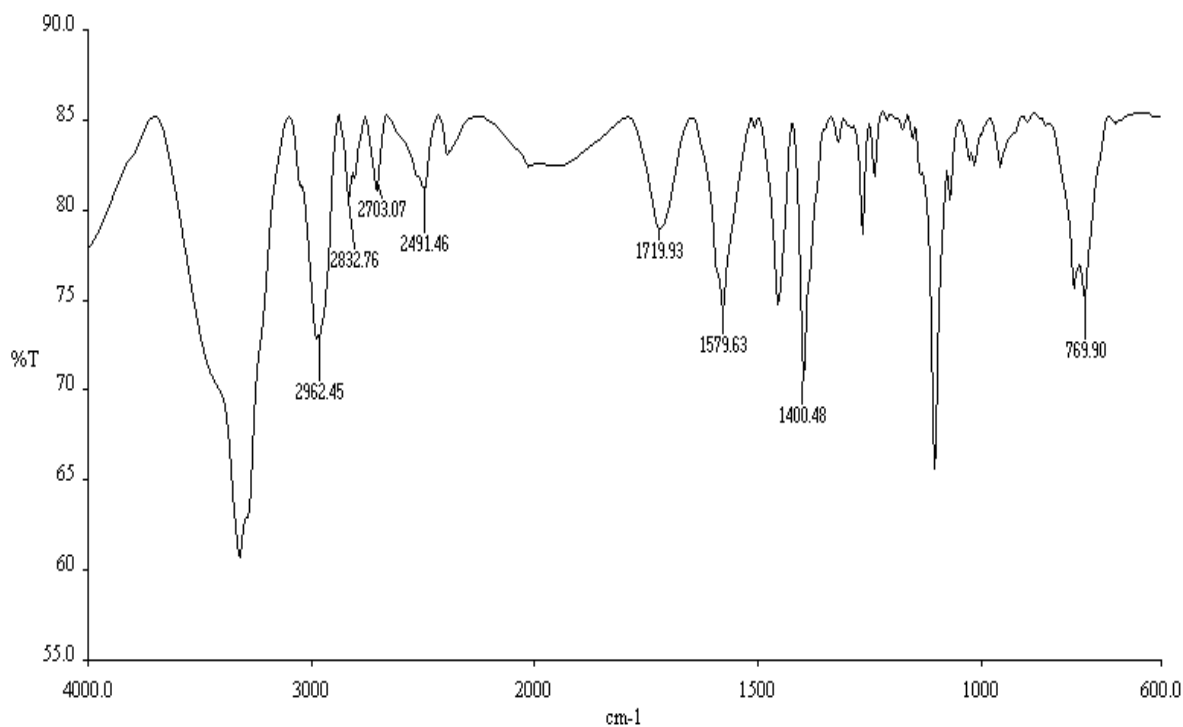


Figura 11. Espectro de FT-IR del complejo poli(MAOB)-propranolol.

Tabla 8. Datos obtenidos del espectro de infrarrojo para el poli(MAOB)-propranolol		
ν (cm-1)	Tipo de vibración	Grupo funcional
3379	Estiramiento	Amina secundaria , OH
2962	Estiramiento	C-H anillo aromático
1719	Vibración	C=O (éster)
1579	Vibración	COO ⁻ Formación de la sal entre fármaco y polímero

1400	Estiramiento	C-N en el fármaco
------	--------------	-------------------

IV.4 Síntesis de complejo polielectrolito-labelamol y caracterización

En el espectro de FT-IR se observan las señales a 3183 cm^{-1} una señal ancha que representa el estiramiento de la amina secundaria o de la misma forma el grupo alcohol del ácido carboxílico presente en la molécula, a 1653 cm^{-1} se observa una señal de vibración media que se le asigno al grupo carboxilato del polímero y amina del fármaco, a 1407 cm^{-1} que representa el estiramiento del enlace C-N del labelamol. La incorporación del fármaco al polielectrolito es por enlace iónico.

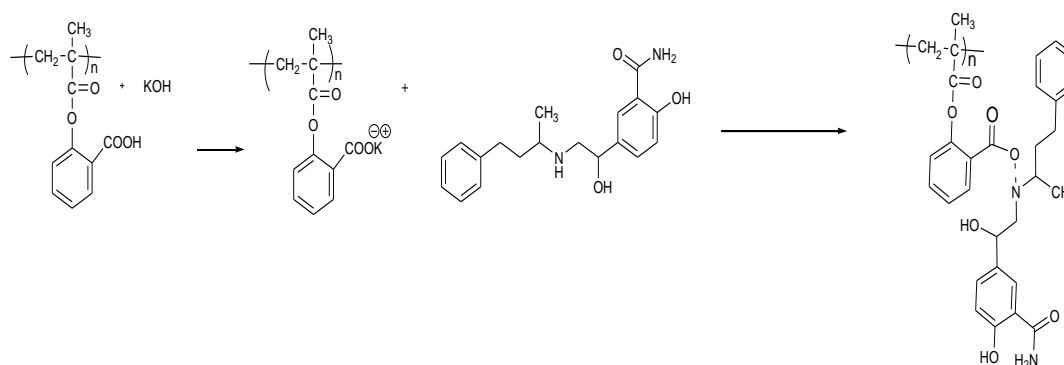


Figura 12. Mecanismo de reacción de formación del complejo poli(MAOb)-labetamol.

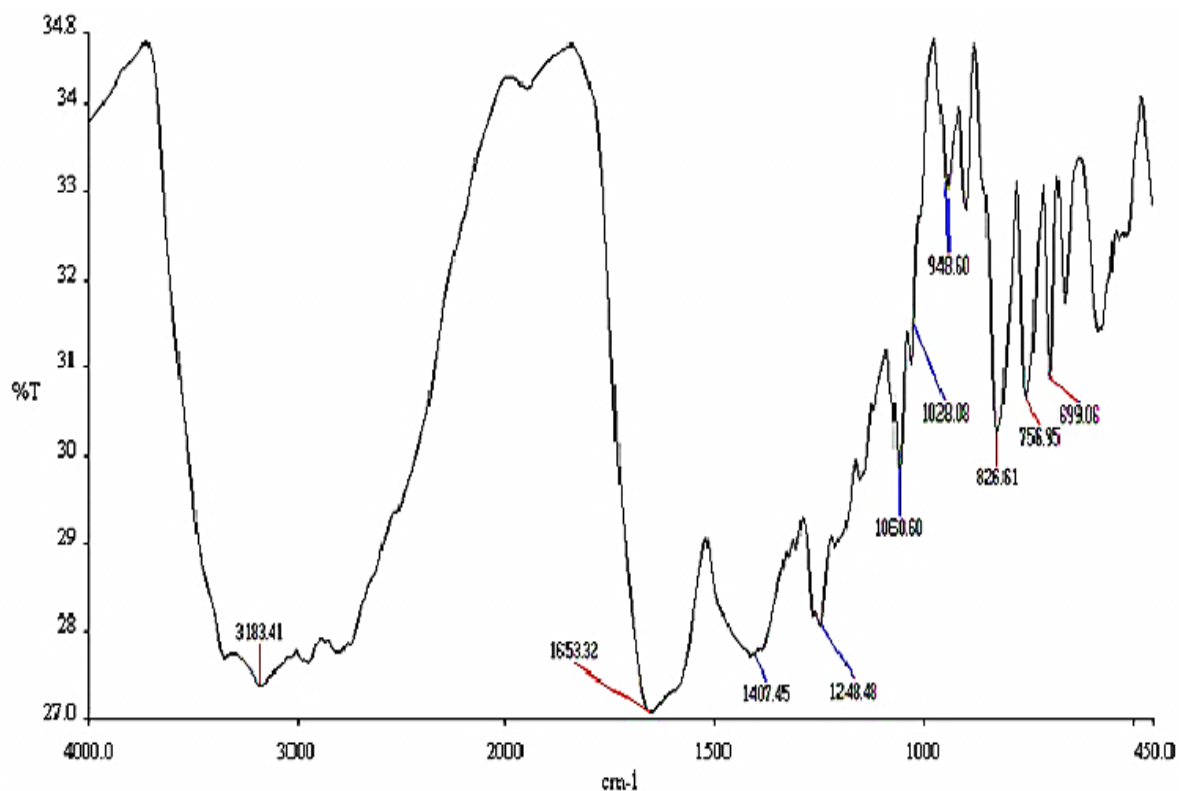


Figura 13. Espectro de FT-IR del complejo poli(MAOB)-labetalol.

Tabla 9. Datos obtenidos del espectro de infrarrojo para el complejo poli(MAOB) –labetalol

ν (cm-1)	Intensidad	Tipo de vibración	Grupo funcional
3180	Media-ancha	Estiramiento	Amina secundaria, OH
1658	Media	Vibración	Formación de la sal ácido- amina (carboxilato)
1425	Débil	Estiramiento	Enlace C-N
900	Media	Tensión	C-C
1000-1300	Fuerte	Vibración	C-O (anhídridos, esteres)
690-900	Fuerte	Estiramiento	Aromático fuera de plano

IV.5 Solubilidad

Las pruebas de solubilidad se le hicieron al polímero y a los dos complejos, los resultados se reflejan en la siguiente tabla.

Sustancia	pH	Solubilidad (mg/mL)	Concentración de fármaco en el complejo (mg/ml)
Poli-MAOB	1.2	4.58	
	6.8	7.42	
	7.4	9.29	
Complejo Propranolol	1.2	125	6.68
	6.8	6.3	4.24
	7.4	7.0	4.19
Complejo Labetalol	1.2	5.39	2.74
	6.8	3.78	2.57
	7.4	3.29	5.88

Como se puede observar se realizaron las distintas pruebas de solubilidad del polímero y complejos a los diferentes medios de disolución a los cuales fueron expuestos y el resultado fue que el polímero obtuvo una solubilidad de 4.58 mg/mL a pH 1.2, a pH 6.8 fue de 7.42 mg/mL y a pH 7.4 de 9.29 mg/mL. Se puede observar claramente que el complejo de propranolol a pH gástrico se disuelve de manera que se necesita una gran cantidad de muestra para sobresaturar la solución y poder realizar el estudio. La mayoría de las muestras solo se disuelven poco en pH's intestinales alcalinos, recordando que el sistema debe liberar solamente en este tipo de pH's de manera sostenida, esto es un buen

ejemplo para observar el comportamiento del fármaco a exposición de pH, temperatura y otro factor, la agitación durante 2 días del sistema en el cual se colocó.

IV.6 Cuantificación de fármaco en los comprimidos de propranolol y labetalol

Usando el método analítico por HPLC utilizado se pudo cuantificar la cantidad de fármaco que había en cada complejo sometiendo a la curva de calibración correspondiente para cada fármaco. A continuación se presenta la cantidad de fármaco para los diferentes complejos que se sintetizaron en el laboratorio.

Ecuación de la recta: $x=y+20858/9862.3$ para propranolol.

Ecuación de la recta: $x= y-106600/23126$ para labetalol.

Tabla 11. Datos obtenidos de la cuantificación del complejo poli(MAOB)-propranolol y labetalol.

Sustancia	% Carga esperada	% Carga obtenida
Complejo con propranolol	58.94	49.79
Complejo con labetalol	63.91	76.26

IV.7 Tamaño de partícula por SLS

El análisis en SLS para observar el tamaño de partícula del complejo poli(MAOB)-propranolol y comprender su comportamiento a pH ácido, se encontró que posiblemente se formen algún tipo de micelas poliméricas debido a su índice de polidispersidad tan bajo (0.06), no se observan agregados y en general se observa una sola distribución de nanopartículas.

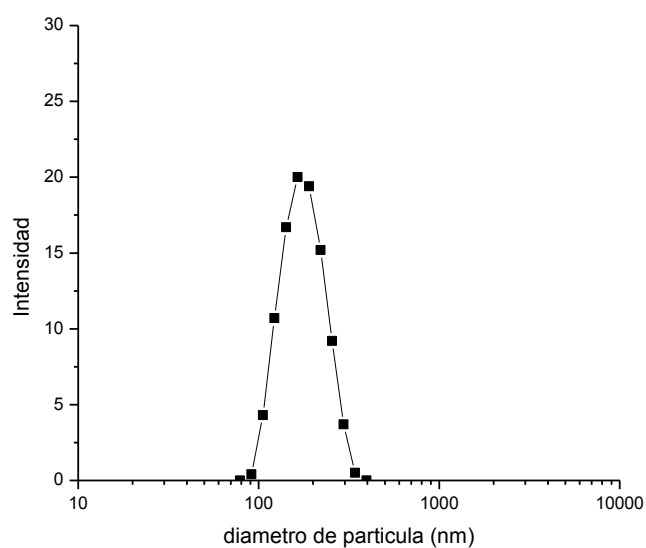


Figura 14. Distribución del tamaño de partícula del sobrenadante de la disolución del complejo polielectrolito-propranolol a pH 1.2

IV.8 Cinética de liberación de propranolol

Las pruebas de disolución en los medios gastrointestinales que se muestran a continuación son para el complejo con propranolol a diferentes pH's (1.2,6.8,7.4), también se estudió el efecto de la velocidad de liberación a pH 6.8 incorporándole lactosa al complejo (20 y 40%), se demostró que aumentando la fuerza iónica del medio (0.3 N de NaCl con pH de 6.8) la tasa de liberación del fármaco aumenta considerablemente alcanzando el 95%, comparándolo con la disolución del mismo complejo pero con una fuerza iónica del medio de 0.1N de NaCl al mismo pH, el porcentaje liberado solo alcanza el 38%, quedando demostrado que se puede disminuir o aumentar la velocidad de liberación del fármaco con la ayuda de estos factores externos.

La liberación del fármaco en la mayoría de los pH's siguen una cinética de casi orden cero a excepción del complejo liberado a pH 1.2 que al parecer sufre un efecto de vaciado de fármaco en menos de 10 minutos, por lo que se optó por mejorar la liberación recubriendo la tableta con una capa entérica Eudragit® L-55 y Eudragit® L-100 a distintos porcentajes.

La **figura 15** muestra como el medio ácido influye a que se produzca el efecto de vaciado del fármaco del complejo, no cumpliendo el objetivo de tener una liberación sostenida del fármaco a 12 horas de muestreo, sino que al termino de la segunda toma de muestra se desintegró por completo la tableta.

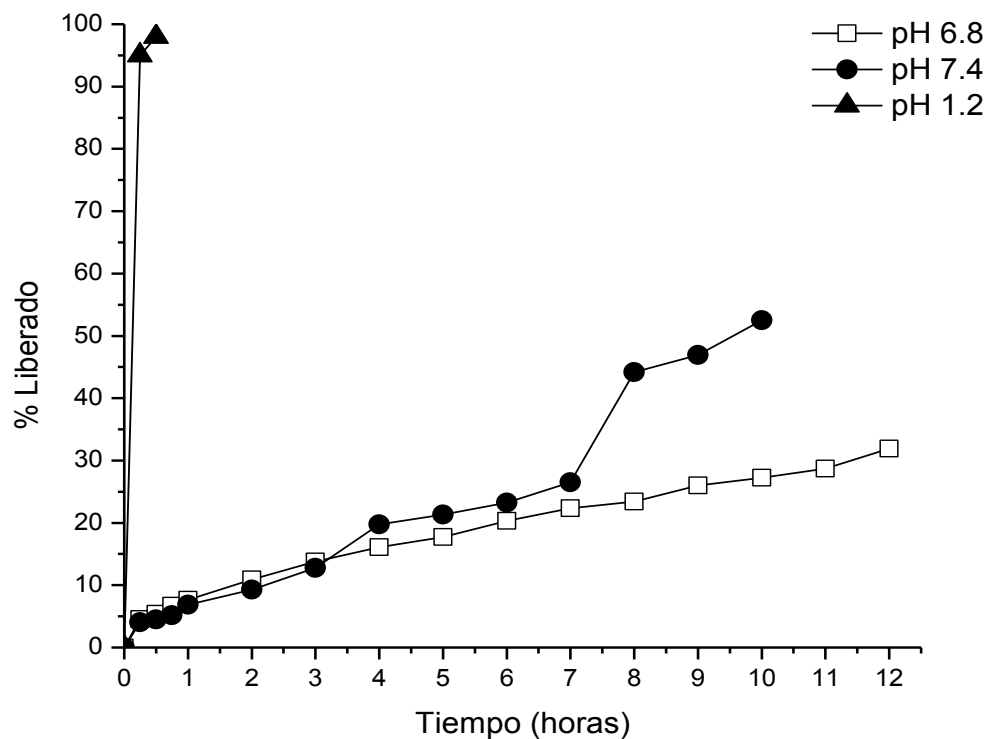


Figura 15. Comparación de los perfiles de liberación del complejo con propranolol.

Debido al resultado obtenido se hicieron varias pruebas más para tratar de contrarrestar este efecto y se optó por recubrir la tableta con Eudragit® L-55 (12.5) al 30% en peso, se preparó el disolutor para hacer la prueba por triplicado y los resultados son los siguientes. Se obtuvo una liberación rápida al llegar a la primera hora de muestreo (87%), nuestro objetivo es que la velocidad sea un poco mas lenta, alcanzando niveles de liberación parcialmente bajos por al menos 3 horas en exposición al medio ácido. Por tal motivo se decidió aumentar la proporción que se tenía en un principio y utilizar Eudragit® L-100 (12.5) pero al 20% como capa entérica y el resultado fue de que en 3 horas de muestreo se liberó apenas el 65% del principio activo.

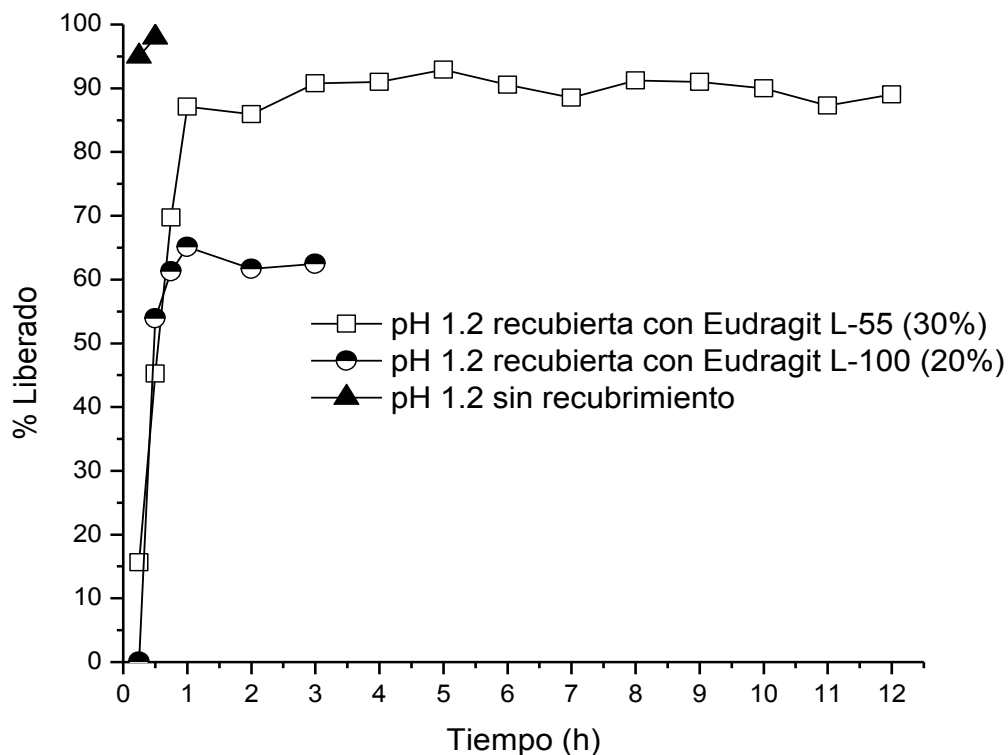


Figura 16. Comparación de los perfiles de liberación con y sin recubrimiento de las tabletas en complejo con propranolol.

En el medio intestinal la disolución a pH 6.8 con una fuerza iónica de NaCl a una concentración de 0.1 N se observa una cinética de orden cero por la tendencia que se obtiene al liberarse el fármaco mediante la erosión de la tableta sin llegar a desintegrarse completamente las cadenas poliméricas, se ve favorecido el proceso de intercambio iónico con las sales del medio teniendo una velocidad de liberación considerablemente buena, se observa que a 12 horas de muestreo solo se libera un 35% y la tableta aun quedaba completa para seguir su disolución, quedando por entendido que a este pH este complejo en particular se comporta de manera positiva en la liberación sostenida del fármaco.

Se realizó un estudio en el cual se pretendía modificar la velocidad de liberación aumentando la fuerza iónica del medio a una concentración de 0.3 N de NaCl y observar si realmente el intercambio iónico favorecía la liberación del fármaco atrapado en el polielectrolito, y el resultado fue de que efectivamente se pudo liberar casi al 100% en un tiempo de muestreo de 9 horas solamente, siguiendo la tendencia de orden cero de reacción con una reducción en la cinética cuando se libera por encima del 80% del fármaco, que es típico de un control por difusión.

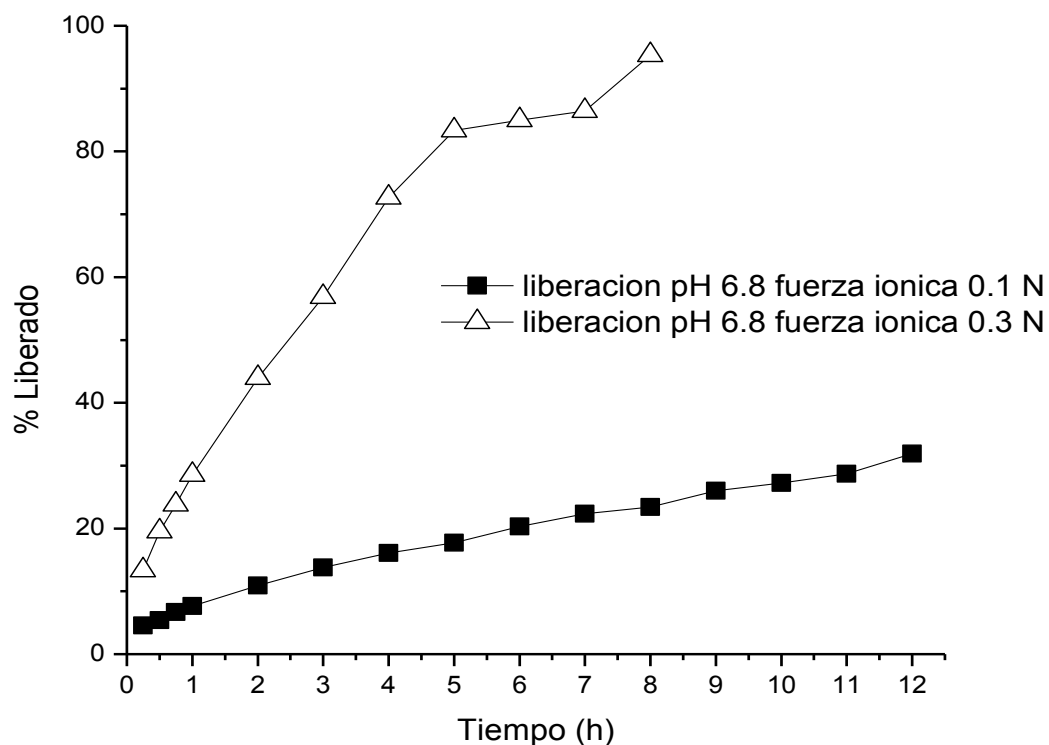


Figura 17. Comparación de los perfiles de liberación aumentando la fuerza iónica del medio a pH 6.8.

Se intentó estudiar el efecto que podría causar la inclusión de un excipiente a la formulación, en este caso lactosa en distintas proporciones (20 y 40%) en el cuál se hicieron dos experimentos para ver el efecto de la velocidad de liberación, se pretendía observar que porcentaje de fármaco se liberaba con este excipiente al incluirlo en la formulación y se observó que al final del muestreo la tableta se erosionó completamente y de forma abrupta al llegar a la cuarta hora de muestreo, esto fue lo que sucedió con la tableta que tenía un 20% de lactosa, con la tableta que contenía el 40% se desintegro completamente a la segunda hora de muestreo, sin embargo se procedió a seguir tomando muestras de 5 ml cada hora para analizarlas por HPLC, una posible explicación a este fenómeno puede ser que existió una combinación entre la erosión de la tableta y una difusión del agua del medio que provocó la ruptura de la tableta por completo, a este tipo de mecanismo se le denomina anómalo ya que combina los dos tipos de procesos en el cual se puede liberar principio activo de una matriz polimérica.

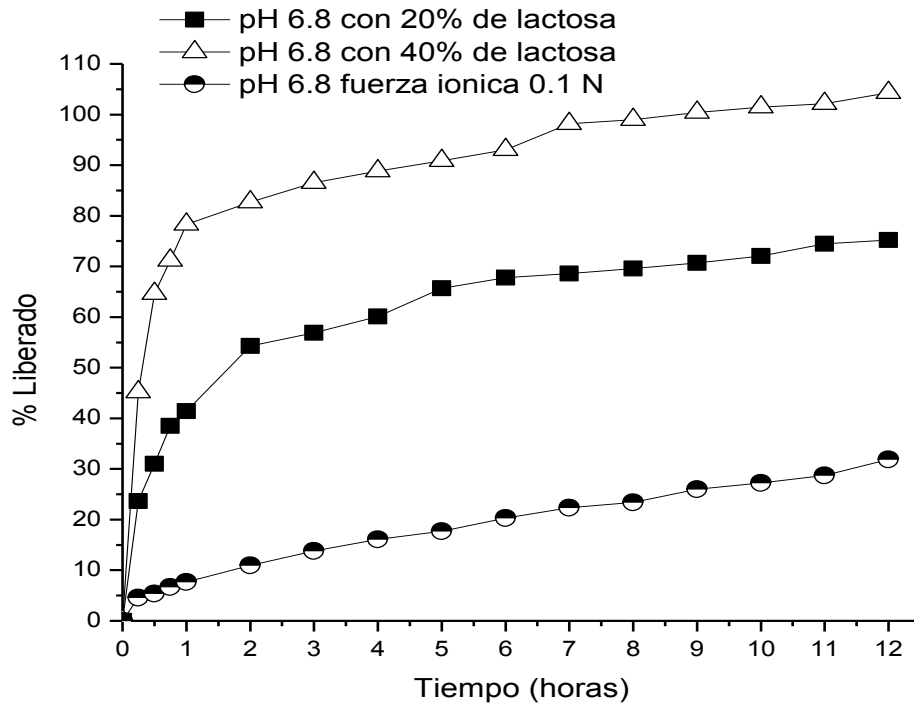


Figura 18. Comparación de los perfiles de liberación la inclusión de lactosa en la formulación.

En cuanto respecta a la liberación del complejo con propranolol a pH de 7.4 (colónico) se observa que se pierde la linealidad del orden cero de reacción en la cinética, sin embargo es un buen resultado ya que a 12 horas de muestreo el porcentaje liberado llega solo a 55% y a 24 horas alcanza un 75%, el complejo a este pH fue el que mas liberó el principio activo, dándonos una idea de que pH's básicos el complejo se comporta adecuadamente en cuanto a liberación se refiere, además de que hace la liberación del fármaco de manera controlada, cumpliendo con uno de los principales objetivos del trabajo, que es el de sintetizar y comprobar que el sistema de liberación hecho en el laboratorio puede liberar el fármaco de manera sostenida.

En esta gráfica se representan las distintas cinéticas obtenidas de la liberación del complejo con propranolol dándonos una idea de que al aumentar el pH y la concentración de iones en la solución el complejo responde y libera paulatinamente el fármaco, sin contar con el inconveniente del fluido gástrico simulado en el cuál es necesario recubrir la tableta con una capa entérica, es importante recalcar que al incluir un excipiente en la formulación, en este caso lactosa, la naturaleza de la liberación se modifica, en este caso, entre más adición de lactosa en la formulación, el principio activo es liberado a mayor velocidad, dando rápidamente una explicación de lo que se piensa que ocurre es que cuando la lactosa es incluida en la formulación y es expuesta a fluido intestinal, va a formar poros en los cuales se va a favorecer la difusión del líquido hacia el interior, este mismo va a actuar de manera que conforme pase el tiempo el principio activo saldrá de la matriz sin ningún problema, hasta llegar a un punto en el cual el complejo no soporte más y se desintegre, en este caso la erosión de la tableta no será el mecanismo predominante de liberación, tal vez actúe de manera cooperativa a la difusión pero solo sería en las primeras horas de muestreo, con la ayuda de estos experimentos se puede proponer que este complejo se comporta de manera dependiente del pH y la fuerza iónica del medio, además de que se puede regular la velocidad de liberación del fármaco incluyendo un excipiente a la formulación para aquellos casos en los cuales sea necesario una rápida liberación.

En general el polielectrolito cumple la función de intercambiador iónico cuando es expuesto a las sales del medio, cuando aumenta la concentración de sales, cuando se le incluye un excipiente a la formulación y cuando se modifica el pH, solo faltaría observar si se sigue comportando de esta manera al variar la temperatura ya que todos los experimentos fueron llevados a cabo a una temperatura de 37°C simulando la temperatura corporal.

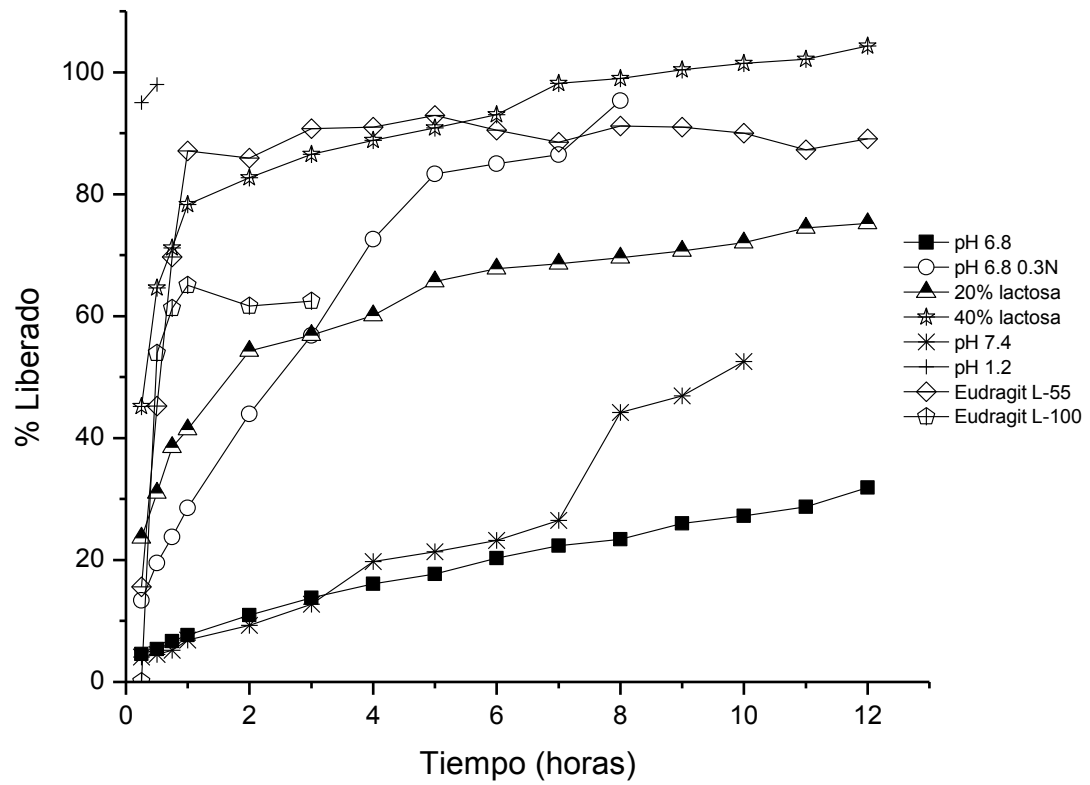


Figura 19. Cinética de las liberaciones del complejo poli(MAOB)-propranolol en diferentes condiciones.

IV.9 Cinética de liberación de labetalol

En cuanto a las liberaciones con el complejo que contenían labetalol en la formulación estos son los siguientes resultados.

Para la liberación en medio gástrico, el complejo se comportó de manera ideal al observarse una cinética casi de orden cero y obteniendo un porcentaje de fármaco liberado de tan solo 45% en el periodo de 12 horas de muestreo, no se necesitó recubrir la tableta con una capa entérica, lo que indica que este complejo puede llegar a ser mejor que el que contenía propranolol

La **figura 20** muestra la liberación que tuvo lugar en fluido intestinal de 6.8, se puede observar que el porcentaje liberado de fármaco alcanza el 60%, en comparación con el porcentaje que se obtuvo con el fluido intestinal, este resultado va un poco en aumento, no tan significativamente como el complejo con propranolol. El comportamiento del complejo en pH básico fue casi el mismo que en pH gástrico, no hubo mucha variación en los resultados y se observó un orden de reacción casi cero, el mecanismo en el cual el principio activo fue liberado al medio fue el de la erosión de la tableta al no presentar signos de destrucción pasadas las 12 horas de muestreo, esto nos lleva a pensar que tal vez este complejo puede ser buen candidato para liberar a tiempos mayores a los de 24 horas manteniendo siempre una liberación controlada del fármaco para que los niveles plasmáticos en sangre se mantengan dentro del rango terapéutico, cumpliendo con el objetivo de toda formulación farmacéutica.

En esta gráfica se ve representadas las tres liberaciones que tuvo lugar el complejo con labetalol, se puede apreciar que en los tres casos no hubo variación significativa en

cuanto al porcentaje liberado de fármaco, a pH gástrico se observa que solamente liberó aproximadamente un 45% lo cuál es muy bueno por que significa que el complejo responde muy bien a comparación del complejo con propranolol que tuvo un efecto de rápido vaciamiento. A pH's intestinales el complejo liberó un poco mas en pH 7.4 con un 56%, sin embargo a pH de 6.8 esta casi similar, lo que nos hace pensar que no hay una dependencia tan marcada del complejo con el pH del medio, tal vez sea por el cambio de fármaco en el complejo que actúa de manera un poco mas hidrófobo y que es posible que sea mas difícil salir del complejo que un fármaco mas soluble como sucedió en el experimento anterior.

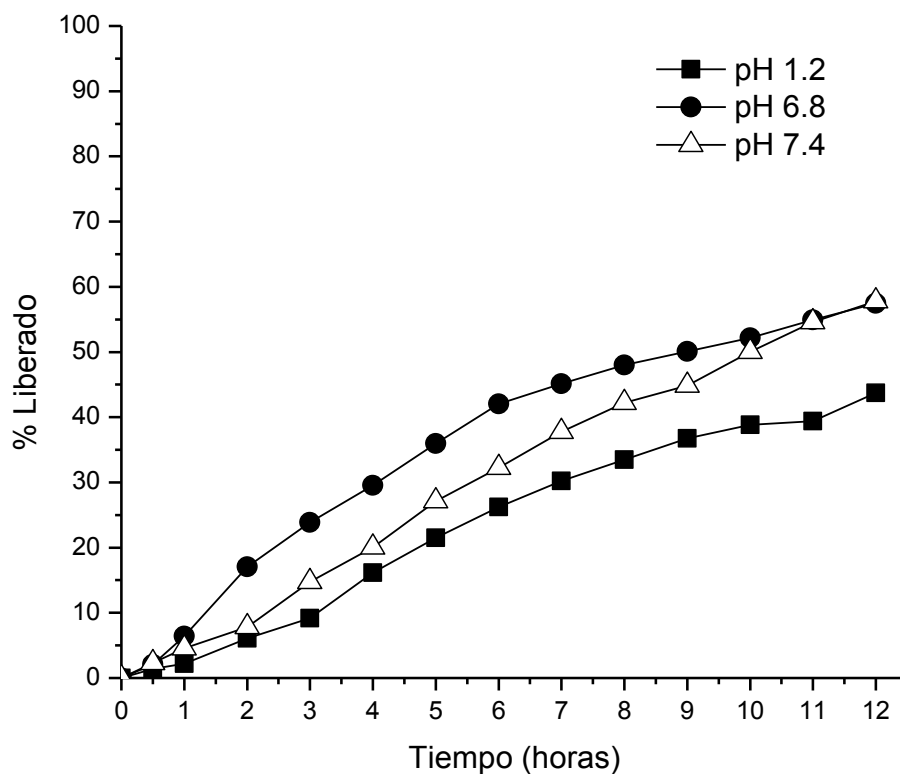


Figura 20. Comparación de las 3 liberaciones del complejo poli(MAOB)-labetalol

IV.10 Determinación del mecanismo de liberación para cada complejo

En cuanto a la determinación del mecanismo de liberación en cada complejo para los distintos pH's, los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 11. Datos obtenidos en la determinación del mecanismo de liberación de cada tableta.						
		n	k	R2 de la ecuación 1	Ke	R2 de la ecuación 2
Propranolol pH 6.8		0,5184	0,0808	0,992	0.6402	0.8120
Propranolol pH 7.4		0,7843	0,0741	0,9309	1.668	0.9371
Propranolol pH 6.8 0.3 N NaCl		0,6056	0,2955	0,9958	4.881	0.8773
Labetalol pH 1.2		1,14	0,029	0,9921	1.187	0.9855
Labetalol pH 6.8		1,0817	0,0529	0,9689	1.727	0.9428
Labetalol pH 7.4		1,0255	0,0477	0,996	1.546	0.9962

Se puede observar que en las liberaciones en complejo con propranolol el mecanismo principal de liberación es el de difusión y en labetalol es el de erosión, el ajuste de los datos fue posible gracias a un software el cual determinó la mayoría de los parámetros.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

- Se llevó a cabo el cumplimiento del objetivo en el cual se especificaba la optimización de síntesis del monómero con un porcentaje de rendimiento mayor al 90 % controlando el goteo del reactivo limitante y el control de la temperatura.

- El polímero posee ciertas características que lo hacen más versátil en comparación con otros al ser un polvo fino a temperatura ambiente, facilitando la síntesis de complejo y ser manejable al momento de compactarse en la prensa.

- En las liberaciones realizadas con el complejo que contiene propranolol se puede observar una cinética de reacción de pseudo orden cero de reacción a dos pH distintos, debido a la cesión del principio activo de manera paulatina evitando el vaciamiento abrupto.

- Es posible y comprobable modificar la velocidad de liberación del complejo con propranolol al ser expuesto a una concentración mayor de sales del medio provocando un intercambio más rápido del polielectrolito, con el efecto del pH al ser sensible y capaz de intercambiar principio activo con contraiones y se ve reflejada el efecto de rellenos tal es el caso de lactosa que acelera la liberación del fármaco.

- El complejo con propranolol es sensible al cambio de pH, siendo este un sistema capaz de responder a estímulos externos, sin embargo cuenta con la desventaja de vaciarse en 5 minutos al estar expuesto a pH de 1.2, es posible controlar esta desventaja con el uso de soluciones de recubrimiento encontrándose que aumentando el

porcentaje en peso del recubrimiento se podría manejar esta situación y evitar una liberación por las 3 primeras horas iniciado el estudio de liberación de la tableta.

- Existe una dependencia de liberación en cuanto a la solubilidad de fármacos se refiere, entre mas hidrofobico sea el principio activo mas independiente del pH se puede volver, además, influye la solubilidad del fármaco en la síntesis de complejos ya que el menos soluble da por resultado una mayor cantidad de fármaco en el complejo de aquel que es mas soluble.

- El mecanismo de liberación predominante en la liberación del complejo con labetalol fue el de erosión al mantener la geometría de la tableta pasadas las 12 horas de estudio y verse reflejado en las cinéticas antes presentadas en la discusión de resultados en las que se puede observar una liberación de principio activo desde las tabletas de forma lenta, paulatina y constante sin cambios bruscos en cuanto a porcentaje liberado.

- Se puede decir que el complejo con labetalol no es dependiente del pH, al contrario de lo que sucede con el complejo que contiene propranolol, este modelo de sistema de liberación puede llegar a ser un buen candidato para ser un sistema de liberación sitio específico.

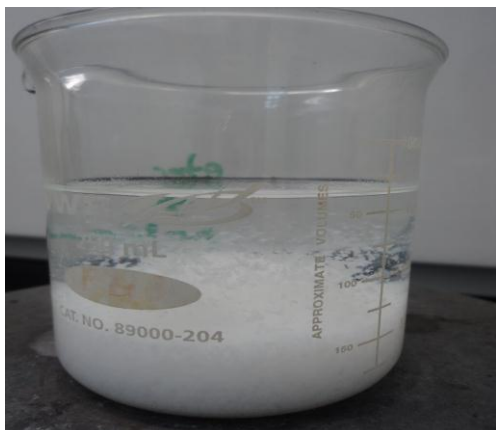
REFERENCIAS

1. Pertusso S., Navarro G. *Matrices hidrofílicas como agentes moduladores de liberación de fármacos*. Salud militar. **2007**, vol. 29, no.1, 9-17.
2. Ortiz-Palacios, J. Diseño de resina anfolíticas para el intercambio iónico. Tesis de maestría en ciencias en química. Universidad Autónoma metropolitana-Iztapalapa, división de ciencias básicas e ingeniería. México D.F, **2007**, pp 12-27.
3. Vikas A., Raghupathi K., Sanjay G. N. *Ion-Exchange resins: carrying drug delivery forward*. Research focus, review. Elsevier science Ltd. 2001, Vol. 6, no. 17, 905-914.
4. Patel R.R, Patel J.K; *Novel Technologies of Oral Controlled Release of Drug Delivery System*. Department of Pharmaceutical Technology, Nootan Pharmacy College, Visnagar- 384 315, Mehsana, Gujarat, India. **2011**, vol. 1, no. 2, 128-132.
5. Abrams I., Millar J. *A history of the origin and development of macroporus ion-exchange resins*. Reactive & functional polymers. **1997**, Vol. 35, 7-22.
6. Cornejo, J., Licea, A., Partida, Y., Serrano, A., Espinoza, K., Ramos, M; *Hydrophobic weak acid polymers as controlled release carriers*. Pharmaceutical Development and Technology, **2010**, 10.3109, 1-7
7. Nandini, K., Cherng, K; *Drug release from drug-polyanion complex tablets: poly (acryloamido – 2- methyl-1-propanesulfonate sodium-co-methyl methacrylate)*. Journal of controlled release **1999**, 57, 141-150.
8. Serra L., Berrozpe D., Peppas N. *Diseño y síntesis de hidrogeles acrílicos modificados para la liberación controlada de fármacos*. **2003**, Vol. 54, 333-336.
9. Cannizzaro M., Scott; Langer S., Robert; Shakesheff M., Kevin; Uhrich E., Kathryn. *Polymeric systems for controlled drug reléase*. Chem. Rev. **1999**, Vol. 99, 3181-3198.
10. Cornejo, J., Licea, A., Velázquez, M; *Aplicación de poli (metacrilatos de carboxialquilo) en sistemas de liberación de propanolol por intercambio iónico*. Revista de la sociedad química de México. **2004**, 48, 124-129.
11. Licea, A.; Rogel, E.; Lopez, J.A.; Castillo, L.A., Cornejo, J.M, Arndt, K.F; *A facile síntesis route for carboxyaryl- methacrylates: a way to obtain aromatic polyelectrolytes*. Designed Monomers and Polymers, **2003**, Vol. 6, No.1, 67-80.
12. Cornejo, J.M.; Licea, A.; Flores, M. E.; Lugo, E.. *Drug release from complexes with a series of poly (carboxyalkyl methacrylates), a new class of weak polyelectrolytes*. International journal of Pharmaceutics, **2005**, Vol. 305, 52-60
13. Ranade, V.V; Hollinger, M. A. *Drug delivery systems*; CRC Press, 2003; pp 167-168

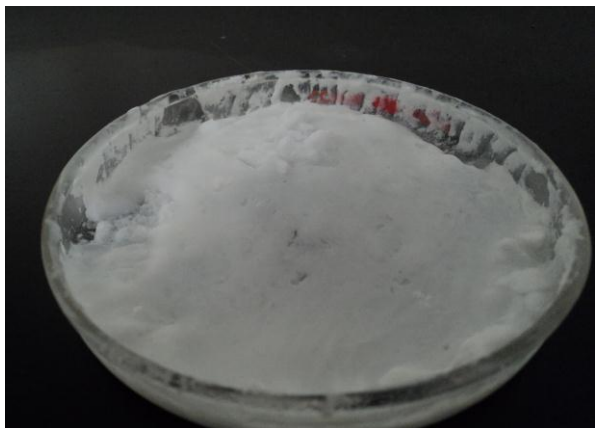
14. Sharma, V; Singh, L. *Ion Exchange Resins: a bond for pharmaceutical Industry, an overview*, Department of Pharmaceutical Technology, Pharmacy Division, Shri Ram Murti Smarak College of Engineering and Technology, Bareilly, U.P, India. **2011**, Volume 6, Issue 1.
15. Fernandez, I. *Polímeros en solución y aplicación de los polímeros en la industria petrolera*. Departamento de manejo integrado de producción. Venezuela, pp 1-14
16. Ritge, P.L., Peppas, N.A. *A simple equation for description of solute release. I. Fickian and non-Fickian release from non-swelling devices in the form of slabs, spheres, cylinders or disks*. J. Control. Rel. **1987**. 5, 23-26.
17. Kanhere, S.S., Vyas, A.H., Bhat, C.V., Kamat, B.R., Shah, R.S. *Studies with ion exchange resins on Cinchona alkaloids. III: Exchange rates*. J. Pharm. Sci. **1969**. 58, 1550-1552.
18. Nujoma, Y.N., Kim, C.J. *A designer's polymer as an oral drug carrier (tablet) with pseudo-zero order kinetics*. J. Pharm. Sci. **1996**, 85:1091-1095.
19. Moldenhauer, M.G., Nairn, J.G. *Formulation parameters affecting the preparation and properties of microencapsulated ion-exchange resins containing theophylline*. J. Pharm. Sci. **1990**. 79, 659-666.

ANEXOS

Anexo 1. Monómero



Anexo 2. Polímero



Anexo 3. Complejo con propranolol



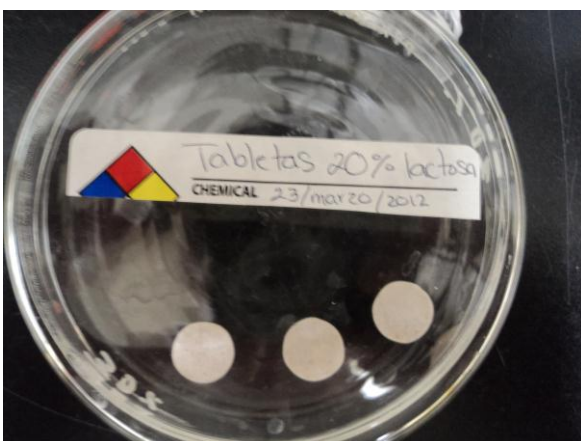
Anexo 4. Complejo con labetalol



Anexo 5. Comprimidos con propranolol



Anexo 5. Comprimidos con propranolol (con inclusión de lactosa)



Anexo 6. Comprimidos con labetalol



Anexo 7. Dimensiones de los comprimidos



Anexo 8. Determinación del peso molecular de p(MAOB) por DLS

Conc. g/mL	Intensity kcps	KC/RoP 1/kDa
2.00e-4	160.4	0.00204
3.00e-4	159.8	0.00307
7.00e-4	257.2	0.00422
0.00100	345.8	0.00438

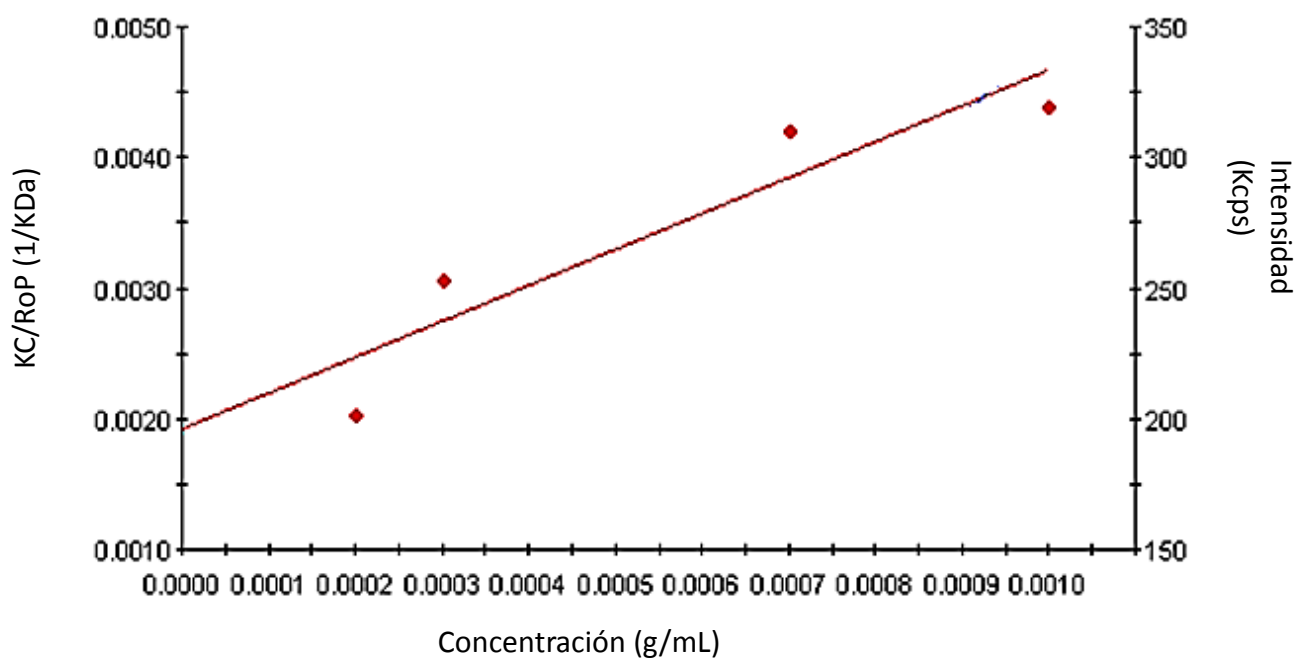


Figura 21. Gráfica de Debye para la determinación del peso molecular de p(MAOB).

Peso molecular: 522 KDa

Anexo 9. Diseño del método analítico

Linealidad: Se realizó el análisis de regresión lineal para la valoración de propranolol y labetalol excluyendo al origen, los resultados se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 12. Linealidad de la valoración de propranolol			
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Área ($\mu\text{v s}$)	DesvEst	%CV
10	87492	1219.52	1.39
20	179534.61	2659.48	1.48
40	367480.98	1527.30	0.41
80	771506.83	4130.45	0.53
120	1117492	6563.55	0.58
160	1601460.50	7855.10	0.49
200	194272.66	11586.53	0.59

Tabla 13. Linealidad de la valoración de labetalol.			
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Área ($\mu\text{v s}$)	Desvest	%CV
10	324738.30	5491.91	1.69
50	1108068.72	14308.18	1.29
75	1983090.36	20162.45	1.01
120	2961571.56	40084.09	1.35
200	4709013.96	78119.49	1.65
250	5856714.15	18160.16	0.31

Una gráfica de concentración contra respuesta para la linealidad de propranolol se ve en la Figura 22. En la Figura 23 se tiene el gráfico que representa la linealidad de labetalol. El intercepto no parte de cero en ninguna de las dos gráficas.

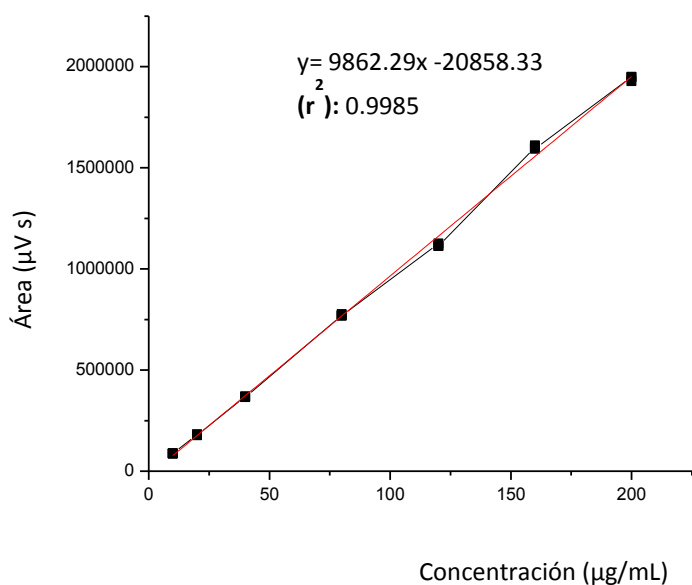


Figura 22. Gráfica de linealidad del método analítico para cuantificar propranolol.

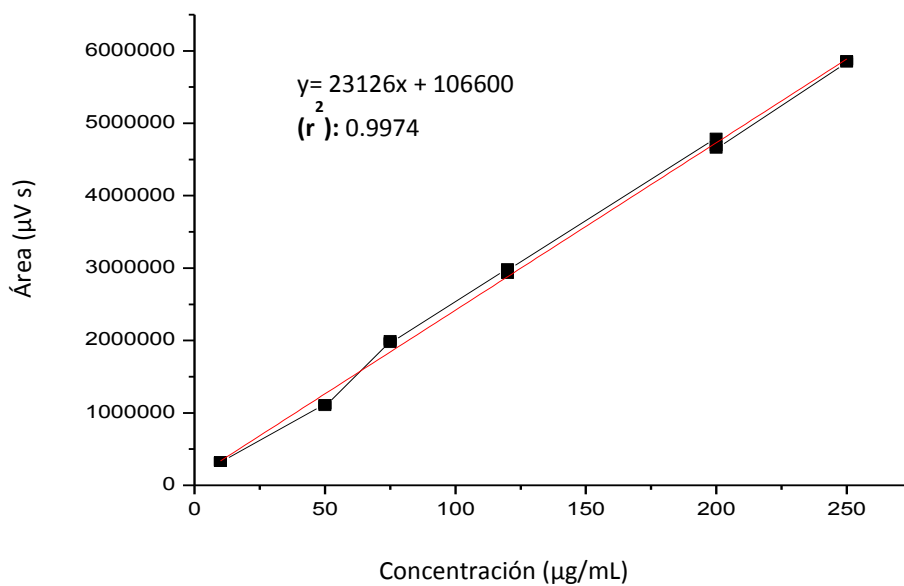


Figura 23. Gráfica de linealidad del método analítico para cuantificar labetalol.

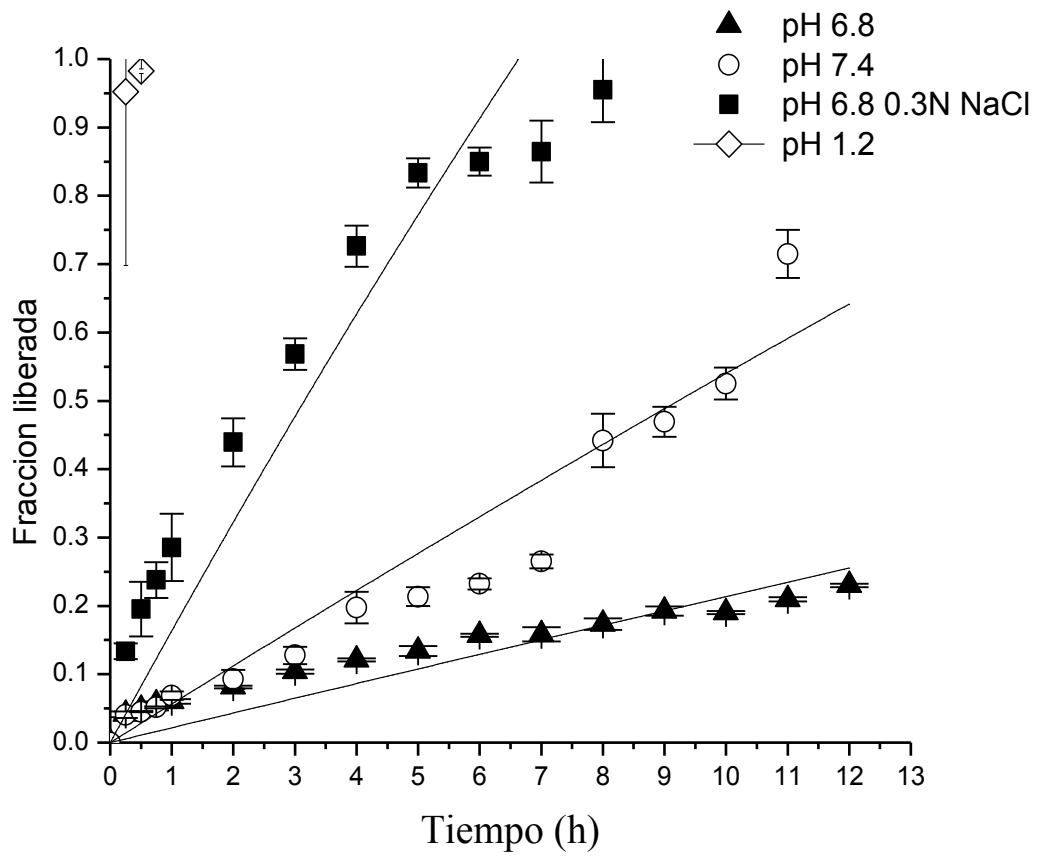


Figura 24. Gráfica de liberaciones de propranolol con desviación estándar.

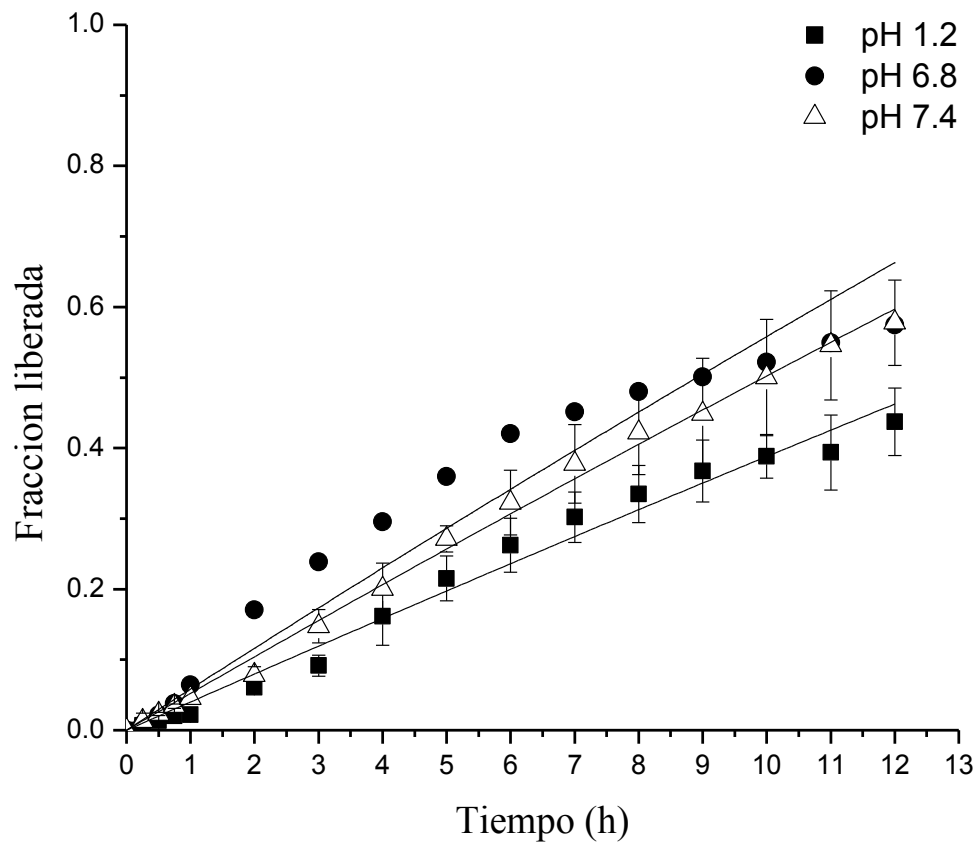


Figura 25. Gráfica de liberaciones de labetalol con desviación estándar.