

Co-amorfo de Sulfasalazina:L-Arginina con propiedades de solubilidad y velocidad de disolución mejoradas para una mayor biodisponibilidad y eficacia terapéutica.

Co-amorphous of sulfasalazine: arginine with improved solubility and dissolution rate properties for enhanced bioavailability and therapeutic efficacy.

Javier Hernández Illescas¹, Oscar García Barradas², Fernando López Fentanes³, Jorge G. Domínguez Chávez⁴, Karina Mondragón Vásquez⁵

Introducción. La solubilidad y la velocidad de disolución son dos factores fisicoquímicos clave en la eficacia terapéutica de un fármaco administrado por vía oral, ya que estos parámetros determinan la cantidad de fármaco disponible para su absorción. En este contexto, el desarrollo de co-amorfos farmacéuticos es una estrategia prometedora para mejorar la solubilidad y la velocidad de disolución de compuestos poco solubles en medios fisiológicos. En este sentido, la sulfasalazina se caracteriza por una elevada permeabilidad intestinal pero una baja solubilidad que resulta en una biodisponibilidad menor al 15%. Con base en lo anterior, la obtención de sistemas co-amorfos de sulfasalazina que posean mayor solubilidad y velocidad de disolución, incrementaría la cantidad de fármaco disponible para su absorción, mejorando su biodisponibilidad y su eficacia terapéutica. **Objetivo:** Obtener y caracterizar química y biofarmacéuticamente un co-amorfo de sulfasalazina:L-Arginina con propiedades mejoradas de solubilidad y velocidad de disolución. **Metodología** el co-amorfo se obtuvo mediante las técnicas de slurry y de molienda mecanoquímica en proporción 1:1 de sulfasalazina y L-Arginina. Su caracterización incluyó la difracción de rayos X para determinar su naturaleza cristalina o amorfa, espectroscopía FT-IR y microscopía Raman para analizar interacciones intermoleculares y homogeneidad. La estabilidad térmica y la presencia de solvatos o hidratos fueron evaluadas con calorimetría diferencial y termogravimetría. Además, se analizaron su estabilidad en medios fisiológicos, solubilidad y la velocidad de disolución.

<https://doi.org/10.25009/rmuv.2025.1.131>

Recibido: 18/03/25

Aprobado: 06/05/25

¹Facultad de Bioanálisis-Veracruz, Universidad Veracruzana. Doctor en Ciencias Químico-Biológicas.

²Instituto de Química Aplicada, Universidad Veracruzana. Doctor en Ciencias (Química Orgánica).

³Facultad de Bioanálisis-Veracruz, Universidad Veracruzana. Doctor en Educación.

⁴Facultad de Bioanálisis-Veracruz, Universidad Veracruzana. Doctor en Ciencias. Autor por correspondencia: jorgedominguez@uv.mx

⁵Facultad de Bioanálisis-Veracruz, Universidad Veracruzana. Doctor en Ciencias Químicas. Autora por correspondencia: kmondragon@uv.mx

Resultados: Se obtuvo un co-amorfo puro con estequiometría sulfasalazina:L-Arginina:agua de 1:1:2, estable hasta 50 °C sin humedad y hasta 40 °C con 75 % de humedad relativa. Este mostró estabilidad en medios con pH 1.2, 4.5 y 6.8, y triplicó la solubilidad y la velocidad de disolución en comparación con la sulfasalazina libre. **Conclusión:** La obtención de un co-amorfo estable y con mejor solubilidad sugiere un potencial aumento en la biodisponibilidad de la sulfasalazina, favoreciendo su aplicación en formulaciones más eficaces. **Palabras clave:** co-amorfo, solubilidad, velocidad de disolución.

Introduction: Solubility and dissolution rate are two key physico-chemical factors in the therapeutic efficacy of an orally administered drug, as these parameters determine the amount of drug available for absorption. In this context, the development of pharmaceutical co-amorphoses is a promising strategy to improve both solubility and dissolution rate of poorly soluble compounds in physiological media. Sulfasalazine is characterised by high intestinal permeability but low solubility, resulting in a bioavailability of less than 15%. Based on the above, obtaining co-amorphous of sulfasalazine with higher solubility and dissolution rate would increase the amount of drug available for absorption, thereby improving its bioavailability. **Objective:** To obtain and characterize chemically and biopharmaceutically a sulfasalazine:L-arginine co-amorphous with improved solubility and dissolution rate properties. **Methods** The co-amorphous is obtained by slurry and/or mechanochemical milling in a 1:1 ratio of sulfasalazine and L-arginine. Its characterization included X-ray diffraction to determine its crystalline or amorphous nature, FT-IR spectroscopy and Raman microscopy to analyze intermolecular interactions and homogeneity. Thermal stability and the presence of solvates or hydrates were evaluated by differential calorimetry and thermogravimetry. In addition, their stability in physiological media, solubility and dissolution rate were analyzed. **Results:** A pure co-amorphous was obtained with a sulfasalazine:L-arginine:water stoichiometry of 1:1:2, which was stable up to 50°C without humidity and up to 40°C with 75% relative humidity. It showed stability in media with pH 1.2, 4.5 and 6.8 and tripled the solubility and dissolution rate compared to free sulfasalazine. **Conclusion:** Obtaining a stable co-amorph with better solubility suggests a potential increase in the bioavailability of sulfasalazine, favoring its application in more effective formulations. **Keywords:** co-amorphous, solubility, dissolution rate.

INTRODUCCIÓN

De los estados de la materia, el que predomina comercialmente en la industria farmacéutica es el sólido.¹ En donde la mayoría de los materiales farmacéuticos, tanto Ingredientes Farmacéuticos Activos (IFAs) como excipientes y, la mayoría de las formas farmacéuticas son sólidas a temperatura ambiente. Esto es relevante, ya que las propiedades físicas y reológicas de

un IFA en estado sólido tienen importantes implicaciones en el desarrollo, en el procesamiento, en la formulación e incluso en la eficiencia de los productos farmacéuticos. Dos de las propiedades más importantes de los IFAs son la solubilidad y la velocidad de disolución, que pueden influir de manera determinante en parámetros tan importantes como la biodisponibilidad y la eficacia terapéutica.²

De manera general, y con base en su empaquetamiento molecular, los sólidos se pueden clasificar en sólidos cristalinos y en sólidos amorfos. La diferencia entre estos es el ordenamiento de las moléculas a corto y a largo alcance, en donde, el ordenamiento a corto alcance se refiere a la forma en que moléculas vecinas se agrupan o enlazan entre sí, mientras que el ordenamiento a largo alcance se refiere a la periodicidad o regularidad que presentan cientos de miles de moléculas agregadas y que se propaga tridimensionalmente a una distancia “considerable” para formar la estructura del sólido. De este modo, en la forma cristalina, las moléculas se agrupan presentando un ordenamiento definido a corto y a largo alcance, mientras que en el estado amorfo las moléculas presentan un ordenamiento a corto alcance, de forma similar al estado cristalino, pero no poseen un empaquetamiento definido a largo alcance; lo que trae como consecuencia que el estado amorfo sea la forma de mayor energía en la que puede presentarse un material sólido.³ Como resultado de esto, los sólidos amorfos generalmente poseen una alta movilidad molecular y un incremento en sus propiedades termodinámicas, lo que conlleva a que parámetros como la solubilidad y la velocidad de disolución incrementen con respecto a los sólidos cristalinos.⁴

En términos de sólidos farmacéuticos esto es relevante, ya que más del 60% de los medicamentos que se encuentran en el mercado mundial presentan importantes problemas de solubilidad; por lo que un incremento en la solubilidad y en la velocidad de disolución podría

potenciar su biodisponibilidad, lo que conllevaría a una mejor eficiencia terapéutica y a una reducción de la dosis administrada. Con base en esto, el uso de IFAs amorfos resulta atractivo para la industria farmacéutica, sin embargo, son poco utilizados debido a su alta inestabilidad que es consecuencia de su alta energía interna y de su alta movilidad molecular, lo que les confiere una considerable reactividad química, una alta higroscopicidad y una fuerte tendencia a la cristalización; procesos que pueden ocurrir durante la manufactura, el almacenamiento o durante la administración del medicamento.⁵ Cabe mencionar, que cualquier cambio en la forma del sólido trae como consecuencia una modificación de sus propiedades fisicoquímicas y por ende de sus propiedades biofarmacéuticas, por lo que la búsqueda de metodologías que permitan la estabilización de sólidos amorfos bajo condiciones ambientales es un área de investigación atractiva e interesante de explorar.

Recientemente Rades y colaboradores⁶ reportaron una estrategia para estabilizar fármacos amorfos mediante la generación de sistemas multicomponentes co-amorfos utilizando los IFAs γ -indometacina y naproxeno; en donde el establecimiento de interacciones intermoleculares de puente de hidrógeno entre estos dos fármacos proporciona estabilidad a sus fases amorfas, impidiendo la cristalización de los componentes. Además, se observó en la fase co-amorfa γ -indometacina:naproxeno un incremento importante en la velocidad de disolución intrínseca ($0.419 \text{ mg cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$) con respecto a los fármacos cristalinos por separado (naproxeno 0.30 y γ -indometacina $0.055 \text{ mg cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$) e incluso al del sólido amorfo de la γ -indometacina ($0.316 \text{ mg cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$).

Estos resultados fundamentan que la obtención de co-amorfos es una estrategia interesante para incrementar la velocidad de disolución de los fármacos sin la necesidad de modificar su estructura química, sin embargo,

esta aproximación ha sido poco explorada y la principal limitación al obtener sistemas co-amorfos fármaco:fármaco es que ambos efectos terapéuticos deben ser complementarios entre sí, lo que reduce las posibilidades de obtención.⁷

Al respecto, una modificación interesante para la estabilización de fases amorfas es la obtención de sólidos co-amorfos de fármacos con moléculas pequeñas, inertes y sin acción terapéutica, en donde el establecimiento de las interacciones intermoleculares entre estos, no sólo estabilizaría la fase amorfa sino también modificaría parámetros fisicoquímicos de los fármacos como la solubilidad y la velocidad de disolución, aumentando con esto su biodisponibilidad pero sin alterar su estructura química y por ende su efecto terapéutico.

Con base en esto, un tipo de fármacos en donde la aplicación de esta estrategia es interesante, son los de la Clase II del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, en donde su característica principal es que poseen una alta permeabilidad intestinal, pero presentan una baja solubilidad en medios acuosos y en donde cualquier aumento en la solubilidad mejoraría su eficacia terapéutica. Al respecto, el objetivo de este trabajo es obtener, caracterizar y evaluar fases sólidas co-amorfas estables de un fármaco de la clase II denominado Sulfasalazina con una molécula no tóxica para el organismo como el aminoácido L-Arginina. La Sulfasalazina (figura 1) es un fármaco derivado de las sulfonamidas que se utiliza como antiinflamatorio y es ampliamente utilizado para el tratamiento de la artritis reumatoide y para la colitis ulcerosa, sin embargo, a pesar de sus importantes aplicaciones en el tratamiento de estos padecimientos, este fármaco tiene una biodisponibilidad menor al 15% debido a que es prácticamente insoluble en agua.⁸



Figura 1. Estructura química del IFA Sulfasalazina

Dado que la estructura química del IFA Sulfasalazina contiene grupos funcionales donadores y aceptores de puentes de hidrógeno, se seleccionó a un aminoácido como la L-Arginina que contiene grupos funcionales que pueden establecer interacciones intermoleculares complementarias y fuertes con el fármaco, además de que se encuentra la lista GRAS (Generally Recognized As Safe: Generalmente Reconocido Como Seguro) de la FDA (Food and Drug Administration)

por lo que su uso en un producto farmacéutico es seguro.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las metodologías utilizadas para la obtención de la nueva forma sólida amorfa Sulfasalazina:*L*-arginina fueron la reacción de slurry (RS) y la reacción mecanoquímica por molienda (RM). La primera metodología consistió realizar una mezcla de estequiometría 1:1 Sulfasalazina:*L*-Arginina que se colocó en un vial provisto con un agitador magnético y se adicionaron unas gotas de agua como disolvente; la mezcla se agitó por 10 minutos y se secó por 24 horas a temperatura ambiente. La segunda metodología consistió en colocar la mezcla estequiométrica 1:1 Sulfasalazina:*L*-Arginina en un mortero de ágata para someterla a un proceso de molienda manual utilizando unas gotas de agua como disolvente hasta obtener una pasta uniforme que se secó a temperatura ambiente.

Los sólidos obtenidos de ambas metodologías se caracterizaron por difracción de rayos X de polvos (Difractómetro D2 Phaser de Bruker AXS con radiación $\text{Cu K}\alpha$ $\lambda=1.541 \text{ \AA}$ and detector SSD160 linkseye), espectroscopia de infrarrojo (FT-IR Nicolet iS50 de Thermo Scientific con ATR de cristal de diamante), microscopia Raman (Alpha-300M+ de Witec con láser Ne-He de 632 nm), calorimetría de barrido diferencial (DSC Q2000 de TA Instruments) y por análisis termogravimétrico (TGA Q50 de TA Instruments). Además, se determinó su velocidad de disolución intrínseca, su solubilidad termodinámica, su estabilidad física bajo condiciones controladas de humedad relativa (HR) y de temperatura (40°C, 0% HR; 50°C, 0% HR y; 40°, 50% HR) y en diferentes medios que simulan fluidos fisiológicamente relevantes como son buffers de fosfato a pH 6.8, de acetato a pH 4.5 y de ácido clorhídrico a pH 1.2 (todos los buffers se realizaron bajo las especificaciones la USP).⁹

Para el estudio de la velocidad de disolución, se utilizó un disolutor (SR8 plus Disolution test Station de Hanson) provisto de un equipo de Wood,¹⁰ en donde se colocó una pastilla elaborada con 150 mg del sólido amorfo obtenido y se comprimió con una fuerza de 60 Kg cm^{-2} . El estudio se realizó en un medio de buffer de fosfatos con un pH de 6.8 a 37°C, emulando un medio intestinal y agitando a 50 rpm. El monitoreo de la velocidad de disolución se realizó cada 3 min. hasta completar un tiempo de 60 min. y la determinación de la concentración por unidad de tiempo se realizó con un espectrofotómetro UV/Vis (S-3100 de Scinco) considerando el coeficiente de absorptividad del fármaco puro. Cabe mencionar que el mismo procedimiento se realizó con el fármaco puro, que sirvió como referencia.

Para los estudios de estabilidad en disoluciones que simulan medios fisiológicos, realizó una disolución sobresaturada tanto del fármaco como del co-amorfo obtenido y se dejaron en agitación magnética por 72 hrs; los sólidos resultantes se secaron y se analizaron por difracción de rayos X de polvos (DRXP) para determinar si la fase cambia o permanece sin modificación.

Para el estudio de estabilidad física indicativa a diferentes condiciones de temperatura y HR, se expusieron los sólidos a las condiciones indicadas arriba y el sólido resultante se analizó por difracción de rayos X de polvos para verificar su integridad.

Finalmente, para la prueba de solubilidad se realizaron disoluciones sobresaturadas del co-amorfo y del fármaco por separado y se monitoreó la cantidad de fármaco disuelto a las 24, 48 y 72 hrs. utilizando un espectrofotómetro UV/Vis y considerando el coeficiente de absorptividad del fármaco puro. Cabe mencionar que todos los análisis se realizaron por triplicado para asegurar su producibilidad y confiabilidad.

RESULTADOS

En la figura 2 se muestra la comparación de los difractogramas de Rayos X de polvos de los sólidos obtenidos por slurry y molienda y los difractogramas obtenidos de las materias primas (sulfasalazina y L-arginina) sometidas a las mismas condiciones de reacción, como se puede observar, Los difractogramas de las materias primas, muestran un patrón de difracción bien definido, mientras que los sólidos obtenidos por molienda y por slurry de las mezclas estequiométricas 1:1 sulfasalazina:L-arginina, muestran un halo difuso y sin picos de difracción.

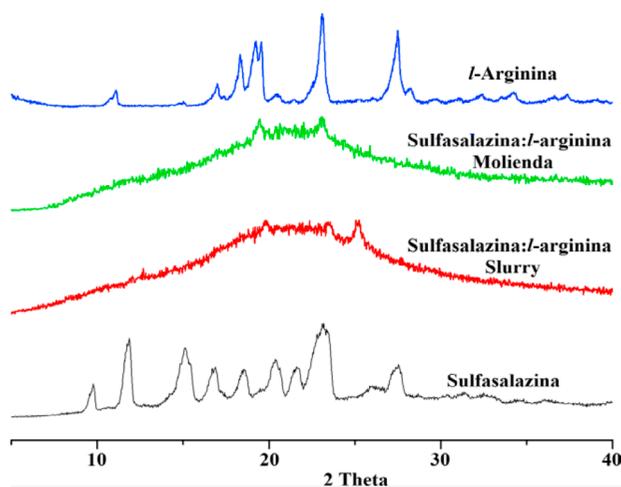


Figura 2.
Difractogramas de Rayos X de polvos.

Los espectros de FT-IR para las materias primas sulfasalazina y arginina; y el co-amorfo sulfasalazina:L-arginina se muestra en la figura 3, mientras que la asignación de las bandas vibracionales se observa en la tabla 1.

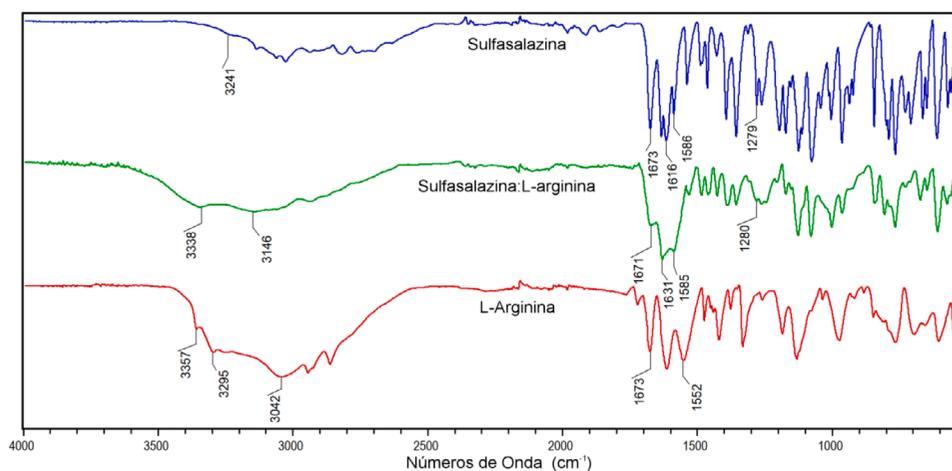


Figura 3.
Espectros de FT-IR.

Asignación	Sulfasalazina ¹¹	L-Arginina ¹²	Sulfasalazina:L-Arginina
ν (O-H) estiramiento	3241	-----	3338
ν (C=O) estiramiento	1673	-----	1671
ν (N-H) estiramiento	1616	-----	1631
ν (N=N) estiramiento	1586	-----	1585
ν (O=S=O) estiramiento	1279	-----	1280
ν (N-H) estiramiento NH ₂ amino	-----	3357	3338
ν (N-H) estiramiento Guanidina	-----	3295	3338
ν (O-H) estiramiento	-----	3042	3146
ν (C=O) estiramiento	-----	1673	1671
ν (N-H) flexión	-----	1555	1585

Tabla 1. Asignación de las bandas vibracionales de los grupos funcionales que pueden establecer puentes de hidrógeno. Valores en cm⁻¹.

Para el análisis por microscopía Raman, inicialmente se determinaron los espectros Raman del co-amorfo Sulfasalazina:L-Arginina (figura 4c) y las materias primas (figura 4a, L-Arginina y 4b Sulfasalazina). La figura 4d, muestra la imagen producida por el mapeo de la superficie de una tableta hecha de la fase co-amorfa con la finalidad de conocer la distribución de los componentes antes mencionados, considerando la obtención de un espectro raman cada 100 nm de una superficie total de 10 μm .

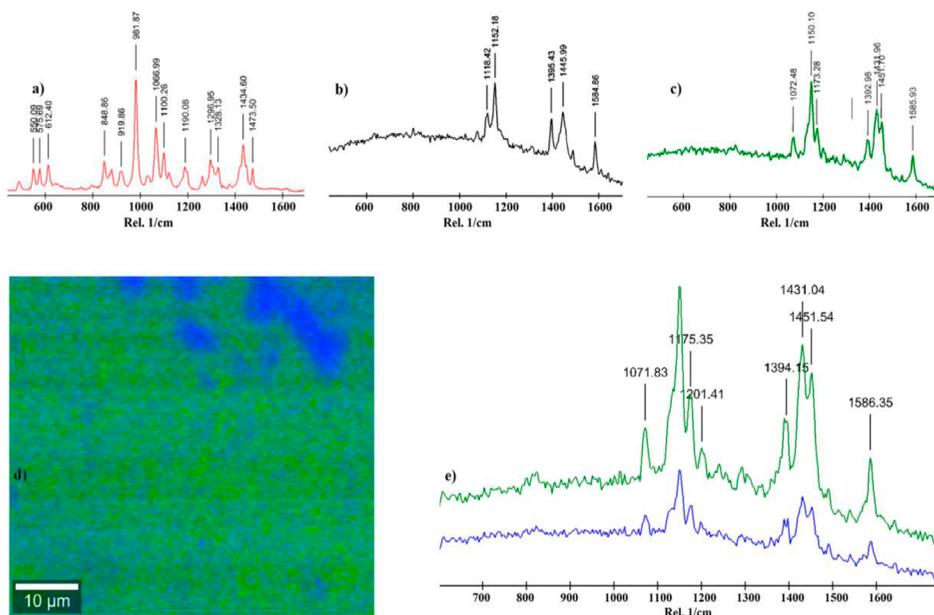


Figura 4. Espectros de microscopía Raman de: a) L-Arginina y b) Sulfasalazina y c) de la fase co-amorfa obtenida; abajo, d) imagen obtenida mapeo y e) espectros que corresponden a las zonas verde y azul de la imagen de mapeo.

En la imagen 4d se pueden observar dos colores, en donde el verde corresponde al espectro Raman del co-amorfo, mientras que las pequeñas regiones azules corresponden al mismo espectro obtenido de la zona verde y corresponden al espectro del co-amorfo de sulfasalazina:L-arginina, en donde la única diferencia entre ellos fue un nivel de ruido diferente atribuido al desenfoco del equipo, debido a la rugosidad propia de la pastilla.

El análisis térmico del co-amorfo de Sulfasalazina:L-Arginina incluyó estudios de calorimetría de barrido diferencial (DSC) y el análisis termogravimétrico (TGA). El termograma de DSC (figura 5a) se observa una discontinuidad de la línea base a 79.67 °C asignada a una transición vítrea, posteriormente a 223.7 °C se observa un evento exotérmico debido a la posible cristalización del sólido seguido de la fusión/descomposición a aproximadamente 280°C. Por otro lado, en el TGA (figura 5b) se observa a aproximadamente 70°C, una pérdida de masa del 5.53% del peso; además se observa otra pérdida del 15.89% del peso a aproximadamente a 160°C y finalmente, arriba de 200°C, se observa una pérdida de 48.21% peso.

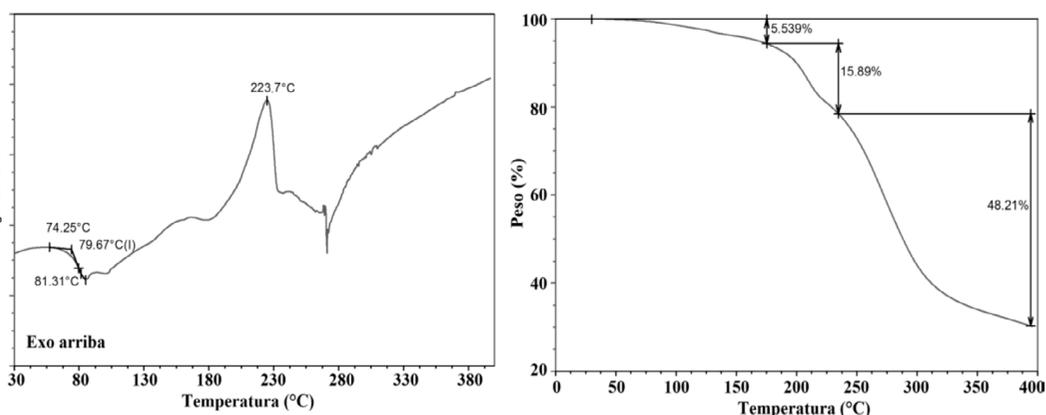


Figura 5. Termogramas de calorimetría de barrido diferencia DSC (a) y el análisis termogravimétrico TGA (b) de la nueva forma solida 1:1 Sulfasalazina:L-Arginina.

Por otro lado, la figura 6a, muestra los difractogramas obtenidos a partir de las pruebas de estabilidad indicativa, en donde se observa la comparación del difractograma de polvos inicial del co-amorfo y los difractogramas obtenidos después de haber sometido al co-amorfo a las condiciones ahí indicadas durante un mes. De igual manera, la figura 6b, muestra la comparación del difractograma inicial del co-amorfo y los difractogramas obtenidos después de haber sometido al co-amorfo a los medios fisiológicos ahí indicados, durante 24 hrs.

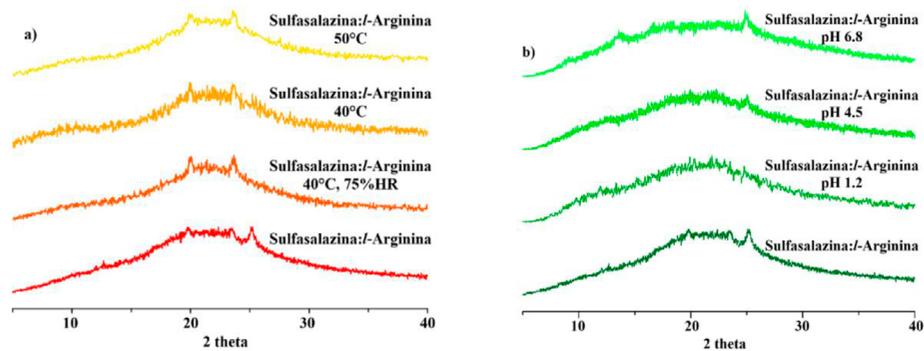


Figura 6. Difractogramas de rayos X de polvos de a) prueba de estabilidad indicativa del co-amorfo bajo diferentes condiciones de temperatura y HR y b) Prueba de estabilidad del co-amorfo a diferentes sometido 24h a diferentes medios fisiológicos al pH indicado.

Finalmente, el estudio de velocidad de disolución del co-amorfo de sulfasalazina:L-arginina (círculos rojos) en buffer de fosfato a pH de 6.8 y su comparación con la velocidad de disolución de la Sulfasalazina pura (cuadros naranja) se presenta en la figura 7; en donde, en el eje X se muestra el tiempo de monitoreo en minutos y en el eje Y la concentración en mgcm^{-2} de sulfasalazina y en el que se puede observar un incremento considerable de la velocidad de disolución con constantes de 3.9 y de 1.2 mgcm^{-2} para el co-amorfo de sulfasalazina:L-arginina y para sulfasalazina respectivamente. Además, se observa que la concentración en el último minuto de estudio (minuto 30) es aproximadamente tres veces mayor en co-amorfo con respecto a la Sulfasalazina pura.

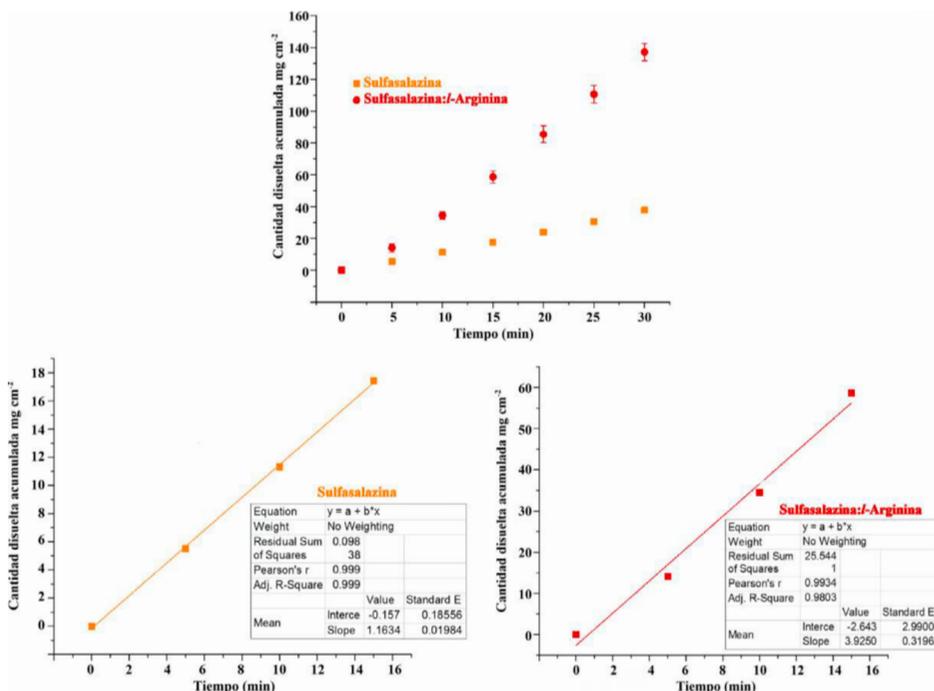


Figura 7. Gráfico de Arriba, velocidad de disolución a pH 6.8 a 37°C y 50 rpm. Gráficos de abajo, cálculos de la constante de disolución de Sulfasalazina y el co-amorfo sulfasalazina L-Arginina.

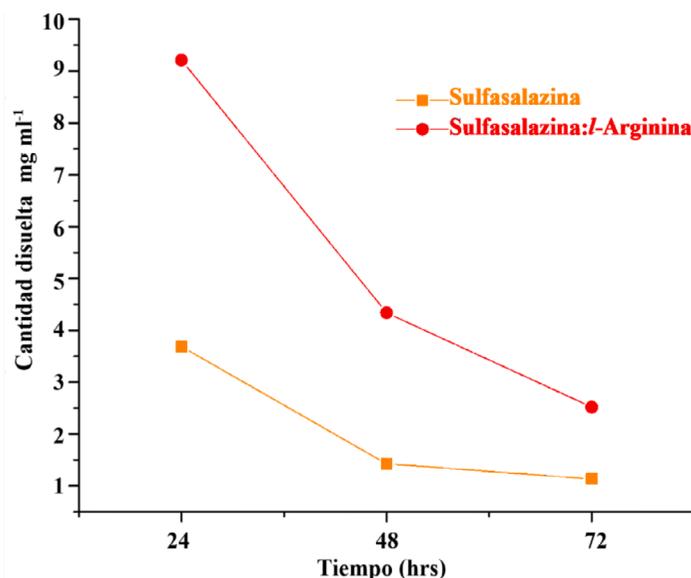


Figura 8.
Pruebas de solubilidad

En el mismo sentido, se realizaron pruebas de solubilidad para el co-amorfo (círculo rojo) y de sulfasalazina (cuadro naranja) y cuyos resultados se ilustran en la figura 8, en donde en el eje X se muestra el tiempo en horas y en el eje Y los mg mL^{-1} disueltos. Del análisis se observa un incremento considerable de la solubilidad de la fase co-amorfa con respecto a la Sulfasalazina libre en los tres tiempos monitoreados (24, 48 y 72 hrs). Este incremento, es similar al observado en la velocidad de disolución que es de aproximadamente tres veces más al fármaco libre.

DISCUSIÓN

La difracción de Rayos X de polvos (DRXP) es una técnica poderosa para la determinación del orden o desorden molecular en un sólido.¹³ Los patrones de difracción observados para sistemas cristalinos, muestran patrones de difracción con picos bien definidos, mientras que en sólidos amorfos en donde hay un bajo orden a largo alcance, los patrones de difracción son observados como una dispersión difusa con ausencia de reflexiones de Bragg, que comúnmente es referido como la aparición de un “halo” llamado residuo cristalino.¹⁴

Los sólidos resultantes de la reacción de slurry y la reacción en molienda de sulfasalazina:L-arginina 1:1 y las materias primas se analizaron por DRXP para determinar la naturaleza cristalina o amorfa del sólido como resultado de la interacción entre la sulfasalazina y las materias primas. En los difractogramas correspondientes a las materias primas (sulfasalazina y L-arginina) se observó un patrón de picos de difracción bien definidos que indican que las materias primas son cristalinas. Por el contrario, la ausencia de picos de difracción y la formación de un “halo” difuso en los difractogramas de slurry y molienda confirma la obtención de un sólido amorfo de sulfasalazina:L-arginina, es decir, la presencia del coformador en la mezcla sometida a slurry o molienda induce la completa amorfización de la sulfasalazina.

Si bien la difracción de rayos X de polvos es una técnica fundamental para determinar la cristalinidad o amorficidad de un sólido, no proporciona evidencia directa de las interacciones intermoleculares entre la sulfasalazina y la L-arginina. Para este propósito, se empleó la espectroscopía infrarroja, una técnica de caracterización altamente sensible a cambios estructurales

y conformacionales en los compuestos. En el caso de los co-amorfos, esta metodología ofrece información valiosa sobre las interacciones intermoleculares en el estado sólido,¹⁵ mediante el análisis de los desplazamientos en las bandas vibracionales asignadas a los grupos funcionales de la sulfasalazina y la L-arginina, que pueden participar en dichas interacciones.

Derivado de los espectros de infrarrojo se observa un ensanchamiento y pérdida en la definición de las bandas vibracionales en el espectro de IR del amorfo de sulfasalazina:L-arginina con respecto a las materias primas, esto es atribuido al inherente elevado grado de desorden molecular asociado a los sólidos amorfos,¹⁶ que es consistente con lo observado por DRXP. Además, el espectro de IR del amorfo de sulfasalazina:L-arginina, mostró un patrón de bandas vibracionales muy similar al de las materias primas, detectando desplazamientos significativos, en particular, las bandas asignadas a los estiramientos de los enlaces O-H y N-H en la sulfasalazina que exhibieron desplazamientos de $\Delta\nu=97\text{ cm}^{-1}$ y $\Delta\nu=15\text{ cm}^{-1}$, respectivamente. De manera análoga, en L-arginina se registraron desplazamientos de $\Delta\nu=19\text{ cm}^{-1}$ y $\Delta\nu=30\text{ cm}^{-1}$ para las bandas asignadas al estiramiento y la flexión del enlace N-H de los grupos amino y guanidina, respectivamente. Estos desplazamientos sugieren la presencia de interacciones intermoleculares fuertes en el complejo amorfo, en la sulfasalazina, dichas interacciones involucran principalmente el grupo amina de la sulfonamida y el hidroxilo fenólico, mientras que en la L-arginina, los grupos funcionales responsables de estas interacciones son la guanidina y la amina.

Por otro lado, las bandas vibracionales correspondientes a las vibraciones de los grupos carbonilo, sulfonilo y diazo en la sulfasalazina, así como del grupo ácido carboxílico en la L-arginina, presentaron desplazamientos mínimos ($\Delta\nu < 4\text{ cm}^{-1}$). Este comportamiento sugiere que estos grupos funcionales podrían estar involucrados en la formación de interacciones débiles dentro del amorfo. Es relevante destacar que, en la región espectral comprendida entre 1500 y 1590 cm^{-1} , no se detectaron nuevas bandas que pudieran atribuirse a las vibraciones C=O de carboxilatos aunado al pequeño desplazamiento observado ($\Delta\nu = 3\text{ cm}^{-1}$) para la banda vibracional correspondiente al enlace C=O del ácido carboxílico de la L-arginina sugiere que no hay una transferencia del protón ácido de la arginina a la sulfasalazina para formar una sal. Con base en estos resultados, se concluye la obtención de un co-amorfo de sulfasalazina: L-arginina.

Además de lo anterior se realizaron estudio de espectromicroscopia Raman que es una técnica poderosa para el estudio de la distribución espacial de mezclas físicas¹⁷ y la detección de fenómenos de separación de fase en sistemas co-amorfos.¹⁸ En una mezcla física de sulfasalazina y L-arginina, el mapeo Raman de la superficie de la pastilla contendría el espectro Raman de sulfasalazina y el de L-arginina. Sin embargo, la imagen obtenida del mapeo del co-amorfo sulfasalazina:L-arginina, muestra una amplia región en verde

que indica una alta homogeneidad de la muestra con pequeñas regiones en azul, sobre todo en la parte superior de la imagen. En donde de ambas regiones se determinó su espectro Raman (figura 4d) y se observó que los espectros eran los mismos, en donde la única diferencia entre ellos fue un nivel de ruido diferente atribuido al desenfoque del equipo, debido a la rugosidad propia de la pastilla; con base en esto, se concluyó que la nueva forma sólida amorfa es homogénea y no existen residuos de las materias primas.

Para concluir con la caracterización del co-amorfo de sulfasalacina:arginina, se llevó a cabo la caracterización térmica, conformada por estudios de calorimetría de barrido diferencial (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA). Uno de los fenómenos característicos de los sistemas amorfos es la transición vítrea (T_g), la cual representa el punto en el que el sólido amorfo adquiere propiedades de un "semisólido" con comportamiento similar al de un líquido. Por debajo de esta temperatura, el material amorfo se considera estable, con una baja tendencia a la cristalización. En general, una T_g más alta se asocia con una menor tendencia a la cristalización y una mayor estabilidad del co-amorfo.¹⁹

El termograma de DSC del co-amorfo sulfasalazina:L-arginina mostró un primer evento térmico correspondiente a la transición vítrea, la cual se observó a una temperatura relativamente alta (79.67 °C). Este valor indica que el co-amorfo permanecerá estable mientras no se alcance dicha temperatura. Además, la presencia de una única temperatura de transición vítrea (T_g) sugiere la formación de un sistema co-amorfo homogéneo,²⁰ en lugar de una mezcla física, lo que concuerda con los resultados obtenidos mediante espectroscopía Raman. Durante el evento de transición vítrea (T_g), el termograma de TGA registró una pérdida de peso del 5.53%, atribuida a la deshidratación de dos moléculas de agua. Este resultado sugiere que la fase analizada corresponde a un hidrato con una estequiometría 1:1:2 de sulfasalazina:L-arginina:agua.

Durante el evento de T_g el termograma de TGA, mostró una pérdida de peso del 5.53% que corresponde a la pérdida de dos moléculas de agua, este resultado sugiere que el co-amorfo analizado corresponde a un hidrato con estequiometría 1:1:2 de sulfasalazina:L-arginina:agua. Posterior a la deshidratación y la transición vítrea (T_g), el aumento en la movilidad molecular del co-amorfo conlleva un evento exotérmico a 223 °C, asociado con la cristalización de uno de los componentes de la mezcla sulfasalazina:L-arginina. De manera simultánea, el análisis termogravimétrico (TGA) indica que a esta temperatura se inicia una pérdida de masa del 15.89%, atribuida a la descarboxilación de la sulfasalazina y la L-arginina, para después descomponerse térmicamente los compuestos a 238°C.

En un sólido amorfo, de naturaleza metaestable, con el tiempo existe una tendencia a acercarse espontáneamente a su estructura de equilibrio por medio de un fenómeno denominado relajación estructural que es promovida por la movilidad molecular (movimientos vibratorios, rotacionales y traslacionales). A partir de los estudios de estabilidad indicativa bajo condiciones de calor seco a 40 °C y 50 °C así como 40 °C con 75% de HR, mostraron que el co-amorfo permaneció estable hasta por un mes bajo estas condiciones de calor y humedad, esto confirma que, a temperaturas por debajo a la Tg observada en el DSC, el co-amorfo permanecerá estable, además se puede concluir que las interacciones intermoleculares que establece sulfasalazina con la L-arginina pudieran estar restringiendo la movilidad molecular en el amorfo, lo que inhibe la tendencia a la separación del co-amorfo y su cristalización.²¹ A partir de los estudios de estabilidad del co-amorfo en contacto con medios fisiológicos, se observó una buena estabilidad del co-amorfo en todos los pH's utilizados, esto fue atribuido a que las interacciones intermoleculares formadas entre la sulfasalazina y la L-arginina, permanecen son tan fuertes que permanecen aún en presencia del medio fisiológico, esto resulta interesante, ya que una vez solubilizado el co-amorfo en el medio de disolución, si la interacción sulfasalazina:L-arginina permanece, se evitaría la precipitación de la sulfasalazina en el medio fisiológico, permitiendo que permanezca más tiempo solubilizado y disponible para su absorción por el organismo.

Debido a la baja eficiencia en el empaquetamiento de las moléculas en el sólido y al bajo orden molecular a largo alcance, los sólidos amorfos poseen una alta movilidad molecular y una alta energía potencial con respecto a la forma cristalina, y constituyen dos de sus más importantes propiedades de los sólidos amorfos que impactan directamente en las propiedades químicas y físicas en los fármacos, entre ellos la solubilidad y la velocidad de disolución de

estos.²² Como era de esperarse, se observó un incremento significativo tanto en la solubilidad como en la velocidad de disolución del co-amorfo de sulfasalazina en comparación con la forma cristalina del fármaco, lo cual evidencia que los sistemas amorfos presentan una mayor solubilidad relativa frente a sus contrapartes cristalinas.

El perfil de disolución de un co-cristal o co-amorfo generalmente se caracteriza por dos fenómenos: inicialmente, se presenta un “efecto resorte”, caracterizado por un aumento rápido y considerable en la concentración del fármaco disuelto; este es seguido por un “efecto paracaídas”, en el que la concentración disminuye progresivamente debido a la disociación de las interacciones fármaco:coformador.²³ Sin embargo, en muchos casos, estos efectos son transitorios y ocurren en los primeros minutos u horas tras la disolución, lo que impide mantener un estado de sobresaturación adecuado para una óptima absorción del principio activo. Un hallazgo relevante en este estudio es que, en el caso del co-amorfo sulfasalazina:L-arginina, el “efecto paracaídas” se prolonga hasta 24 horas después del inicio del experimento, decayendo gradualmente hasta las 72 horas. Este comportamiento respalda los resultados obtenidos en los ensayos de estabilidad en medios fisiológicos, donde se observó que la interacción entre sulfasalazina y L-arginina se mantiene en disolución, retardando la precipitación del fármaco y favoreciendo su permanencia en un estado sobresaturado durante un periodo prolongado.

CONCLUSIONES

En este trabajo se obtuvo un nuevo co-amorfo estable de sulfasalazina:L-arginina:agua en estequiometría 1:1:2. Esta fase se caracterizó completamente por las técnicas de difracción y espectroscópicas correspondientes para este tipo de sistemas y que indican que se trata de una fase sólida multicomponente amorfa con estequiome-

tria Sulfasalazina:L-Arginina:agua 1:1:2. Esta fase permanece estable bajo condiciones de temperatura de hasta 50°C sin humedad y de hasta 40°C con 75% de HR y, en disoluciones de buffers de pH 1.2, 4.5 y 6.8. Además, este co-amorfo mostró un incremento en la solubilidad y en la velocidad de disolución de aproximadamente tres veces con respecto al fármaco libre. De los resultados es evidente las potenciales aplicaciones de este tipo de estudios para la generación de nuevas fases solidas estables, **más solubles** y con una velocidad de disolución mayor, lo que puede traer como consecuencia una biodisponibilidad mayor, un requerimiento menor de dosis, una disminución de efectos colaterales y una mejora en la relación costo beneficio, todo esto sin alterar la estructura química del fármaco y por ende su efecto terapéutico.

Reconocimientos

A los Laboratorios Senosiain S.A. de C.V. por el apoyo otorgado para realizar estos estudios.

REFERENCIAS

1. Byrn SR et al. Solid-State Properties of Pharmaceutical Materials, 1st edn. New Delhi: John Wiley & Sons, 2017. b) Hilfiker R, Blatter F. Relevance of Solid-state Properties for Pharmaceutical Products, Chap 1. In Hilfiker R, ed. Polymorphism: in the Pharmaceutical Industry. Weinheim: Wiley-VCH GmbH & Co, 2006:1-19.
2. Aaltonen J, Rades T. Towards Physico-Relevant Dissolution Testing: The Importance of Solid-State Analysis in Dissolution. Dissol Tech 2009; 16: 47-54.
3. Hancock B C, Zografi G J. Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems. Pharm. Sci. 1997, 86(1), 1-12.
4. Yu L. Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization. Adv. Drug Delivery Rev. 2001; 48(1): 27-42.
5. Löbmann K, Laitinen R, Grohganz H, Gordon K C, Strachan C, Rades T. Coamorphous Drug Systems: Enhanced Physical Stability and Dissolution Rate of Indomethacin and Naproxen. Mol. Pharmaceutics. 2011; 8(5): 1919-1928.
6. Laitinena R, Löbmann K, Strachana C J, Grohganzb H, Rades T. Emerging trends in the stabilization of amorphous drugs. Int. J. Pharm. 2013; 453(1): 65-79.

7. Dengele S J, Grohganz H, Rades T, Löbmann K. Recent Advances in Co-amorphous Drug Formulations. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2016; 100: 116-125.
8. Choi J, Patel P, Fenando A. Sulfasalazine. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557809/>
9. The United States Pharmacopeia. National Formulary 36. Vol. 1. Rockville (MD: United State Pharmacopeial Convention; 2018. Test Solutions; p. 5676.
10. Wood J H, Syarto J E, Letterman H. Improved Holder for Intrinsic Dissolution Rate Studies. *J. Pharm. Sci.* 1965; 54(7): 1068-1068.
11. Safa A N, Sheibani A, Baei M T, Sayyed-Alangi S Z, Tazikeh Lemeski E. Theoretical and experimental studies on sulfasalazine interactions with poly (lactic acid): Impact of hydrogen bonding and charge transfer interactions on molecular structure, electronic and optical properties. *Heliyon.* 2023 16; 10(1): e23813.
12. Roda A, Santos F, Chua Y Z, Kumar A, Do H T, Paiva A, Duarte A R C, Held C. Unravelling the nature of citric acid:l-arginine:water mixtures: the bifunctional role of water. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2021; 23: 1706-1717.
13. Bunaciu A A, Udriştioiu E G, Aboul-Enein H Y. X-Ray diffraction: Instrumentation and Applications. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2015; 45: 289-299.
14. Thakral S, Terban M W, Thakral N K, Suryanarayanan R. Recent advances in the characterization of amorphous pharmaceuticals by X-ray diffractometry. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2016; 100: 183-193.
15. Kaushal A M, Chakraborti A K, Bansal K. FTIR Studies on Differential Intermolecular Association in Crystalline and Amorphous States of Structurally Related Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Mol. Pharmaceutics.* 2008; 5(6): 937-945.
16. Han Y, Pan Y, Lv J, Guo W, Wang J. Powder Grinding preparation of co-amorphous β -azelnidipine and maleic acid combination: Molecular interactions and physicochemical properties. *Powder Technol.* 2016; 291: 110-120.
17. Widjaja E, Sampanthar J T, Ding Han X, Goh E. Use of Raman microscopy and band-target entropy minimization technique to differentiate physical mixture from chemical mixture in mixed metal oxides. *Catal. Today.* 2008; 131(1-4):21-27.

18. Kilpeläinen T, Pajula K, Ervasti T, Uurasjärvi E, Koistinen A, Korhonen O. Raman imaging of amorphous-amorphous phase separation in small molecule co-amorphous systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2020; 155:49-54
19. Suresh K, Chaitanya Mannava M K, Nangia, A. A novel curcumin–artemisinin coamorphous solid: physical properties and pharmacokinetic profile. *RSC Adv.* 2014; 4: 58357-58361.
20. Chiou W L, Riegelman S. A Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. *J. Pharm. Sci.* 1971; 60(9): 1281–1302.
21. a) Kaushal A M, Chakraborti A K, Bansal A K. FTIR Studies on Differential Intermolecular Association in Crystalline and Amorphous States of Structurally Related Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Mol. Pharmaceutics.* 2008; 5(6): 937-945. b) Kaushal A M; Bansal A K. Thermodynamic behavior of glassy state of structurally related compounds. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008, 69,1067-1076.
22. Babu N J, Nangia, A. Solubility Advantage of Amorphous Drugs and Pharmaceutical Cocrystals. *Cryst. Growth Des.* 2011; 11(7): 2662-2679.
23. Bavishi D D, Borkhataria C H. Spring and parachute: How cocrystals enhance solubility. 2016; 62(3): 1-8. b) Fujita.