

T
1355

133786

Universidad Autónoma Metropolitana

Unidad Xochimilco

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LINEA DE INVESTIGACIÓN:

DISEÑO Y PRODUCCIÓN DE FORMAS FARMACÉUTICAS

“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE POLIMORFOS O AGREGADOS
SÓLIDOS DE KETOCONAZOL”

COMUNICACIÓN IDÓNEA DE RESULTADOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

PRESENTA

Luis Manuel Mendoza Morales

Matrícula: 207181508

COMITÉ TUTORIAL.

Tutor: Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda.

Asesor: Dr. José Reyes Gasga.

Asesor: Dr. Gabriel Marcelín Jiménez.

FIRMAS DE CONFORMIDAD DEL COMITÉ TUTORIAL



TUTOR: Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda



ASESOR: Dr. Gabriel Marcelín Jiménez



ASESOR: Dr. José Reyes Gasga.



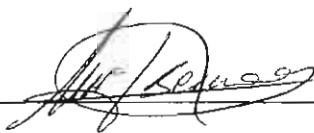
Alumno: Luis Manuel Mendoza Morales

MATRÍCULA: 207181508

TITULO DEL PROYECTO

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE POLIMORFOS O AGREGADOS
SÓLIDOS DE KETOCONAZOL

JURADO DE EXÁMEN DE GRADO



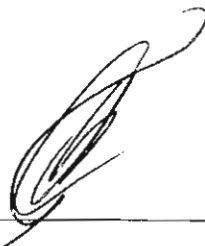
Dra. María Josefa Bernad Bernad

PRESIDENTE



Dr. Efrén Hernández Baltazar

VOCAL



Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda

SECRETARIO

Resumen

El Ketoconazol (KZL) es un fármaco prácticamente insoluble en agua y con problemas de biodisponibilidad oral, para el cual aun no se ha notificado la existencia de polimorfismo, solvatomorfismo o co-cristalización, y con el cual se han realizado diversos esfuerzos para modificar su estructura física y aumentar su solubilidad por medio de la producción y estabilización de sus amorfos con la ayuda entre otras sustancias como la Polivinilpirrolidona (PVP).

En este estudio se abordó como problema de investigación obtener una entidad sólida de KZL con mejores características de solubilidad y velocidad de disolución que la materia prima disponible hasta la fecha en el mercado y que se tomó como referencia, con la perspectiva adicional de aportar conocimiento fisicoquímico del proceso y del producto obtenido.

Para alcanzar los objetivos del proyecto fue preciso validar un método analítico por cromatografía de líquidos de alta resolución que permitiera cuantificar la solubilidad del KZL en distintos disolventes, así como la velocidad de disolución de las muestras en estudio.

La solubilidad del KZL de referencia se evaluó en cinco sistemas disolventes y se diseñaron los experimentos de re-cristalización necesarios para determinar las condiciones bajo las cuales se pudiera obtener un agregado molecular – polimorfo, amorfo o solvatomorfo –, de mayor solubilidad que el KZL de referencia o bien disminuir su tamaño de partícula para conseguir una mayor velocidad de disolución.

Para los fines antes señalados, se re-cristalizó el activo en distintos disolventes con y sin la aplicación de ultrasonido, utilizando los métodos de descenso de temperatura, evaporación del disolvente y cambio de polaridad del medio. Por otra parte, se estudió el efecto de la presencia de PVP como medio dispersor bajo distintas condiciones de re-cristalización.

Para caracterizar los agregados moleculares sólidos de KZL obtenidos mediante los procesos descritos, se utilizó difracción de rayos X de polvos, calorimetría diferencial de barrido y espectroscopía infrarroja, realizándose así mismo, los correspondientes estudios de disolución.

El método analítico resultó basado en HPLC acoplado a Fluorescencia ser específico, lineal, exacto y reproducible en el intervalo de 0.4 a 10 µg/mL. La solubilidad del KZL fue mayor en medio ácido, siendo el metanol el mejor disolvente, lo cual fue confirmado mediante la estimación de la entalpía de disolución utilizando los datos experimentales.

Después de someter el principio activo a distintos procesos de re-cristalización, los materiales obtenidos resultaron ser cristalinos sin cambios en su estructura interna, lo cual fue demostrado mediante difracción de rayos X y calorimetría diferencial de barrido. Únicamente se observó reducción de tamaño de monocristal en el sólido obtenido en Isopropanol, pero sin cambio significativo en su solubilidad.

Al re-cristalizar KZL en presencia de PVP, se formaron dispersiones sólidas sin que se formaran nuevas estructuras polimórficas; sin embargo, mediante los procesos utilizados se disminuyó la cristalinidad del sistema, obteniéndose el estado amorfo del principio activo, lo cual fue confirmado por difracción de rayos X y calorimetría diferencial de barrido. Por otra parte, el análisis de estas muestras por espectroscopía infrarroja, mostró la presencia de interacciones

que se asocian a puentes de hidrógeno, entre la PVP y el KZL, lo cual no ocurrió en la mezcla física KZL-PVP.

Mediante distintos procedimientos, como haber sometido a molienda y a recristalizaciones sucesivas en metanol, la dispersión sólida amorfa de KZL-PVP no mostró reconversión al estado cristalino.

Finalmente, se observó que no obstante haberse obtenido una estructura amorfa, la dispersión sólida KZL-PVP en lugar de incrementar la velocidad de disolución del activo en medio ácido, la disminuyó, lo cual se puede atribuir tanto a las interacciones tipo puente de hidrógeno que se presentan entre el KZL y la PVP en la matriz de dispersión sólida, como a un efecto de retardo en la difusión del activo por la viscosidad de la matriz polimérica al entrar en contacto con el disolvente. |

La disminución de la velocidad de disolución del KZL en la dispersión sólida se explicó también a través de su comportamiento termodinámico.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada.

A la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, por haberme brindado la oportunidad para cursar el posgrado.

A la Facultad de Física de la Universidad Nacional Autónoma de México por las facilidades otorgadas para realizar parte de este proyecto.

Al Hospital General de México por el apoyo brindado en la prestación de sus instalaciones para la realización de este proyecto.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

-

No encuentro las palabras para expresar lo que siento solo sé que detrás de cada línea de llegada, hay una de partida. y que detrás de cada logro, siempre habrá otro desafío. Aunque a veces pensé en abandonar por las circunstancias. No deje que se oxidara el hierro que hay en mí y continúe el camino que me había trazado.

Después de finalizar un trabajo tan arduo y lleno de dificultades, pero que también a su vez me deja grandes experiencias y satisfacciones, por todo lo aprendido tanto en lo profesional como en lo personal. Cabe mencionar que este proyecto no hubiese sido posible sin la participación de personas que facilitaron todo este proceso para que este trabajo llegue a un feliz término. Por ello es para mí un verdadero placer utilizar este espacio para expresarles mis más sinceros agradecimientos.

En primer lugar a mis padres y a mi esposa por el apoyo, la paciencia y el ánimo, acompañándome siempre en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad, que de forma incondicional entendieron mis ausencias y mis malos momentos.

A mis asesores de tesis por su guía y por haberme facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de este proyecto.

Por último, pero no menos importante a ti Señor por haberme dado la sabiduría y la fortaleza para que fuera posible alcanzar este triunfo.

-

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	4
El grado de orden de los sólidos	4
Polimorfismo, amorfismo y disolución	5
Dispersiones sólidas	10
Técnicas utilizadas para la caracterización del estado sólido	14
<i>Difractometría de rayos- X de polvos</i>	14
<i>Difracción de rayos- X y sustancias amorfas</i>	18
<i>Tamaño de mono-cristal</i>	18
<i>Análisis térmicos</i>	19
<i>Calorimetría diferencial de barrido (DSC)</i>	21
<i>Espectroscopía Infrarroja</i>	23
Solubilidad	27
<i>Polaridad del medio</i>	29
<i>pH del medio</i>	29
<i>Influencia de la temperatura</i>	30
<i>Factores del soluto en estado sólido</i>	35
Propiedades fisicoquímicas y farmacológicas de Ketoconazol	36
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	38
HIPÓTESIS	40
OBJETIVO GENERAL	40
Objetivos particulares	40
MATERIALES Y MÉTODOS	41
Reactivos	41
Metodología	41
Validación de un método por cromatografía de líquidos de alta resolución para la cuantificación de Ketoconazol en solución.	41
Determinación de curvas de solubilidad de Ketoconazol en: metanol, etanol, isopropanol, agua Milli Q pH 6.5 y ácido fórmico mM, pH 3.0.	42
Sistemas de re-cristalización de Ketoconazol	43
<i>Re-cristalización por descenso de temperatura bajo</i>	43

<i>condiciones de ultra-sonicación y sin ultra-sonicación</i>	
<i>Re-cristalización en metanol por cambio de polaridad del medio de disolución</i>	44
Formación de dispersiones sólidas de Ketoconazol con Polivinilpirrolidona	45
<i>Mezcla física KZL -PVP</i>	45
<i>Dispersión sólida por eliminación de disolvente a 100° C (muestra DSA)</i>	45
<i>Dispersión sólida por re-cristalización a temperatura sub-ambiente (muestra DSb)</i>	45
<i>Dispersión sólida obtenida por evaporación del disolvente, sometida a reducción de tamaño por molienda (muestra DSc)</i>	46
<i>Dispersión sólida por evaporación de disolvente en capa delgada a temperatura ambiente (muestra DSd)</i>	46
<i>Dispersión sólida por re-cristalizaciones sucesivas con evaporación del disolvente a temperatura subambiente (muestra DSe)</i>	46
Caracterización de las muestras sólidas por Difractometría de rayos-X de polvos	46
Caracterización de las muestras sólidas por Calorimetría Diferencial de Barrido	47
Caracterización de las muestras sólidas por Espectroscopía Infrarroja	47
Disolución intrínseca	47
Velocidad de disolución en canastillas (aparato 1)	48
Determinación de solubilidad de DS KZL-PVP	48
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
CONCLUSIONES	88
PERSPECTIVAS	89
BIBLIGRAFÍA	91
ANEXO	98

INTRODUCCIÓN

Cuando se administra un medicamento por vía oral, el fármaco contenido en la forma farmacéutica debe ser liberado para entrar en solución e iniciar el proceso de absorción. Una vez que el fármaco se ha absorbido, éste viaja por la circulación sistémica al sitio de acción, donde alcanzará concentraciones suficientes que determinarán su efecto terapéutico.

Durante el proceso de disolución-absorción en un organismo, existen diversos factores fisico-químicos propios de cada molécula y del medio, que determinarán su solubilidad y permeabilidad en membranas del tracto digestivo (Bertram, 2005).

Tratándose de una administración vía oral, son muchos los factores que determinan la biodisponibilidad de la sustancia activa: la solubilidad y velocidad de disolución del fármaco en sistemas acuosos, la forma física (grado de orden) tanto del fármaco como de la matriz que lo contiene, los componentes de esta última y su efecto sobre el mecanismo de liberación del activo, entre otros.

De tal forma, sólo si el fármaco se encuentra disuelto en el fluido gastrointestinal en la forma molecular adecuada – ionizada, no ionizada, o como complejo, y dependiendo de su mecanismo de transporte durante el proceso de absorción -, podrá difundir por la membrana gastrointestinal para alcanzar la circulación sistémica en la cantidad y tiempo requeridos.

De acuerdo al Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (Amidon y col., 1995; Lobenberg y Amidon, 2000; Baena y Ponce, 2008) se ha agrupado a los fármacos con base a su solubilidad acuosa y a su permeabilidad intestinal en las siguientes categorías:

Clase I, alta solubilidad y alta permeabilidad

Clase II, baja solubilidad y alta permeabilidad

Clase III, alta solubilidad y baja permeabilidad

Clase IV, baja solubilidad y baja permeabilidad

En el caso de fármacos de clase I no se necesitan estrategias para aumentar su absorción, sin embargo, en las demás clases se necesita desarrollar técnicas o métodos cuyo fin ulterior sea mejorar la absorción y con esto la biodisponibilidad. Por ejemplo, la absorción de fármacos de clase II podría incrementarse si de alguna manera se lograra aumentar su solubilidad y velocidad de disolución en un sistema acuoso. Es claro entonces que dependiendo de la clasificación del fármaco, podrían aplicarse diferentes estrategias con la finalidad de acelerar o aumentar su absorción.

Desde la década de los años 60 del siglo XX se ha estudiado la existencia de diversas entidades cristalinas – polimorfismo - de un mismo activo. Se ha demostrado que cada una de ellas presenta distintas propiedades termodinámicas que resultan en aumento o disminución de la velocidad de disolución y en consecuencia, su estabilidad física y química, así como el proceso de absorción a partir de la forma farmacéutica también se ve modificada.

Por tal motivo, es importante investigar y controlar las condiciones bajo las cuales es obtenido un fármaco, ya sea como entidad única sólida amorfa o cristalina, su polimorfismo o solvatomorfismo, así como las circunstancias en que se evita o retrasa la inter-conversión a formas cristalinas no deseadas. Esto es importante, ya que se ha reportado la transformación en procesos unitarios de producción como el secado, la granulación, la molienda, etcétera, así como en distintas condiciones de almacenamiento.

Por lo descrito en el párrafo anterior es que nace la necesidad que durante la etapa de preformulación, se realicen estudios sobre los diversos estados de agregación molecular en que puede obtenerse un principio activo, así como evaluar su comportamiento fisicoquímico para controlar no sólo su producción y estabilidad, sino también su solubilidad y disolución como procesos que regulan su biodisponibilidad.

– Cuando se trata de moléculas de la clase II del sistema de clasificación biofarmacéutica, como es el caso del Ketoconazol (KZL), si bien poseen una alta permeabilidad - capacidad de difusión pasiva - en las membranas biológicas, su escasa solubilidad acuosa en condiciones biológicas estándar, no permite que toda la dosis esté disponible – disuelta – para ser absorbida en el tracto gastrointestinal; por ello se recurre entre otras opciones, a la modificación de su estructura interna – obtención de amorfos, polimorfos, solvatomorfos -, lo cual incide en la solubilidad. Otra opción es la realización de cambios sobre el área superficial de contacto sólido-líquido mediante distintos procedimientos para reducir el tamaño de la partícula, lo cual se consigue por medios mecánicos y técnicas físicas o fisicoquímicas como lo es la formación de dispersiones sólidas (DS) y de estructuras nanométricas.

Para la identificación de los cambios físicos conseguidos con el material, los análisis térmicos y cristalográficos son una herramienta importante en apoyo a la determinación de cambios de la solubilidad y de la velocidad de disolución.

En esta comunicación de resultados de investigación se informa, analiza y discute a partir de parámetros termodinámicos, entre otros: 1) sobre la solubilidad del KZL a tres temperaturas y con cinco medios de disolución; 2) de la estabilidad termodinámica de esta molécula que impide la formación de polimorfos mediante los distintos procedimientos de re-cristalización realizados con los diferentes disolventes y haciendo uso de ultrasonido; y 3) de la formación y resultados de disolución de DS parcialmente cristalinas de KZL, las cuales se obtuvieron al introducir PVP en el sistema de re-cristalización.

Destaca el hecho de que en la formación de las matrices de KZL-PVP, se obtuvo una DS donde la PVP, a diferencia de lo expresado por otros autores, reduce significativamente la velocidad de disolución del KZL, lo cual se ha atribuido al peso molecular de la PVP K-25 utilizada (Balata y col., 2010).

El análisis termodinámico realizado sobre los resultados de disolución de la DS de KZL-PVP, indican que en este tipo de sistema la PVP no sólo contribuye a desordenar y dispersar parte de las moléculas del KZL para que éste se forme en estructuras parcialmente cristalinas o amorfas, sino que también, independientemente de que la PVP pueda ayudar a estabilizar o retardar la transformación del KZL amorfo a una fase cristalina, el peso molecular de la PVP K-25 empleada puede determinar la velocidad de disolución del KZL.

La reducción de la velocidad de disolución de la DS de KZL-PVP comparada con la materia prima de referencia se atribuyó a que en la liberación del KZL desde la matriz sólida, una vez que penetra el agua en ésta, se presenta la formación de una estructura tipo gel que dificulta la difusión del fármaco.

ANTECEDENTES

El grado de orden de los sólidos

La Farmacia Molecular considera que todas las formas farmacéuticas están conformadas por moléculas con distinto nivel de agregación, donde el grado de orden explica el comportamiento de los materiales antes y durante la producción del medicamento, así como la liberación, absorción y acción terapéutica del fármaco. (Quirino y col., 2004).

El grado de orden se define como el acomodo intermolecular tridimensional y de repetición periódica de sistemas integrados por moléculas de la misma o de distinta estructura, o bien de átomos o iones.

Dependiendo de la temperatura y presión, se establecerán interacciones o fuerzas de cohesión o de adhesión que darán lugar a que dichas entidades químicas obtengan un nivel de organización que se materializa en los estados físicos o fases conocidos como sólido, líquido y gaseoso, así como las meso-fases líquido-cristalinas y de fluidos supercríticos. El grado de orden de cada una de dichas

fases puede estimarse mediante parámetros termodinámicos como la entalpía (ΔH), la entropía (ΔS) y la energía libre de Gibbs (ΔG).

Polimorfismo, amorfismo y disolución

El polimorfismo se describe como la capacidad que tiene una sustancia para existir en dos o más fases sólidas cristalinas de distinta conformación u orden molecular en la red de átomos, iones o moléculas que integran el sólido. El nivel de ordenamiento se refleja en las propiedades termodinámicas de cada entidad polimórfica, por ejemplo, calor o entalpía de fusión (ΔH_f), calor o entalpía de disolución (ΔH^s), así como entropía (ΔS^s) y energía libre de disolución (ΔG_s).

Por lo general, los polimorfos de fármacos y aditivos de interés farmacéutico se forman durante la cristalización de los compuestos en distintos sistemas de disolventes y por modificaciones en las condiciones de cristalización, como la temperatura y/o presión o por activación mecánica, como ocurre durante las operaciones unitarias de fragmentación y compresión, entre otras posibilidades.

Desde el punto de vista cristalográfico, el polimorfismo es el resultado de que una misma estructura química, pueda adoptar al estado sólido diferentes conformaciones o redes asociadas a una estructura geométrica básica identificada como celda cristalina unitaria (Figura 1).

Una celda unitaria se define como la parte más simple de la estructura sólida cristalina, que al repetirse por traslación reproduce macroscópicamente el cristal. En la figura 1 se puede observar cómo un grupo de entidades químicas que pueden ser átomos, moléculas o iones (esferas grandes) se han agregado de forma periódica, generándose por asociación una serie de puntos o nodos (esferas pequeñas), que se repiten de manera tridimensional y a esta estructura se le conoce como celda unitaria (imagen izquierda). La celda unitaria está definida por dimensiones a , b y c , que se asocian a los ejes coordenados x , y , z , así como por los ángulos α , β y γ . A la vez, para cada celda, las dimensiones a , b y c , guardan una distancia d , que se describe en la imagen derecha de la figura 1.

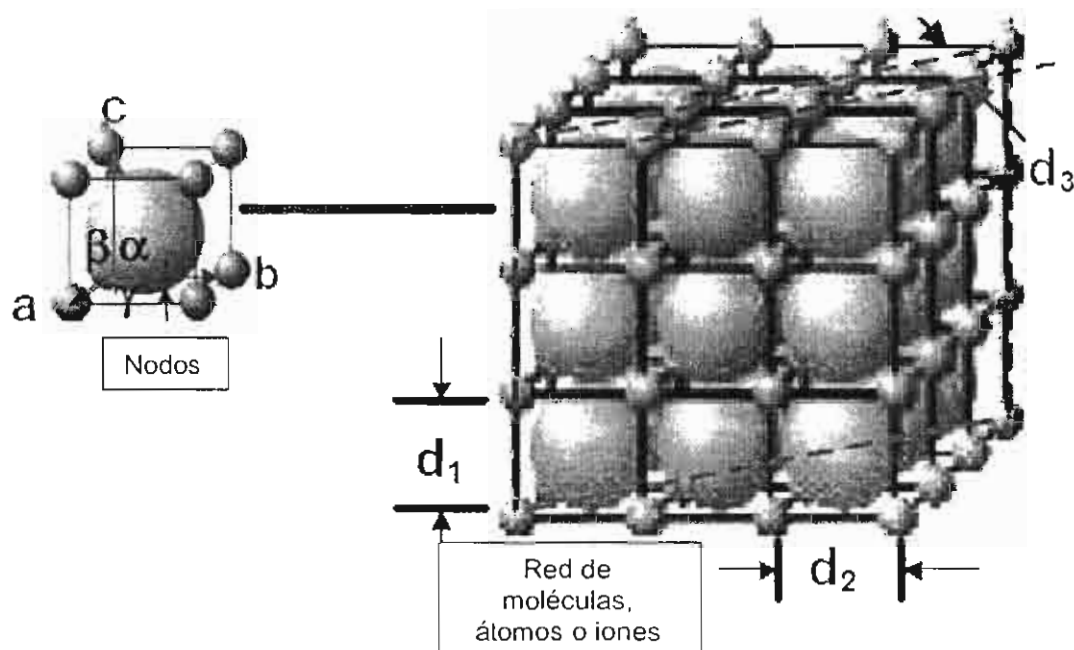


Figura 1. Celda unitaria (imagen izquierda) de sólido cristalino (derecha). La celda está descrita por sus ejes a , b y c , así como los ángulos α , β y γ .

En el modelo descrito por la figura 1, los nodos se repiten desde cada $5,0000 \times 10^{-10}$ m, hasta las centenas de m, con un nivel creciente de simetría, lo que da origen entre los distintos parámetros de celda a siete sistemas cristalinos que pueden ser determinados mediante difracción de rayos X:

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

Parámetros de celda unidad	Fase o Sistema cristalino
$a \neq b \neq c \quad \alpha \neq \beta \neq \gamma$	Triclínico
$a \neq b \neq c \quad \alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta$	Monoclínico
$a \neq b \neq c \quad \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	Ortorrómbico
$a = b \neq c \quad \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	Tetragonal
$a = b = c \quad \alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$	Trigonal
$a = b \neq c \quad \alpha = \beta = 90^\circ \neq \gamma = 120^\circ$	Hexagonal
$a = b = c \quad \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	Cúbico

De tal modo, para una misma molécula, ocurre que se pueden obtener dos o más polimorfos pertenecientes a distintos sistemas cristalinos (por ejemplo, uno ortorrómbico y otro monoclínico, respectivamente).

Una manera arbitraria de identificar cada fase cristalina es mediante números romanos o letras, por ejemplo: I, II; α ; β ; A, B, etcétera. Algunos polimorfos pueden, bajo determinadas condiciones dar lugar a transiciones irreversibles o reversibles de una fase a otra, fenómeno denominado monotropismo o enantiotropismo, respectivamente. (Martin y Molina, 2006; Prohens y Puigjaner, 2007; Quirino y col., 2004; Sánchez y col., 2007; Aguilar y col., 1976).

A temperatura y presión constantes, la forma polimórfica termodinámicamente más estable es la que posee menor energía libre (ΔG) y en el proceso de fusión requiere mayor energía (mayor entalpía (ΔH)) y por ello tiene menor solubilidad.

Al igual que el polimorfismo, el estado amorfo es un fenómeno exclusivo del estado sólido, pero a diferencia del polimorfismo, el amorfismo se caracteriza por la solidificación aleatoria de las moléculas, es decir, el arreglo interno de las moléculas en el sólido es de forma desordenada, lo cual da lugar a un sistema comparable con el estado líquido, esto hace que un amorfo sea una estructura con un nivel de energía mayor a la del cristal, lo cual lo vuelve más inestable y con

mejores propiedades de solubilidad, ya que su calor de fusión y calor de disolución disminuyen de manera considerable.

De modo semejante al polimorfismo, el solvatomorfismo es un suceso del estado sólido que se presenta cuando una sustancia cristaliza y donde el disolvente del medio se incluye de manera estequiométrica en la red interna del cristal, dando origen a una nueva entidad denominada solvato, o hidrato cuando el disolvente incorporado es el agua. (Martin y Molina, 2006; Prohens y Puigjaner, 2007; Quirino y col., 2004; Sánchez y col., 2007).

Tanto el polimorfismo como el amorfismo impactan las propiedades de las partículas: 1) mecánicas (elasticidad/plasticidad, empacamiento, dureza); 2) morfológicas y reológicas (por presentar cambios en su hábito y densidad); 3) termodinámicas (presión de vapor, solubilidad, temperatura de fusión, reactividad química, eléctrica y óptica); 4) estabilidad química y 5) cinética de disolución (Martin y col., 2006; Prohens y Puigjaner, 2007; Quirino y col., 2004; Sánchez y col., 2007).

Es así que el estudio cristalográfico de los sólidos contribuirá a mejorar la calidad, seguridad y eficacia de todo producto farmacéutico.

En 1967 se demostró que el Palmitato de Cloramfenicol es una sustancia policristalina. Los estudios sobre esta molécula permitieron evidenciar la existencia de diferentes estructuras cristalinas, así como su impacto farmacocinético y farmacéutico, ya que demostraron que los polimorfos de dicho activo no solo presentaban diferentes cinéticas de disolución, sino que también diferían en los parámetros de biodisponibilidad y que la forma I carecía del efecto terapéutico. (Aguilar y col., 1976).

En 1976 también se observó la importancia de estudiar la incidencia y los efectos de las transiciones de fase cuando, al caracterizar físico-químicamente un antidepresivo tricíclico formulado con Lauroilsulfato de sodio al 1%, se encontró que durante el proceso de formulación la forma cristalina A de la molécula cambiaba a la forma B, aumentando la solubilidad del activo (Gibbs y col., 1976).

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

Recién en el año 1998, por falta de estudios de preformulación más amplios para poder detectar la existencia y condiciones de formación de más formas polimórficas, el Ritonavir formulado como semisólido en cápsulas, presentó distinta disolución, lo cual se debió a lo que posteriormente se identificó como el problema: la transformación de fase del polimorfo I, a una forma II termodinámicamente más estable no registrada con anterioridad (Bauer y col., 2001).

En cuanto a la biodisponibilidad de los fármacos y su relación con el grado de agregación molecular de los sólidos, está ampliamente documentado que el proceso de disolución con frecuencia es la principal limitante (Bertram, 2005; Amidon y col., 1995; Lobenberg y Amidon, 2000; Baena y Ponce, 2008; Martin y col., 2006; Prohens y Puigjaner, 2007; Quirino y col., 2004; Van de Mooter y col., 2001); es así que la búsqueda del aumento en la velocidad de disolución es uno de los mayores retos farmacéuticos para el desarrollo de medicamentos con fármacos liposolubles.

Existe una variedad de técnicas publicadas para alcanzar dicho objetivo, como son: formación de sales, reducción del tamaño de partícula, formación de estructuras amorfas o polimorfas, co-cristalización, entre otras. Sin embargo, para fármacos en estado cristalino de solubilidad acuosa limitada, la posibilidad de mejorar su solubilidad y velocidad de disolución por medio de la formación de estructuras amorfas puede ser un camino atractivo, ya que un amorfo es un sistema de alto desorden, que confiere una barrera energética menor al sólido para entrar en solución respecto al estado cristalino.

No obstante las posibles ventajas que pudiera representar para incrementar la disolución el uso de partículas amorfas, se ha visto limitado por la estabilidad de las mismas, ya que la probabilidad de su re-conversión al estado cristalino en condiciones ambientales y en determinadas etapas de la producción de formas farmacéuticas, es alta. Por esta razón se han investigado métodos que permitan estabilizar las estructuras amorfas, es decir, métodos que permitan prolongar el tiempo de re-conversión entre un amorfo y su estado cristalino.

Dispersiones sólidas

La formación de dispersiones sólidas (DS) ha sido una estrategia relativamente efectiva en la modificación física de fármacos, tanto para incrementar el área efectiva del fármaco que entrará en contacto con el medio de disolución, como para inhibir o reducir la inestabilidad física de los sólidos amorfos.

Castro y col., (2008) han definido a las dispersiones sólidas como la dispersión de uno o más componentes sólidos en una matriz inerte, también llamado acarreador o agente transportador, las cuales son preparadas por fusión, disolución con un disolvente orgánico o una combinación fusión-disolución.

Materiales hidrosolubles como Polivinilpirrolidona, polietilenglicoles, y azúcares son usados comúnmente como matriz en estos sistemas, aunque también se han empleado Gelucires® y Eudragit®, que son materiales poco solubles.

En las DS la mezcla de los componentes sólidos bajo condiciones adecuadas da como resultado la formación de pequeñas partículas cristalinas o amorfas del componente minoritario, o una mezcla de ambos.

Clasificación de las dispersiones sólidas

Las dispersiones sólidas pueden ser (Castro y col., 2008; Van de Mooter y col., 2001; Quirino y col., 2004):

Mezclas eutécticas obtenidas por el método de fusión. En este caso cuando el sistema entra en contacto con un medio acuoso la matriz (acarreador) se disuelve rápidamente y el fármaco poco soluble se libera como partículas muy finas con una velocidad de disolución mayor por un aumento en la superficie de contacto consecuente de la reducción del tamaño de partícula.

En un **sistema eutéctico** los componentes son miscibles en estado líquido e inmiscible en estado sólido, caracterizándose por poseer un punto de congelación menor cuando están en mezcla líquida respecto al de cada componente por separado.

Las soluciones sólidas son sistemas monofásicos, homogéneos, compuestos de cristales mixtos, donde el sólido dispersado se encuentra molecularmente distribuido en la matriz semejando una disolución líquida, existiendo una miscibilidad total en la fase sólida; generalmente es un caso ideal no frecuente y sólo se alcanza la miscibilidad dentro de ciertos límites. Además, el acarreador es una macromolécula como polímeros de polietilenglicol o Polivinilpirrolidona.

Dispersiones vítreas, son aquellas en las que el soluto se encuentra disuelto en un sistema vítreo originando formaciones homogéneas caracterizadas por su transparencia y fragilidad. Estos sistemas son obtenidos por un rápido enfriamiento del producto fundido, al cual no se le permite reordenarse adquiriendo características estructurales de líquidos sobre-enfriados. El soluto puede hallarse disuelto o precipitado formando una solución o suspensión vítrea respectivamente.

Las dispersiones amorfas, en las cuales el principio activo se encuentra como un precipitado sólido en estado amorfo en la matriz, la que a su vez puede hallarse en estado amorfo o cristalino.

Desde 1961 las dispersiones sólidas fueron propuestas como un medio farmacotécnico para aumentar la velocidad de disolución y mejorar la absorción a nivel gastrointestinal de fármacos hidrófobos (Renu y col., 2006).

Por otro lado, en sistemas de DS se ha demostrado una relación entre el aumento de la proporción del acarreador y el incremento en la velocidad de disolución, atribuido a la formación de complejos fármaco-acarreador de mayor solubilidad, explicado como un fenómeno de co-solvencia del acarreador. (Renu y col., 2006; Longxiao y col., 2007; Rishabha y col., 2010).

Con frecuencia, para elaborar DS se utilizan polímeros de distinta naturaleza, entre ellos está la Polivinilpirrolidona (PVP); ésta es una lactama polimérica soluble en una variedad de disolventes que fue usada por primera vez en 1940 como coadyuvante en el proceso de absorción (Renu y col., 2006) y actualmente

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

es uno de los aditivos usados con mayor frecuencia en preparaciones farmacéuticas de administración vía oral.

La inclusión de PVP en formulaciones sólidas conteniendo amorfos, se ha justificado por atribuírsele la capacidad de inhibir el proceso de cristalización de los amorfos en estado sólido (Renu y col., 2006), porque forma matrices de alta dispersión del fármaco, con estabilidad físico-química, posee características de solubilidad, compatibilidad química e inercia fisiológica, además de la alta capacidad para absorber agua; todo lo cual ofrece condiciones para un aumento en la velocidad de disolución y la biodisponibilidad.

Para fármacos que presentan problemas de solubilidad acuosa y en consecuencia una biodisponibilidad errática, como es el caso de: ácido oleanólico, carbamazepina, paracetamol, aceclofenaco, celecoxib, fenitoina, flunarizina y miconazol, entre otros; se ha notificado el incremento en su velocidad de disolución mediante la formación de estructuras amorfas estabilizadas como DS utilizando acarreadores como PVP, carboximetilcelulosa (CMC) e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC). (Renu y col., 2006; Longxiao y Col., 2007; Mohammad y col., 2007; Rishabha y col., 2010).

En la mayoría de los sistemas de dispersión sólida los acarreadores utilizados han sido polímeros miscibles en agua, de modo que además de los excipientes antes enunciados, se incluyen: el polietilenglicol (PEG) y materiales de bajo peso molecular como azúcares, y recientemente se han identificado otros polímeros para los mismos fines, tales como carbómeros, distintos derivados de la celulosa y los Gelucires® (Marin y col., 2007).

Al estabilizar un amorfo dentro de una DS se combinan dos procesos que aumentan la velocidad de disolución: por un lado, las moléculas de fármaco hidrofóbico se encuentran dispersas en pequeñas proporciones en una matriz de mayor polaridad, lo que favorece una mayor área superficial de contacto con el medio de disolución, y por otra parte, las partículas liberadas al medio de disolución estarán en estado amorfo, lo cual beneficia termodinámicamente el

proceso de disolución (Van de Mooter y col., 2001; Quirino y col., 2004; Marin y col., 2007; Guidance for industry, ANDAs, 2007).

Métodos de obtención de dispersiones sólidas (Castro y col., 2008).

Método de fusión.

Este proceso inicia con la preparación de una mezcla física de los componentes de la dispersión para después ser fundida a una temperatura de fusión mayor que la temperatura de fusión del acarreador, esto se hace bajo agitación constante hasta obtener un sistema homogéneo que luego es enfriado, sometido a pulverización y a tamizado; teniendo la desventaja de excluir todas aquellas moléculas termolábiles.

Disolución en un solvente orgánico

En este caso, la dispersión se obtiene por disolver cada uno de los componentes en un mismo solvente, el cual es evaporado a presión reducida a diferentes temperaturas, teniendo la ventaja de aplicar en casos de moléculas termolábiles.

Fusión y disolución.

Se disuelve el fármaco en un disolvente líquido para obtener una solución que va a ser incorporada directamente al acarreador fundido; por último el disolvente debe ser removido.

Debido a que muchas de las moléculas con actividad farmacológica presentan inestabilidad química a elevadas temperaturas, el método en solución es el más recomendado; sin embargo, éste tiene la desventaja relativa de un mayor costo que el de fusión, por el número de etapas involucradas, dificultad en la eliminación del disolvente y limitación en la reproducción de las formas cristalinas. No obstante, tendría la ventaja de una mayor factibilidad en el escalamiento y menor gasto de energía.

Técnicas instrumentales utilizadas para la caracterización del estado sólido

Existen diversas técnicas instrumentales utilizadas en la caracterización del estado de agregación molecular de compuestos puros y de mezclas de más de un componente (aductos moleculares). De tal forma es posible diferenciar entre un estado cristalino o amorfo, identificar polimorfos, así como establecer si durante la re-cristalización de mezclas de más de un compuesto se formaron aductos moleculares como solvatomorfos, dispersiones o soluciones sólidas o co-cristalizados.

Difractometría de rayos-X de polvos.

Toda forma cristalina de un compuesto produce un patrón característico de difracción de rayos X cuando se irradia la muestra con un haz de rayos X, y el difractograma obtenido constituye la carta de identidad de esta estructura cristalográfica (Renu y col., 2006; FEUM, 2010).

La medida precisa de la posición y la intensidad de todos y cada uno de los picos de difracción permiten determinar la naturaleza y eventualmente la concentración de las diferentes fases cristalinas que constituyen la muestra. Estos patrones de difracción se pueden obtener de un único cristal o de una muestra en polvo del material.

Las sustancias no cristalinas – amorfas - dispersan los rayos X en forma poco coherente debido a la disposición relativamente aleatoria de las moléculas, dando como resultado máximos difusos en los patrones de difracción. Sus patrones de rayos X se distinguen bastante bien de los correspondientes a muestras cristalinas, ya que estas últimas arrojan patrones de difracción muy bien definidos.

Los rayos X para uso analítico se obtienen de distintas fuentes y una que es usual, es la que procede de una fuente radiactiva cuyo proceso de desintegración da lugar a la emisión de rayos X.

De tal forma, cuando el haz colimado de rayos X monocromático incide sobre un cristal en rotación o un polvo cristalino orientado de forma aleatoria, éste se difracta en varias direcciones y el sólido actúa como una red de difracción tridimensional ante esta radiación.

La interacción de los rayos X con la materia ocurre mediante dos procesos:

- a) Algunos fotones del haz incidente son desviados sin pérdida de energía, los cuales constituyen la radiación dispersada exactamente con la misma longitud de onda que la radiación incidente, originando el fenómeno de difracción.
- b) Los fotones pueden sufrir una serie de choques inelásticos al incidir sobre un blanco y su energía incrementa la temperatura de la muestra o da lugar a la fluorescencia.

La difracción de rayos X se basa en los principios básicos de la reflexión y refracción. La primera ley de la reflexión enuncia que el rayo incidente, el rayo reflejado y la normal a la superficie reflectora están en un plano común, y la segunda ley dice que la magnitud de ángulo de reflexión es igual a la magnitud del ángulo de incidencia.

La ley de Bragg brinda una interpretación sencilla de la interferencia de los rayos X producida por la materia cristalina, explicando este fenómeno por la ley de la reflexión de dichos rayos en los planos atómicos (ver figura 2).

El razonamiento de la ley se basa en considerar que un cristal está formado por una serie de familias de planos atómicos paralelos contruidos a partir de los nodos asociados a los átomos, iones o moléculas del cristal; encontrándose dichos planos a una misma distancia entre sí. Sobre estos planos incide con un ángulo θ , un haz (rayo X_1) de rayos X monocromáticos de longitud de onda λ .

Los rayos paralelos incidentes (rayo X_2) reflejados en los planos atómicos bajo un ángulo también θ interfieren, es decir, se refuerzan o debilitan uno a otro en dependencia de la diferencia de marcha entre ellos.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

La dispersión tiene lugar como consecuencia de la interacción de la radiación con los átomos, moléculas o iones localizados a su paso (vectores A-B y B-C). Un ángulo 2θ se forma por asociación entre los vectores A, B, C y el nodo Z, siempre y cuando ambos rayos dispersados se encuentren en fase y por tanto se refuercen mutuamente para formar rayos difractados (interferencia constructiva).

La interferencia constructiva ocurre solo cuando:

$$AB + BC = n\lambda \text{ y } AB = BC,$$

Entonces:

$$n\lambda = 2AB,$$

Sabiendo que el $\sin \theta = AB/d$, se tiene así que:

$$AB = d \sin \theta, \text{ por lo tanto: } n\lambda = 2 d \sin \theta.$$

En la ecuación, n se denomina el orden de difracción y debe de ser un número entero consistente con un valor de $\sin \theta$ menor o igual que uno.

La difracción es entonces un fenómeno de dispersión en el que cooperan un gran número de átomos y debido a que los átomos están dispuestos periódicamente en una red, los rayos dispersados por ellos tienen relaciones de fase definidas entre ellos; estas relaciones de fase son tales que en la mayoría de las direcciones se produce una interferencia destructiva pero en unas pocas direcciones se produce una interferencia constructiva y se forman rayos difractados.

Es así que la difracción de rayos X por un átomo es la resultante de la dispersión por cada electrón. El factor de dispersión atómico f_d de un átomo es proporcional al número de electrones que posee. La diferencia de fase en la onda generada por dos electrones origina una interferencia parcialmente destructiva; el efecto neto de interferencia entre los rayos dispersados por todos los electrones en el átomo, origina un descenso gradual en la intensidad dispersada al aumentar el ángulo 2θ .

La amplitud dispersada por una celda unidad se obtiene sumando la amplitud dispersada por todos los átomos en la celda unidad, de nuevo la suma debe tener en cuenta la diferencia de fase entre todas las ondas dispersadas.

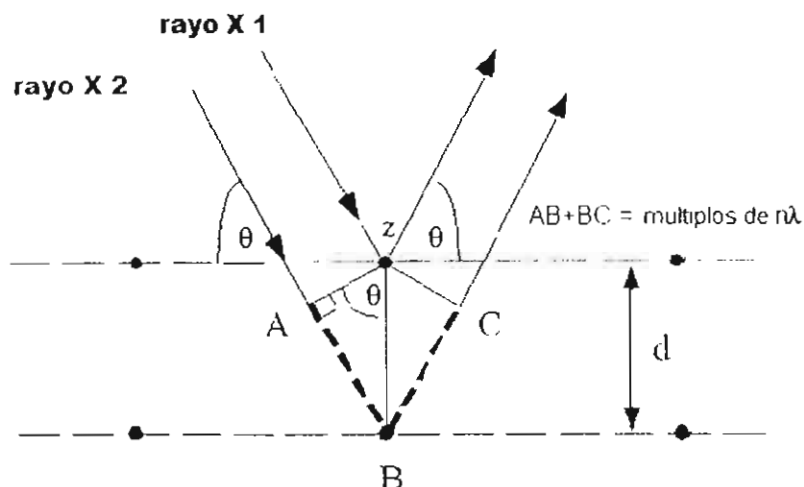


Figura 2. Esquema para deducir la ley de Bragg

Un difractograma de rayos X recolecta los datos de intensidad en función del ángulo de difracción 2θ obteniéndose una serie de picos. La posición de los picos expresados en valores de 2θ en los que un cristal produce un haz difractado, será característico para un conjunto de planos siempre que se satisfaga la Ley de Bragg.

Los datos más importantes a partir de un difractograma son:

Intensidad de pico. Las intensidades se pueden tomar como alturas de los picos o para mayor precisión las áreas. Al pico más intenso se le asigna un valor de 100 y el resto se re-escala con respecto a éste.

Perfil de los picos de difracción. La anchura y la forma de los picos de un difractograma resultan de la combinación de factores instrumentales y factores basados en la microestructura de la muestra. La contribución de la muestra al ensanchamiento de los picos se debe fundamentalmente al tamaño de cristal y tensiones.

Difracción de rayos X y sustancias amorfas.

Un solo átomo dispersa un haz incidente de rayos X en todas las direcciones del espacio, pero un gran número de átomos ordenados de manera periódica en tres dimensiones formando un cristal, difractan los rayos X únicamente en unas pocas direcciones debido a que la ordenación periódica de los átomos origina una interferencia destructiva de los rayos dispersados en todas direcciones excepto en aquellas que predice la ley de Bragg.

Los sólidos amorfos tienen estructuras caracterizadas por la ausencia de periodicidad, manteniéndose solo un orden de corto alcance. El resultado es una curva de dispersión de rayos X sin máximos bien definidos, mostrando máximos con una anchura que puede llegar a los $10^\circ 2\theta$.

Tamaño de mono-cristal

Por otro lado, es posible determinar el tamaño de cristal por medio de la ecuación de Scherrer, en la cual se dice que el ensanchamiento de los picos de un difractograma está en función del tamaño de cristal, tomando como supuesto básico que la presencia de esfuerzos u otras imperfecciones, es despreciable o inexistente y que el ensanchamiento de los perfiles de difracción se debe exclusivamente al tamaño de mono-cristal. (Aguilar, 2009; Reyes-Gasga y col., 2008).

$$t = \frac{k \lambda}{\beta \cos \theta}$$

Donde:

t = es el tamaño de cristal

k = una constante con valor de 0.89 (sin unidades)

λ = es la longitud de onda de la luz incidente (0.154 nm para una lámpara de Cu-K α).

$\beta (2\theta)$ = el ancho a la altura media de la intensidad máxima del pico en el difractograma con el ángulo expresado en radianes.

$\theta = \frac{1}{2} 2\theta$ en la intensidad máxima.

Análisis térmicos

Los análisis térmicos son un grupo de técnicas instrumentales de análisis utilizados para medir o determinar propiedades asociadas a cambios físicos o químicos de una sustancia o de mezclas, como una función de la temperatura o del tiempo, lo cual se realiza mientras la muestra se calienta o se enfría mediante un programa de temperatura y en medio de una atmósfera controlada con gases.

Estos análisis son particularmente útiles para obtener información de datos termodinámicos con los que se consigue distinguir propiedades de los sólidos puros o mezclas de ellos como polimorfismo, solvatomorfismo y presencia de impurezas, entre otras.

Las mediciones se pueden hacer sobre el valor absoluto de una propiedad como el peso o bien mediante la diferencia entre las propiedades de la muestra y un material de referencia que no se ve afectado por las condiciones experimentales e incluso determinando la velocidad de cambio de una propiedad (derivada del peso, por ejemplo).

Existen distintos eventos físicos que pueden presentarse en una muestra por efecto de un programa de calentamiento o enfriamiento, durante los cuales se establecen a su vez diferentes tipos de intercambio calorífico con el entorno; ejemplos de esto son:

Transición de fase	Evento térmico y proceso físico al que corresponde	Tipo de intercambio energético
Sólido a líquido	Fusión	Endotérmico
Líquido a gas	Evaporación	Endotérmico
Líquido a sólido	Congelación	Exotérmico
	Cristalización	Exotérmico
Sólido a gas	Sublimación	Endotérmico
Sólido a sólido	Transición vítrea	Evento de segundo orden
	Desolvatación	Endotérmico
Amorfo a cristalino	Cristalización	Exotérmico
Cambio a otro polimorfo	Transición polimórfica	Endo o exotérmico

De acuerdo a la técnica y el programa utilizado, el análisis térmico permitirá obtener la siguiente información:

Para compuestos puros:

- a. Medir la temperatura y calor (entalpía) en los cambios de fase: fusión, congelación, sublimación, evaporación, cristalización y condensación.
- b. Medir pureza absoluta o impurezas eutécticas, así como el grado de orden (cristalinidad/amorfización) por medio del calor de fusión, identificándose por de la cantidad de calor absorbido durante la transición de fase del estado sólido a líquido. Una estructura de ordenamiento de largo alcance absorberá mayor cantidad de energía para pasar al estado líquido, representando un pico endotérmico bien definido, a diferencia de un sólido amorfo (ordenamiento de corto alcance) en el que su calor de fusión es menor.
- c. Identificar reactividad química o estabilidad en determinadas atmósferas y valores de temperatura: descomposición, oxidación, pirolisis, isomerización.
- d. Identificar y cuantificar polimorfismo, así como el grado (porcentaje) de hidratación o solvatación antes o durante el calentamiento.

Para mezclas:

- e. Identificar la no interacción de compuestos que son sólidos en condiciones ambientales: miscibilidad en el fundido o comportamiento eutéctico.
- f. Identificar interacción en estado sólido: soluciones y dispersiones sólidas, amorfización, formación de complejos o compuestos, reacciones químicas.
- g. Determinar el descenso de la temperatura de congelación de un disolvente conteniendo un soluto no volátil, así como cálculo de la masa molar del soluto.

Para co-cristalizados:

- h. Identificar y cuantificar co-cristalización.

Para materiales poliméricos y de estructuras macromoleculares:

- i. Determinar la temperatura de transición vítrea

- j. Medir la expansión o compresión de volumen
- k. Identificar sinterización

Las proteínas, ácidos nucleicos y biomembranas son ejemplos de materiales poliméricos y macromoleculares de interés farmacéutico con los que estas técnicas se puede conseguir identificar y medir cambios en sus estructuras por efecto de la temperatura, que modifican su funcionalidad física, química y biológica.

Algunas de las técnicas de análisis térmico más utilizadas para la caracterización del estado sólido y de transiciones de fase son: el análisis térmico diferencial, la calorimetría diferencial de barrido, el análisis termogravimétrico y la calorimetría isotérmica de titulación. Para los fines de este estudio, sólo se amplía la información relacionada con la calorimetría diferencial de barrido (differential scanning calorimetry, DSC).

Calorimetría diferencial de barrido(DSC).

Esta técnica analiza las características de los sólidos en función de la temperatura, mide cuantitativamente los cambios energéticos del sistema, por ejemplo cambios de fase, endotérmicos o exotérmicos.

Los termogramas o curvas de comportamiento térmico obtenidos por DSC, expresan el flujo de calor en milivatios o miliWatts, en función de la temperatura en °C, en los cuales, por lo general y por convención internacional de los expertos, un pico ascendente indica un proceso exotérmico como lo es la cristalización, un pico descendente indica un proceso endotérmico, como ocurre con la fusión.

Con esta técnica es posible detectar la eliminación de disolvente y la cristalización, la descomposición química en función de la temperatura, transiciones vítreas y el calor de fusión de un compuesto.

La medición de la temperatura de fusión por DSC puede indicarse de dos formas (ver figura 3):

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

- 1) Como el resultado de la medida de la temperatura de inicio (A) de la transición del estado sólido al líquido y que en la curva endotérmica del termograma corresponde al valor que resulta de la intersección entre la extensión de la línea base con la línea tangente del punto de máxima inflexión de la curva, es decir, de máxima velocidad de fusión, o bien,
- 2) Como la temperatura que indica el final de la fusión y que corresponde al punto (B) que es el vértice o pico de la curva.

Ambos valores son válidos, sin embargo, se debe tener presente que la temperatura indicada por el vértice o pico, se ve afectada en su reproducibilidad por factores como el peso de la muestra, la velocidad de calentamiento, así como si la cápsula con la muestra estuvo sellada o no, entre otros.

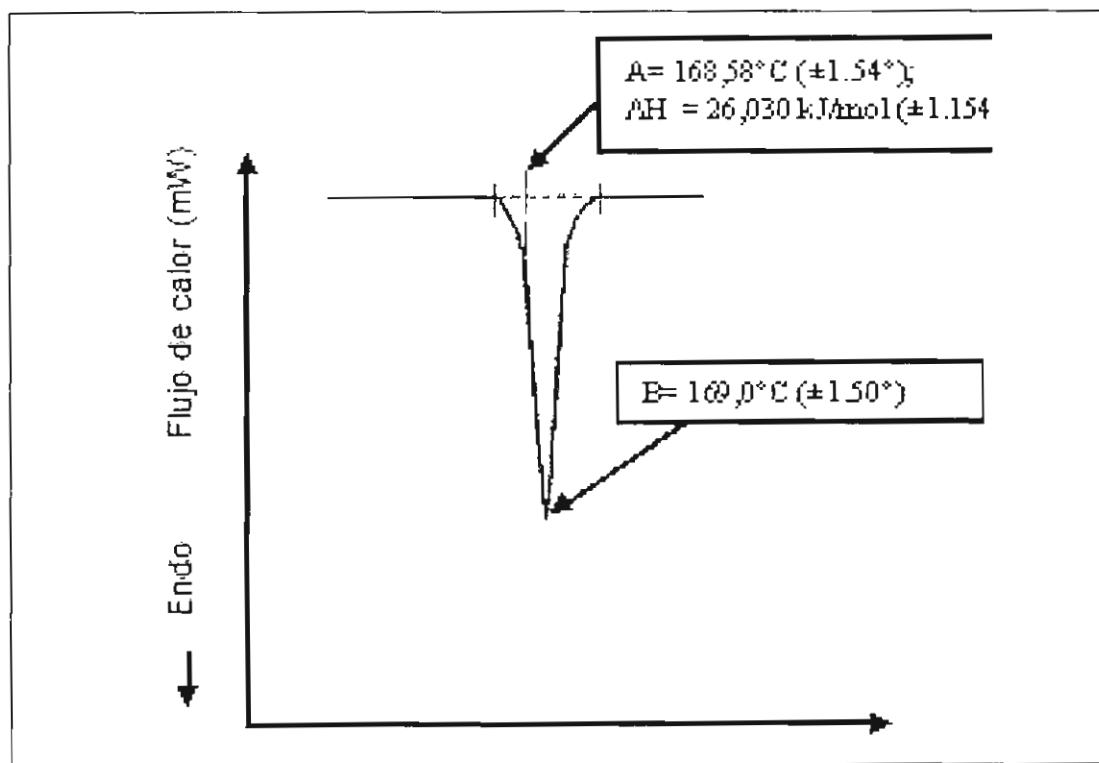


Fig. 3. Definición de la temperatura o punto de fusión en un termograma obtenido por CBD para una muestra de paracetamol. El punto A o inicio de la fusión, suele asignarse como temperatura de fusión. El vértice (pico) o punto B, corresponde al término de la transición sólido-líquido.

La diferencia en grados entre la temperatura de inicio (A) y la del vértice (B), suele ser un indicador de la pureza del material, ya que entre menos grados exista entre un valor y el otro, indicará que el material es más puro. Estos dos valores de temperatura no son comparables al intervalo de temperatura de fusión que puede obtenerse por una técnica óptica (FEUM, 2011).

Espectroscopía infrarroja.

El espectro de radiación infrarroja comprende un conjunto de longitudes de onda subdividido con fines prácticos en distintas zonas: cercana, media y lejana; cuyos límites son aproximada y respectivamente, 0,8 - 2,5 μm (12500 a 4000 cm^{-1}); 2,5 - 15 μm (4000 a 667 cm^{-1}) y 15 - 200 μm (667 a 50 cm^{-1}). Cada región tiene sus propias características de interacción con la materia, y el infrarrojo medio, denominado habitualmente como infrarrojo, es el que mayor campo de aplicación ha tenido en análisis instrumental hasta hace algunos años (Quirino-Barreda, 2001; Vaals y del Castillo, 2002).

En la mayoría de los casos, las aplicaciones que tiene la espectroscopía infrarroja (IR) en Farmacia, es de índole cualitativa, como es el caso de la comprobación de la identidad del espectro IR de las muestras con el espectro de sus respectivos patrones; aunque con la aparición a finales del siglo XX, de los espectrómetros con transformada de Fourier (FT-IR), puede emplearse también para análisis cuantitativos.

La absorción de radiación en el infrarrojo se limita en gran parte a especies moleculares, para las cuales la absorción de cuantos de radiación ocasiona transiciones en estados energéticos vibracionales y rotacionales.

Para absorber radiación en el IR, una molécula debe sufrir un cambio neto en el momento dipolar como consecuencia de su movimiento de vibración o de rotación. El momento dipolar está determinado por la magnitud de la diferencia de carga y por la distancia entre los dos centros de carga de una molécula. Sólo en estas

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

circunstancias, el campo eléctrico alterno de la radiación puede interactuar con la molécula, y provocar cambios en la amplitud de alguno de sus movimientos.

Cuando la frecuencia de la radiación coincide exactamente con la frecuencia de vibración natural de la molécula, tiene lugar la transferencia neta de energía que origina un cambio en la amplitud de la vibración molecular, cuya consecuencia es la absorción de la radiación. –

De manera análoga, la rotación de las moléculas asimétricas alrededor de sus centros de masa, puede producir una variación periódica en el dipolo que puede interactuar con la radiación.

Lo anterior explica que especies homonucleares como el O_2 , el N_2 ó el Cl_2 , presenten momentos dipolares que no sufren un cambio neto durante la vibración o la rotación y, como consecuencia, no absorban radiación infrarroja.

Los espectros infrarrojos de los compuestos poliatómicos covalentes, generalmente son muy complejos, pues constan de numerosas bandas de absorción estrechas, contrastando con los espectros comunes del ultravioleta y visible.

En el campo de la investigación farmacéutica, la espectroscopia infrarroja tiene gran interés junto con otras técnicas espectroscópicas, como método de asignación de estructuras en nuevos compuestos de síntesis orgánica, de modo que es posible relacionar las frecuencias de ciertas bandas de absorción en IR con la presencia de determinados enlaces o grupos funcionales de la molécula.

Mediante el estudio de innumerables compuestos orgánicos y siguiendo distintos métodos de comprobación, con el tiempo ha sido posible asignar a los principales grupos funcionales, bandas de absorción características y establecer cómo, la posición y aún la forma de estas bandas, pueden variar de acuerdo con las condiciones estructurales y electrónicas, y también por cambios en el estado físico o en el disolvente utilizado para preparar la muestra. (Quirino-Barreda, 2001).

De tal forma, se ha establecido los siguientes postulados fundamentales sobre la utilidad de la espectroscopia IR (Conflant y Guyot-Hermann, 1994):

1. Las sustancias orgánicas presentan frecuencias de grupo, características en la región IR.
2. El espectro de absorción de una sustancia dada, es específico para dicha sustancia, es decir, es posible que dos o más sustancias que tengan los mismos grupos funcionales, presenten espectros muy parecidos, pero en su conjunto deben existir varias diferencias que permiten individualizar cada espectro.
3. El espectro de absorción de mezclas de sustancias, generalmente es aditivo, es decir, corresponde a la suma de los espectros individuales de los componentes.
4. La intensidad de una banda de absorción está relacionada con la concentración de la sustancia que absorbe la radiación incidente.

La interpretación de los espectros IR requiere no sólo de buenos conocimientos teóricos, sino también de mucho entrenamiento, ya que se debe ser capaz de correlacionar rápidamente posición, forma e intensidad de las bandas, y conjugarlos con los datos químicos que se posean.

De tal forma, ha sido posible establecer regiones del espectro que permiten identificar grupos funcionales como es el caso de la zona de frecuencias de grupo, que va de 4000 a 1300 cm^{-1} , que corresponde a las vibraciones producidas por sólo dos átomos de la molécula, tales como las vibraciones de tensión de enlace X-H, - donde X es un átomo tal como C, O, N,... de peso atómico menor de 19 -, y que ocurren entre $4000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$.

Las bandas propias de triples y dobles enlaces ($\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{N}$, $\text{N}=\text{O}$, ...) se observan, respectivamente, entre $2500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ y $2000\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$.

La frecuencia de cada banda del espectro de vibración-rotación molecular depende de la constante de fuerza de cada enlace interatómico y de ahí que los espectros de absorción en la región infrarroja dependan del conjunto de enlaces

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

que constituyen la estructura molecular y sean distintos y característicos de cada molécula.

La región de frecuencias de radiación IR entre 1600 y 650 cm^{-1} , corresponde a las vibraciones de tensión de los enlaces simples y a las vibraciones de la estructura molecular de moléculas complejas, tales vibraciones se denominan de "esqueleto", ya que se extienden sobre el esqueleto molecular total, en lugar de estar localizadas sobre un solo grupo pequeño (Dyer, 1973).

Sin embargo, lo más interesante, es que el aspecto del espectro infrarrojo en la región de 1250 a 600 cm^{-1} es característico para cada molécula, hasta tal punto que se considera que no existen dos moléculas diferentes que tengan el mismo espectro en esta región, de ahí que se le denomine *zona de la huella dactilar de la molécula* (Dyer, 1973; Conflant y Guyot-Hermann, 1994; Valls y del Castillo, 2002).

Por esta técnica pueden ser detectados los cambios entre los enlaces químicos de una molécula. De esta manera, si se forma una interacción química entre un polímero como la PVP y un fármaco como el KZL, el cambio se visualizará en las bandas presentes en el espectro resultante del análisis por IR.

La preparación de las muestras para el análisis por espectroscopía IR es distinta según se trate de una sustancia en estado sólido o líquido y del propósito del ensayo. Las muestras sólidas se pueden estudiar en solución, en suspensión - mulls - o en pastilla. Cuando la muestra se utiliza disuelta debe tenerse presente que todos los disolventes conocidos presentan bandas de absorción en la región IR que pueden interferir con las propias de la muestra, por lo que resulta adecuado realizar una selección.

Las muestras en solución y en pastilla de KBr se preparan por lo general a una concentración aproximada al 1 por ciento y se utilizan cubetas similares a las de las muestras líquidas con un espesor de $0,1\text{ mm}$. También suele emplearse con cierta amplitud, cloroformo, el cual es evaporado para dejar una fina película sobre la cubeta o bien si se deja en solución: La concentración de la muestra debe ser como mínimo del 10 por ciento para contrarrestar el efecto de las numerosas bandas de absorción de este disolvente.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

Cuando la muestra se prepara en forma de suspensión en un mortero de ágata, se dispone una mezcla íntima del sólido en polvo previamente desecado, con unas gotas del líquido transparente a la radiación IR - que suele ser Nujol (parafina líquida densa) o Fluorolube (perfluoruro de queroseno) -, hasta conseguir una pasta uniforme. La pasta así obtenida se coloca entre dos láminas de NaCl o de otro material adecuado.

La técnica más utilizada en Farmacia para muestras sólidas es la de formación de comprimidos, que consiste en pesar una pequeña cantidad de muestra (alrededor de 1 mg), la cual deberá haber sido previamente desecada y se mezcla mediante pulverización en un mortero de ágata, con KBr seco. El contenido de la sustancia en ensayo en la mezcla debe ser de aproximadamente 3-5 por ciento.

La mezcla se comprime con la ayuda de una matriz y punzón de acero templados, en una prensa especial tras extraer el aire por vacío. La presión aplicada puede oscilar por lo regular entre 1418 y 2026 MPa (140 y 200 Kp/cm²). El comprimido resultante se coloca en un soporte para situarla posteriormente en el compartimento de muestra del instrumento.

Solubilidad

Una disolución es la dispersión molecular de dos o más componentes que forman un sistema homogéneo en una sola fase; así, en cualquier punto de la mezcla se tiene las mismas propiedades físicas y químicas. Se denomina disolvente al componente que se encuentra en mayor proporción y soluto al de menor proporción. Las soluciones pueden encontrarse en estado sólido, líquido o gaseoso.

La solubilidad se define como la cantidad máxima de un soluto que se disuelve en una cantidad determinada de disolvente para formar una solución estable a una temperatura determinada. Esta temperatura generalmente es 25°C. En otras palabras, la solubilidad corresponde al valor de saturación del disolvente por el soluto a una temperatura definida. (Charles y col., 1985).

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

El efecto más apreciable de la temperatura sobre la solubilidad, es el aumento de ésta por un incremento de la temperatura; lo cual obedece a que la entalpía de la disolución (ΔH^s) suele ser en la mayoría de los casos, endotérmica (signo positivo), de modo que se requiere la aportación de calor para disolver el compuesto. Cuando el proceso es exotérmico, se presenta el fenómeno opuesto (signo negativo).

Al expresarse el logaritmo de la solubilidad de un compuesto en fracción molar (X_B) como función del inverso de la temperatura absoluta $1/T$ (°K), a intervalos de temperaturas relativamente pequeños, el gráfico obtenido suele dar una relación lineal que corresponde a la ecuación de vant' Hoff, cuya expresión matemática es la siguiente:

$$\ln X_B = \frac{\Delta S}{RT} + C$$

En esta ecuación, el valor de la pendiente obtenida por regresión lineal de los datos, permite calcular la entalpía de disolución (ΔH^s) al sustituir el valor numérico de la pendiente y multiplicarlo por el valor de R expresado como: 8,3143 J/(°K.mol). Así, el valor absoluto de ΔH^s expresa la magnitud de la variación de la solubilidad con la temperatura, y el signo indicará si se absorbe o se desprende calor de la disolución, según sea positivo o negativo.

Con esta expresión de la variación de la solubilidad con la temperatura, aplicada a la disolución de compuestos en disolvente puros o en mezcla de disolventes, se pueden realizar estimaciones sobre las proporciones de mezcla y los cambios de temperatura necesarios para aumentar la solubilidad, así como estimar límites de variación de la temperatura en que se mantiene estable la disolución.

Por otra parte, la solubilidad de una sustancia también es dependiente de la naturaleza del medio.

Polaridad del medio.

En Química existe una regla muy útil que dice: *lo semejante disuelve a lo semejante* Charles y col. (1985) y Morrison and Boyd (1998).

La constante dieléctrica es una medida de la polaridad del medio y se relaciona con la capacidad que tiene el disolvente para separar iones de carga opuesta del soluto. La solubilidad de sustancias iónicas es mayor en medios de constante dieléctrica alta, del mismo modo, el parámetro de solubilidad establecido para soluciones regulares de acuerdo a Hildebrand, es útil como indicador en la elección del medio de disolución. El parámetro de solubilidad se relaciona con la lipofilia de una molécula, los valores inferiores corresponden a compuestos más lipófilos, además proporciona una idea cualitativa de afinidad entre un soluto y un disolvente, ya que la miscibilidad de dos compuestos aumentará cuanto más semejantes sean ambos parámetros de solubilidad.

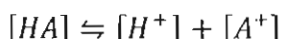
El valor máximo de parámetro de solubilidad lo presenta el agua con 47 MPa, mientras que la mayoría de los principios activos semi-polares presentan valores intermedios entre 18 y 30; los valores inferiores a 14 corresponden a compuestos no polares y los valores entre 4 y 6 corresponden a los gases.

De esta manera, los solventes polares disuelven solutos polares y los solventes no polares disuelven solutos no polares.

pH del medio

De acuerdo con los conceptos de Brønsted-Lowry, un ácido es un donador de protones y una base es un aceptor de protones. Una reacción ácido-básica comprende siempre un par ácido-básico conjugado, constituido por un dador de protones y el correspondiente aceptor.

La tendencia de cualquier ácido a disociarse viene dada por la constante de disociación:



$$K_a \frac{[H^+][A^-]}{HA}$$

Despejando $[H^+]$:

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Y tomando el logaritmo negativo de ambos miembros:

$$-Log[H^+] = Log K_a - Log \left(\frac{[HA]}{[A^-]} \right)$$

Reordenando términos y sustituyendo $-\log [H^+]$ por pH y $-\log K_a$ por pK_a :

$$pH = pK_a + Log \left(\frac{[A^-]}{[HA]} \right)$$

La mayor parte de los compuestos de interés farmacéutico son ácidos o bases débiles que en solución acuosa coexisten como especies disociadas y no disociadas; la magnitud de disociación se explica por el pK_a . El grado de ionización de un ácido o base débil depende en gran medida del pH del medio según la ecuación anterior (de Henderson-Hasselbalch). El cálculo del pK_a de una base débil se realiza tomando en cuenta el producto iónico del agua K_w , y aplicando a este último el logaritmo negativo, se obtiene el pK_w , que es un valor constante igual a 14 y está dado por la siguiente ecuación:

$$pK_w = pK_a + pK_b$$

Influencia de la temperatura.

Según Bustamante-Martínez y col (2001) el proceso de mezcla de un soluto líquido en un disolvente consta de dos etapas:

- 1) Las moléculas de soluto superan las fuerzas cohesión que las mantienen unidas, por otro lado las moléculas de disolvente deben crear cavidades donde se acomoden las moléculas de soluto. Esta etapa es endotérmica y su contribución a la solubilidad es desfavorable.

- 2) La inserción de las moléculas de soluto en las cavidades creadas en el disolvente. Se produce la solvatación mediante fuerzas de van der Waals y/o enlaces de hidrógeno. Esta segunda etapa contribuye favorablemente a la solubilidad por que el proceso es exotérmico.

Las etapas anteriores determinan la magnitud y el signo de la entalpía y entropía de la mezcla.

La disolución de un sólido incluye un paso adicional debido a que el soluto debe vencer las fuerzas atractivas del cristal. Por ello se considera un primer paso la fusión del sólido, seguida de la mezcla con el disolvente, siguiendo las etapas mencionadas anteriormente.

De lo anterior se dice que la entalpía de disolución (ΔH^S) de un sólido es la suma de las entalpías de fusión (ΔH^F) y mezcla (ΔH^M). Del mismo modo la entropía de disolución (ΔS^S) de un sólido es igual a la suma de las entropías de fusión (ΔS^F) y mezcla (ΔS^M).

Por otro lado los valores de entalpía y entropía determinan la magnitud y signo de la energía libre de disolución, ya que esta última está dada por la siguiente ecuación:

$$\Delta G^S = \Delta H^S - T\Delta S^S$$

A su vez, la energía libre de disolución se relaciona directamente con la solubilidad mediante la siguiente expresión:

$$\Delta G^S = -RT \ln X_2$$

Un valor positivo de energía libre es desfavorable para el proceso, es decir, para que el proceso de disolución sea espontáneo la energía libre debe disminuir, esto es, la variación de energía libre debe ser un valor negativo.

La entalpía de fusión (ΔH^F) es constante e independiente del solvente, su signo siempre es positivo, ya que el proceso de fusión requiere el aporte de energía. Sin embargo, el proceso se favorece por un aumento en el desorden (ΔS^F). Por otro lado, el signo de la entalpía de disolución (ΔH^S) depende del valor de las magnitudes termodinámicas de fusión y mezcla. Por último, la entalpía de la mezcla (ΔH^M) depende de la naturaleza del disolvente y puede ser endotérmica o exotérmica.

Las soluciones ideales obedecen a la ley de Raoult y se producen cuando las interacciones soluto disolvente en disolución son similares a las que existen entre las propias moléculas del soluto y del disolvente. En este caso las interacciones son debidas solo a fuerzas de dispersión de London y no se absorbe ni desprende calor en el en el proceso de mezcla ($\Delta H^M = 0$). La solubilidad ideal (X_2^i) de un sólido a una temperatura determinada es independiente del disolvente y solo depende de las propiedades del cristal y está dado por la ecuación:

$$\ln X_{2i} = \frac{\Delta H^F}{R(T - T_F)}$$

Donde:

X_2^i = fracción mol de soluto disuelto sin intervención de disolvente (solubilidad ideal)

ΔH^F = calor de fusión en J/mol

T = temperatura en °K (T_F^{-1} : inverso de la temperatura de fusión, y T^{-1} : inverso de la temperatura de interés)

R = constante de los gases: 8.3143 J/(°K mol)

En una solución real se absorbe o desprende calor durante el proceso de mezcla ($\Delta H^M \neq 0$) y las moléculas no se mezclan de forma aleatoria; además de las fuerzas de dispersión, las moléculas se orientan mediante interacciones polares o forman enlaces de hidrógeno. Sin embargo, la ecuación anterior puede dar una aproximación del comportamiento de un sólido en solución ya que es posible

deducir que al disminuir la temperatura de fusión de un sólido la solubilidad aumenta.

En un cristal los iones o moléculas se encuentran ordenadas de manera muy simétrica y regular, siguiendo un patrón geométrico, la fusión es el cambio de una disposición muy ordenada en el retículo cristalino al más desordenado característico de los líquidos, siendo así la fusión el proceso en el que la energía térmica de las partículas es suficientemente alta para vencer las fuerzas intercristalinas que las mantienen en posición (Morrison y Boyd 1998).

Durante la disolución debe aplicarse energía para vencer las fuerzas intermoleculares, dicha energía proviene de la formación de enlaces entre partículas de soluto y moléculas de disolvente: las fuerzas atractivas de la red cristalina son remplazadas por las fuerzas atractivas entre el soluto y disolvente. Las fuerzas de atracción presentes en un proceso de disolución pueden ser ion-dipolo (entre estas puentes de hidrógeno) y fuerzas de van der Waals. (Morrison y Boyd 1998).

Por otro lado, generalmente la solubilidad de una sustancia sólida en agua aumenta con la temperatura, pero existen algunas excepciones. (Charles y col., 1985). La solubilidad se relaciona íntimamente con el calor de disolución de cada sustancia, es decir, con el calor desprendido o liberado cuando ésta se disuelve hasta la saturación. Este calor de disolución puede ser positivo o negativo. Es positivo cuando hay transferencia de calor al sistema y es negativo cuando el sistema libera calor. Si el calor de disolución es negativo al calentarse la solución se reduce la solubilidad y viceversa si es positivo. (Mora y col., 2005; Irany y Fleming, 2006; Daniel y col., 2008).

Cuando una sustancia no absorbe ni desprende calor al disolverse, las variaciones de temperatura no cambian su solubilidad.

El calor de disolución de los fármacos (ΔH^s) puede ser determinado por dos metodologías, una directa mediante la calorimetría isotérmica en solución y otra indirecta, obteniendo experimentalmente las respectivas constantes de equilibrio (K) en función del recíproco de la temperatura. Esta última estrategia es conocida

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

como método de Van't Hoff, y es de amplia utilización en la fisicoquímica farmacéutica. En dicho método, la pendiente de la relación lineal del $\ln X_2$ (fracción mol de soluto disuelto) en función del $1/T$ en $^{\circ}\text{K}$, se utiliza para determinar ΔH° (Mora y col., 2005; Daniel y col., 2008).

La ecuación de Van't Hoff explica la relación lineal existente entre el logaritmo neperiano de la concentración, expresada en fracción molar y en el equilibrio, en función del inverso de la temperatura absoluta (Mora y col., 2005).

$$\ln X_2 = \frac{\Delta H^{\circ}}{RT} + C$$

Donde:

X_2 = concentración en fracción molar

ΔH° = es la entalpía del sistema o calor de disolución

R = constante general de los gases $8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$

T = la temperatura absoluta en $^{\circ}\text{K}$

En términos termodinámicos la solubilidad es un fenómeno que depende directamente de la temperatura, esta información junto con la relativa al volumen ocupado por los fármacos en solución resulta fundamental en el diseño de formas farmacéuticas líquidas homogéneas. (Irany y Fleming, 2006).

Cuando en la ecuación de Van't Hoff no se obtienen comportamientos lineales en la regresión, estos resultados indican que el ΔH° cambia con la temperatura en el intervalo estudiado, lo cual a su vez, en primer lugar lleva a plantear modelos polinomiales de segundo orden, que representa un modelo parabólico de la forma $y = a+bx+cx^2$, en los cuales $Y = \ln X_2$ y $x = T^{-1}$. Estas ecuaciones son derivadas y resueltas punto a punto para hallar la ΔH° a cada temperatura mediante la siguiente expresión:

$$\Delta H^{\circ} = -R \frac{dy}{dx} = -R(b + 2cx)$$

Otra forma de procesar datos de solubilidad en función de la temperatura, cuando estos no son lineales en la relación de Van't Hoff, es mediante la ecuación de Kirchhoff:

$$\ln X_2 = \frac{a}{T} + b \ln T + C$$

A partir de la ecuación de Kirchhoff se calcula la entalpía aparente de solución usando los coeficientes a y b mediante la expresión (Mora y col., 2005):

$$\Delta H^s = aR + bRT$$

Factores del soluto en estado sólido.

Las propiedades que más afectan la solubilidad de solutos sólidos son el tamaño de partícula, polimorfismo u grado de orden o cristalinidad, así como la formación de hidratos o solvatos. Los sólidos cristalinos son en general, menos solubles que los amorfos, debido a que hay que aportar mayor energía para fundir el cristal, ya que como se mencionó anteriormente, cuanto mayor es el calor de fusión menor es la solubilidad.

Obtención de nano-cristales por ondas ultrasónicas.

En los recientes años se ha reportado el uso de ondas de ultrasonido para disminuir el tamaño de mono-cristal.

La cristalización por ultrasonido se explica por la hipótesis de que a una baja súper-saturación la cantidad de unidades en crecimiento en los alrededores del cristal es pequeña, en tales condiciones, la velocidad de transferencia de la masa llega a ser limitante en el crecimiento de las unidades en la superficie del cristal, de tal manera, que la aplicación de ondas ultrasónicas mejora la velocidad de crecimiento.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

La velocidad de crecimiento del cristal se divide en dos pasos: el primero es la transferencia de masa del soluto a la interfase del cristal y el segundo es la adherencia del soluto al cuerpo del cristal. Si la velocidad de reacción llega a ser tan rápida comparada a la transferencia de masa se dice que el proceso depende de la transferencia de masa. Gannndhi y Murthy reportaron el uso de ultrasonido en la cristalización de Sirulimus para la obtención de nanopartículas.

Los efectos de las ondas ultrasónicas sobre los procesos de cristalización son atribuidos a la generación, crecimiento y colapso de micro-burbujas formadas en el medio. (Sáez y Mason, 2009)

Propiedades fisicoquímicas y farmacológicas del Ketoconazol

El antimicótico Ketoconazol (Mannistoy col., 1982) (figura 4), presenta problemas de biodisponibilidad asociada a su baja solubilidad. Entre las principales propiedades fisicoquímicas que se han publicado sobre él están:

Solubilidad: insoluble en agua, soluble en metanol y etanol; ligeramente soluble en soluciones ácidas.

- pK_a : 2.94 y 6.51 correspondiente al grupo piperazina e imidazol, respectivamente.
- Fórmula química: $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$
- Peso Molecular: 531.44 g/mol
- Punto de fusión: 148 – 152°C
- Coeficiente de partición octanol/agua (log P): 3.73
- Volumen molar: 384.9 cm³
- Presión de vapor: 1.39×10^{-22} mm Hg 25°C
- Entalpia de vaporización: 109.78 KJ/mol
- Densidad, p: 1.38 g/cm³

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

Pertenece al grupo de compuestos sintéticos identificado como imidazoles o triazoles, los cuales se han clasificado con base al número de átomos de nitrógeno en el anillo azol de cuatro miembros. Entre los primeros que se desarrollaron están: Ketoconazol, Miconazol y Clotrimazol; en el segundo grupo se encuentran: Itraconazol, Fluconazol y Variconazol. (Prabagar y Col., 2007). Actúan aumentando la permeabilidad de la membrana del hongo e inhibiendo la síntesis de lípidos y enzimas.

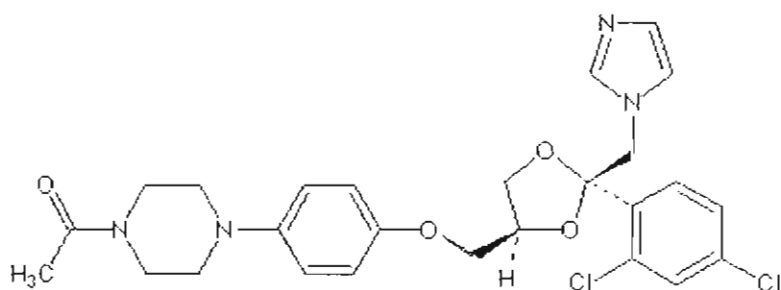


Figura 4. Estructura química de Ketoconazol

El Ketoconazol (KZL) es usado en el tratamiento de blastomicosis, histoplasmosis, coccidiomicosis y en algún tipo de candidiasis; su mecanismo de acción se debe a la inhibición de la estero 14- α -desmetilasa en hongos. Esta enzima está acoplada con el complejo CYP450 y su inhibición permite la acumulación de Ergosterol en la membrana citoplasmática del hongo, alterando el arreglo de fosfolípidos, la función de ATP-asas y otros sistemas de transporte membranar, para dar como resultado el bloqueo de la proliferación del hongo. (Bertram, 2005)

El KZL se administra vía oral en comprimidos de dosis única de 200 a 600 mg diarios y de preferencia con alimentos; su absorción es altamente dependiente del pH gástrico y se ve afectada por la administración conjunta de antiácidos, así como de Cimetidina o Rifampicina.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

Debido a su lipofilicidad, la absorción del KZL desde formas farmacéuticas sólidas no sólo se ve limitada por el pH del tracto gastrointestinal, sino también por la capacidad de desintegración del comprimido y su difusividad en el medio acuoso (Mannisto y col., 1982). Por estas razones el KZL ha sido catalogado en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica como fármaco de Clase II. (Kumaresan, 2008).

—

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años se ha notificado un aumento en los casos de VIH en la ciudad de México y en consecuencia, un incremento en la frecuencia de infecciones micóticas oportunistas, lo cual se debe a las condiciones de inmunodeficiencia que enfrentan este tipo de pacientes; entre los padecimientos más comunes se encuentra la tuberculosis y la candidiasis. (Hernández y col., 2003).

En la actualidad existe una variedad de antimicóticos en el mercado utilizados en el tratamiento de infecciones oportunistas causadas por hongos, tales como Fluconazol e Itraconazol; sin embargo, el Ketoconazol (KZL) es un fármaco más accesible en términos económicos, ya que por cuestiones asociadas a vigencia de patentes y periodo de existencia en el mercado, el Itraconazol cuesta el doble y el Fluconazol es casi cinco veces más caro. Por otro lado, en los últimos años ha surgido el interés adicional en el uso terapéutico del KZL, debido a que se ha encontrado que tiene un efecto en la prevención de metástasis de ciertos tipos de cáncer. (Firousz y Crawford, 1993).

Por otra parte, se ha reportado que en población mexicana, después de una dosis simple de KZL, existe una alta variabilidad en su biodisponibilidad, atribuida entre otros factores a la baja solubilidad del fármaco. (P.T. Mannisto y col., 1982).

Según las propiedades descritas anteriormente, el KZL es un excelente candidato de estudio para que mediante la obtención de alguna entidad ya sea cristalina o amorfa, se pueda mejorar su solubilidad, aumentar su velocidad de disolución y con ello, conseguir un incremento en su biodisponibilidad.

No obstante que existe una variedad de procedimientos que se han probado para mejorar la solubilidad y biodisponibilidad del KZL, como la formación de complejos con ciclodextrinas, formación de mezclas micelares con tensoactivos y formación de liposomas; estos métodos han mostrado ser ineficientes por la limitada estabilidad de las formulaciones, durante el almacenamiento del sistema obtenido. (Woo y col., 2003; Akkar y col., 2004; Prabagar y col., 2007).

Por el interés terapéutico que tiene el KZL, en los últimos años se han buscado alternativas farmacotécnicas para mejorar su biodisponibilidad oral, entre ellas, la formación de dispersiones sólidas de amorfos de este fármaco en Polivinilpirrolidona, empleando un sistema de secado por aspersión. (Van de Mooter y col., 2001). Sin embargo, no existen estudios de disolución de estos sistemas que demuestren un aumento significativo en la solubilidad del KZL.

De lo anterior surge el interés por diseñar y estandarizar métodos que permitan aumentar la solubilidad y velocidad de disolución del KZL, ya sea por formación de polimorfos o solvatos mediante re-cristalización por descenso de temperatura, evaporación del disolvente o por cambio de polaridad de éste, o bien obtener y caracterizar dispersiones sólidas de entidades amorfas del fármaco, en presencia de PVP.

Con base a lo expuesto en los párrafos anteriores y con el objetivo de aumentar la solubilidad del KZL, se plantea el siguiente cuestionamiento: ¿Cuál es el efecto que tendrá sobre la estructura física o estado de agregación molecular del KZL su re-cristalización controlada en metanol, etanol, isopropanol, sistemas acuosos de distinto pH, así como en presencia de PVP?

HIPÓTESIS

1. La re-cristalización del Ketoconazol bajo condiciones controladas de temperatura, ultrasonido y cambios de la polaridad del medio de disolución por adición de un disolvente, determinarán la entidad cristalina y propiedades de la misma.
2. La incorporación del Ketoconazol a una dispersión sólida en Polivinilpirrolidona dará como resultado entidades amorfas que modificarán la velocidad de disolución de dicho fármaco.

OBJETIVO GENERAL

Obtener mediante un sistema de re-cristalización controlada, una estructura molecular estable de Ketoconazol que tenga mayor solubilidad y velocidad de disolución que la fase cristalina disponible en el mercado.

Objetivos particulares

1. Desarrollar y validar un método por cromatografía de líquidos de alta resolución para la cuantificación de Ketoconazol en solución.
2. Establecer la solubilidad del Ketoconazol materia prima de referencia, a temperaturas de 15, 25°C y 40°C en diferentes medios de disolución.
3. Establecer las condiciones de re-cristalización que controlan la obtención reproducible de un determinado estado de agregación molecular de Ketoconazol.
4. Determinar el efecto que tiene la presencia de Polivinilpirrolidona en el sistema de re-cristalización.
5. Identificar mediante distintas técnicas analíticas instrumentales, el tipo de estructura física formada en cada sistema estudiado.
6. Determinar la velocidad de disolución intrínseca a 37°C, de los productos obtenidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

Etanol (R.A), TECSIQUIM; Metanol HPLC, J.T. BAKER; Isopropanol, (R.A), J.T. BAKER; Agua desionizada ultra-pura grado II (Sistema MILLIQ, Millipore); Polivinilpirrolidona K-25 (Q. LUFRA); Ácido fórmico y clorhídrico (R.A), J.T. Baker; Ketoconazol grado farmacéutico (muestra de referencia), Kallium Farmacéutica.

Metodología

Validación de un método por cromatografía de líquidos de alta resolución para la cuantificación de ketoconazol en solución.

El método fue validado en un sistema cromatográfico marca Waters formado por: bomba Mod. 1525, automuestreador Mod. 7017 y horno TCM para control de temperatura. Se utilizó detector de fluorescencia Mod. Ultrafluor, marca LabAlliance y tarjeta analógica- digital Satin®.

La separación cromatográfica de Ketoconazol se realizó a partir de la modificación del método reportado por Yuen y col. (1998), a través de una columna Waters Xterra MS C₁₈ de 3.5 µm y 4.6 X 100 mm a una temperatura de 40°C, utilizando como fase móvil metanol:agua/dietilamina en proporción 70:30/0.2% (v/v), a un flujo de 1 mL/min con 10 µL de volumen de inyección. La longitud de onda de excitación y emisión fueron de 240 nm y 376 nm, respectivamente.

Linealidad del Método Analítico.

Todas las soluciones de trabajo fueron disueltas en metanol al 100% partiendo de una solución madre de 1 mg/mL. La curva de calibración fue construida con 6 concentraciones: 0.4, 1, 4, 8, 12 y 16 µg/mL; con puntos control de 2, 6 y 10 µg/mL. La curva de calibración y los puntos control se elaboraron de la siguiente manera:

Punto	Concentración [$\mu\text{g/mL}$]	μL de solución	Aforo en metanol HPLC
CC1	0.4	40 de 100 $\mu\text{g/mL}$	10 mL
CC2	1	100 de 100 $\mu\text{g/mL}$	10 mL
CC3	4	400 de 100 $\mu\text{g/mL}$	10 mL
CC4	8	80 de 1000 $\mu\text{g/mL}$	10 mL
CC5	12	120 de 1000 $\mu\text{g/mL}$	10 mL
CC6	16	160 de 1000 $\mu\text{g/mL}$	10 mL
PC1	2	200 de 100 $\mu\text{g/mL}$	10 mL
PC2	6	60 de 1000 $\mu\text{g/mL}$	10 mL
PC3	10	100 de 1000 $\mu\text{g/mL}$	10 mL

CC: es el nivel de concentración en la curva, y PC: son los puntos control a interpolar en la curva de calibración.

Se evaluó la selectividad, linealidad del método, límite de cuantificación, estabilidad de la muestra en automuestreador y tolerancia al filtrado, así como precisión y exactitud. El tratamiento de los datos se realizó por medio de una regresión lineal por mínimos cuadrados ponderados entre la concentración obtenida contra respuesta, para obtener el intercepto, la pendiente, el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación, con el fin de evaluar la linealidad del método realizando el ajuste de la regresión ponderando $1/X$. El tratamiento de los datos se realizó a través del software estadístico SPSS®.

La validación se realizó con base a los requerimientos de la NOM-SSA 177 (1998).

Determinación de curvas de solubilidad de Ketoconazol en: metanol, etanol, isopropanol, agua Milli Q pH 6.5 y ácido fórmico 10 mM, pH 3.0

Se diseñó un sistema hermético de disolución, constituido por tres reactores de vidrio de doble fondo, con tapa esmerilada y empaques de teflón, con capacidad de 50 mL. Las tapas disponían de entradas para toma de muestra y monitoreo de temperatura. Entre el espacio formado por el doble fondo se hizo circular agua con ayuda de una bomba de re-circulación de agua (Little Giant Pump Company, modelo CK-5). La temperatura y la agitación se mantuvieron constantes,

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

respectivamente, por medio de un baño de calentamiento marca Neslab y una parrilla de agitación magnética marca Thermoline modelo Cimarec 3.

Para la determinación de las curvas de solubilidad se adicionaron 40 mL del disolvente a evaluar y un exceso de KZL estándar de referencia. El sistema se mantuvo bajo agitación y temperatura constante durante 2 horas; periodo en que el sistema alcanzó el equilibrio de saturación acorde a lo reportado por Hoeschele y col.(1994). Al término del tiempo establecido se tomó la muestra y se filtró a través de membranas de Nylon de 0.22 μm de diámetro de poro para eliminar cualquier partícula no disuelta. La muestra tomada se diluyó en metanol HPLC y se analizó por cromatografía de líquidos de alta resolución con el método validado.

La determinación se realizó a 15, 25 y 40°C para cada disolvente y por triplicado.

Sistemas de recristalización de Ketoconazol

- *Re-cristalización por descenso de temperatura bajo condiciones de ultra-sonicación y sin ultra-sonicación*

Se diseñó un sistema de re-cristalización constituido por 2 reactores de vidrio de doble fondo, con capacidad de 1000 mL. Entre el espacio formado por el doble fondo se hizo circular agua con ayuda de un baño de recirculación marca LAUDA modelo Alpha RA12, con control de temperatura para calentamiento y enfriamiento desde -20°C hasta 90°C. La agitación se mantuvo constante mediante una parrilla de agitación magnética Thermoline modelo Cimarec 3.

Se preparó una solución sobresaturada de KZL en cada uno de los disolventes a 40 °C, según la siguiente relación:

Disolvente	Volumen	Masa añadida
Metanol	200 mL	49.3 g
Etanol	200 mL	15 g
Isopropanol	400 mL	6.7 g

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

La solución se preparó por duplicado, ambas se pusieron en agitación constante y sólo a una se mantuvo con ultra-sonicación a 90 ciclos/segundo, por 2 horas, por medio de un Sonicador Vibracell Sonics, modelo VC&00-2.

Una vez transcurridas las dos horas, se inició el proceso de enfriamiento a una velocidad y agitación constantes hasta 9°C con ayuda de un baño de recirculación marca LAUDA modelo Alpha RA12, el cual dispone de control de temperatura para calentamiento y enfriamiento a velocidad constante desde -20°C hasta 90°C. Al formarse los cristales se separaron de las aguas madres por medio de un sistema de filtración al vacío. El polvo obtenido se secó en estufa a 60°C con vacío. Este proceso se realizó para cada uno de los tres disolventes antes mencionados.

Nota: debido a que el Ketoconazol mostró ser insoluble en sistemas acuosos, los sistemas de re-cristalización se trabajaron en sistemas orgánicos, y el medio acuoso se utilizó para cambiar la polaridad del medio para precipitar el activo.

- *Re-cristalización en metanol por cambio de polaridad del medio de disolución.*

Para este proceso de re-cristalización se utilizó el mismo sistema montado para la determinación de las curvas de solubilidad, habiéndose seguido el siguiente procedimiento: se preparó una solución sobresaturada de KZL en metanol HPLC disolviendo 4.9 g de Ketoconazol en 20 mL de metanol HPLC a 40°C. Después de mantener la temperatura y agitación constante durante 2 horas, se inició la adición de agua HPLC, a un flujo constante de 0.5 mL/min, durante 40 minutos.

El agua a adicionar fue previamente llevada a una temperatura de 40°C; posteriormente, por medio de una bomba para HPLC marca Waters modelo 1525, se inició la adición de agua al sistema metanólico, introduciendo para ello la línea de flujo de agua por la parte superior del reactor, en la entrada para toma de muestra.

En este sistema la cánula se colocó tocando la pared superior del reactor, de manera tal que el agua adicionada resbalara por las paredes del sistema. Durante todo el proceso se mantuvo la agitación.

– ***Formación de dispersiones sólidas de Ketoconazol con Polivinilpirrolidona***

Todas las muestras obtenidas bajo los procedimientos que se presentan a continuación, fueron caracterizadas por difracción de rayos X de polvos, calorimetría diferencial de barrido y espectroscopia infraroja.

○ *Mezcla Física KZL-PVP*

Se preparó una mezcla física de KZL con PVP en proporción 40:60 p/p, la cual sería utilizada como material de referencia para establecer comparaciones con las muestras obtenidas con los distintos procedimientos de obtención de las DS.

○ *Dispersión sólida por eliminación de disolvente a 100 °C (Muestra DSa)*

Se pesaron dos partes de KZL por cada tres de PVP; gramo a gramo, ambas sustancias se disolvieron por separado en aproximadamente 35 mL de metanol y se mezclaron en un vaso de precipitados para formar una solución homogénea. Esta solución se sometió a eliminación del disolvente por evaporación en estufa a 100°C durante 1 hora.

○ *Dispersión sólida por re-cristalización a temperatura sub-ambiente (Muestra DSb)*

Siguiendo un procedimiento semejante al anterior, se preparó un sistema para obtener la dispersión sólida PVP-KZL por evaporación del disolvente, pero permitiendo al sistema mayor tiempo para la formación de los cristales. La solución metanólica de KZL-PVP se dejó bajo refrigeración en un intervalo de temperatura entre 2-10°C, por 1 semana.

- *Dispersión sólida obtenida por evaporación del disolvente, sometida a reducción de tamaño por molienda (Muestra DSc)*

Esta muestra se obtuvo de moler vigorosamente en mortero la muestra DSa. La finalidad de este tratamiento ha sido determinar si las dispersiones sólidas de KZL-PVP son susceptibles a cambios por efecto de factores como la fragmentación y la compactación, fenómenos a los que eventualmente estaría sometida la DS si se pretendiera formularla en comprimidos.

- *Dispersión sólida por evaporación de disolvente en capa delgada, a temperatura ambiente (Muestra Dsd)*

Una vez preparados 70 mL de una solución de PVP-KZL, ésta se vertió sobre papel aluminio en un área aproximada de 300 cm². El metanol se eliminó por el mecanismo descrito en los párrafos anteriores. Al final se observó la formación de una película fina adherida al papel aluminio, por lo que la recuperación del sólido se realizó deformando la superficie del papel aluminio provocando la fragmentación de la película dando un mayor rendimiento del sólido de interés.

- *Dispersión sólida por re-cristalizaciones sucesivas con evaporación del disolvente a temperatura sub-ambiente (Muestra DSe)*

Se obtuvo la muestra como en DSb, y la masa cristalina sólida fue sometida a hasta 4 re-cristalizaciones sucesivas disolviendo los cristales y dejando evaporar el disolvente a temperatura de 2-10°C.

➤ **Caracterización de las muestras sólidas por Difractometría de rayos X de polvos**

El material sólido obtenido en cada sistema de re-cristalización o de dispersión sólida se analizó en un difractómetro de rayos X para polvos, Brüker AXS-D8, utilizando luz monocromática Cu-K α , con un voltaje de 40 kV, 40 mA y una velocidad de barrido de 6° por minuto entre 2° 2 θ y 60 ° 2 θ .

➤ **Caracterización de las muestras sólidas por Calorimetría Diferencial de Barrido**

Se obtuvieron curvas de comportamiento térmico de cada muestra sólida obtenida, así como del KZL sustancia de referencia, la PVP y la mezcla física KZL-PVP; para ello se utilizó un calorímetro diferencial de barrido marca Perkin Elmer, modelo DSC-7 y se pesó de 2 a 4 mg de las muestras en crisoles de aluminio, para esto se utilizó una autobalanza marca Perkin Elmer modelo AD-4. La velocidad de calentamiento fue de 10°C/min, utilizando una atmósfera de nitrógeno con un flujo de 25 mL/min.

➤ **Caracterización de las muestras sólidas por Espectroscopía Infrarroja**

El KZL de referencia y las muestras en polvo obtenidas de cada uno de los tratamientos para la formación de DS con el principio activo, fueron analizadas en un espectrómetro FT-IR Perkin-Elmer, usando una pastilla de bromuro de potasio (KBr), preparada mezclando suavemente en un mortero de ágata, la muestra de interés con KBr en proporción 1:100. Cada muestra fue monitoreada en el intervalo de 4000 a 400 cm^{-1}

Disolución Intrínseca

Se pesaron aproximadamente 300 mg de muestra y se colocó en la matriz de acero inoxidable del aparato de Wood, con un diámetro de 0.9 cm y un área expuesta de 0.6362 cm^2 , la cual una vez formado el compacto se acopla a una varilla de acero inoxidable de equipo de disolución.

Las tabletas de las muestras en estudio se formaron con la ayuda de una prensa Carver tipo "C", acoplada a un manómetro digital Enerpac. La fuerza de compactación fue de una presión de 3000 psi. Una vez formada la tableta sólo queda expuesta una cara del fármaco al medio de disolución, que consistió de 500 mL de HCL 0.1N, buscando simular el pH gástrico.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

El equipo utilizado fue un disolutor automatizado Vankel modelo VK 7000. La temperatura del medio fue de $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y la velocidad de rotación fue de $50 \text{ rpm} \pm 2 \text{ rpm}$.

Velocidad de disolución aparente en canastillas (Aparato 1, FEUM, 2010)

Se pesó el equivalente a 120 mg de KZL materia prima y dispersión sólida, se colocó en cápsulas de gelatina dura. Éstas se colocaron dentro de las canastillas del aparato 1 y la prueba se realizó con un disolutor automatizado Vankel modelo SSS. La temperatura del medio fue de $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y la velocidad de rotación fue de $50 \text{ rpm} \pm 2 \text{ rpm}$ en 500mL de HCL 0.1M.

Determinación de la solubilidad de DS de KZL-PVP

De conformidad a los resultados obtenidos con los distintos procedimientos para obtener DS de KZL-PVP, se seleccionaría una o más muestras para ensayos de solubilidad. Se propuso realizar la determinación con HCl 0.1 M, a 15, 25 y 40°C , para explicar los resultados obtenidos en los estudios de disolución. El equipo sería el mismo que para las pruebas de solubilidad del KZL.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Validación de un método por cromatografía de líquidos de alta resolución para la cuantificación de Ketoconazol en solución.

La selectividad de un método analítico se define como la capacidad de distinguir una entidad química de otras presentes en la matriz analizada. El método analítico propuesto fue selectivo y se demostró por la ausencia de interferencia en el tiempo de retención de ketoconazol ($5.30 \pm 0.02 \text{ min}$), después de inyectar un blanco de reactivos. Éste consistió en una matriz formada por una mezcla de etanol, metanol, isopropanol y agua, en proporciones 1:1:1:1, como se muestra en la figura 5.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

En la determinación de la linealidad de la respuesta del sistema analítico mediante el análisis de regresión de los datos sin ponderar, se obtuvieron desviaciones estándar relativas mayores a 15%, tanto para el límite de cuantificación (CC1), como para el punto de control bajo (PC1), por lo que se requirió ponderar los datos para reducir el efecto de la variabilidad de estas dos concentraciones bajas. (Tabla A.1, del Anexo).

Se demostró la relación lineal entre el área del pico y la concentración por medio de una regresión lineal por el método de los mínimos cuadrados, aplicando una bondad de ajuste ponderada $1/x$ de los datos, el análisis estadístico se realizó con SPSS® versión 19.

El método fue lineal en el rango propuesto de concentraciones con un valor de r y $r^2 > 0.99$ y $m \neq 0$ con $p < 0.05$, el modelo que describe el comportamiento de los datos es $Y = 416972.447X + 69829.6$.

El límite de cuantificación se estableció como la concentración mínima de la curva de calibración que puede ser cuantificada de manera precisa y exacta. Para el presente estudio el límite de cuantificación fue de 0.4 µg/mL (CV < 4%), con una relación señal/ruido >10.

Así mismo, para determinar la precisión y exactitud del método, estabilidad de la muestra por al menos 2 horas a 40 °C y recuperación en el proceso de filtración, se realizó el análisis de puntos de control de calidad (PC) en los tres niveles de concentración (PC1, PC2 y PC3). Los datos obtenidos demuestran que el método fue preciso, exacto y estable a las condiciones establecidas, ya que como se puede observar en la Tabla 1, el % CV no fue mayor al 6% y el porcentaje recuperado para cada uno de los niveles de concentración fue alrededor del 100%.

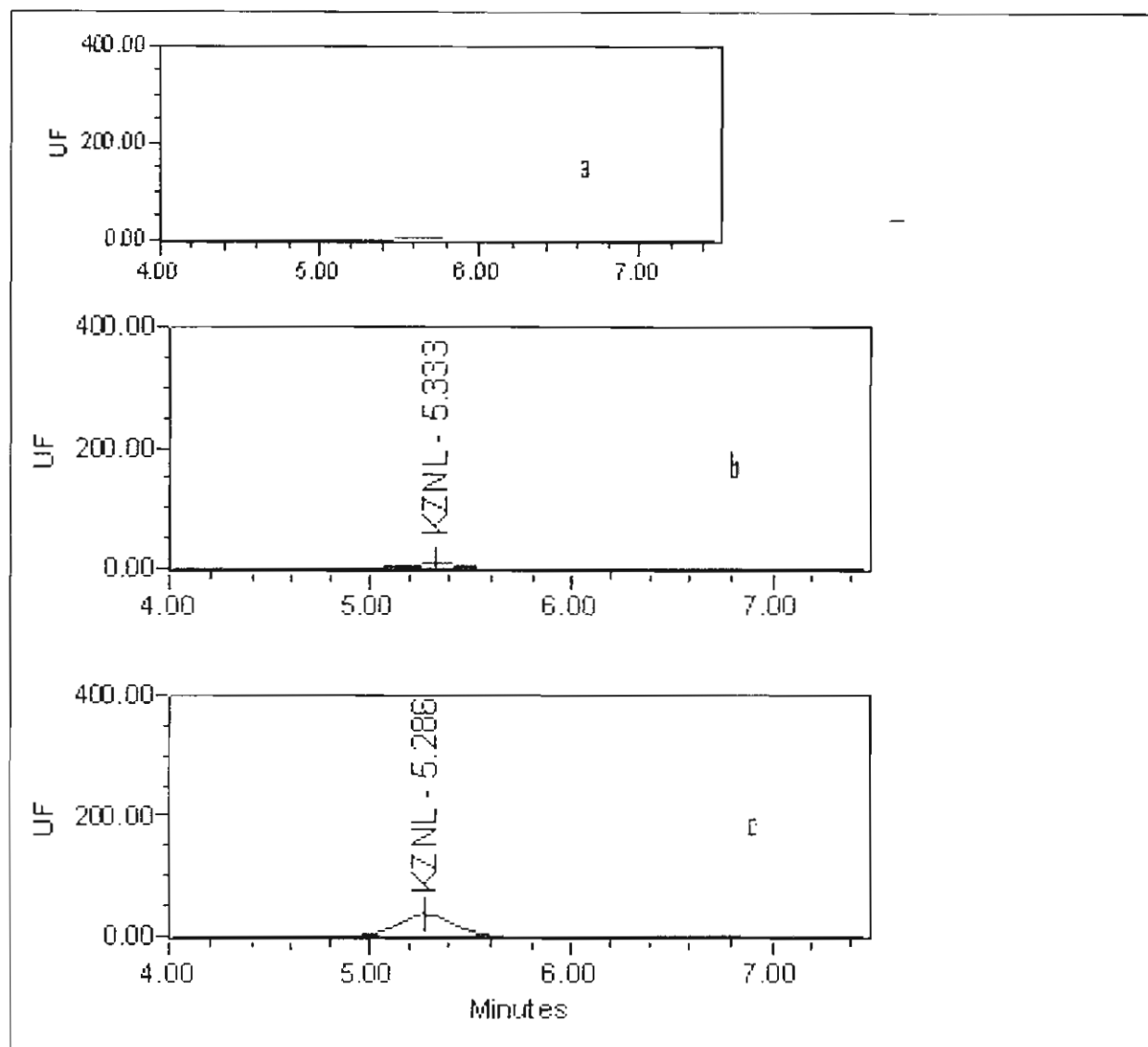


Figura 5. Cromatogramas obtenidos en la determinación de KZL en el sistema de HPLC desarrollado para este estudio: a) Respuesta a blanco de reactivos, b) Respuesta de solución de KZL al valor límite de cuantificación (0.4 µg/mL), y c) Respuesta de la solución saturada de KZL en isopropanol a 40°C.

Los valores puntuales que corresponden a cada repetición de muestra analítica, con los que se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 1, se relacionan en las Tablas A.1 a A.10 del Anexo.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

De igual forma, la Tabla A.11 del Anexo muestra los datos obtenidos para el límite inferior de cuantificación (0.4 µg/mL, con 3.4% de CV).

Tabla 1. Resumen de la validación del método analítico para cuantificar Ketoconazol en solución.

Parámetro	Concentración nominal	% Recuperado	CV %	r	Ecuación de la curva
Linealidad	N/A	N/A	N/A	>0.99	$Y = 416972.447X + 69829.6$
Límite de cuantificación	0.4	113.4	3.4	Intervalo de cuantificación: 0.4 a 10 µg/mL $p < 0.05$ para el análisis de varianza de la regresión.	
Repetibilidad	2	103.7	(3.2)		
	6	99.8	(1.2)		
	10	100.6	(0.7)		
Reproducibilidad	2	107.2	(4.5)		
	6	108.2	(5.3)		
	10	107	(2.8)		
Estabilidad	2	99.5	(4.1)		
	6	101.3	(4.9)		
	10	97.9	(3.8)		
Recuperación en filtrado	2	119.3	(3.4)		
	6	109.82	(6.0)		
	10	107.96	(6.0)		

Determinación de curvas de solubilidad de Ketoconazol en metanol, etanol, isopropanol, agua y ácido fórmico 10mM pH3.0

Debido a que en la obtención de un determinado polimorfo influye el disolvente utilizado, fue que en este estudio se consideró la posibilidad de realizar la re-cristalización del KZL tanto por el método de evaporación del disolvente (utilizando alcoholes de distinta polaridad y acidez), como por el método de cambio de polaridad del disolvente. En ambos casos, en la toma de decisión del mejor método no sólo influye el que originé el polimorfo esperado, sino también el que requiera menor gasto de energía en caso de escalamiento industrial y en el que no ocurra o sea menos probable la descomposición química de la molécula de interés.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

Para el análisis de los resultados de solubilidad del KZL obtenidos en los distintos disolventes, es necesario considerar entre otros elementos, la polaridad y acidez de los tres alcoholes alifáticos utilizados; que en ambos casos y para las dos propiedades señaladas es, orden decreciente: metanol > etanol > isopropanol, con valores de pKa de 15.5, 15.9 y 17.1, respectivamente. Cabe señalar así mismo, que excepto el metanol, la acidez del etanol e isopropanol es menor a la del agua, cuyo pKa es de 15.7.

Para la re-cristalización por el método de cambio de polaridad del disolvente se consideró importante conocer la solubilidad del KZL en agua deionizada (pH 6.5) y en solución de ácido fórmico de pH 3.0, porque ambos representan valores extremos de pH que influyen no sólo en la solubilidad del fármaco, sino también pueden modificar la estructura interna del cristal o dar lugar a un amorfo y porque también es conocido que a pH ácido, el KZL se degrada más rápidamente por oxidación e hidrólisis, que a pH alcalino (Skiba y col. 2000).

En la figura 6 se presentan las curvas de solubilidad de KZL en los distintos disolventes estudiados. Los resultados mostraron que la solubilidad en los disolventes probados fue en el siguiente orden: metanol>etanol>isopropanol>solución de ácido fórmico 10 mM, pH3.0> agua, pH 6.5.

La figura 6a muestra que la solubilidad del KZL fue considerablemente mayor en metanol (7.63 µg/mL, a 25°C), con respecto al etanol (2.11 µg/mL, a 25°C) e isopropanol (0.99 µg/mL, a 25°C). La mayor solubilidad en metanol se explica en función de su mayor capacidad ácida con respecto a los otros alcoholes y por ello logra una mayor interacción en la molécula básica del KZL. Esto concuerda con resultados de otros estudios, como los realizados por Hoeschele y col. (1994), donde a valores bajos (1 a 3) de pH, el KZL se disuelve en mayor proporción.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

En concordancia con lo anterior, la figura 6b muestra que el KZL es prácticamente insoluble en agua deionizada de pH 6.5 en el rango de temperatura propuesto (15 - 40°C). Así mismo, se observa que en un medio acuoso acidificado, como el que representa la solución acuosa de ácido fórmico 10 mM, cuyo pH fue de 3.0, la solubilidad de KZL es mayor que en el agua, y que la concentración del fármaco aumenta por efecto de la temperatura entre 15°C y 25°C, pero disminuye a 40°C.

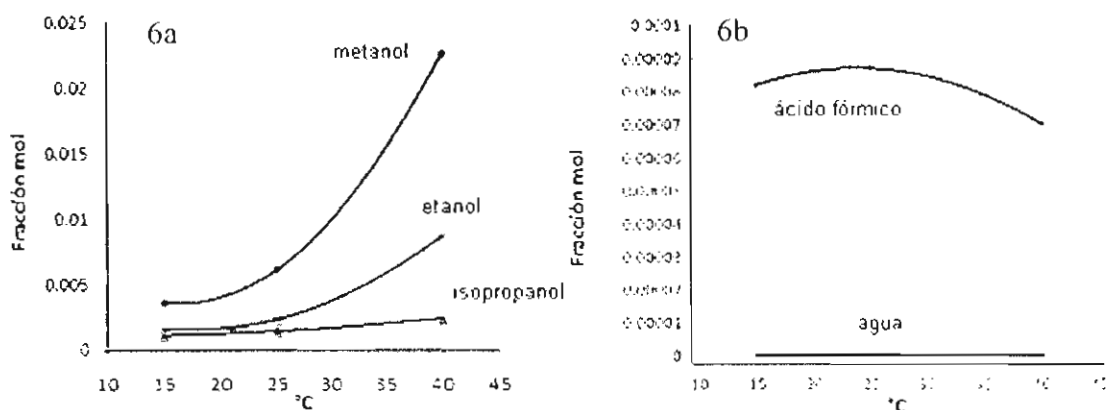


Figura 6. Curvas de solubilidad de KZL en distintos sistemas disolventes en función de la temperatura: 6a) Solubilidad del fármaco en tres alcoholes completamente miscibles en agua (metanol, etanol e isopropanol); 6b) Solubilidad del fármaco en agua (pH 6.5) y en solución de ácido fórmico 10 mM de pH 3.

El decremento de la solubilidad del KZL en medio ácido por efecto de la temperatura se explica en función de que la constante de disociación ácida, como cualquier constante de equilibrio, es una consecuencia directa de la temperatura en la reacción de disociación, de modo que el valor de pKa es directamente proporcional al cambio de energía libre de Gibbs estándar para dicho proceso. De tal forma, el valor de pKa cambia con la temperatura y se puede entender de manera cualitativa con base al principio de Le Châtelier, que explica: "si sobre un sistema en equilibrio se produce una variación de una de las variables (presión

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

temperatura, composición), el sistema reaccionará oponiéndose al cambio, logrando de ese modo un nuevo estado en equilibrio”. Lo anterior se puede expresar en términos termodinámicos mediante la siguiente ecuación: (Atkins y de Paula, 2009 y Dotro y col., 1994)

$$- \ln K_a = \frac{\Delta G}{RT}$$

De acuerdo a Van't Hoff, si dicho equilibrio es dependiente de la temperatura, se puede obtener el valor de un segundo estado de equilibrio a otra temperatura mediante la expresión:

$$\log \frac{K_{p_1}}{K_{p_2}} = - \frac{\Delta H^0}{2,303R} \cdot \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)$$

Lo anterior, junto con estudios realizados por Dotro y col. (1994), tendrían que ayudar a explicar los resultados de solubilidad del Ketoconazol en ácido fórmico en función del cambio del valor del pH de la solución de ácido fórmico cuando se modifica la temperatura, ya que estos autores informaron sobre una relación logarítmica en un rango entre 0° y 50 C°, donde una solución de ácido fórmico a 290 °K (≈17°C) presenta un pH de entre 2 a 2.5, cambiando a un valor de pH alrededor de 1.5 cuando la temperatura se incrementó a 310 °K (≈37°C).

Por lo antes descrito, tal y como sucede con casos como el que nos ocupa: el del KZL en presencia del ácido fórmico, el incremento de temperatura del sistema a 40°C bajará el pH de aproximadamente 3 (cuando la temperatura es de 15°C) a 1.5 el pH del medio. Así, si el Ketoconazol es una base débil, de acuerdo a la ecuación de Henderson-Hasselbalch, considerando su primera constante de disociación ($pK_{a1} = 6.51$), y un $pH = 3$, la proporción de la forma no ionizada (menos soluble) es de alrededor de 3.09×10^{-4} y por lo tanto la solubilidad del KZL sería relativamente alta a $pH = 3$; pero con respecto a su segunda constante (pK_{a2}

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

= 2.94), la proporción de la forma no ionizada se incrementa considerablemente (1.14) y de esta forma la solubilidad de esta especie es baja.

Si se considera que se tuvo un pH alrededor a 1.5 a la temperatura de 40°C, la proporción de la forma menos soluble del KZL da un valor de 9.77×10^{-6} considerando el $pK_{a1} = 6.51$, con lo que se estimaría una mayor solubilidad del KZL, pero con el $pK_{a2} = 2.94$; la proporción de la forma no ionizada da un valor de 0.036.

Por lo anterior, dado que de acuerdo a los resultados de este estudio existe un comportamiento aparentemente anómalo en la solubilidad del KZL con el aumento de la temperatura, se sugiere realizar mayores estudios al respecto en distintos medios ácidos y a diferentes temperaturas, ya que también es conocido que cuando una sustancia por su estructura, presenta más de una constante de disociación y entre ellas la diferencia de valores sucesivos de pK_a es de 4 ó más, se puede considerar que cada especie se comporta como una entidad química distinta, lo cual puede afectar la solubilidad en este caso del Ketoconazol.

Por otra parte, Hoeschele y col. (1994) reportaron que la solubilidad de Ketoconazol en agua es dependiente del pH y del volumen del medio.

Con los datos de disolución se analizó el comportamiento termodinámico del proceso, habiéndose calculado la entalpía de disolución ΔH^s mediante el método de Van't Hoff, para lo cual se graficó el logaritmo neperiano de la concentración de KZL expresada en fracción mol ($\ln X_2$), contra el inverso de la temperatura en °K ($^{\circ}\text{C} + 273.17^{\circ}$).

En las tablas A.12 a A.21 del Anexo se muestra los valores individuales obtenidos en las tres repeticiones de solubilidad del KZL para cada disolvente a las tres temperaturas estudiadas, así como los datos experimentales de densidad de las soluciones por temperatura de estudio y el tratamiento de los datos para obtener la concentración en fracción mol. En la tabla A.22 y A.23 se presenta los datos de

solubilidad de KZL en solución de ácido fórmico obtenidos para la muestra de dispersión sólida (DS) y los correspondientes a los valores experimentales de densidad de la solución.

Se hizo el ajuste curvilíneo de todas las curvas de solubilidad realizando un análisis de varianza (ANADEVA), utilizando el programa SPSS® versión 19.0. El análisis estadístico de los datos calculados con la ecuación de Van't Hoff mostró ser una relación lineal sólo cuando el medio de disolución fue isopropanol, con un calor de disolución (ΔH^s) de signo positivo, lo que indica la necesidad de energía para entrar en solución. Sin embargo, para el metanol y etanol se observó que la mejor curva de ajuste fue una relación cuadrática. (Ver tabla 2)

En la tabla A.24 se muestran los datos utilizados para construir las relaciones de Van't Hooff para el KZL de referencia, así como de la dispersión sólida. Esto último se analizará más adelante. En la tabla A.25 se muestra un resumen del valor de r^2 y el valor de p obtenido del análisis de varianza después de la regresión en el modelo lineal y cuadrático.

La decisión del mejor modelo de ajuste se basó en el valor de p . Si el valor de p es menor de 0.05 en ambos casos, el modelo de mejor ajuste se consideró con base al mayor valor de r^2 .

En el sistema disuelto en metanol y etanol se observó que el 99% de los datos se explican por una ecuación cuadrática. Al aplicar a los mismos datos el modelo lineal, se explica el 97 y 94 %, respectivamente. Por lo que se consideró que el perfil de solubilidad para metanol y etanol es cuadrático. No obstante, se tiene presente que para que este tipo de estudios tenga mayor validez, se requerirá de incluir al menos otros dos puntos dentro del intervalo de temperatura analizado.

Por otro lado el sistema disuelto en isopropanol presentó un valor de r^2 de 0.925 y 0.936, para el modelo lineal y cuadrático, en ambos casos con un valor de $p < 0.05$. Debido a que el porcentaje de los datos es explicado para ambos modelos

de formasimilar,se decidió determinar la entalpía de disolución con un modelo lineal.

Tabla 2. Modelo matemático de mejor ajuste de la solubilidad del KZL en función de la temperatura, obtenido a partir de los datos experimentales con los sistemas disolventes en estudio.

Sistema disolvente	Función	p	r ²
Metanol	$\ln X_2 = 12750804.652(T^{-1})^2 - 91570.040T^{-1} + 158.598$	<0.05	0.997
Etanol	$\ln X_2 = 17904341.28(T^{-1})^2 - 125328.397T^{-1} + 212.894$	<0.05	0.997
Isopropanol	$\ln X_2 = -2882.066T^{-1} + 3.18$	<0.05	0.926
Agua	Lineal: $\ln X_2 = 550.175T^{-1} - 16.960$ Cuadrática: $\ln X_2 = -4907645.240(T^{-1})^2 + 33218.629T^{-1} - 71.262$	>0.05	<0.3
Ácido fórmico 10mM pH3.0	Lineal: $\ln X_2 = 596.985 - 11.439$ Cuadrática: $-5.824978.155(T^{-1})^2 + 39371.799T^{-1} - 75.890$	>0.05	<.53

De acuerdo a las ecuaciones de la tabla 2, que representan el modelo matemático de mejor ajuste sobre la solubilidad del KZL en cada disolvente en función de la temperatura, se observa que la ΔH^s no es un valor constante cuando el KZL entra en solución en metanol y etanol en el intervalo de 15° a 40°C, sino que es dependiente de la temperatura. En otras palabras, a diferencia de lo que ocurriría con ambos disolventes si el comportamiento hubiera sido lineal, en el caso del KZL a cada temperatura le corresponde un valor distinto de ΔH^s .

Para caracterizar el comportamiento de ΔH^s en etanol y metanol, primero se calculó la primera derivada de la función cuadrática mostrada en la tabla 2, acorde a la temperatura evaluada para cada sistema, para después aplicar la expresión: $\Delta H^s =$

$-R(b+2cx)$, donde R representa la constante general de los gases ($8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), como lo reporta Mora y col. (2005).

De este modo, la derivada de una función cuadrática $f(x) = cx^2 + bx + a$, será: $2cx+b$, donde $2c$ representa la pendiente de la tangente a la curva y b la ordenada al origen de la misma. Los valores calculados de ΔH^s se muestran en la tabla A.26 del anexo. Estos se obtuvieron al sustituir los valores del inverso de la temperatura en x en la ecuación $\Delta H^s = -R(b+2cx)$.

Con los resultados así obtenidos, se graficó ΔH^s en función de la temperatura. Raramente mayor a una temperatura de absoluta, como se puede ver en la figura 7; la solubilidad del KZL en metanol es prácticamente espontánea ($\Delta H^s = 0$) por debajo de 280°K ($\approx 7^\circ\text{C}$), a diferencia del etanol, en el que esto ocurre por encima de este valor ($\approx 12^\circ\text{C}$). Así mismo, por encima del punto de intersección de ambas curvas ($\approx 32^\circ\text{C}$), la entalpía de disolución es mayor para el etanol que para el metanol; con lo cual los datos experimentales de solubilidad del KZL en ambos alcoholes se explican en función de la termodinámica.

No se estableció igual tipo de comparación con base termodinámica con relación a la solubilidad del KZL en metanol-etanol-isopropanol, debido a que para este último su perfil de solubilidad en función de la temperatura resultó lineal y no cuadrático como fue el caso del metanol y del etanol. Además, porque para el isopropanol el cambio de solubilidad del KZL en función de la temperatura dentro del intervalo de 15 a 40°C no fue muy grande ($0.78 \mu\text{g/mL}$ para 15°C y $1.66 \mu\text{g/mL}$ para 40°C ; Tabla A.16 del Anexo).

Por su parte, el comportamiento de disolución del KZL en medio acuoso mostró grandes diferencias respecto a lo observado en los medios de disolución orgánicos; así, mientras que en los alcoholes la solubilidad aumenta con la temperatura, en agua se observa que la solubilidad prácticamente no cambia con el incremento de este factor (la diferencia entre ambas temperaturas es de $1.11 \mu\text{g/mL}$), tal y como se observa en la figura 6b y los datos de la tabla A.20.

En la tabla 2, se puede observar que para el agua y la solución de ácido fórmico, el ajuste lineal y el parabólico de los datos en el gráfico de Van't Hoff no muestran relación significativa, con $p > 0.05$ y una r^2 menor de 0.3 y 0.5, respectivamente; lo cual indica en términos inferenciales que menos del 30% y el 50% de la variación, respectivamente, es explicada por el modelo de regresión.

No obstante las limitaciones debidas al error experimental que se pueden observar a partir de los resultados de solubilidad tanto en la solución de ácido fórmico como en agua (Tablas A.18 y A.20, respectivamente), es evidente que la solubilidad del KZL en sistemas acuosos no depende sólo de la temperatura, sino también de los cambios de pH en un volumen determinado de solución que pueden presentarse por efecto de la temperatura (Hoeschele y col., 1994 y Dotro y col 1994). Lo cual se pudo hacer evidente para la solubilidad del KZL en ácido fórmico 10 mM de pH 3.0 (figura 6b) y que fue explicado con anterioridad.

A pesar del error experimental obtenido en los estudios de solubilidad del KZL en los medios acuosos, al aplicar para el caso del ácido fórmico la ecuación de Van't Hoff con un ajuste a un modelo de regresión lineal, se observó que la solubilidad es mayor a la temperatura más baja ($15^{\circ}\text{C} = 288.15^{\circ}\text{K}$) y se presenta una caída en la solubilidad cuando la temperatura aumenta hasta 313.15°K (40°C), representado en el punto 1/313.15 de la figura 8.

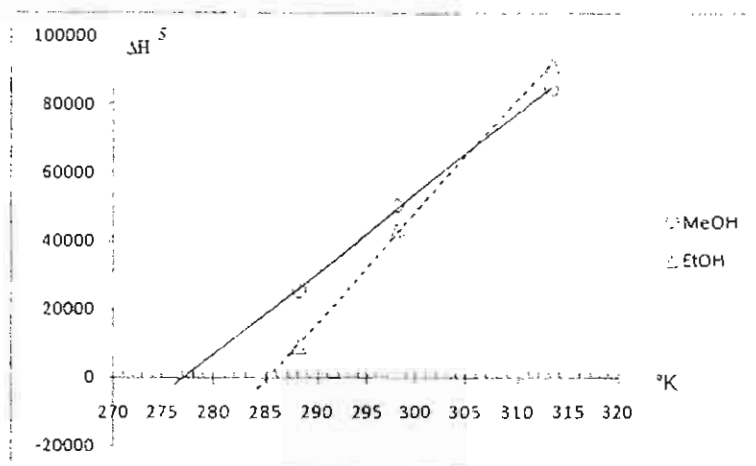


Figura 7. Gráfico que muestra la relación entre el calor de disolución (ΔH^s) del KZL en función de la temperatura absoluta (°K), en metanol (MeOH) y etanol (EtOH). Se observa que la solubilidad del KZL en MeOH es espontánea por debajo de 280°K (7°C), a diferencia del EtOH, que está por encima de este valor.

Los resultados obtenidos en los estudios de solubilidad permiten elegir los disolventes en los cuales se ha de disolver el compuesto de interés, para llevar a cabo procesos de cristalización o re-cristalización con rendimientos óptimos en función de la mayor masa disuelta por temperatura. Por ello, de acuerdo a los resultados de solubilidad, se concluye que el sistema disolvente para obtener altos rendimientos de KZL re-cristalizado por descenso de temperatura, es el metanol.

Caracterización de los sólidos obtenidos mediante los distintos sistemas de re-cristalización de Ketoconazol

Una vez obtenidas las muestras de acuerdo al procedimiento establecido para cada método de re-cristalización, fueron analizadas por difracción de rayos X y calorimetría diferencial de barrido.

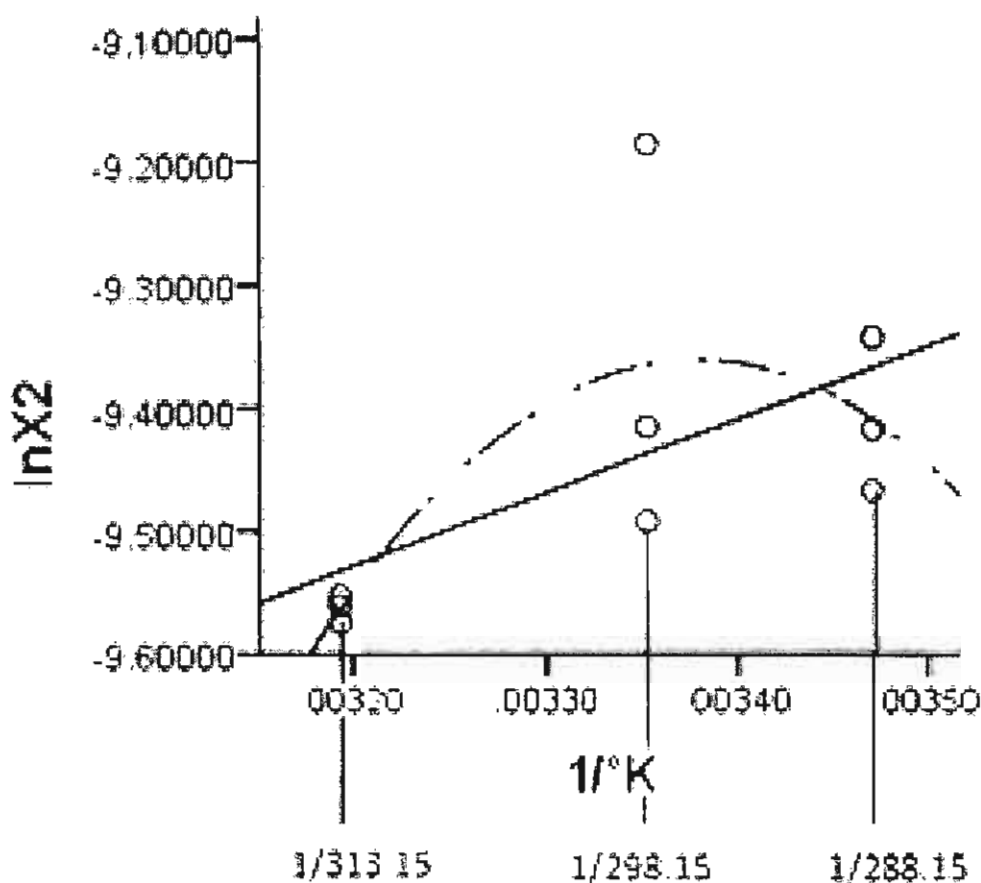


Figura 8. Ajuste lineal y cuadrático del gráfico de Van't Hoff para la solubilidad del KZL en la solución acuosa de ácido fórmico 10 mM, pH de 3.0, en el que se observa un decremento en la solubilidad representado por la disminución en el valor del logaritmo de la fracción mol a 1/313.15°K.

Estudios de difracción de rayos X de polvos

La figura 9 muestra que los difractogramas de los cristales obtenidos en la recristalización por descenso de temperatura en alcoholes de diferente polaridad, con y sin aplicación de energía por medio de ultra-sonicación, no presentaron un patrón de difracción distinto.

La comparación del difractograma de KZL materia prima con los difractogramas de las muestras recristalizadas en distintas condiciones, demuestra que la estructura cristalina del fármaco no se ve modificada por la polaridad del disolvente ni por el proceso de ultra-sonicación, ya que en todos los casos se observan picos bien definidos en los ángulos 2θ , lo cual implica que no hubo producción de nuevas formas cristalinas. Sin embargo, es evidente que cuando se recristaliza en una solución de isopropanol y en ausencia de ultra-sonicación se observa una disminución en la intensidad de los picos en el difractograma.

Por otro lado, al igual que con la cristalización por descenso de temperatura en los alcoholes en estudio, cuando se recristalizó KZL por el método de cambio de polaridad del sistema en solución mediante la adición de agua; por difracción de rayos X, no se observó ningún cambio en la intensidad y posición de los picos de los difractogramas obtenidos, lo cual indica que por la conformación de su estructura química, al agregarse para formar el núcleo cristalino, las moléculas del KZL se orientan en una sola estructura cristalina termodinámicamente estable, sin que las moléculas del medio disolvente interfieran en la predisposición, de modo que no se obtiene ningún polimorfo.

De tal forma, los datos de este estudio coinciden con los obtenidos por Viseras (1995), donde al analizar por difracción de rayos X diferentes muestras de KZL obtenidas por re-cristalización por el método de evaporación del disolvente, se encontró que cuando se utilizó isopropanol en el proceso de re-cristalización, la intensidad de los picos en el difractograma disminuía con respecto a los otros disolventes utilizados. Esto fue atribuido a una ligera disminución en la cristalinidad del polvo. Dicho autor también reportó que la presencia de metanol o etanol como medio de disolución no impacta el ordenamiento cristalino del KZL, lo cual indica la ausencia de amorfismo o polimorfismo.

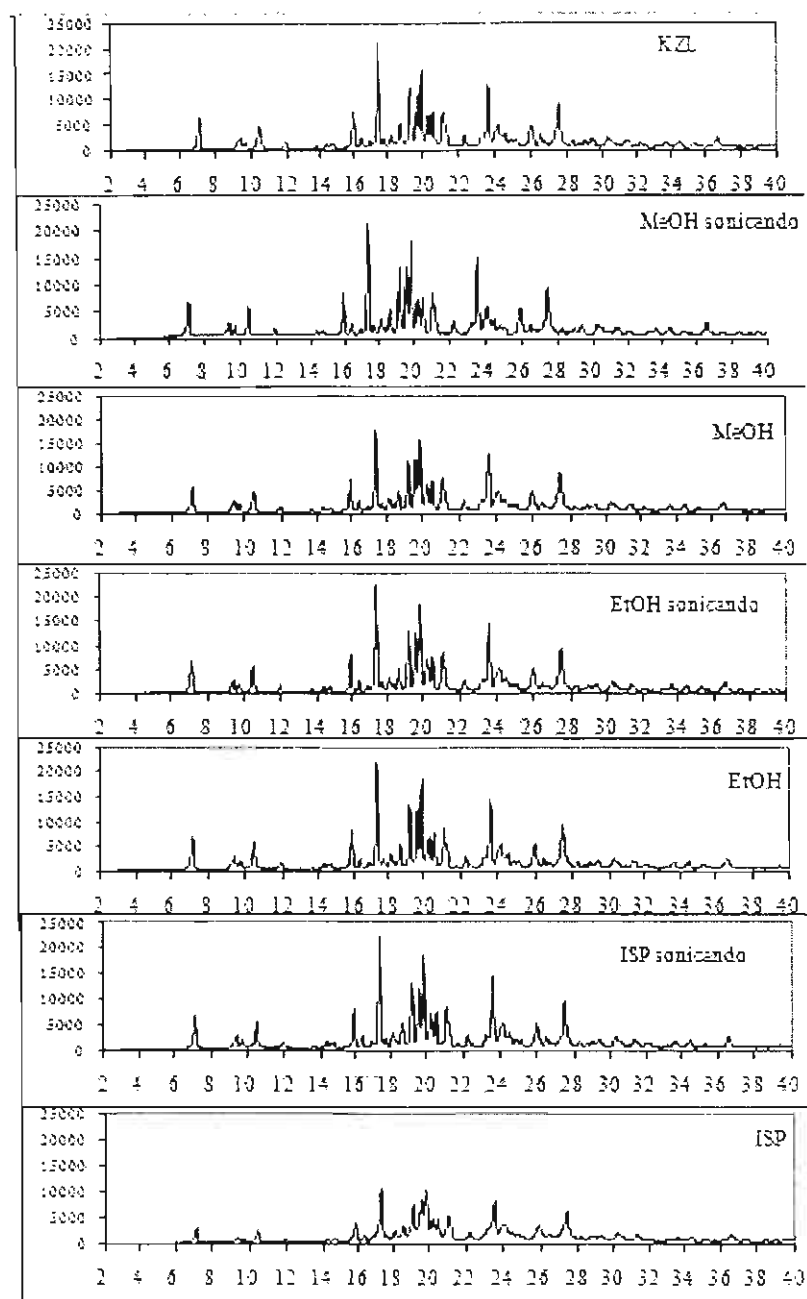


Figura 9. Difractogramas de Ketoconazol materia prima(KZL) recristalizado por descenso de temperatura en: (MeOH) metanol, (EtOH) etanol e (ISP) isopropanol con y sin aplicación de energía por medio de ultrasonicación.

Tamaño de cristal

Para descartar que cualquier cambio en las propiedades termodinámicas de las muestras obtenidas con los distintos sistemas de re-cristalización de este estudio pudieran deberse a distinto tamaño de unidad cristalina, con los datos obtenidos de los difractogramas (ver tablas A27y A28 EN Anexo), se determinó el tamaño aproximado de los monocristales aplicando la ecuación de Scherrer (ver ecuación en antecedentes), como lo reporta Aguilar (1976). Los resultados se resumen en la tabla 3.

Tabla 3. Tamaño de mono-cristal calculado por el método de Scherrer en los cristales obtenidos por las diferentes condiciones de cristalización

Condición de recrystalización		SOLVENTE	Tamaño de cristal °A
Por cambio de polaridd del solvente		Etanol	506.7853
		isopropanol	570.7409
		metanol	564.8643
por descenso de temperatura	Sonicando a 90 ciclos por minuto	Metanol	521.7447
	sin sonicar	Metanol	487.3518
	sonicando a 90 ciclos por minuto	Etanol	569.8349
	sin sonicar	Etanol	571.2019
	sonicando a 90 ciclos por minuto	Isopropanol	569.4044
	sin sonicar	Isopropanol	456.6752

Se comparó estadísticamente el tamaño de cristal promedio obtenido por los métodos: 1) cambio de polaridad y 2) descenso de temperatura aplicando ultrasonido, contra los cristales obtenidos por descenso de temperatura sin ultrasonido. Previamente se analizó la distribución de los datos por la prueba estadística de Shapiro-Wilk y se demostró que los datos no seguían una distribución normal, por lo cual se utilizó la prueba de Mann-Whitney, para encontrar diferencia significativa entre la mediana del tamaño de mono-cristal en nm. (Tablas A 29 en anexo) los resultados se resumen en la tabla 4.

En los resultados se observa que el proceso de ultra-sonicación durante la cristalización del KZL no impacta el tamaño de cristal obtenido en presencia de

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

etanol o metanol; así mismo, no se observó diferencia significativa entre el método de cambio de polaridad y descenso de temperatura. Sin embargo, cuando el medio de disolución es isopropanol, se observó un tamaño de cristal significativamente menor si se recristaliza por descenso de temperatura y sin sonicar (Tabla 4).

Según dichos resultados, el isopropanol probablemente provoca un cambio en la estructura externa del cristal de modo que se presenta un tamaño de mono-cristal ligeramente menor. Sin embargo, la estructura interna se mantiene en todos los casos.

Tabla 4. Tamaño de mono-cristal de ketoconazol obtenido durante el proceso de cristalización por descenso de temperatura y cambio de polaridad del sistema de disolución.

Disolvente	Condiciones	Mediana del Tamaño en nm	p
Metanol	Sin sonicación	52.957	p>0.05
	Ultrasonicación	53.215	
	Cambio de polaridad	59.288	
Etanol	Sin sonicación	58.175	p>0.05
	Ultrasonicación	58.605	
	Cambio de polaridad	52.86	
Isopropanol	Sin sonicación	47.940	P<0.05
	Ultrasonicación	58.959	
	Cambio de polaridad	59.087	

Estudios de calorimetría diferencial de barrido

Se realizaron estudios de calorimetría diferencial de barrido sólo de los polvos que por difracción de rayos X orientaban una posibilidad de cambio de estructura interna.

Por lo anterior, considerando que por difracción de rayos X se comprobó que el KZL de referencia pertenece al mismo sistema cristalográfico que los polvos

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

cristalinos obtenidos en metanol y etanol con y sin la aplicación de ultrasonido, tanto con descenso de temperatura y por cambio de polaridad del disolvente, así como los que fueron producto de la re-cristalización con isopropanol en presencia de ultrasonido; fue que se asumió que cualquier dato termodinámico que pudiera aportar el ensayo calorimétrico, éste sería extrapolable a todas las muestras antes señaladas.

—

De tal forma, el análisis calorimétrico fue aplicado a los polvos obtenidos en isopropanol por descenso de temperatura sin ultra-sonicación, debido a que fue solo en ese lote de experimentación donde se observó un cambio aparente en los datos de difracción de rayos X.

Así, en la figura 10 se muestran las curvas de comportamiento térmico de las muestras obtenidas por descenso de temperatura sin la aplicación de ultra-sonicación, para identificar cambios en la temperatura o calor de fusión, que pudieran reflejar un cambio en las propiedades de disolución de los cristales obtenidos. Las líneas de comportamiento térmico indican que en todas las muestras la temperatura de fusión es prácticamente la misma en todas las muestras; así mismo, no se observa una diferencia significativa en el calor de fusión, que oscila entre 92 y 95 J/g, con lo que se puede afirmar que en todas las muestras el sólido cristalino tiene la misma estructura interna.

Por otra parte, estos resultados confirman que la estructura interna de las entidades sólidas obtenidas en la re-cristalización en isopropanol sin sonicar, no es diferente, por lo que el cambio observado en la intensidad de los picos de esta muestra en el difractograma de rayos X, solo es debido a un probable reordenamiento externo en la cara del cristal y que las moléculas de KZL encuentran en estos sistemas de re-cristalización, condiciones hacia un solo ordenamiento al estado sólido, termodinámicamente favorecido.

Con los datos de calorimetría diferencial de barrido se hace evidente que las propiedades de solubilidad de los polvos obtenidos por los distintos procedimientos de re-cristalización aplicados en el presente estudio, es de esperar

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

que no sean diferentes a las de la materia prima de referencia. Esto también se pudo corroborar aplicando los datos aportados por el ensayo calorimétrico a la ecuación de solubilidad ideal ($\ln X_2^l$); en la cual se relaciona la solubilidad del sólido sólo en función del calor y la temperatura de fusión.

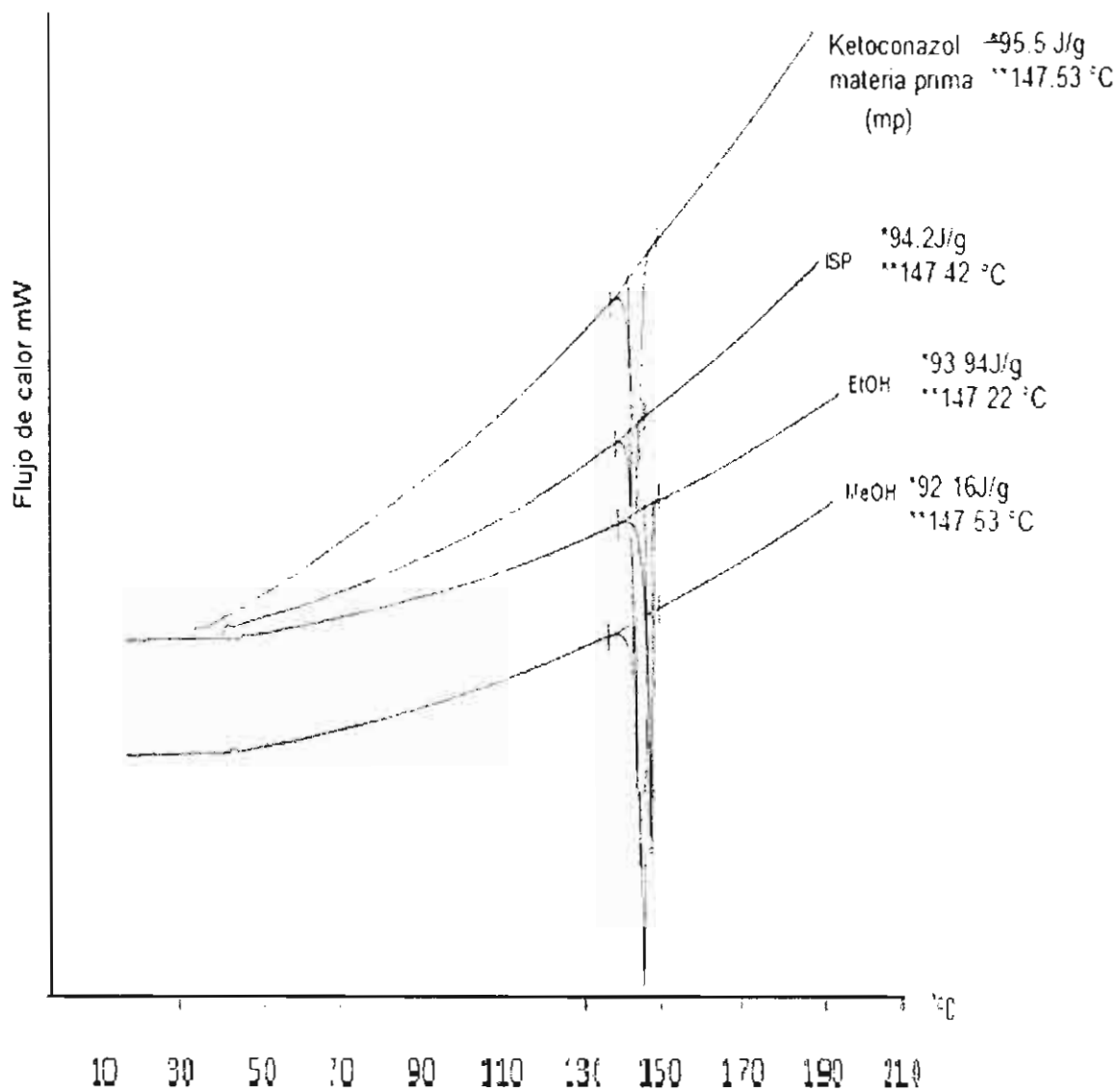


Figura 10. Calorimetria diferencial de barrido de: Ketoconazol materia prima (MP) de referencia y cristales obtenidos por descenso de temperatura sin ultrasonificación en: (ISP) isopropanol, (EtOH) etanol y (MeOH) metanol. Se observa que no existe un cambio significativo en la temperatura y calor de fusión.

Para calcular la solubilidad ideal de cada muestra, primero se obtuvo mediante el calorímetro el valor del calor de fusión en J/mol, para lo cual se multiplicaron los valores experimentales de J/g obtenidos en los termogramas, por el peso molecular del KZL (531.44 g/mol). Las temperaturas de fusión se expresaron en grados °K y suponiendo una temperatura ambiente de 25°C, se obtuvieron los resultados de la tabla A.30 del Anexo. En ella se observa que los valores de solubilidad ideal del KZL expresados en fracción mol (X_2^I) oscilan entre 0.42 y 0.45, lo cual corrobora que la solubilidad, al menos en condiciones ideales, se mantiene alrededor de 0.45 en los cristales obtenidos por re-cristalización en los tres alcoholes.

Dispersiones sólidas de Ketoconazol con Polivinilpirrolidona.

Según los resultados de los análisis instrumentales aplicados a las distintas muestras de re-cristalización de KZL en metanol y presencia de PVP, se forman dispersiones sólidas formadas por una matriz donde el KZL, dependiendo del procedimiento de re-cristalización se encuentra disperso en estado parcialmente cristalino o amorfo (muestras DSb, DSd y DSe, respectivamente).

El sometimiento de la muestra DSe (matriz con KZL amorfo) a condiciones de estrés mecánico como la molienda para obtener nuevamente un polvo (muestra DSc), así como la re-cristalización de KZL con PVP, eliminando el metanol que los disolvía a temperatura ambiente (muestra DSd) y la serie de 4 re-cristalizaciones consecutivas de la mezcla KZL-PVP (muestra DSe), puso de manifiesto que la PVP favorece la formación de dispersiones sólidas amorfas de KZL por las interacciones que mediante puentes de hidrógeno se establecen entre ambos componentes. Lo que confirma el papel estabilizador de la PVP en la formación y estabilidad de KZL amorfo disperso en la matriz sólida de PVP.

Estudios de difracción de rayos X de las DS

Los estudios de difracción de rayos X de la dispersión sólida formada (DSa) mediante evaporación del disolvente utilizando calor seco a 100°C, presentaron un patrón distinto al difractograma obtenido de la materia prima de KZL de referencia (Figura 11).

En el caso de la muestra DSa, se observa que el ordenamiento en la estructura interna del sólido es de corto alcance, es decir, se obtiene una matriz predominantemente amorfa, ya que solo se observa un máximo con un ancho de pico por encima de 10° de 2θ.

La dispersión sólida formada por re-cristalización lenta (1 semana) a temperatura entre 2 y 10 °C (DSb), presentó un difractograma con picos bien definidos aunque atenuados, es decir, con menor intensidad, en las mismas posiciones 2θ que el KZL materia prima de referencia (Figura 11).

Por otra parte, la comparación en la misma figura 11 del difractograma de (DSb) con el correspondiente a la mezcla física (MF) de KZL-PVP, mostró que existiese similitud, tanto en las posiciones como en la intensidad de los picos de ángulo 2θ, y estos últimos coinciden con los valores de ángulo de la muestra cristalina del KZL sustancia de referencia. Lo anterior indica que la DSb corresponde a una dispersión sólida donde la lenta eliminación del disolvente permitió que las moléculas de KZL se dispersaran como pequeños agregados cristalinos en la matriz de PVP.

Cabe señalar por otra parte, que la cantidad de material re-cristalizado mediante el procedimiento anterior, fue de poco rendimiento, por lo que no sería recomendable para un posible escalamiento.

En cuanto a la PVP utilizada en este estudio, el difractograma de la figura 11 también muestra que ésta es un material amorfo, pues solo presentó dos máximos con un ancho de pico de alrededor de 10 unidades 2θ.

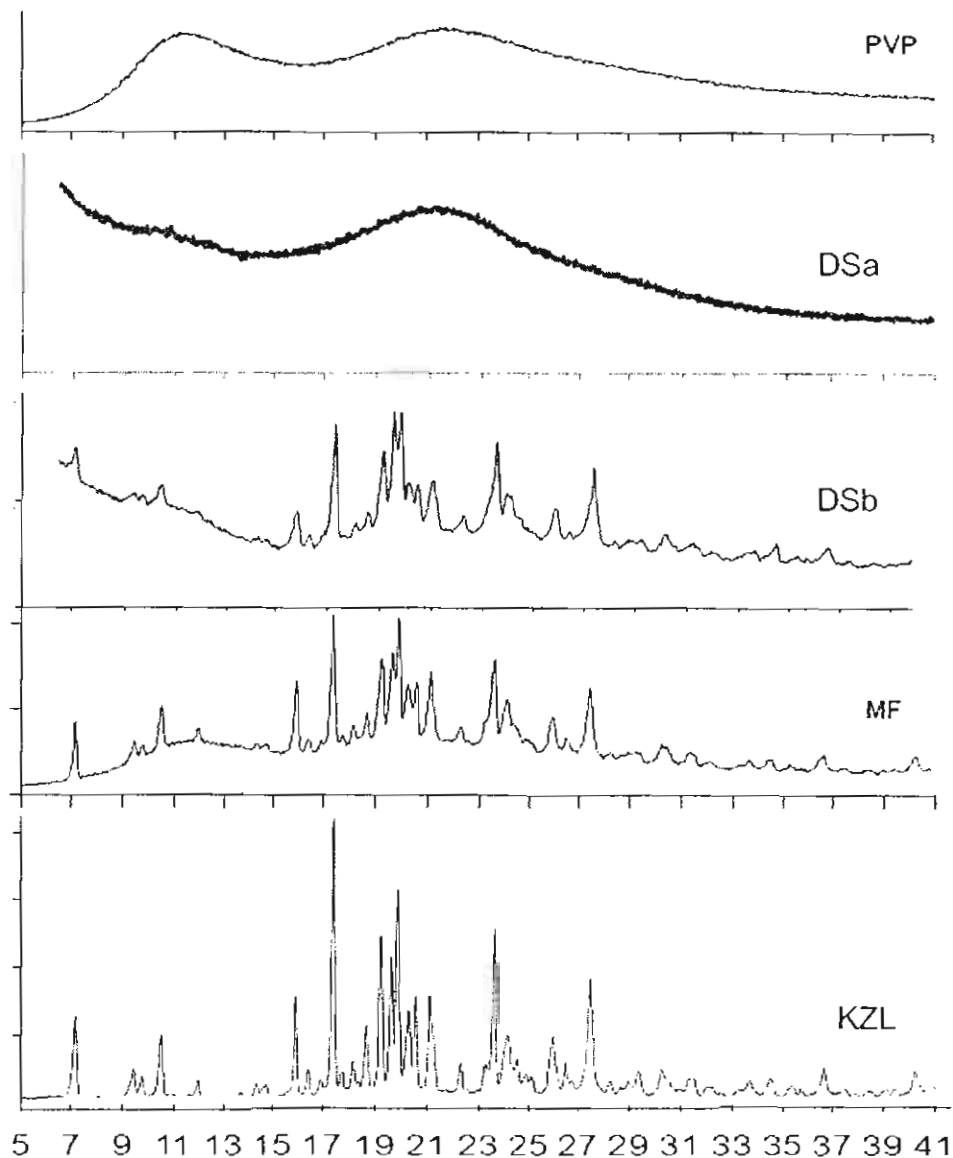


Figura 11. Espectros de difracción de rayos X de: Ketoconazol (KZL), Polivinilpirrolidona (PVP), mezcla física Polivinilpirrolidona/Ketoconazol (MF), dispersión sólida PVP/KZL obtenida por evaporación a 100°C (DSa) y dispersión sólida obtenida de PVP/KZL recristalizada lentamente a 2 - 10°C (DSb).

Estudios de calorimetría diferencial de barrido de las DS

Los ensayos de calorimetría diferencial de barrido para las dispersiones sólidas y la mezcla física mostraron resultados que contribuyeron a confirmar lo aportado por la difracción de rayos X.

La Tabla 5 muestra para fines de comparación, el calor utilizado y la temperatura en que ocurrió la transición de fase sólida a líquida para el KZL de referencia y cada una de las muestras de dispersión sólida obtenidas en los distintos procesos de re-cristalización bajo los procedimientos en estudio. Para el caso de la PVP, se indica la transición vítrea (T_g).

Tabla 5. Calor y temperatura de fusión de las entidades sólidas de KZL obtenidas.

Muestra y procedimiento de obtención	Calor de fusión J/g	Temperatura de fusión °C	
KZL recristalizado en metanol	92.16	147.53	
KZL recristalizado en etanol	93.94	147.22	
KZL recristalizado en isopropanol	94.20	147.42	
Mezcla física (MF)	4.71	148.88	
Dispersión sólida KZL-PVP, evaporación a 100°C (DSa)	----	----	
Dispersión sólida KZL-PVP, evaporación lenta a 2 - 10°C (DSb)	74.69	145.95	
Ketoconazol m.p.	95.90	148.36	
PVP	25.37	71.82	$T_g = 40.36$

La figura 12 muestra las curvas de comportamiento térmico obtenidas para las dispersiones sólidas DSa y DSb, en el intervalo de temperatura de 30° a 160°C, comparándolas con la mezcla física de KZL-PVP, así como el comportamiento térmico de la PVP. El comportamiento térmico mostrado por la muestra de KZL-PVP re-cristalizada por evaporación del disolvente a 100°C mediante calor seco (DSa), confirma lo observado mediante difracción de rayos X: mediante este procedimiento, se forma una dispersión sólida en la que el KZL sufre una amorfización.

Por otra parte, las partículas sólidas de DSb mostraron como único evento térmico un pico de fusión correspondiente a una temperatura de 145.95°C, el cual no difirió en más de 2.41°C de la temperatura de fusión del KZL de referencia (Figura 10).

El calor de fusión de la muestra DSb (74.69 J/g) difiere solo en alrededor de 20 J/g del valor obtenido para el KZL de referencia (95.90°C) y de los cristales obtenidos en metanol, etanol e isopropanol, por lo que se confirma que la re-cristalización lenta de la mezcla KZL-PVP a baja temperatura permitió que solidificara el KZL en forma cristalina e independiente, dispersándose el fármaco en la matriz de PVP, de la misma manera en que ocurre en una mezcla física.

La mezcla física (MF) también presentó como evento térmico un pico de fusión a 148.36°C, de modo que se puede concluir que no existe interacción entre PVP y KZL en mezclas al estado sólido, situación que sería confirmada así mismo por el análisis en infrarojo. La diferencia en el calor de fusión se atribuyó a la baja proporción de KZL y presencia mayoritaria de PVP en la mezcla.

Estos datos en conjunto con los resultados de difracción de rayos X y los aportados por el análisis de espectroscopía infraroja evidencian que el procedimiento mediante el cual se obtuvo la muestra DSa da lugar a una dispersión sólida en donde el KZL se encuentra disperso en estado amorfo en la matriz de PVP, lo cual según fue notificado por Van den Mooter y col.(2001),

estabiliza la estructura amorfa del KZL o retarda su inter-conversión al estado cristalino.

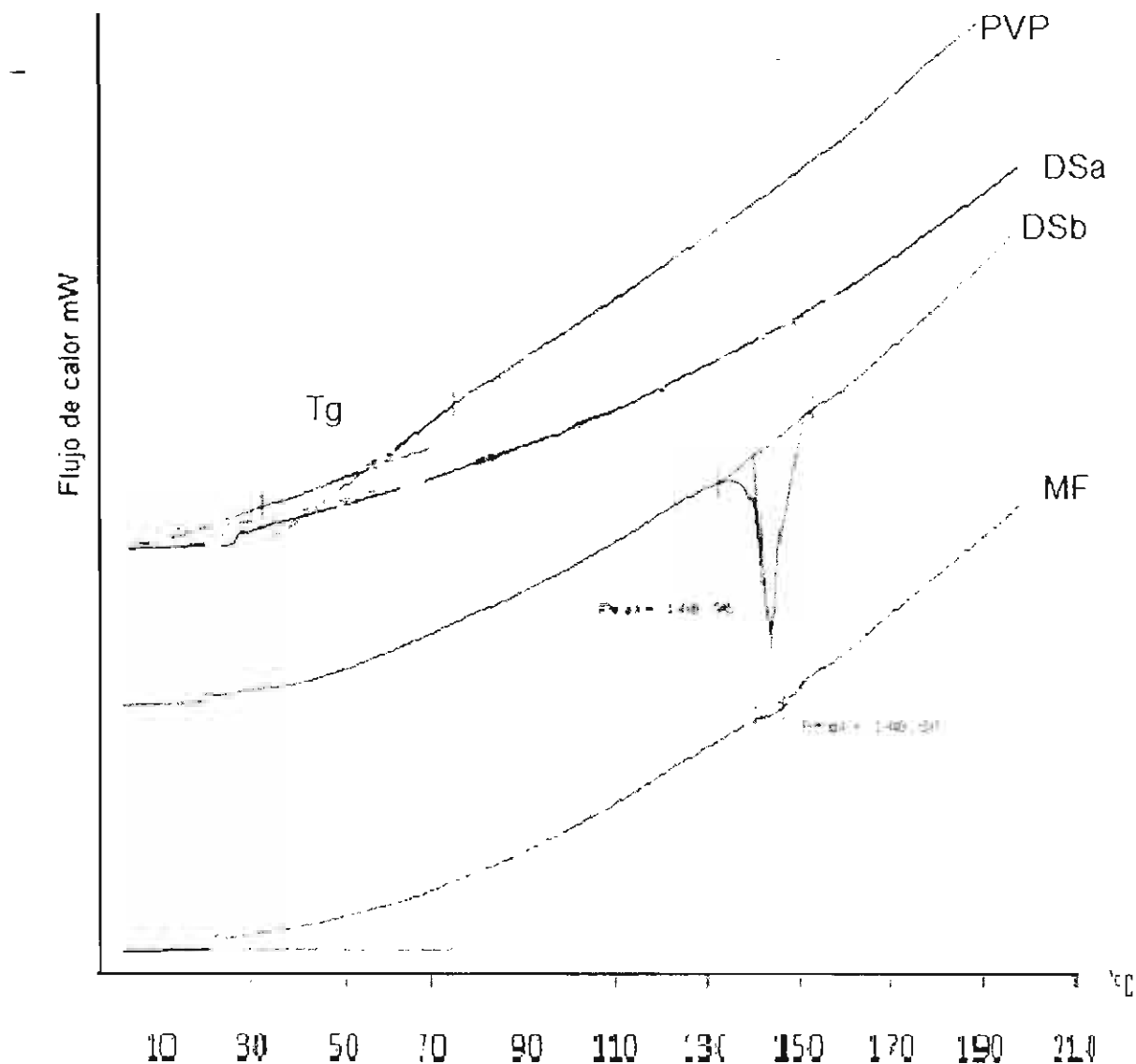


Figura 12. Curvas de comportamiento térmico de: Polivinilpirrolidona (PVP), dispersión sólida KZL-PVP obtenida por evaporación del disolvente a 100°C (DSa), dispersión sólida obtenida por evaporación lenta del disolvente a 2 - 10°C (DSb) y mezcla física KZL-PVP en proporción 3:2 (MF).

Estabilidad de la dispersión sólida formada

La dispersión sólida DSa presentó el problema de bajo rendimiento, debido a que en el sistema utilizado, durante la evaporación del disolvente el sólido remanente se adhirió en su mayoría a las paredes del recipiente de cristal.

No obstante lo anterior, se evaluó la estabilidad de la dispersión sólida (DSa) en las siguientes condiciones:

- Dispersión sólida sometida a fragmentación en mortero (DSc) de porcelana. El análisis por difracción de rayos X de la muestra obtenida mediante este procedimiento, demostró que las partículas sólidas permanecieron como dispersión sólida con el KZL en estado amorfo.
- Para obtener mayor rendimiento de la dispersión sólida una solución metanólica de KZL-PVP se vertió sobre una superficie flexible de aluminio hasta formar una película delgada, dejando que se solidificara por evaporación a temperatura ambiente. Una vez solidificada la muestra, sólo fue necesario deformar el recipiente de aluminio, obteniéndose un sólido en polvo (muestra DSd).
- Una muestra de KZL-PVP disuelta en metanol, fue sometida a un proceso de evaporación hasta solidificación seguido de redisolución hasta en cuatro ocasiones (muestra DSe).

La figura 13 muestra que el análisis por difracción de rayos X de las tres muestras anteriores demostró que la estructura sólida amorfa de la dispersión sólida de KZL-PVP, mantiene un patrón de difracción semejante al de la muestra DSa.

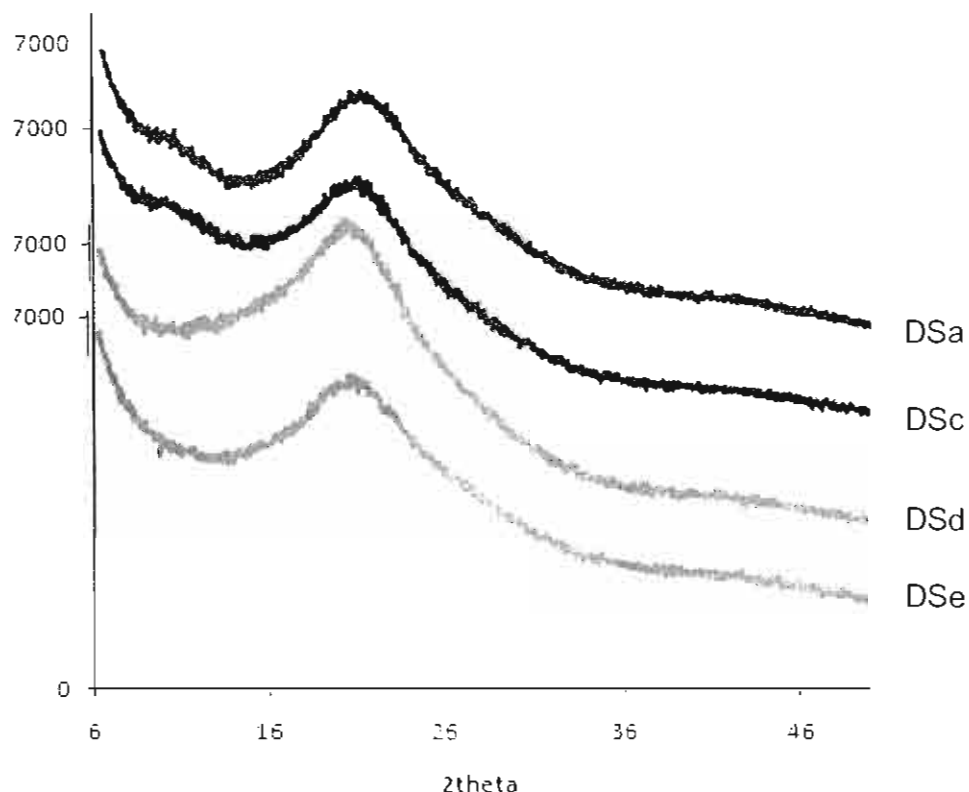


Figura13. Patrones de difracción de rayos X de dispersiones sólidas de KZL-PVP obtenidas bajo distintos procedimientos: (D_{Sa}), muestra obtenida por disolución en metanol y evaporación del disolvente con calor seco a 100°C; (D_{Sc}) muestra obtenida como en D_{Sa}, fragmentada posteriormente en mortero; (D_{Sd}), muestra obtenida por disolución en metanol y formación de película por evaporación del disolvente a 100°C; y (D_{Se}) muestra obtenida mediante disolución y evaporación del disolvente en cuatro ocasiones consecutivas a 100 °C.

Análisis por espectroscopia infrarroja

Para confirmar los resultados obtenidos por difracción de rayos X y calorimetría diferencial de barrido con las muestras de dispersiones sólidas obtenidas, y poder observar si existe algún grado de interacción del KZL con la PVP, se analizaron por espectroscopia infrarroja.

Se comparó el espectro infrarrojo de: KZL materia prima, PVP materia prima, la mezcla física KZL-PVP, así como las dispersiones sólidas de KZL-PVP: DSc, DSd y DSe (Ver figura 14).

En la figura 14 se observó la presencia del pico característico del grupo carbonilo ($C=O$) (Morrison y Boyd, 1998) perteneciente al grupo funcional amida en la muestra de KZL y de la pirrolidona de la PVP, con posiciones en 1644 y 1655 cm^{-1} respectivamente, mostrándose como una banda delgada para el fármaco y una banda ancha en el polímero. Cuando se analiza la mezcla física (MF) se observa la adición de ambas, formando una banda ancha con terminación afilada.

Por otro lado, se observa la señal de grupo aril-éter (enlace $C-O$) (Morrison and Boyd, 1998) con bandas entre 1200 y 1244 cm^{-1} y un éter-alifático con bandas entre 1060 y 1150 cm^{-1} para KZL. En el caso de la PVP ésta mostró un pico ancho entre 3000 y 3700 cm^{-1} debido a una vibración de estiramiento característica del grupo $O-H$ por absorción de agua. (Bhupal y col., 2010).

El espectro infrarrojo de la mezcla física (MF) claramente muestra bandas de absorción de efecto aditivo correspondientes al KZL y la PVP. Sin embargo, en el espectro de las dispersiones sólidas es evidente un ensanchamiento de las bandas correspondientes a los grupos $C=O$ y $C-O$, este último ligado al grupo aromático, lo cual indica la probable formación de puentes de hidrógeno entre el KZL y la PVP, favorecidos por la elevada electronegatividad del oxígeno.

En las figuras 14 y 15, se muestran los espectros infrarrojos correspondientes a: KZL materia prima de referencia, la mezcla física (MF) de KZL-PVP, así como las dispersiones sólidas obtenidas por evaporación lenta y en condiciones sub-ambiente del disolvente (DSb), la dispersión sólida obtenida bajo los tratamientos de molienda en mortero (DSc), la dispersión sólida obtenida por formación de una película de la mezcla KZL-PVP con eliminación del disolvente a temperatura ambiente (DSd) y la dispersión sólida obtenida mediante 4 disoluciones y re-cristalizaciones consecutivas (DSe).

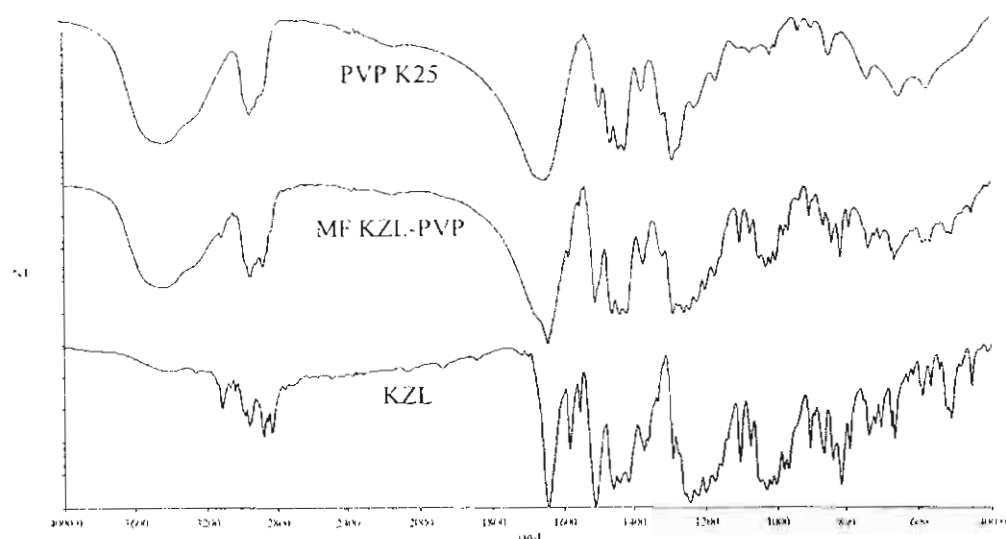


Figura 14. Espectros de infrarrojo de: (KZL), Ketoconazol materia prima de referencia; (MF KZL-PVP) mezcla física de Ketoconazol con Polivinilpirrolidona y (PVP K25) Polivinilpirrolidona K25

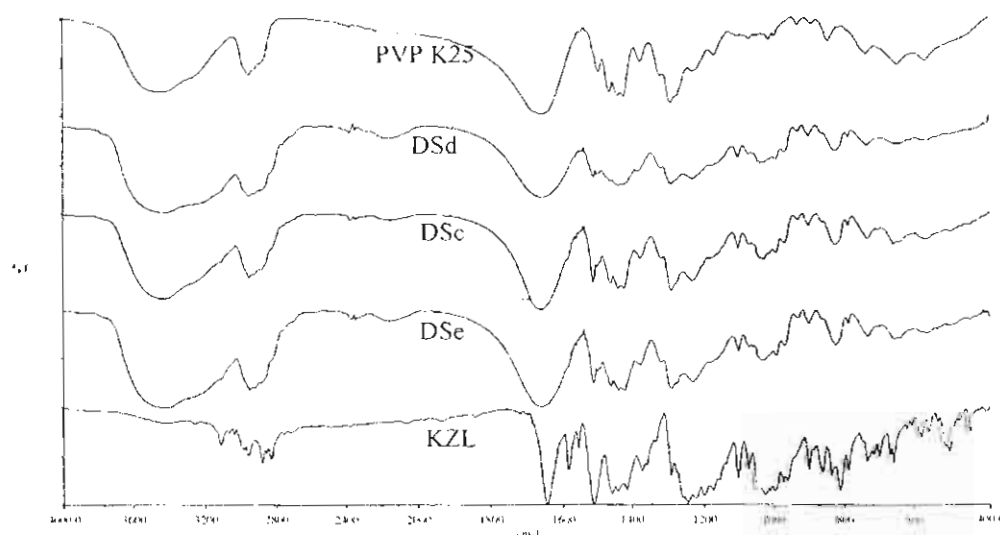


Figura 15. Espectro infrarrojo de: (KZL) ketoconazol materia prima de referencia, (PVP K25) Polivinilpirrolidona K25, (DSc) dispersión sólida KZL-PVP sometida a fragmentación en mortero de porcelana, (DSd) muestra obtenida por disolución en metanol y formación de película por evaporación del disolvente a temperatura ambiente; y (DSe) muestra obtenida mediante disolución y evaporación del disolvente en cuatro ocasiones consecutivas.

Determinación de la disolución intrínseca de las dispersiones sólidas de KZL-PVP

Como fase final de este estudio, se evaluaron las características de la disolución del KZL en el sistema dedispersión sólida amorfa obtenido, contrastando los resultados con los delKZL materia prima de referencia, para ello se utilizó la muestra DSd. El estudio se realizó por duplicado para DSd y solo una vez para KZL, mediante la elaboración de un disco de área superficial controlada utilizando el Aparato de Wood. Los datos experimentales se muestran en la tabla A.31 del Anexo y la figura 16 muestra los perfiles de disolución intrínseca obtenidos para ambas muestras, con los valores de la ecuación correspondiente, una vez aplicado regresión lineal.

Los muestras DSa, DSd y DSe no son tomadas en cuenta en el estudio debido mostraron ser equivalentes en los estudios de difracción de RX e IR.

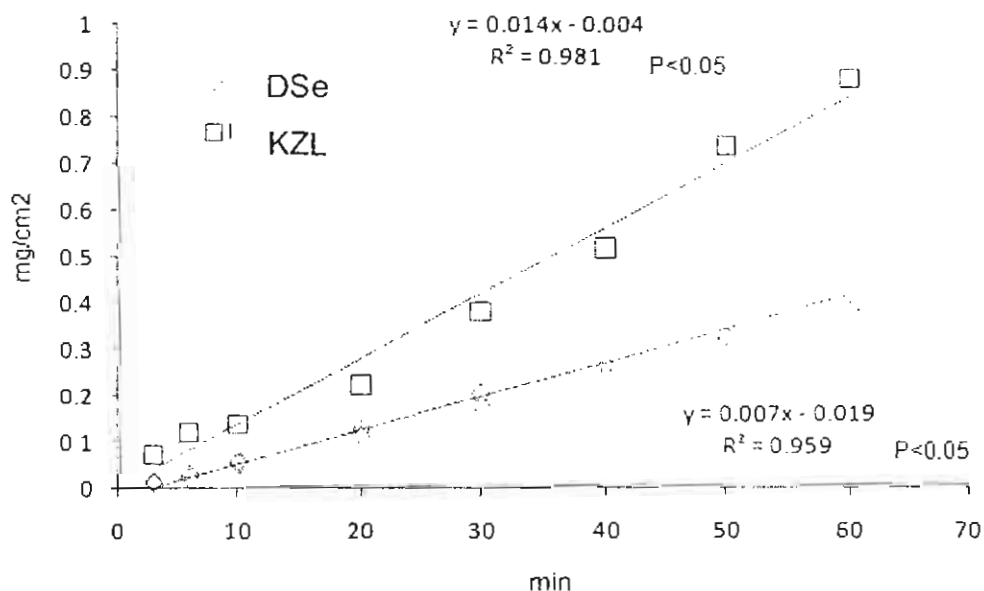


Figura 16. Perfil de disolución intrínseca en HCl 0.1 M, de Ketoconazol materia prima (KZL) y dispersión sólida KZL-PVP, muestra DSd, usando el aparato de Wood.

Para considerar un fármaco en la categoría de baja solubilidad, se ha establecido (Hurtado y col., 2004), un valor para la constante de velocidad de disolución intrínseca $\leq 0.1 \text{ mg/min.cm}^2$. Conforme a los resultados obtenidos en el presente estudio (figura 16), la pendiente de la ecuación de la recta corresponde a la velocidad de disolución intrínseca, observándose que para ambos casos el valor de velocidad de disolución intrínseca es <0.1 , y de manera particular, que en la dispersión sólida el valor de la velocidad de disolución es la mitad del valor encontrado para la materia prima de referencia. Lo anterior, no obstante que la muestra DSd corresponde a una dispersión sólida donde el KZL se encuentra en estado amorfo.

Por otra parte, para descartar el efecto de la presión de compactación sobre la disolución, el cual pudiera haberse presentado al elaborar el disco para la prueba de disolución con el aparato de Wood, se realizó una prueba de disolución aparente utilizando el Aparato 1 (canastillas), de la FEUM (2010). Para esta prueba se encapsuló una muestra de DSd conteniendo el equivalente a 120 mg de KZL y se caracterizó así mismo el perfil de disolución de KZL materia prima y una mezcla física de KZL-PVP de las mismas proporciones que el contenido de la dispersión sólida. Los datos se presentan en la tabla A.32 del Anexo y los perfiles de disolución aparente se pueden observar en la figura 17, así como la velocidad de disolución aparente representada por la pendiente de la regresión lineal de los 5 min hasta el tiempo en el que se alcanza el máximo disuelto.

Durante el proceso de disolución se observó que tanto en la mezcla física (MF) como en la dispersión sólida (DSd), la presencia de polivinilpirrolidona provoca la formación de un aglomerado suave del material sólido, el cual fue difícil de liberar de la canastilla, en cambio, el polvo de Ketoconazol materia prima fue liberado inmediatamente después de la desintegración de la cápsula dentro de la canastilla.

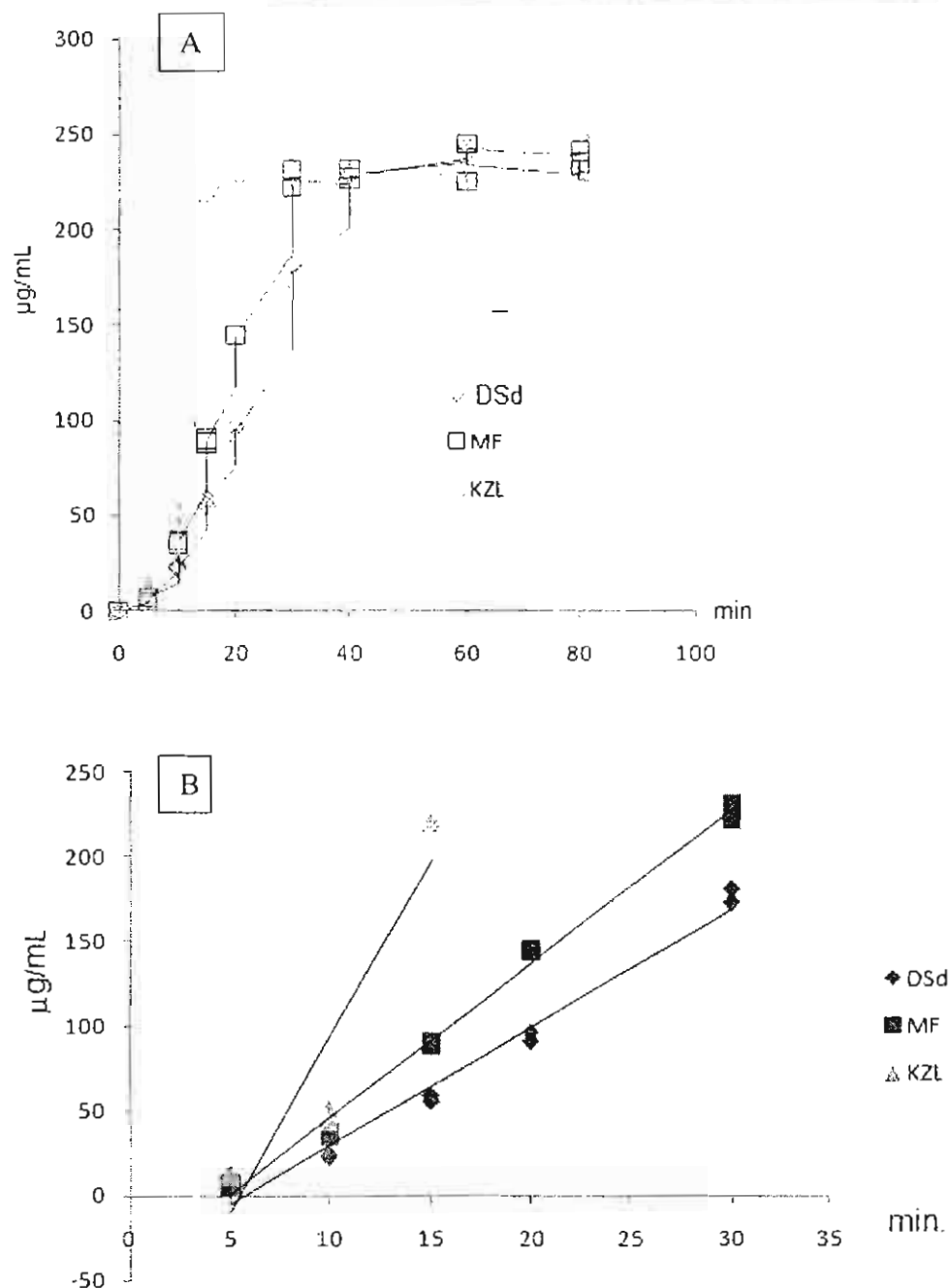


Figura 17. A) Perfil de disolución en HCl 0.1 M y B) velocidad de disolución: de Ketoconazol materia prima (KZL), Ketoconazol en dispersión sólida (DSd) y mezcla física KZL-PVP (MF), usando el aparato 1 (canastillas).

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

En la tabla 6 se resumen los valores de la velocidad de disolución para cada uno de los tratamientos. Se observa que la velocidad de disolución para KZL es superior a MF y DSd ya que alcanza la cantidad máxima disuelta a los 15 min, a diferencia de los dos últimos que alcanzan el máximo disuelto a los 30 min.

Tabla 6. Velocidad de disolución aparente de Ketoconazol para cada tratamiento.

Tratamiento	Pendiente ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{min.}$)	r ²	Intervalo de tiempo
DSd	6.9686	0.9787	5-30 min.
MF	9.1128	0.9931	5-30 min
KZL	20.802	0.8722	5-15 min.

Con los resultados obtenidos en los estudios de disolución se hizo evidente que la presencia de Polivinilpirrolidona K25 retarda la disolución del Ketoconazol, lo cual difiere con lo reportado en la literatura para otros fármacos, en donde la velocidad de disolución del activo aumenta con el incremento de la proporción de Polivinilpirrolidona en la dispersión sólida, siendo la mejor proporción 1:9 (p/p) fármaco:acarreador (Gopal y col., 2010; Ali y col., 2007; Manimaran y col., 2010).

Por otro lado, Gehan y col. (2010) han reportado la influencia del peso molecular de PVP como acarreador en una dispersión sólida, sobre la velocidad de disolución de KZL, encontrando que a medida que aumenta el peso molecular del polímero la velocidad de disolución se ve disminuida.

Con la finalidad de explicar el fenómeno de la disminución de la velocidad de disolución del Ketoconazol por efecto de la presencia de la Polivinilpirrolidona, se evaluó el comportamiento termodinámico del proceso de disolución en el sistema. El gráfico de Van't Hoff obtenido a partir de los resultados experimentales (figura 18), mostró un comportamiento parabólico inverso al observado con los disolventes orgánicos, lo cual sugiere una disminución en la solubilidad del KZL con el aumento de la temperatura al estar en la dispersión sólida.

El ajuste de la regresión se muestra en la tabla A.25 del Anexo, obtenido de los datos de las tablas A.22 y A.23 que proporcionan los datos experimentales del mismo.

Si se deriva la ecuación obtenida en las temperaturas evaluadas y se grafica el calor de disolución en función de la temperatura, se observa que por encima de 295.6°K (22.5 °C) el calor de disolución toma valores negativos (ver figura 19).

El cambio de energía libre estándar para el proceso de disolución se ha calculado por medio de la expresión (Mora y col., 2005):

$$\Delta G_{sol} = -R.T.\ln X_2$$

Por otro lado, para calcular el cambio de entropía estándar aparente de disolución a partir de los valores aparentes de entalpía y energía libre, se ha utilizado la siguiente expresión (Mora y col., 2005):

$$\Delta S_{sol} = (\Delta H_{sol} - \Delta G_{sol})/T$$

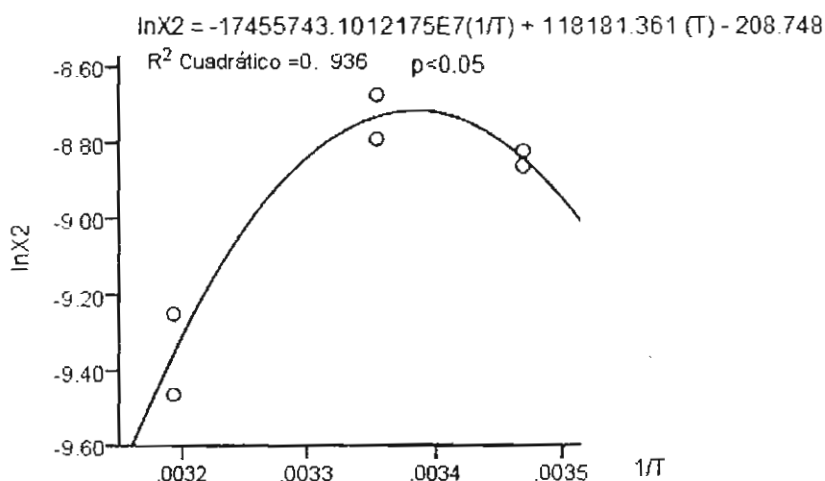


Figura 18. Gráfico de Van't Hoff obtenido de la dispersión sólida KZL-PVP en ácido clorhídrico 0.1M, a 15, 25 y 40 °C.

En la tabla 7 se muestran los valores de entropía, entalpía y energía libre para el proceso de disolución de la dispersión sólida (DSd) en HCl 0.1M y en la tabla A.33 del Anexo se muestran los datos experimentales.

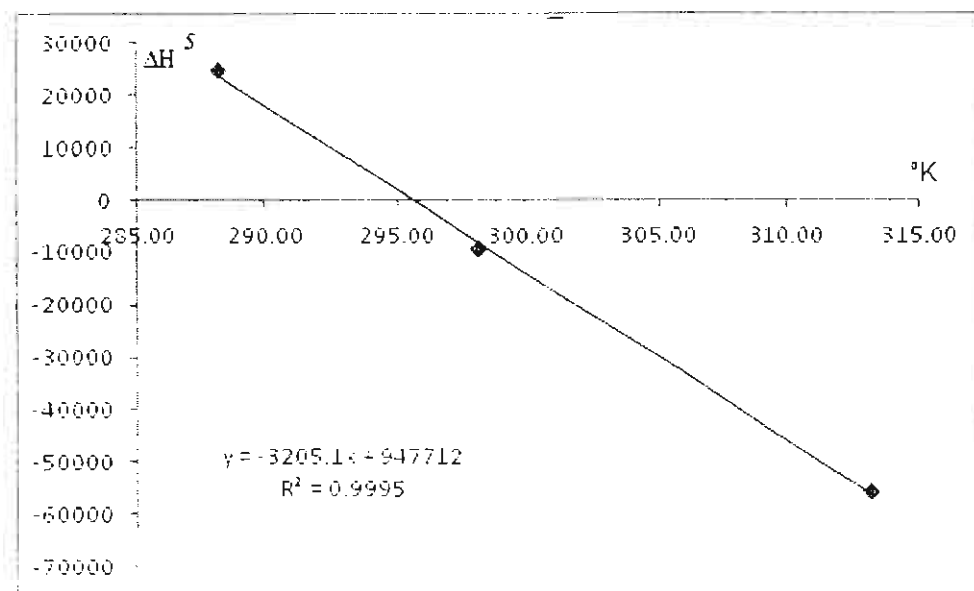


Figura 19. Gráfico que relaciona el calor de disolución en función de la temperatura, en el proceso de disolución de la dispersión sólida KZL-PVP en ácido clorhídrico 0.1M.

Tabla 7. Valores de entalpía, energía libre y entropía de disolución aparente calculados para el sistema de dispersión sólida.

Temperatura $^{\circ}\text{C}$	Entalpía ΔH_{sol}	Energía libre ΔG_{sol}	Entropía ΔS_{sol}
15	24747.8327	21184.2592	12.3662194
25	-9004.50501	21646.953	-102.798598
40	-55591.3962	24364.0191	-255.309944

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

Bajo el mismo procedimiento, se calculó la energía libre de Gibbs y la entropía del sistema de disolución para los cristales de KZL obtenidos por re-cristalización en etanol y metanol. Los datos se presentan en la tabla 8, los cuales son el resultado de los valores experimentales que aparecen en las tablas A.34 y A.35 del Anexo.

Tabla 8 Valores de entalpía, energía libre y entropía de disolución aparente calculados para la disolución de cristales de KZL obtenidos por re-cristalización en metanol y etanol.

KZL	Temperatura °C	ΔH_{sol}	ΔG_{sol}	ΔS_{sol}
Re-cristalizado en metanol	15	25565.7339	13461.3296	42.0043873
	25	50241.1733	12617.5935	126.181641
	40	84299.6147	9860.83998	237.694462
Re-cristalizado en etanol	15	8863.08128	15359.1383	-22.5424474
	25	43511.6781	14986.5441	95.6673507
	40	91335.637	12341.3544	252.2409

Mora y Col. (2005) ha reportado que en el fenómeno de disolución un valor positivo de energía libre indica que energéticamente el soluto preferirá permanecer en su propia fase en lugar de pasar a la solución. Por otro lado, así mismo reporta que el proceso de disolución como mezcla que es, en el caso ideal implica necesariamente un aumento en la entropía, esto es un aumento en el desorden a nivel molecular.

De esta manera, comparando los datos obtenidos de energía libre de Gibbs y de entropía se observa que en el proceso de disolución de la dispersión sólida, en HCl 0.1 M el incremento de la temperatura provoca un aumento en la energía libre y una disminución en la entropía del sistema, lo que explica termodinámicamente la disminución de la solubilidad con el incremento de la temperatura.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

Por otro lado, en los disolventes orgánicos representados por el etanol y el metanol, el aumento de la temperatura muestra un efecto contrario, pues se observó una disminución de la energía libre y un aumento en la entropía, lo cual, favorece termodinámicamente al proceso de disolución, lo cual puede atribuirse a que la PVP es soluble y existe una solvatación de esta que favorece la formación de puentes de hidrogeno KZL-PVP.

Gehan y colaboradores (2010) estudiaron el efecto del peso molecular de polivinilpirrolidona (PVP K17, K25 y K30) en dispersiones sólidas, sobre la solubilidad del Ketoconazol, determinando la relación existente entre el porcentaje de polivinilpirrolidona presente en la dispersión sólida sobre la solubilidad del Ketoconazol. En dicho estudio fue evidente una relación lineal entre las variables: a medida que aumentaron la concentración del polímero (0-20%) se observó un aumento en la solubilidad del Ketoconazol. Por otro lado, dicho antes observaron que el peso molecular del polímero influye sobre la solubilidad del Ketoconazol, de manera tal que K25 y K30 retardaron la liberación del fármaco, mostrando aumento hasta el 20 % disuelto a los 120 minutos (Q120), en cambio la dispersión sólida formulada con PVP K17 mostró un 100% disuelto en el mismo Q..

Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron una disminución en la velocidad de disolución intrínseca de Ketoconazol. Sin embargo, la cantidad de fármaco disuelta a los 40 minutos (Q40 ver tabla A32 en anexo Y FIGURA 17), es equivalente para Ketoconazol materia prima, en la mezcla física y en la dispersión sólida. Lo cual concuerda con los resultados presentados por Gehan y Colaboradores (2010).

La cantidad máxima de fármaco disuelto en el estudio de disolución realizado en el aparato 1 se encontró a los 15, 30 y 40 minutos para KZL materia prima, Ketoconazol en la mezcla física con polivinilpirrolidona y Ketoconazol en la dispersión sólida, respectivamente.

Según los resultados de calorimetría diferencial de barrido se observa que la temperatura de fusión para Ketoconazol materia prima y Ketoconazol en la mezcla física es alrededor de los 148 °C, pero en el caso de la dispersión sólida es evidente que el pico endotérmico desaparece, por otro lado el calor de fusión de KZL y materia prima es mayor en magnitud respecto al calor de fusión encontrado para la mezcla física. Estos resultados junto con los obtenidos en el análisis de rayos x demuestran que la mezcla física no mostró ningún grado de amorfización, pues tanto la temperatura de fusión como el patrón de difracción de RX se mantienen, confirmando la presencia de KZL en estado cristalino.

En la dispersión sólida se observa que el patrón de difracción y el análisis térmico concuerdan con un perfil de la pérdida de la cristalinidad, mostrando la presencia de Ketoconazol en estado amorfo.

Al estabilizar el estado amorfo de Ketoconazol se esperaría que las propiedades de solubilidad en medio acuoso superaran a las de la materia prima, sin embargo, no fue así, ya que lo que en realidad se obtuvo fue un sistema en el cual la liberación de KZL fue retardada, aun cuando el estado amorfo está presente.

La mezcla física de KZL y PVP mostró una velocidad de disolución intermedia entre Ketoconazol materia prima y Ketoconazol en la dispersión sólida. El retardo en la liberación de Ketoconazol de la mezcla física se explica en base al aglomerado que presentó polivinilpirrolidona al humectarse con el medio de disolución, lo cual resultó por un lado en la disminución en la superficie de contacto y por otro la alta viscosidad que presenta polivinilpirrolidona K25 alrededor de la superficie de contacto, lo cual dificulta el proceso de difusión de Ketoconazol hacia el medio de disolución, a diferencia de KZL materia prima que se liberó de la cápsula sin mostrar aglomeración.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

El retardo de la liberación de Ketoconazol en la dispersión sólida respecto a la mezcla física se explica en base a los valores de las constantes de estabilidad aparente reportadas por Gehan y colaboradores para la formación de una dispersión sólida de KZL con PVP: K17 (141 M^{-1}), (K25 179 M^{-1}) y K30 (191 M^{-1}). Un mayor valor representa una mayor interacción entre el fármaco y el acarreador. Por otro lado, según los resultados de espectroscopia infrarroja se refleja la probable formación de puentes de hidrógeno entre los hidrógenos de Polivinilpirrolidona y el oxígeno del grupo carboxilo de la amida el aril-éter, visualizado por el ensanchamiento en las bandas correspondientes a estos grupos funcionales. Según Van den Mooter y colaboradores al encontrarse una mayor interacción entre el fármaco y el acarreador en una dispersión sólida el proceso de liberación podría verse retrasado.

Los valores de entropía y energía libre encontrados para la dispersión sólida a 40°C sustentan los resultados encontrados a 37°C , demostrando que a esta temperatura el proceso de disolución de KZL está impedido energéticamente, debido a que antes de difundir Ketoconazol al medio de disolución este debe vencer la interacción existente con la polivinilpirrolidona, para después atravesar el micro medio de alta viscosidad formado en los alrededores de la dispersión sólida, causado por el polímero acarreador, una vez liberado se debe formar la cavidad en el medio de disolución representado por la entropía del sistema, Lo cual será constante bajo las condiciones controladas establecidas. De aquí que el paso limitante es el proceso de liberación, que depende de las características fisicoquímicas del polímero utilizado para la formación de la dispersión sólida.

El acarreador utilizado en una dispersión sólida debe disminuir la barrera energética durante el proceso de liberación del fármaco al medio de disolución, en el caso particular de este estudio el uso de polivinilpirrolidona con un peso molecular menor disminuiría la interacción fármaco acarreador y la viscosidad alrededor del micro medio formado alrededor de la dispersión sólida.

CONCLUSIONES

1. El Ketoconazol solidifica en una entidad cristalina única – no presenta polimorfismo ni solvatomorfismo -, y con un mismo tamaño promedio de cristal, a partir de su re-cristalización en soluciones de etanol, isopropanol y metanol; no habiéndose observado influencia de otros factores del proceso de re-cristalización como el descenso de la temperatura, el cambio de polaridad del medio con la adición de agua, ni con el uso de ultrasonido.
2. La re-cristalización del Ketoconazol con isopropanol sin aplicación de ultrasonido sólo mostró un tamaño de mono-cristal menor al de los sólidos obtenidos por los otros sistemas, lo cual se atribuye a un efecto del disolvente sobre el crecimiento de las caras del cristal.

Esta observación es semejante a lo notificado por otros autores y cuya causa así como su posible impacto sobre las propiedades farmacotécnicas del activo, como son las reológicas, podría ser motivo de estudios posteriores.

3. Para los fines del presente estudio se logró desarrollar y validar un método analítico de cuantificación de Ketoconazol utilizando cromatografía de líquidos de alta resolución, el cual fue selectivo, lineal y preciso en el intervalo de 0.4 a 16 $\mu\text{g/mL}$.
4. De los medios disolventes estudiados, la solubilidad del Ketoconazol fue mayor en metanol, lo cual se atribuyó a un efecto combinado de este disolvente, tanto por favorecer la formación de una mayor proporción de puentes de hidrogeno, como por su capacidad de presentar ante el Ketoconazol una mayor fuerza de adhesión soluto-disolvente que de cohesión disolvente-disolvente que el etanol, isopropanol, agua y ácido fórmico, lo cual fue comprobado mediante estimaciones termodinámicas.
5. Se demostró que la incorporación de Polivinilpirrolidona durante la re-cristalización del Ketoconazol en metanol, produce una dispersión sólida en

la que los componentes forman una matriz sólida amorfa que fue estable ante condiciones de estrés mecánico (molienda) y re-cristalizaciones sucesivas en metanol mediante evaporación del disolvente.

6. El estudio de disolución comparativo entre el Ketoconazol materia prima de referencia, así como de la mezcla física y de la dispersión sólida Ketoconazol-Polivinilpirrolidona, mostró que la posible ventaja que sobre la velocidad de disolución del Ketoconazol pudiera aportar su reducción de tamaño de partícula, así como su amorfización y la hidrofiliidad de la Polivinilpirrolidona al formar una dispersión sólida, se ve afectada por un efecto de interacción entre ambas moléculas del tipo puente de hidrógeno, así como por un incremento en la viscosidad del microambiente de la matriz al entrar en contacto con el medio de disolución, lo que disminuye la difusión del activo.

PERSPECTIVAS SOBRE ESTE ESTUDIO

1. Obtener mayor número de datos experimentales sobre la solubilidad del Ketoconazol en los sistemas disolventes utilizados, dentro y fuera de la escala de temperaturas empleadas en este estudio, con el fin de corroborar las estimaciones termodinámicas y se pueda explicar con mayor certidumbre los fenómenos observados.
2. Realizar otros estudios de formación de dispersiones sólidas del Ketoconazol en las mismas condiciones de este trabajo con Polivinilpirrolidona de distinto peso molecular, así como con otros polímeros que pudieran favorecer tanto la amorfización como la hidrosolubilidad de este fármaco, pero que también pueden interactuar con él mediante puentes de hidrógeno, como puede ser el quitosán.
3. Ampliar los experimentos de solubilidad y de formación de dispersiones sólidas a otros imidazoles y triazoles para identificar si existe un

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

comportamiento semejante al del Ketoconazol como una función de su estructura.

BIBLIOGRAFÍA.

Aguilar A. J., Kroc J., Kinkel A. W., Samyn J. C. (1976). Effect of polymorphism on the absorption of Chloramphenicol from Chloramphenicol palmitate. J. Pharm. Sci., 86:352-358.

Aguilar Claudio. (2009). Análisis del tamaño de cristalita en aleaciones CuMo procesadas por aleado mecánico. Revista de la Facultad de ingeniería. 23:1-8. Disponible en la web: <http://www.revistaingenieria.uda.cl/Publicaciones/230001.pdf> Fecha de consulta: mayo 19, 2011.

Akkar A., Namsolleck P., Blaut M. and Müller R. H. (2004). Solubilizing poorly soluble antimycotic agents by emulsification via a solvent-free process. AAPS Pharm Sci. Tech., 5(1) 24:1-6 Article Disponible en la web: <http://www.aapspharmstech.org>. Fecha de consulta: marzo 5, 2012.

Amidon G. L., Lennernas H., Shah V. P. y Crison J. R. (1995). A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability, *Pharm. Res.*, 12 (3):413-420.

Atkins, P. and Paula J. (2009). Physical Chemistry. 9th ed. Oxford University Press, London, 1008 p.

Baena y Ponce D'León L.F. (2008). Importancia y fundamentación del sistema de clasificación biofarmacéutico, como base de la exención de estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia in vivo. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, 37 (1):18-32.

Balata G., Mahdi, M., Bakera. R. A. (2010). Improvement of solubility and dissolution properties of ketoconazole by solid dispersions and inclusion complexes. *Asian J. Pharm. Sci.* 5(1):1-12

Bauer J., Spanton S., Henry R., Quick J., Dziki W., Porter W. and Morris J. (2001). Ritonavir: An extraordinary example of conformational polymorphism., *Pharm. Res.*, 18 (6):859-866.

Bertram G. Katzung.(2005). *Farmacología Básica y Clínica*. 9th ed. El Manual Moderno, México, 788-790 p.

Burke, J. *Solubility Parameters: Theory and Application*. (1984). AIC Book and Paper Group Annual, Volume 3, Craig Jensen, Editor, USA, 13-58 p.

Bustamante-Martínez, P. y Guzmán-Navarro, M.(2001). Vila-Jato (editor) *Tecnología Farmacéutica Vol I. Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas*. ed. Síntesis, España pp 143-205

Charles W. Keenan, Donald C. Kleinfelter, Jesse H. Wood. (1985) *Química General Universitaria*, 3th ed. Compañía editorial continental, S.A. de C.V., México, 324-328 p.

Castro S., Allemandi D. y Palma S. (2008), Utilización de dispersiones sólidas como estrategia para aumentar la velocidad de disolución de fármacos. *Farmacotecnia* 54:24-29. Disponible en la web: www.facaf.org.ar/main/números/n54/farmacotecnia.pdf. Fecha de consulta 26-mar-12.

Conflant, P. y Guyot-Hermann, A.M. (1994). Contribution of X-ray powder diffraction versus temperature to the solid state study of pharmaceutical raw materials. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 40 (6):388-392.

Daniel R. Torres, Alejandro Sosnik, Diego Chiappetta, Edgar F. Vargas y Fleming Martínez. (2008). Entalpía de disolución de sulfacetamida sódica en agua: comparación entre la calorimetría isoperibólica de solución y el método de Van't Hoff, *Quim. Nova*, 31(6):1455-1459.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

Dyer, J.R. (1973). Aplicaciones de Espectroscopía de Absorción de Compuestos Orgánicos. Editorial Prentice-Hall International, Madrid, 1-56 p.

Dotro p., Nardi M., Rodríguez D.y Rodríguez V. (1994) Estudio de la evolución del pH en función de la temperatura. Club de ciencias Leonardo Da Vinci, departamento de investigación y desarrollo E.M.E.T. 4:1-65 Disponible en la web: www.elysium.com.ar/science/phys/files/ph.pdf. Fecha de consulta marzo 27 del 2012.

Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). 2008. 10ª ed. Comisión Permanente de la FEUM. Secretaría de Salud, México, pp. 246, 248, 271-279, 303-310, 340-345

Firousz D. and Crawford E. D. (1993). Endocrine therapy of advances carcinoma of the prostate. Cancer Suppl.,71(3):1089-1097.

Gibbs, I., Heald, A., Jacobson, H., Wadke, D., Weliky, I. (1976). Physical characterization and activity *in vivo* of polymorphic forms of 7-cloro-5,11-dihidrodi-benz[bn,e][1,4]oxazepin-5-carboxamida. A potencial tricyclic antidepressant. J. Pharm. Sci., 65 (9): 1380-1385.

Gopal Venkatesh Shavi, Averineni Ranjith Kumar, Yogendra Nayak Usha, Karthik Armugam, Om Prakash Ranjan, Kishore Ginjupalli, Sureshwar Pandey, Nayababhirama Udupa.(2010). Enhance dissolution an bioavailability of glicazide usin solid dispersión techniques. Int. J. Drug Delivery, 2:49-57.

Guidance for Industry ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism Chemistry, Manufacturing, and Controls Information. U.S. Department of Health and Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). USA, July 2007.

Hernández-Hernández F., Córdova-Martínez E., Manzano-Gayosso P., López-Alvarez R., Bazán-Mora E., López-Martínez R. (2003). Frecuencia de micosis

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

en pacientes inmunosuprimidos de un hospital regional de la Ciudad de México. *Salud Pública de México*, 45 (6): 455-460

Hoeschele J. D., Roy A. K., Pecoraro V. L. and Carver P. L. (1994). In vitro Analysis of the interaction between sucralfatén and ketoconazole. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 38(2): 319-325.

Hurtado y de la P Marcela, Vargas A. Yolanda, Cortés A. Alma Rosa, Aoki M. Kazuko, Domínguez-Ramírez Adriana Miriam (2004). Velocidad de disolución intrínseca de albendazol. *Rev. Mex. Cien. Farm.*, 35(4):21-27.

Irany Labastidas y Fleming Martínez.(2006). Aspectos termodinámicos de la solubilidad acuosa de algunas sales orgánicas de interés farmacéutico, *Acta Farm. Bonaerense* 25 (1):55-63.

Kumaresan C. (2008). In-vitro in-vivo studies in pharmaceutical development. *Pharmainfo.net.*, 6 (2):28. Disponible en línea en: <http://www.pharmainfo.net/volumes-and-issues/2008/vol-6-issue-2>; fecha de consulta: abril 3, 2009.

Lobenbergh R. y Amidon G. L. (2000). Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 50:3-12.

Longxiao Liu and Xiaocui Wang.(2007). Improved Dissolution of Oleanolic Acid with Ternary Solid Dispersions. *AAPS PharmSciTech.*, 8(4) Article 113:E1-E5. Disponible en la web: (<http://www.aapspharmscitech.org>). Fecha de consulta: mayo 22, 2009.

Manimaran, V., Damodharan, N., Mothilal, M., Rajkumar, K., Ruby Mamachan Chalackal. (2010). Enhancement of dissolution rate of glibenclamide by solid dispersion technology. *Int. J. Curr. Pharm. Res.*, 2(3):14-17.

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

Männistö, P.T., Mäntylä, R., Nykenen, S., Lamminsivu U. and Ottoila, P. (1982). Impairing Effect of food on ketoconazole absorption. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 21(5):730-733.

Marcelín-Jiménez G., Hernández J., Ángeles A. P., Contreras L., Hinojosa M., Rivera L., Martínez-Rossier L., Amancio O. and Fernández A. (2004). Bioequivalence evaluation of two brands of Ketoconazole tablets (Onofin-K® and Nizoral®) in a healthy female Mexican population. *Biopharm. Drug Dispos.* 25:203-209.

Marín M. T., Margarit M.V., Rosasco M.A. (2007). Características físicas y propiedades de disolución de dispersiones sólidas de Oxazepam con Carbómero 934P. *Ars Pharm.*, 48 (3):311-322.

Martín Islan A. y Molina Montes E. (2006). Polimorfismo Farmacéutico. Repercusiones industriales y farmacocinéticas. *OFFARM*, 25 (8): 94-100.

Mohammad Barzegar-Jalali, Hadi Valizadeh, Siavoush Dastmalchi, Mohammad Reza Siahi Shadbad, Azim Barzegar-Jalali, Khosro Adibkia and Ghobad Mohammadi.(2007). "Enhancing Dissolution Rate of Carbamazepine via Cogrounding with Crospovidone and Hydroxypropylmethylcellulose", *Int. J. Pharm. Res.*, 6(3): 159-165

Mora Carolina P., Hernan R. Lozano, Fleming Martínez. (2005). Aspectos termodinámicos de la miscibilidad parcial entre n-octanol y el agua, *Braz. J. Pharm.Sci.*, 41(1):13-26

Morrison y Boyd. (1998). Química Orgánica. 5th. ed. Pearson Educación, Mexico, pp. 27-33, 672- 673, 709, 763, 834, 968.

Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen

pruebas. Disponible en la web: www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/177ssa18.html. Fecha de consulta marzo 21 del 2012.

Nokhodchi Ali, Roya Talari, Hadi Valizadeh, Mohammad Barzegar Jalali (2007). An investigation on the solid dispersions of chlordiazepoxide. *Int. J. Biomed. Sci.*, 3(3):211-217.

Prabagar B., Yoo B., Woo J., Kim J., Rhee J., Piao M.G., Choi H., and Yong C. S. (2007). Enhanced Bioavailability of Poorly Water-Soluble Clotrimazole by Inclusion with β -Cyclodextrin. *Arch Pharm. Res.*, 30 (2): 249-254,.

Prohens R. y Puigjaner C. (2007). Polimorfismo en la industria farmacéutica. *El Farmacéutico*. 373: 58-68.

Quirino-Barreda C.T. (2001). Estudios de preformulación sobre los efectos del ión Ca^{+2} en la cristalización de la Tolbutamida. Tesis doctoral. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, 285 p.

Quirino-Barreda, C. T.; del Castillo-García, B. y Lastres-García, J. L. (2004). El estado de agregación molecular de los sólidos. Repercusiones en el diseño de medicamentos y en las Farmacopeas. *Rev. Mex. Cien. Farm.*, 35 (3): 27-33.

Renu Chadha, Kapoor, V. K., Amit Kumar. (2006) "Analytical techniques used to characterize drug-polyvinylpyrrolidone systems in solid and liquid states- An overview", *J. Sci. Ind. Res.*, 65:459-469

Reyes-Gasga J., García-García R., Arellano-Jiménez M. J., Sanchez-Pastenes E., Tiznado-Orozco G. E., Gil-Chavarria I. M. and Gómez-Gasga G. (2008) Structural and thermal behaviour of human tooth and three synthetic hydroxyapatites from 20 to 600 °C. *J. Phys. D: Appl.*, 41 (225407): 1-11

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

Rishabha Malviya, Pranati Srivastava, Mayank Bansal and Pramod Kumar Sharma. (2010). "improvement of dissolution behavior of paracetamol using solid dispersion technique", Int. J. Pharm. Sci. Res., 1(7):95-99.

Sánchez E., Jung-Cook H., Yépez L., Hernández-Abad V. (2007). Relevancia del polimorfismo en el área farmacéutica. Rev. Mex. Cien. Farm., 38(2):57-76.

Sharma and C. P. Jain. (2010). Preparation and characterization of solid dispersions of carvedilol with PVP K30. Res. Pharm. Sci., 5(1): 49-56

Skiba, M., Skiba-Lahiani, M., Marchais, H., Duclos, R. Arnaud, P. (2000). Stability assessment of ketoconazole in aqueous formulations. Int. J. Pharm. 198: 1-6

Valls, O. y del Castillo, B. (2002). Técnicas Instrumentales en Farmacia y Ciencias de la Salud. Edición mexicana. UAM-Xochimilco, México, pp. 107-126, 139-153.

Van den Mooter G., Wuyts M., Blaton N., Busson R., Grobet P., Augustijns P., Kinget R. (2001). Physical stabilisation of amorphous Ketoconazole in solid dispersions with Polyvinylpyrrolidone K25. Eur. J. Pharm. Sci. 12:261-269.

Viceras, C., Ismail Salem, I., Rodriguez Galan, I.C., Cerezo Galan, A., López Galindo, A. (1995). The effect of recrystallization on the cristal growth, melting point and solubility of ketoconazole, Thermochim.Acta, 268:143-151

Woo J. S Lee C. H., Smi C. K., Hwany S. J. (2003). Enhanced oral bioavailability of paclitaxel by the co-administration of the P-glycoprotein inhibitor KR30031. Pharm. Res; 20:24-30.

Yuen-Hay K. and Phe-Khiang K. (1998). Sample high liquid chromatography method for determination of ketoconazole in human plasma. JChromatogr. B., 715:436-440

ANEXO 1

Obtención y caracterización de polimorfos o agregados sólidos de Ketoconazol

Datos de la validación del método analítico para cuantificar ketoconazol en solución.

Tabla A 1 Respuesta en área obtenida a cada nivel de concentración, durante la validación del método analítico para cuantificar ketoconazol en solución.

CONC (µg/mL)	AREA	peso	ponderación
0.4	189552	2322499297	4.30571E-10
0.4	252660	2322499297	4.30571E-10
0.4	307298	2322499297	4.30571E-10
0.4	255432	2322499297	4.30571E-10
1	453568	1281716140	7.80204E-10
1	501480	1281716140	7.80204E-10
1	536528	1281716140	7.80204E-10
1	474790	1281716140	7.80204E-10
4	1645404	2106415308	4.7474E-10
4	1686986	2106415308	4.7474E-10
4	1754396	2106415308	4.7474E-10
4	1714514	2106415308	4.7474E-10
8	3442688	15151105259	6.60018E-11
8	3710464	15151105259	6.60018E-11
8	3537904	15151105259	6.60018E-11
8	3456576	15151105259	6.60018E-11
12	4894772	35546184449	2.81324E-11
12	5257360	35546184449	2.81324E-11
12	4928236	35546184449	2.81324E-11
12	4839406	35546184449	2.81324E-11
16	6749550	1.04313E+11	9.58651E-12
16	7400120	1.04313E+11	9.58651E-12
16	6726276	1.04313E+11	9.58651E-12
16	6794034	1.04313E+11	9.58651E-12

Análisis de la regresión de los datos ponderados.

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación	Durbin-Watson
1	.998	.996	.996	1.1245	1.611

ANOVA

Modelo		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	7512.447	1	7512.447	5940.732	.000
	Residual	27.820	22	1.265		
	Total	7540.267	23			

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.	Intervalo de confianza de 95.0% para B	
	B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	69829.613	17709.770		3.943	.001	33101.798	106557.428
Conc	416972.447	5409.877	.998	77.076	.000	405753.050	428191.845

Reproducibilidad del método analítico.

Tabla A 2 Punto control de calidad bajo de 2 µg/mL.

(µg/mL)	NOMINAL	ENCONTRADA	%RECUPERADO
	2	2.191	109.55
	2	2.189	109.45
	2	2.048	102.4
	2	2.238	111.9
	2	2.014	100.7
	2	2.036	101.8
	2	2.183	109.15
	2	2.253	112.65
		$\bar{X}$	107.2
		S	4.7903
		%CV	4.5

Tabla A 3 Punto control de calidad medio de 6 µg/mL.

(µg/mL)	NOMINAL	ENCONTRADA	%RECUPERADO
	6	6.344	105.73
	6	6.595	109.92
	6	6.006	100.10
	6	7.03	117.17
	6	6.431	107.18
	6	6.21	103.50
	6	6.393	106.55
	6	6.928	115.47
		$\bar{X}$	108.2
		S	5.7780
		%CV	5.3

Tabla A 4 Punto control de calidad alto de 10 µg/mL.

(µg/mL)	NOMINAL	ENCONTRADA	%RECUPERADO
	10	10.601	106.01
	10	10.6113	106.11
	10	10.471	104.71
	10	10.785	107.85
	10	10.663	106.63
	10	10.331	103.31
	10	10.812	108.12
	10	11.329	113.29
		I	107.00
		s	2.98
		%CV	2.8

Repetibilidad del método analítico.

Tabla A 5 Punto control de calidad bajo de 2 µg/mL.

(µg/mL)	NOMINAL	ENCONTRADA	%RECUPERADO
	2	1.974	98.7
	2	2.075	103.75
	2	2.1	105
	2	2.063	103.15
	2	2.159	107.95
		$\bar{x}$	103.7
		s	3.3562
		%CV	3.2

Tabla A 6 Punto control de calidad medio de 6 µg/mL.

(µg/mL)	NOMINAL	ENCONTRADA	%RECUPERADO
	6	5.876	97.93
	6	5.977	99.62
	6	6.059	100.98
	6	6.009	100.15
	6	6.032	100.53
		$\bar{x}$	99.8
		S	1.1800
		%CV	1.2

Tabla A 7 Punto control de calidad alto de 10 µg/mL.

(µg/mL)	NOMINAL	ENCONTRADA	%RECUPERADO
	10	9.97	99.70
	10	10.005	100.05
	10	10.129	101.29
	10	10.039	100.39
	10	10.132	101.32
		$\bar{x}$	100.6
		s	0.73
		%CV	0.7

Tolerancia al Filtrado de la muestra.

Tabla A 8 Punto control de calidad bajo de 2 µg/mL.

(µg/mL)	NOMINAL	ENCONTRADA	%RECUPERADO
	2	2.417	120.85
	2	2.455	122.75
	2	2.434	121.7
	2	2.368	118.4
	2	2.251	112.55
			119.3
		s	4.0751
		%CV	3.4

Tabla A 9 Punto control de calidad medio de 6 µg/mL.

(µg/mL)	NOMINAL	ENCONTRADA	%RECUPERADO
	10	10.422	104.22
	10	10.359	103.59
	10	10.624	106.24
	10	10.632	106.32
	10	11.942	119.42
			107.96
		s	6.52
		%CV	6.0

Tabla A 10 Punto control de calidad alto de 10 µg/mL.

(µg/mL)	NOMINAL	ENCONTRADA	%RECUPERADO
	6	6.257	104.28
	6	7.035	117.25
	6	6.97	116.17
	6	6.506	108.43
	6	6.18	103.00
			109.8267
		s	6.6063
		%CV	6.0

Límite de cuantificación

Tabla A 11 Límite de cuantificación.

(µg/mL)	NOMINAL	ENCONTRADA	%RECUPERADO
	0.4	0.452	113
	0.4	0.459	114.75
	0.4	0.452	113
	0.4	0.457	114.25
	0.4	0.427	106.75
	0.4	0.475	118.75
		$\bar{x}$	113.4
		s	3.8912
		%CV	3.4

Cálculo de la fracción molar en el medio de disolución evaluado.

La solubilidad en µg/mL fue obtenida del análisis cromatográfico de las muestras a cada temperatura evaluada, y el factor de dilución se refiere a la dilución realizada antes de análisis de la muestra, para evitar la saturación del sistema.

$$\text{Solubilidad Real} = (\mu\text{g/mL} \times \text{Factor de dilución}) / 1,000,000 \mu\text{g/g} = \text{g/mL}$$

$$\text{g de solvente} = \text{solubilidad} - \text{densidad} = \text{g de Ketoconazol/mL solución} - \text{g de solución/mL solución}$$

$$\text{mol de soluto} = \text{Solubilidad real} / \text{peso molecular de ketoconazol} = (\text{g/mL}) / (\text{g/mol}) = \text{mol/mL}$$

$$\text{Mol de solvente} = (\text{g de solvente} / \text{mL}) / \text{peso molecular del solvente}$$

$$\text{Fracción molar } X_2 = \text{mol de soluto} / (\text{mol de soluto} + \text{mol de solvente})$$

Tabla A 12SOLUBILIDAD EN METANOL

SOLUBILIDAD EN METANOL			
TEMP°C	15	25	40
Concentracion µg/mL	4.371835	7.504527	2.46549
	4.385568	7.747492	2.480808
	5.111917	7.656472	2.445664
FACTOR DE DILUCION	10000	10000	100000
SOLUBILIDAD REAL g/mL	0.04371835	0.07504527	0.246549
	0.04385568	0.07747492	0.2480808
	0.05111917	0.07656472	0.2445664
g/mL de solvente	0.77	0.74	0.64
g/mL de solvente	0.77	0.74	0.64
g/mL de solvente	0.76	0.74	0.64
mol soluto	8.22639E-05	0.000141211	0.000463926
mol soluto	8.25224E-05	0.000145783	0.000466809
mol soluto	9.61899E-05	0.00014407	0.000460196
mol solvente	0.023893766	0.023224738	0.019994164
mol solvente	0.02388948	0.023148911	0.019946358
mol solvente	0.023662792	0.023177317	0.020056039
X2	0.003431091	0.00604346	0.022676912
X2	0.003442447	0.006258207	0.022868019
X2	0.004048571	0.006177604	0.022430807
MEDIA	0.003640703	0.006159757	0.022658579
DEVEST	0.000353269	0.00010848	0.000219182
%CV	9.703327061	1.761107923	0.96732388

Tabla A 13Cálculo de la densidad de la disolución en metanol

Temperatura	Matraz lleno	Matraz vacío	g/mL solución
METANOL 15°C	20.7313	16.6745	0.811
	20.7205	16.6841	0.807
			0.809
METANOL 25°C	20.8649	16.7633	0.82
	18.778	14.6875	0.82
			0.82
METANOL 40°C	21.097	16.6522	0.89
	20.8859	16.4587	0.89
			0.89

Tabla A 14SOLUBILIDAD EN ETANOL

SOLUBILIDAD EN ETANOL			
TEMP°C	15	25	40
Concentración µg/mL	1.430083	2.051897	8.1032
	1.462132	2.116132	7.46283
	1.530908	2.164556	7.04594
FACTOR DE DILUCION	10000	10000	10000
SOLUBILIDAD REAL g/mL	0.01430083	0.02051897	0.081032
	0.01462132	0.02116132	0.0746283
	0.01530908	0.02164556	0.0704594
g/mL de solvente	0.77635917	0.77109103	0.734228
	0.77603868	0.77044868	0.7406317
	0.77535092	0.76996444	0.7448006
mol soluto	2.69096E-05	3.86101E-05	0.000152476
	2.75126E-05	3.98188E-05	0.000140427
	2.88068E-05	4.073E-05	0.000132582
mol solvente	0.016852315	0.01673796	0.015937779
	0.016845358	0.016724016	0.016076784
	0.016830429	0.016713505	0.016167277
X2	0.001594243	0.002301432	0.009476312
	0.001630585	0.002375282	0.008659108
	0.001708665	0.002431028	0.008133938
I S %CV	0.001644498	0.002369247	0.008756453
	5.84661E-05	6.50085E-05	0.000676461
	3.555256859	2.743844482	7.72528549

Tabla A 15Cálculo de la densidad de la disolución en etanol.

Temperatura	Matraz lleno	Matraz vacio	g/mL solución
ETANOL 15°C	18.5643	14.6043	0.79
	18.6195	14.6729	0.79
		I	0.79
ETANOL 25°C	19.2853	15.3225	0.79
	20.0808	16.1275	0.79
		I	0.79
ETANOL 40°C	18.6099	14.5491	0.81
	20.5628	16.471	0.82
		I	0.82

Tabla A 16 SOLUBILIDAD EN ISOPROPANOL.

SOLUBILIDAD EN ISOPROPANOL			
TEMP°C	15	25	40
Concentración µg/mL	0.665038	0.952126	1.631746
	0.736201	0.992563	1.726541
	0.935455	1.025136	1.629436
FACTOR DE DILUCION	10000	10000	10000
solubilidad real g/mL	0.00665038	0.00952126	0.01631746
	0.00736201	0.00992563	0.01726541
	0.00935455	0.01025136	0.01629436
g/mL de solvente	0.77904962	0.76951874	0.75978254
	0.77833799	0.76911437	0.75883459
	0.77634545	0.76878864	0.75980564
mol soluto	1.25139E-05	1.7916E-05	3.07042E-05
	1.38529E-05	1.86769E-05	3.2488E-05
	1.76023E-05	1.92898E-05	3.06608E-05
	0.012917562	0.012791824	0.012642357
X2	0.000964456	0.001397295	0.002422869
	0.001068524	0.001457317	0.002566457
	0.001360808	0.001505707	0.002419374
s %CV	0.001131262	0.00145344	0.002469567
	0.000205489	5.43096E-05	8.39276E-05
	18.16457435	3.736622436	3.398472639

Tabla A 17 Cálculo de la densidad de la disolución en isopropanol.

Temperatura	Matraz lleno	Matraz vacío	g/mL solución
ISOPROPANOL 15°C	19.2715	15.3537	0.78
	20.5685	16.6293	0.79
			0.79
ISOPROPANOL 25°C	19.688	15.7941	0.78
	20.4196	16.5231	0.78
			0.78
ISOPROPANOL 40°C	18.796	14.9217	0.77
	19.2407	15.354	0.78
			0.78

Tabla A 18 SOLUBILIDAD EN ACIDO FÓRMICO 10mM pH 2.7

SOLUBILIDAD EN ACIDO FÓRMICO 10mM pH 2.7			
TEMP°C	15	25	40
Concentración µg/mL	2.263029	3.023022	2.059042
	2.561917	2.406357	2.030417
	2.378945	2.227187	2.074436
FACTOR DE DILUCION	1000	1000	1000
SOLUBILIDAD REAL g/mL	0.002263029	0.003023022	0.002059042
	0.002561917	0.002406357	0.002030417
	0.002378945	0.002227187	0.002074436
g/mL de solvente	0.990266971	0.998996978	0.989390958
	0.989968083	0.999613643	0.989419583
	0.990151055	0.999792813	0.989375564
mol soluto	4.2583E-06	5.68836E-06	3.87446E-06
	4.82071E-06	4.52799E-06	3.82059E-06
	4.47641E-06	4.19085E-06	3.90342E-06
mol solvente	0.055014832	0.055499832	0.054966164
	0.054998227	0.055534091	0.054967755
	0.055008392	0.055544045	0.054965309
X2	7.73826E-05	0.000102464	7.04703E-05
	8.76284E-05	8.15141E-05	6.94886E-05
	8.13555E-05	7.54317E-05	7.09982E-05
C S %CV	8.21222E-05	8.647E-05	7.0319E-05
	5.16575E-06	1.41814E-05	7.66054E-07
	6.290323911	16.40034266	1.089397925

Tabla A 19 Cálculo de la densidad de la disolución en ácido fórmico.

Temperatura	Matraz lleno	Matraz vacío	g/mL solución
FORMICO 15°C	21.4096	16.4585	0.99
	21.5045	16.5303	0.99
			0.99
FORMICO 25°C	21.7837	16.8471	0.99
	21.2035	16.1934	1.00
			0.99
FORMICO 40°C	20.4845	15.5057	1.00
	21.4067	16.471	0.99
			0.99

Tabla A 20 SOLUBILIDAD EN AGUA

SOLUBILIDAD EN AGUA			
	15 °C	25°C	40°C
Concentración µg/mL	9.07381	7.144129	7.25684
	8.601844	7.950336	6.256984
	7.152407	10.703136	7.956893
FACTOR DE DILUCION	1	1	1
SOLUBILIDAD REAL g/mL	9.07381E-06	7.14413E-06	7.25684E-06
	8.60184E-06	7.95034E-06	6.25698E-06
	7.15241E-06	1.07031E-05	7.95689E-06
g/mL de solvente	0.993290926	0.989922856	0.991002743
	0.993291398	0.98992205	0.991003743
	0.993292848	0.989919297	0.991002043
mol soluto	1.7074E-08	1.3443E-08	1.36551E-08
	1.61859E-08	1.496E-08	1.17736E-08
	1.34585E-08	2.01399E-08	1.49723E-08
mol solvente	0.055182829	0.054995714	0.055055708
	0.055182855	0.054995669	0.055055764
	0.055182936	0.054995516	0.055055669
X2	3.09408E-07	2.44437E-07	2.48022E-07
	2.93314E-07	2.72021E-07	2.13849E-07
	2.43889E-07	3.66209E-07	2.71949E-07
L S %CV	2.82204E-07	2.94222E-07	2.44607E-07
	3.4143E-08	6.385E-08	2.91999E-08
	12.09869933	21.70127451	11.9374932

Tabla A 21 Cálculo de la densidad de la disolución en agua.

Temperatura	Matraz lleno	Matraz vacío	g/mL solución
AGUA 15°C	20.8702	15.8967	0.99
	21.0717	16.1122	0.99
			0.99
AGUA 25°C	21.4396	16.4847	0.99
	19.4719	14.5275	0.99
			0.99
AGUA 40°C	21.6788	16.725	0.99
	21.0537	16.0974	0.99
			0.99

Tabla A 22 SOLUBILIDAD DE DISPERSION SOLIDA EN ACIDO FÓRMICO
10mM pH3

SOLUBILIDAD DE DISPERSION SOLIDA EN ACIDO FÓRMICO 10mM pH 3			
TEMP°C	15	25	40
Concentración µg/mL	4.125	4.973	2.8
	4.292	4.431	2.263
FACTOR DE DILUCION	1000	1000	1000
SOLUBILIDAD REAL g/mL	0.004125	0.004973	0.0028
	0.004292	0.004431	0.002263
g/mL de solvente	0.985875	0.985027	0.9872
	0.985708	0.985569	0.987737
mol soluto	7.76193E-06	9.35759E-06	5.2687E-06
	8.07617E-06	8.33772E-06	4.25824E-06
mol solvente	0.054770833	0.054723722	0.054844444
	0.054761556	0.054753833	0.054874278
X2	0.000141671	0.000170937	9.60396E-05
	0.00014743	0.000152226	7.75798E-05
S	0.00014455	0.000161581	8.68097E-05
	4.07267E-06	1.32307E-05	1.3053E-05
%CV	2.817477415	8.188268087	15.03638022

Tabla A 23 Cálculo de la densidad de la disolución en la dispersión sólida.

Temperatura	Matraz lleno	Matraz vacío	g/mL solución
DS ACIDO FÓRMICO 10mM pH 3 15°C	20.9602	15.7953	1.03
	20.9717	16.2113	0.95
			0.99
DS ACIDO FÓRMICO 10mM pH 3 15°C	21.5393	16.6545	0.98
	20.0929	15.0724	1.00
			0.99
DS ACIDO FÓRMICO 10mM pH 3 15°C	19.6538	14.5996	1.01
	20.0419	15.1835	0.97
			0.99

Tabla A 24 Datos del logaritmo neperiano de la fracción mol ($\ln X_2$) en cada disolvente y el inverso de la temperatura absoluta ($1/^\circ\text{K}$).

$^\circ\text{C}$	$^\circ\text{K}$	$1/^\circ\text{K}$	$\ln X_2$ MeOH	$\ln X_2$ EtOH	$\ln X_2$ ISP	$\ln X_2$ formic	$\ln X_2$ agua	$\ln X_2$ DS
15	288.170000	0.003470	-5.674877	-6.441356	-6.943946	-9.466748	-14.988605	-8.862006
15	288.170000	0.003470	-5.671573	-6.418817	-6.841477	-9.342405	-15.042022	-8.822156
15	288.170000	0.003470	-5.509391	-6.372043	-6.599677	-9.416682	-15.226551	
25	298.170000	0.003354	-5.108779	-6.074224	-6.573217	-9.185996	-15.224310	-8.674218
25	298.170000	0.003354	-5.073862	-6.042639	-6.531158	-9.414735	-15.117386	-8.790147
25	298.170000	0.003354	-5.086825	-6.019441	-6.498493	-9.492283	-14.820061	
40	313.170000	0.003193	-3.786408	-4.658960	-6.022803	-9.560320	-15.209747	-9.250750
40	313.170000	0.003193	-3.778016	-4.749144	-5.965229	-9.574347	-15.357994	-9.464203
40	313.170000	0.003193	-3.797320	-4.811710	-6.024246	-9.552856	-15.117652	

Tabla A 25 Regresión múltiple de $1/^\circ\text{K}$ vs $\ln X_2$, en las situaciones donde el valor de r^2 es < 0.99 con un valor de $p > 0.05$ se omite el valor de las constantes de la ecuación. Modelo cuadrático $f(x) = cx^2 + bx + a$, modelo lineal $f(x) = bx + a$.

Disolvente	Ecuación	r^2	P	C	B	A
Metanol	Lineal	0.975	< 0.05	N/A	-6703.72364	17.552
	Cuadrática	0.997	< 0.05	12750804.652	-91570.040	158.598
Etanol	Lineal	0.949	< 0.05	N/A	-6161.37	14.841
	Cuadrática	0.997	< 0.05	17904341.28	-125328.397	212.894
Isopropanol	Lineal	0.926	< 0.05	N/A	-2882.697983	3.181
	Cuadrática	0.935	< 0.05	3773840.774	-28000.483	44.926
Agua	Lineal	0.176	> 0.05			
	Cuadrática	0.259	> 0.05			
Ácido fórmico	Lineal	0.335	> 0.05			
	Cuadrática	0.529	> 0.05			
Dispersión sólida	Lineal	0.642	> 0.05			
	Cuadrática	0.936	> 0.05	-17441207.67	118071.4	-208.542

Tabla A 26 Valores de entalpía de disolución calculados a partir de la primera derivada del grafico de Van't Hoff en las temperaturas evaluadas.

DETERMINACION DE LA ENTALPIA DE DISOLUCION POR LA ECUACION $\Delta H_s = -\frac{R(b+2cx)}{b+2cx}$							R (J/mol.°K)
	°K	1/°K	B	2cx	b+2cx	ΔH_s	-8.314
METANNOL	288.17	0.00347	91570.040	88495.01789	-3075.022	25565.73	
	298.17	0.00335		85527.07953	-6042.960	50241.17	
	313.17	0.00319		81430.56265	-10139.477	84299.61	
ETANOL	288.17	0.00347	-125328.4	124262.354	-1066.042973	8863.081	
	298.17	0.00335		120094.8538	-5233.543192	43511.68	
	313.17	0.00319		114342.6336	-10985.76341	91335.64	

Tabla A 27 Cálculo del tamaño de mono-cristal por el método de Scherrer en los cristales obtenidos por cambio de polaridad del disolvente.

Tamaño de partícula cuando se recrystaliza en etanol por cambio de solvente										
Angulo θ	Angulo r	>	<	<-> grados	<-> (R)	cos θ	0.89* λ	B	B*cos θ	tÅ
7.1613	0.1250	7.2250	7.0835	0.1415	0.0025	0.9980	1.3706	0.0025	0.0025	556.0650
10.4228	0.1819	10.5500	10.4200	0.1300	0.0023	0.9959	1.3706	0.0023	0.0023	606.5812
11.9459	0.2085	11.9850	11.8420	0.1430	0.0025	0.9946	1.3706	0.0025	0.0025	552.1556
15.9100	0.2777	15.9780	15.8280	0.1500	0.0026	0.9904	1.3706	0.0026	0.0026	528.6175
16.4193	0.2866	16.4900	16.3420	0.1480	0.0026	0.9898	1.3706	0.0026	0.0026	536.0992
17.3529	0.3029	17.4690	17.3280	0.1410	0.0025	0.9886	1.3706	0.0025	0.0024	563.3950
18.6360	0.3253	18.7380	18.5850	0.1530	0.0027	0.9868	1.3706	0.0027	0.0026	520.1285
19.1980	0.3351	19.2710	19.1180	0.1530	0.0027	0.9860	1.3706	0.0027	0.0026	520.5536
22.1900	0.3873	22.3650	22.1900	0.1750	0.0031	0.9813	1.3706	0.0031	0.0030	457.2875
25.9520	0.4529	26.0600	25.8400	0.2200	0.0038	0.9745	1.3706	0.0038	0.0037	366.3066
27.4550	0.4792	27.5600	27.3400	0.2200	0.0038	0.9714	1.3706	0.0038	0.0037	367.4488
									I	506.7853
									S	78.0726
									%CV	15.4055

Continuación de tabla A 27

Tamaño de partícula cuando se recrystaliza en isopropanol por cambio de solvente										
Angulo θ	Angulo r	>	<	<-> grados	<-> (R)	cos θ	$0.89 \cdot \lambda$	B	$B \cdot \cos \theta$	$t\lambda$
NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
10.5051	0.1833	10.5700	10.4400	0.1300	0.0023	0.9958	1.3706	0.0023	0.0023	606.6211
11.9580	0.2087	11.9990	11.8770	0.1220	0.0021	0.9946	1.3706	0.0021	0.0021	647.2059
15.9329	0.2781	15.9920	15.8580	0.1340	0.0023	0.9903	1.3706	0.0023	0.0023	591.7525
16.4390	0.2869	16.5300	16.3990	0.1310	0.0023	0.9897	1.3706	0.0023	0.0023	605.6844
17.4300	0.3042	17.4850	17.3650	0.1200	0.0021	0.9885	1.3706	0.0021	0.0021	662.0572
18.6720	0.3259	18.7400	18.6000	0.1400	0.0024	0.9868	1.3706	0.0024	0.0024	568.4555
19.2250	0.3355	19.2900	19.1550	0.1350	0.0024	0.9860	1.3706	0.0024	0.0023	589.9843
22.3380	0.3899	22.4080	22.2640	0.1440	0.0025	0.9811	1.3706	0.0025	0.0025	555.8726
25.9534	0.4530	26.0727	25.8937	0.1790	0.0031	0.9745	1.3706	0.0031	0.0030	450.2105
27.4860	0.4797	27.5932	27.4050	0.1882	0.0033	0.9714	1.3706	0.0033	0.0032	429.5647
									I	570.7409
									S	76.1507
									%CV	13.3424

Continuación de tabla A 27

Tamaño de partícula cuando se recrystaliza en metanol por cambio de solvente										
Angulo θ	Angulo r	>	<	<-> grados	<-> (R)	cos θ	$0.89 \cdot \lambda$	B	$B \cdot \cos \theta$	$t\lambda$
7.2002	0.1257	7.2780	7.1090	0.1690	0.0029	0.9980	1.3706	0.0029	0.0029	465.5910
10.5060	0.1834	10.5750	10.4280	0.1470	0.0026	0.9958	1.3706	0.0026	0.0026	536.4680
11.9400	0.2084	11.9920	11.8710	0.1210	0.0021	0.9946	1.3706	0.0021	0.0021	652.5440
15.9180	0.2778	15.9810	15.8480	0.1330	0.0023	0.9904	1.3706	0.0023	0.0023	596.1910
16.4600	0.2873	16.5250	16.3950	0.1300	0.0023	0.9897	1.3706	0.0023	0.0022	610.3597
17.4220	0.3041	17.4850	17.3510	0.1340	0.0023	0.9885	1.3706	0.0023	0.0023	592.8807
18.6650	0.3258	18.7310	18.5940	0.1370	0.0024	0.9868	1.3706	0.0024	0.0024	580.8975
19.2180	0.3354	19.2850	19.1420	0.1430	0.0025	0.9860	1.3706	0.0025	0.0025	556.9724
22.3350	0.3898	22.3980	22.2710	0.1270	0.0022	0.9811	1.3706	0.0022	0.0022	630.2775
25.9800	0.4534	26.0400	25.9050	0.1350	0.0024	0.9744	1.3706	0.0024	0.0023	596.9778
27.4700	0.4794	27.5850	27.3800	0.2050	0.0036	0.9714	1.3706	0.0036	0.0035	394.3479
									I	564.8643
									s	75.4260
									cv	13.3529

Tabla A 28 Cálculo del tamaño de mono-cristal por el método de Scherrer en los cristales obtenidos por Descenso de temperatura.

Tamaño de partícula cuando se recristaliza en metanol a por descenso de temperatura y sonicando a pulsos por minuto										
Angulo θ	Angulo τ	>	<	<-> grados	<-> (R)	cos θ	$0.89 \cdot \lambda$	B	$B \cdot \cos \theta$	$t \text{Å}$
7.1752	0.1252	7.2349	7.0857	0.1492	0.0026	0.9980	1.3706	0.0026	0.0026	527.3713
10.4855	0.1830	10.5750	10.3961	0.1789	0.0031	0.9958	1.3706	0.0031	0.0031	440.8021
11.9767	0.2090	12.0363	11.8872	0.1491	0.0026	0.9945	1.3706	0.0026	0.0026	529.5806
15.9431	0.2783	16.0028	15.8835	0.1193	0.0021	0.9903	1.3706	0.0021	0.0021	664.6758
16.4203	0.2866	16.5098	16.3607	0.1491	0.0026	0.9898	1.3706	0.0026	0.0026	532.1448
17.4045	0.3038	17.4800	17.3400	0.1400	0.0024	0.9885	1.3706	0.0024	0.0024	567.4583
18.6868	0.3261	18.7763	18.6272	0.1491	0.0026	0.9867	1.3706	0.0026	0.0026	533.6649
19.2237	0.3355	19.3050	19.1650	0.1400	0.0024	0.9860	1.3706	0.0024	0.0024	568.9123
22.2954	0.3891	22.3849	22.2358	0.1491	0.0026	0.9811	1.3706	0.0026	0.0026	536.8195
25.9636	0.4532	26.0829	25.8742	0.2087	0.0036	0.9744	1.3706	0.0036	0.0035	386.1492
27.4548	0.4792	27.5741	27.3951	0.1790	0.0031	0.9714	1.3706	0.0031	0.0030	451.6128
									I	521.7447
									S	74.2770
									%CV	14.2363
Tamaño de partícula cuando se recristaliza en metanol a por descenso de temperatura sin sonicar										
Angulo θ	Angulo τ	>	<	<-> grados	<-> (R)	cos θ	$0.89 \cdot \lambda$	B	$B \cdot \cos \theta$	$t \text{Å}$
7.2050	0.1258	7.2720	7.0940	0.1780	0.0031	0.9980	1.3706	0.0031	0.0031	442.0510
10.4855	0.1830	10.5750	10.4259	0.1491	0.0026	0.9958	1.3706	0.0026	0.0026	528.9034
11.9469	0.2085	12.0363	11.8872	0.1491	0.0026	0.9946	1.3706	0.0026	0.0026	529.5662
15.9431	0.2783	16.0326	15.8835	0.1491	0.0026	0.9903	1.3706	0.0026	0.0026	531.8298
16.4501	0.2871	16.5098	16.3607	0.1491	0.0026	0.9897	1.3706	0.0026	0.0026	532.1647
17.4045	0.3038	17.4880	17.3420	0.1460	0.0025	0.9885	1.3706	0.0025	0.0025	544.1381
18.6868	0.3261	18.7763	18.5974	0.1789	0.0031	0.9867	1.3706	0.0031	0.0031	444.8600
19.2535	0.3360	19.3100	19.1640	0.1460	0.0025	0.9859	1.3706	0.0025	0.0025	545.5564
22.3252	0.3896	22.3849	22.2358	0.1491	0.0026	0.9811	1.3706	0.0026	0.0026	536.8470
25.9636	0.4532	26.0829	25.8742	0.2087	0.0036	0.9744	1.3706	0.0036	0.0035	386.1492
27.4548	0.4792	27.6039	27.3653	0.2386	0.0042	0.9714	1.3706	0.0042	0.0040	338.8042
									I	487.3518
									S	72.6109
									%CV	14.8991

Continuación de tabla A 28

Tamaño de partícula cuando se recristaliza en etanol por descenso de temperatura sonificado.										
Angulo θ	Angulo r	>	<	<-> grados	<-> (R)	cos θ	0.89* λ	B	B*cos θ	I Δ
7.1752	0.1252	7.2300	7.0857	0.1443	0.0025	0.9980	1.3706	0.0025	0.0025	545.2792
10.4855	0.1830	10.5550	10.4100	0.1450	0.0025	0.9958	1.3706	0.0025	0.0025	543.8587
11.9469	0.2085	12.0065	11.8872	0.1193	0.0021	0.9946	1.3706	0.0021	0.0021	661.8468
15.9133	0.2777	15.9890	15.8537	0.1353	0.0024	0.9904	1.3706	0.0024	0.0023	586.0528
16.4203	0.2866	16.4800	16.3607	0.1193	0.0021	0.9898	1.3706	0.0021	0.0021	665.0694
17.4045	0.3038	17.4641	17.3448	0.1193	0.0021	0.9885	1.3706	0.0021	0.0021	665.9192
18.6868	0.3261	18.7475	18.6272	0.1203	0.0021	0.9867	1.3706	0.0021	0.0021	661.5582
19.2237	0.3355	19.2833	19.1640	0.1193	0.0021	0.9860	1.3706	0.0021	0.0021	667.6255
22.2954	0.3891	22.3849	22.2059	0.1790	0.0031	0.9811	1.3706	0.0031	0.0031	447.1496
25.9636	0.4532	26.0829	25.8742	0.2087	0.0036	0.9744	1.3706	0.0036	0.0035	386.1492
27.4548	0.4792	27.5500	27.3653	0.1847	0.0032	0.9714	1.3706	0.0032	0.0031	437.6756
									X	569.8349
									DEVEST	106.0863
									cv	18.6170
Tamaño de partícula cuando se recristaliza en etanol por descenso de temperatura sin sonicar.										
Angulo θ	Angulo r	>	<	<-> grados	<-> (R)	cos θ	0.89* λ	B	B*cos θ	I Δ
7.1752	0.1252	7.2220	7.0857	0.1363	0.0024	0.9980	1.3706	0.0024	0.0024	577.2839
10.4855	0.1830	10.5500	10.4105	0.1395	0.0024	0.9958	1.3706	0.0024	0.0024	565.3011
11.9469	0.2085	12.0065	11.8872	0.1193	0.0021	0.9946	1.3706	0.0021	0.0021	661.8468
15.9133	0.2777	15.9900	15.8537	0.1363	0.0024	0.9904	1.3706	0.0024	0.0024	581.7531
16.4203	0.2866	16.4800	16.3607	0.1193	0.0021	0.9898	1.3706	0.0021	0.0021	665.0694
17.4045	0.3038	17.4641	17.3448	0.1193	0.0021	0.9885	1.3706	0.0021	0.0021	665.9192
18.6868	0.3261	18.7465	18.6272	0.1193	0.0021	0.9867	1.3706	0.0021	0.0021	667.1036
19.2237	0.3355	19.2880	19.1580	0.1300	0.0023	0.9860	1.3706	0.0023	0.0022	612.6748
22.2954	0.3891	22.3849	22.2059	0.1790	0.0031	0.9811	1.3706	0.0031	0.0031	447.1496
25.9636	0.4532	26.0531	25.8742	0.1789	0.0031	0.9744	1.3706	0.0031	0.0030	450.4714
27.4548	0.4792	27.5580	27.3500	0.2080	0.0036	0.9714	1.3706	0.0036	0.0035	388.6476
									X	571.2019
									DEVEST	100.1949
									cv	17.5411

Continuación de tabla A 28

Tamaño de partícula cuando se recristaliza en isopropanol por descenso de temperatura sonificado.										
Angulo θ	Angulo r	>	<	<-> grados	<-> (R)	cos θ	$0.89 \cdot \lambda$	B	$B \cdot \cos \theta$	$t\text{\AA}$
7.1752	0.1252	7.2250	7.0890	0.1360	0.0024	0.9980	1.3706	0.0024	0.0024	578.5573
10.4855	0.1830	10.5500	10.4180	0.1320	0.0023	0.9958	1.3706	0.0023	0.0023	597.4205
11.9469	0.2085	12.0075	11.8872	0.1203	0.0021	0.9946	1.3706	0.0021	0.0021	656.3451
15.9133	0.2777	15.9900	15.8537	0.1363	0.0024	0.9904	1.3706	0.0024	0.0024	581.7531
16.4203	0.2866	16.4800	16.3607	0.1193	0.0021	0.9898	1.3706	0.0021	0.0021	665.0694
17.4145	0.3039	17.4600	17.3400	0.1200	0.0021	0.9885	1.3706	0.0021	0.0021	662.0435
19.2237	0.3355	19.2900	19.1580	0.1320	0.0023	0.9860	1.3706	0.0023	0.0023	603.3919
22.2656	0.3886	22.3849	22.2059	0.1790	0.0031	0.9812	1.3706	0.0031	0.0031	447.1267
25.9636	0.4532	26.0531	25.8742	0.1789	0.0031	0.9744	1.3706	0.0031	0.0030	450.4714
27.4548	0.4792	27.5442	27.3653	0.1789	0.0031	0.9714	1.3706	0.0031	0.0030	451.8652
									X	569.4044
									DEVEST	88.4315
									cv	15.5305
Tamaño de partícula cuando se recristaliza en isopropanol por descenso de temperatura sin sonificar										
Angulo θ	Angulo r	>	<	<-> grados	<-> (R)	cos θ	$0.89 \cdot \lambda$	B	$B \cdot \cos \theta$	$t\text{\AA}$
7.1454	0.1247	7.2050	7.0559	0.1491	0.0026	0.9981	1.3706	0.0026	0.0026	527.7164
10.4557	0.1825	10.5350	10.3700	0.1650	0.0029	0.9958	1.3706	0.0029	0.0029	477.9250
11.9170	0.2080	11.9900	11.8000	0.1900	0.0033	0.9946	1.3706	0.0033	0.0033	415.5588
15.8835	0.2772	15.9600	15.7800	0.1800	0.0031	0.9904	1.3706	0.0031	0.0031	440.5003
16.4203	0.2866	16.4700	16.3050	0.1650	0.0029	0.9898	1.3706	0.0029	0.0029	480.8654
17.3746	0.3032	17.4400	17.2852	0.1548	0.0027	0.9885	1.3706	0.0027	0.0027	513.1847
19.1938	0.3350	19.2480	19.0900	0.1580	0.0028	0.9860	1.3706	0.0028	0.0027	504.0773
22.2358	0.3881	22.3551	22.1165	0.2386	0.0042	0.9812	1.3706	0.0042	0.0041	335.4216
25.9338	0.4526	26.0100	25.7900	0.2200	0.0038	0.9745	1.3706	0.0038	0.0037	366.2932
27.4250	0.4787	27.4900	27.3300	0.1600	0.0028	0.9715	1.3706	0.0028	0.0027	505.2097
									X	456.6752
									DEVEST	65.5769
									cv	14.3596

Tabla A 29 Tamaño de cristal de ketoconazol obtenido durante el proceso de cristalización por descenso de temperatura y cambio de polaridad del sistema de disolución.

Solvente	método	condiciones	Tamaño medio de cristal (nm)	Diferencias entre tamaño medio
Metanol	Descenso de Temperatura	Sin ultrasonication	Mediana 52.957 Shapiro-Wilk $p < 0.05$	$p > 0.05$ — Mann-Whitney
		ultrasonication	Mediana 53.215 Shapiro-Wilk $p < 0.05$	
	Cambio de polaridad	Temperatura constante	Mediana 59.288 Shapiro-Wilk $p < 0.05$	
Etanol	Descenso de temperatura	Sin ultrasonication	Mediana 58.175 Shapiro-Wilk $p < 0.05$	$p > 0.05$ Mann-Whitney
		ultrasonication	Mediana 58.605 Shapiro-Wilk $p < 0.05$	
	Cambio de polaridad	Temperatura constante	Mediana 52.862 Shapiro-Wilk $p < 0.05$	
Isopropanol	Descenso de temperatura	Sin ultrasonication	Mediana 47.940 Shapiro-Wilk $p < 0.05$	$P < 0.05$ Mann-Whitney
		ultrasonication	Mediana 58.959 Shapiro-Wilk $p < 0.05$	
	Cambio de polaridad	Temperatura constante	Mediana 59.087 Shapiro-Wilk $p < 0.05$	

Tabla A 30 Valores de solubilidad ideal calculados con datos experimentales de los análisis de calorimetría diferencial de barrido, a partir de la ecuación $\ln X_2^i = -(\Delta H^F)/R (T^{-1} - T_F^{-1})$. $1/^\circ K_{\text{amb}}=0.00251149$ $R=8.3143\text{J}/(^\circ K \text{ mol})$

Cristales de	$\Delta F(\text{J/mol})$	$1/^\circ K_{\text{Fusion}}$	$\ln X_2$	X_2
Materia prima	50965.096	0.00237231	-0.8531	0.4261
Metanol	48977.5104	0.002376991	-0.7923	0.4528
Etanol	49923.4736	0.00237874	-0.7971	0.4506
Isopropanol	50061.648	0.002377612	-0.8061	0.4466

Tabla A 31 Datos obtenidos de la disolución intrínseca en el aparato de Wood, el experimento se hizo por duplicado para la dispersión sólida y solo una vez para la materia prima.

DISOLUCIÓN INTRÍNSECA				
Datos	tiempo min	$kz \ln 60 \text{min} (\mu\text{g/mL})$	DSd ($\mu\text{g/mL}$)	DSd ($\mu\text{g/mL}$)
Diámetro aparato de Wood. 0.9 cm radio 0.45 $r^2=0.2025$ $A=\pi r^2$ 0.63617251	3	46.36	9.09	8.62
	6	76.1	14.5	20.2
	10	86.8	38.3	33.8
	20	141.7	72.5	79.9
	30	241.4	129.6	114.3
	40	329.2	168.6	155.6
	50	468.4	202.4	208.4
	60	559.8	243.9	329.6
La concentración se trato en ng ($\mu\text{g}/1000$) y la superficie se calculó con el área del círculo.				
	tiempo min	Conc/superf	Conc/superf	Conc/superf
	3	0.072873	0.014289	0.013550
	6	0.119622	0.022793	0.031752
	10	0.136441	0.060204	0.053130
	20	0.222738	0.113963	0.125595
	30	0.379457	0.203718	0.179668
	40	0.517470	0.265022	0.244588
	50	0.736278	0.318153	0.327584
	60	0.879950	0.383387	0.518098

Tabla A 32 Datos de disolución en el aparato 1.

Tiempo (min)	Dispersión Sólida (µg/mL)	Mezcla física (µg/mL)	Materia prima (µg/mL)
0	0	0	0
0	0	0	0
5	9.297	7.327	12.216
5	5.846	5.065	14.117
10	22.495	35.609	44.744
10	23.894	37.089	52.043
15	58.603	88.216	219.781
15	55.368	90.346	222.582
20	96.517	144.7	224.312
20	90.981	144.7	229.169
30	181.37	230.652	219.237
30	173.32	221.986	233.352
40	227.726	226.5	215.687
40	229.464	231.189	241.651
60	240.306	244.491	216.259
60	243.387	225.14	226.25
80	235.727	234.7	225.349
80	248.684	241.063	230.726

Tabla A 33 Cálculo de la energía libre y entropía de disolución en la dispersión sólida

$$\Delta G_{sol} = -R.T.\ln X_2$$

°C	°K	1/°K	lnX2 DS	R	ΔGsol	
15	288.170000	0.003470	-8.862006	-8.314	21231.9969	21184.2592
15	288.170000	0.003470	-8.822156		21136.5215	
15	288.170000	0.003470			X	
25	298.170000	0.003354	-8.674218		21503.2596	21646.953
25	298.170000	0.003354	-8.790147		21790.6465	
25	298.170000	0.003354			X	
40	313.170000	0.003193	-9.250750		24086.1354	24364.0191
40	313.170000	0.003193	-9.464203		24641.9028	
40	313.170000	0.003193			X	
Cálculo de la entropía de disolución ΔSsol= (ΔHsol- ΔGsol)/T						
°C	°K	ΔH DS	ΔGsol	Δssol		
15	288.170000	24747.8327	21184.2592	12.3662194		
25	298.170000	-9004.50501	21646.953	-102.798598		
40	313.170000	-55591.3962	24364.0191	-255.309944		

Tabla A 34 Cálculo de la energía libre y entropía de disolución en etanol

$$\Delta G_{sol} = -R.T.\ln X_2$$

°C	°K	1/°K	lnX2 DS	R	ΔGsol	
15	288.170000	0.003470	-6.441356	-8.314	15432.4936	15359.1383
15	288.170000	0.003470	-6.418817		15378.4921	
15	288.170000	0.003470	-6.372043		15266.4293	
25	298.170000	0.003354	-6.074224		15057.9119	14986.5441
25	298.170000	0.003354	-6.042639		14979.6143	
25	298.170000	0.003354	-6.019441		14922.1063	
40	313.170000	0.003193	-4.658960		12130.5127	12341.3544
40	313.170000	0.003193	-4.749144		12365.3231	
40	313.170000	0.003193	-4.811710		12528.2274	
Cálculo de la entropía de disolución en etanol ΔSsol= (ΔHsol- ΔGsol)/T						
°C	°K	ΔH EtOH	ΔGsol	Δssol		
15	288.170000	8863.08128	15359.1383	-22.5424474		
25	298.170000	43511.6781	14986.5441	95.6673507		
40	313.170000	91335.637	12341.3544	252.2409		

Tabla A 35 Cálculo de la energía libre y entropía de disolución en metanol
 $\Delta G_{sol} = -R.T.\ln X_2$

°C	°K	1/°K	lnX2 MeOH	R	ΔGsol	
15	288.170000	0.003470	-5.674877	-8.314	13596.1277	13461.3296
15	288.170000	0.003470	-5.671573		13588.2111	
15	288.170000	0.003470	-5.509391		13199.6499	
25	298.170000	0.003354	-5.108779		12664.5874	12617.5935
25	298.170000	0.003354	-5.073862		12578.0288	
25	298.170000	0.003354	-5.086825		12610.1642	
40	313.170000	0.003193	-3.786408		9858.65291	9860.83998
40	313.170000	0.003193	-3.778016		9836.80257	
40	313.170000	0.003193	-3.797320		9887.06447	
Cálculo de la entropía de disolución en metanol ΔSsol= (ΔHsol- ΔGsol)/T						
°C	°K	ΔH MeOH	ΔGsol	Δssol		
15	288.170000	25565.7339	13461.3296	42.0043873		
25	298.170000	50241.1733	12617.5935	126.181641		
40	313.170000	84299.6147	9860.83998	237.694462		