

## APROXIMACIÓN AL ESTUDIO DE COMPLEJOS MALEATO DE TIMOLOL - SEPIOLITA PARA SU USO EN FARMACIA.

P. Cerezo<sup>1</sup>, C. Viseras<sup>1</sup> C., Aguzzi<sup>2</sup> y A. Cerezo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Granada.

<sup>2</sup> Dipartimento di Chimica Farmaceutica. Università degli studi di Pavia.

### Introducción

Estudios de adsorción y desorción de diferentes principios activos en arcillas, han demostrado que los de naturaleza catiónica se unen fuertemente a la superficie de la arcilla, mientras que las sustancias no cargadas o con carga negativa se unen débilmente y la liberación desde el complejo formado tiene lugar de manera rápida. (1).

En general los estudios se refieren a sustancias activas de muy diferente naturaleza, por lo que no es de extrañar que se extendieran al grupo de beta-bloqueantes antihipertensivos. Así, Al-Gohary y col. (2 y 3), en sendos trabajos, emplearon propanolol, acebutolol, nadolol, metoprolol, oxprenolol, y timolol con sustancias adsorbentes atapulgita, carbón, caolín y trisilicato magnésico y, entre otros factores, investigaron la influencia del pH y temperatura en el proceso de adsorción.

La sepiolita es un filosilicato de fórmula ideal  $\text{Si}_{12}\text{O}_{30}\text{Mg}_8(\text{OH})_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  con estructura 2:1 ó T-O-T; con área superficial BET aproximadamente de  $300\text{m}^2/\text{g}$  (4) y morfología fibrosa que resulta de la inversión de  $180^\circ$  cada seis tetraedros, dando origen a una estructura en cadenas alineadas y paralelas.

### Materiales y Métodos

La muestra mineral empleada fue una sepiolita (SV) procedente de Vicálvaro (Madrid), suministrada por Tolsa (España). Como sustancia activa se eligió en base a sus

propiedades fisicoquímicas el Maleato de Timolol procedente de los laboratorios Alcon Cusí Farma de Barcelona.

La metodología empleada consistió en dispersar cantidades conocidas de la arcilla (tratada previamente a distintas temperaturas en estufa durante 48 horas) con volúmenes de soluciones tituladas de fármaco. Las dispersiones así obtenidas se mantenían bajo condiciones constantes de temperatura ( $25^\circ\text{C}$ ) y agitación ( $140\text{ r.p.m.}$ ) en un baño termostático durante periodos de tiempo variables. (Tabla 1)

**Tabla 1.** Condiciones empleadas en la elaboración de los complejos sepiolita-timolol.

Condiciones	Valores
Temperatura ( $T^\circ$ )	60, 110 y $200^\circ\text{C}$
Concentración inicial (Ci)	0.1 y 1 % M/V
Tiempo contacto (tc)	10 y 160 min

Posteriormente se procedió a la separación de las fases por centrifugación ( $15\text{ min. a }3000\text{ r.p.m.}$ ) y determinación de la concentración remanente de fármaco en el líquido de filtrado mediante espectroscopía empleado un espectrofotómetro UV-V Lambda 2 (Perkin-Elmer Corp., Ueberlingen, Alemania) con cubetas de cuarzo de  $1\text{ cm}$ , de esta manera se determinó la cantidad de fármaco retenido.

Con estas variables se plantearon dos diseños experimentales de tipo factorial  $2^3$ , mediante el programa informático STAGRAPHICS.PLUS

## 12 VI Congreso SEFIG y 3<sup>as</sup> Jornadas TF

versión 4.1, que permite la obtención de la siguiente información:

- Efectos estimados de los factores para las variables consideradas.

- ANOVA para las variables independientes seleccionadas. Nos proporciona la significación estadística de cada uno de los efectos por comparación del cuadrado de las medias. Así, serán significativos aquellos efectos cuyo p-valor sean menores de 0,05, indicando que son significativamente distintos de cero con un nivel de confianza del 95%.

- Coeficientes de regresión de la ecuación representativa del modelo, pudiendo obtener los valores predichos para el mismo.

### Resultados y Discusión

Primero se planteó un diseño factorial  $2^3$ , cuya matriz se expone en la tabla 2 y para el que la variable respuesta estudiada era la capacidad de adsorción de SV.

**Tabla 2.** Matriz del primer diseño factorial  $2^3$

Nº	FACTORES		
	Ci (g/100mL)	tc (min)	Tª (°C)
1	0.1 (-1)	10 (-1)	60 (-1)
2	1 (+1)	10 (-1)	60 (-1)
3	0.1 (-1)	160 (+1)	60 (-1)
4	1 (+1)	160 (+1)	60 (-1)
5	0.1 (-1)	10 (-1)	110 (+1)
6	1 (+1)	10 (-1)	110 (+1)
7	0.1 (-1)	160 (+1)	110 (+1)
8	1 (+1)	160 (+1)	110 (+1)

En la tabla 3 se presentan los datos experimentales y predichos por el modelo. Dado el valor estadístico de  $R^2$  (99.9885) se concluye que el modelo elegido explica perfectamente la variabilidad de la respuesta, por lo que la correlación entre los valores experimentales y predichos por el diseño es buena.

La tabla del ANOVA (tabla 4) permite conocer la variabilidad de la respuesta para cada uno de los efectos principales y sus interacciones. Considerando significativos p-valores menores de 0.05, en el caso que nos ocupa, únicamente tenemos un factor con significación estadística (concentración inicial).

**Tabla 3.** Cantidades adsorbidas % (g/100g de arcilla para el primer diseño factorial).

Nº	Valores	
	Experimentales	Predichos
1	1.19234	1.17968
2	3.63389	3.64655
3	1.0941	1.10676
4	3.17336	3.16069
5	1.34585	1.35852
6	3.97161	3.95894
7	1.31822	1.30556
8	3.48038	3.49304

**Tabla 4.** Análisis de la varianza del primer diseño.

Efecto	Suma de cuadrados	g.l	Cuadrado medio	F <sub>cal</sub>	P
A: Ci	10.8315	1	10.8315	8441.49	0.0069
B: tc	0.145163	1	0.145163	113.13	0.0597
C: Tª	0.130656	1	0.130656	101.83	0.0629
AB	0.0852603	1	0.085260	66.45	0.0777
AC	0.0089182	1	0.008918	6.95	0.2308
BC	0.000199	1	0.000199	0.16	0.7611
Error total	0.001283	1	0.001283		
Total (corr)	11.203	7			

Los coeficientes de regresión (tabla 5) nos permiten deducir la ecuación que se ajusta al modelo propuesto.

**Tabla 5.** Coeficientes de la ecuación ajustada para el primer diseño.

CONSTANTE	= 2.40122
A : Concentración	= 1.16359
B : Tiempo	= -0.134705
C : Temperatura	= 0.127797
AB	= -0.103235
AC	= 0,0333884
BC	= 0.00498907

El segundo diseño factorial se propone de igual manera que el anterior pero en este caso el nivel superior (+1) del factor temperatura previa de calentamiento de la arcilla se eleva a 200°C y el nivel inferior (-1) es 110°C.

El valor de  $R^2$  es de 96,7964, por tanto el ajuste entre los valores experimentales y predichos (tabla 6) es bueno, por lo que el modelo explica convenientemente la variabilidad de la respuesta.

**Tabla 6.** Cantidades adsorbidas % (g/100g de arcilla para el segundo diseño factorial).

Nº	Valores	
	Experimentales	Predichos
1	1.34585	1.52047
2	3.97161	3.79699
3	1.31822	1.14360
4	3.48038	3.65499
5	1.64366	1.46904
6	1.66282	1.83744
7	1.32436	1.49898
8	2.27686	2.10224

Según lo indicado en la tabla del ANOVA (tabla 7), ninguno de los factores principales elegidos, así como sus interacciones, resultan tener significación estadística sobre la variable respuesta estudiada, al menos a los niveles seleccionados, dado que todos los valores de p son mayores a 0.05.

**Tabla 7.** Análisis de la varianza del segundo diseño.

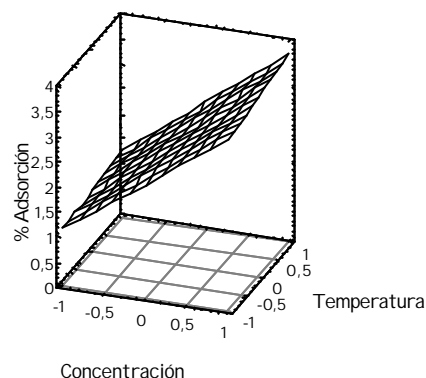
Efecto	Suma de cuadrados	g.l	Cuadrado medio	F <sub>cal</sub>	P
A: Ci	4.14658	1	4.14658	17.00	0.1515
B: tc	0.0062789	1	0.00627	0.03	0.8987
C: T <sup>a</sup>	1.28669	1	1.28669	5.27	0.2614
AB	0.027582	1	0.027582	0.11	0.7935
AC	1.82048	1	1.82048	7.46	0.2234
BC	0.0827436	1	0.08274	0.34	0.6643
Error total	0.24393	1	0.24393		
Total (corr)	7.61428	7			

De igual manera que para el primer diseño se calcularon los coeficientes de la ecuación que se ajusta al modelo.

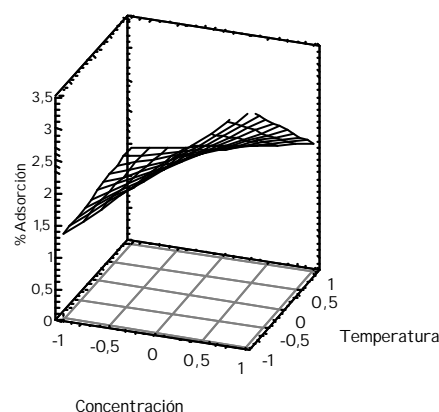
Del gráfico de superficie de respuesta del par de factores concentración inicial y temperatura de calentamiento previo, del primer diseño factorial

(Fig. 1) se observa que el primer factor influye de manera patente, y se evidencia un aumento de la respuesta a niveles superiores tanto de concentración como de temperatura.

En el caso del segundo diseño (Fig.2) el resultado es distinto ya que a valores de baja concentración la influencia de la temperatura es prácticamente nula, mientras que si trabajamos a niveles superiores de concentración obtenemos mayor respuesta cuando las muestras han sido tratadas a menor temperatura.



**Figura 1.** Gráfico de superficie de respuesta del primer diseño factorial, para el par de factores Ci/T<sup>a</sup>.



**Figura 2.** Gráfico de superficie de respuesta del segundo diseño factorial, para el par de factores Ci/T<sup>a</sup>.

## 14 VI Congreso SEFIG y 3<sup>as</sup> Jornadas TF

La explicación la encontramos en el estudio detenido de sus curvas de termogravimetría (5), donde la pérdida de agua presenta una primera fase (que termina en torno a los 170°C) que correspondería a la pérdida de agua adsorbida, por tanto cuando en nuestro diseño aplicamos 110°C/48h estamos eliminando esta agua de hidratación (agua adsorbida), favoreciendo así su capacidad adsorbente. Posteriormente, la curva presenta una segunda fase (entre 200 y 350°C) que correspondería a la pérdida de las moléculas de agua unidas a los cationes  $Mg^{2+}$  de la capa octaédrica. Por tanto, la disminución en la capacidad de adsorción cuando se calienta SV a 200°C es consecuencia del plegamiento parcial de la estructura, que produce una disminución de la superficie específica (Fig.3.).

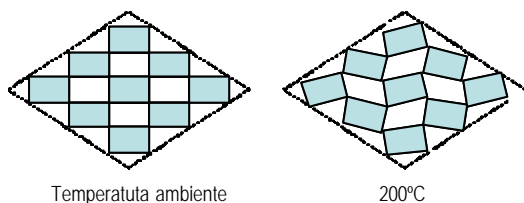


Figura 3. Modelo del plegamiento de fibras de la sepiolita inducido por el calentamiento.

Precisamente, los distintos trabajos que abordan el efecto del calentamiento en la estructura y capacidad de adsorción de sepiolita, concluyen que a partir de 200°C se produce un plegamiento de las fibras, que tiene carácter reversible al rehidratarse la arcilla (6,7,8). Nuestra situación sería, por consiguiente, la de una estructura que empezaba a sufrir este fenómeno, y que durante la adsorción en solución acuosa está recuperando su estado inicial. Nuestros datos de disminución de la capacidad de adsorción son congruentes con la pérdida teórica de superficie específica, que resulta de la modelización del plegamiento, calculada por Hibino, T. y col. (9) en 30-40% de disminución en los valores de

superficie específica ya que las muestras calentadas previamente a 200°C adsorben cantidades de fármaco significativamente menores (30%-40% menos fármaco es retenido respecto de los valores correspondientes a las muestras calentadas a 60°C o 110°C).

### Bibliografía

1. Kalinkova, G.N., *Int. J. Pharm.*, 187, 1 (1999).
2. Al-Gohary, O., Lyall, J. y Murray, J.B. *Pharm. Acta. Helv.*, 62, 66, (1987).
3. Al-Gohary, O., Lyall, J. y Murray, J.B. *Pharm. Acta. Helv.*, 63,1, 13, (1988).
4. Álvarez, A. Palygorskite-Sepiolite. Ocurrencias, Genesis and Uses. En: A. Singer y E. Galán (Eds). Elsevier, 1984.
5. Cerezo, P., Viseras, C., Aguzzi, C. y Cerezo, A. Caracterización de complejos fármaco-arcilla (Timolol-sepiolita). II. Termogravimetría (ATG). VI Congreso de la Sociedad española de Farmacia Industrial y Galénica, Granada, 2003.
6. Jiménez-López, A., López-González, D., Ramírez-Sáez, A., Rodríguez-Reinoso, F., Valenzuela-Calahorra, C. y Zurita-Herrera, L., *Clay Minerals*, 13, 375 (1978)
7. Kiyohiro, T. y Tozuda, R., *Thermochimica Acta*, 147, 127, (1989)
8. Caturla, F., Molina-Sabio, M. y Rodríguez-Reinoso, F., *Applied Clay Sci.*, 15, 367, (1999)
9. Hibino, T., Tsunashima, A., Yamazaki, A. y Otsuka, R., *Clays and Clay Minerals*, 43, 391 (1995)

Autor de contacto:

M<sup>a</sup> del Pilar Cerezo González

[mcerezo@platon.ugr.es](mailto:mcerezo@platon.ugr.es)

Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica

Dirección: Campus de Cartuja, s/n, Granada.

Tel: 958-249551

Fax: 958-248958