



# **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

## **FACULTAD DE FARMACIA**

**“Obtención de nuevas fases sólidas de fenbendazol y  
evaluación de propiedades biofarmacéuticas”**

**TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MAESTRO EN FARMACIA**

**PRESENTA:**

**L.F. ANDRÉS LÓPEZ VELÁZQUEZ**

**DIRECTORA DE TESIS  
DRA. DEA HERRERA RUIZ**

**DIRECTOR DE TESIS  
DR. HUGO MORALES ROJAS**

**Cuernavaca Morelos noviembre 2021**

# Índice

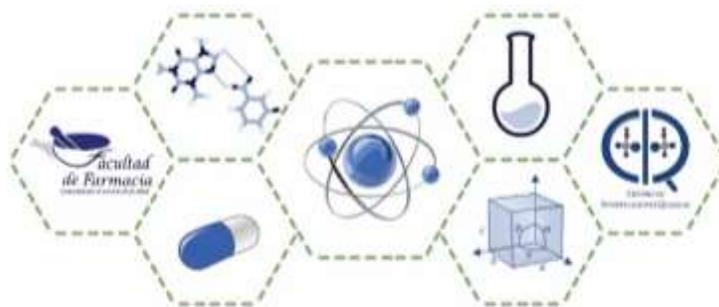
<b>Abreviaturas</b> .....	6
<b>Lista de Figuras</b> .....	8
<b>Lista de Anexos</b> .....	10
<b>Lista de Tablas</b> .....	12
<b>Lista de Graficas</b> .....	13
<b>1. Resumen</b> .....	15
<b>2. Abstract</b> .....	16
<b>3. Marco teórico</b> .....	18
3.1. Parasitología veterinaria .....	18
3.2. Helmintos .....	18
3.3. Helmintiasis .....	19
3.4. Distribución geográfica nematodos y cestodos .....	20
3.5. Impacto económico por nematodos y cestodos en el sector pecuario .....	22
3.6. Antihelmínticos .....	23
3.7. Benzimidazoles .....	25
3.8. Fenbendazol .....	26
3.8.1. Ruta metabólica .....	26
3.8.2. Espectro de actividad .....	28
3.8.3. Características y propiedades fisicoquímicas .....	29
3.8.4. Farmacodinamia .....	30
3.8.5. Farmacocinética .....	31
3.8.6. Efectos adversos y tóxicos.....	33
3.8.7. Presentación comercial .....	33
3.9. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.....	35
3.10. Ingeniería de cristales y nuevas fases sólidas farmacéuticas.....	36
3.10.1. Cocristales farmacéuticos .....	37
3.10.2. Sales farmacéuticas .....	38
3.10.3. Formación de una sal o cocrystal farmacéutico.....	39
3.11. Métodos de obtención de nuevas fases solidas.....	40
3.11.1. Molienda mecanoquímica en seco y asistida con disolvente .....	41
3.11.2. Formación de pasta (slurry) .....	41

3.11.3.	Reacción de cristalización .....	41
3.12.	Técnicas de caracterización física de nuevas fases solidas .....	42
3.12.1.	Difracción de rayos X de polvos (DRXP) y difracción de rayos X de monocristal (DRXMC) 42	
3.12.2.	Espectroscopia infrarroja (IR).....	43
3.12.3.	Análisis térmico: calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico .....	44
3.13.	Técnicas de caracterización biofarmacéutica de nuevas fases solidas .....	46
3.13.1.	Estabilidad .....	46
3.13.2.	Transformación de fase mediada por la solución .....	47
3.13.3.	Solubilidad .....	47
3.13.4.	Disolución de polvos .....	49
3.14.	Inducción de la sobresaturación y modulación de la transformación de fase.....	49
<b>4.</b>	<b>Justificación</b> .....	<b>52</b>
<b>5.</b>	<b>Hipótesis</b> .....	<b>53</b>
<b>6.</b>	<b>Objetivos</b> .....	<b>53</b>
6.1.	Objetivo general.....	53
6.2.	Objetivos específicos.....	53
<b>7.</b>	<b>Materiales y metodología</b> .....	<b>54</b>
7.1.	Reactivos .....	54
7.2.	Materiales .....	54
7.3.	Equipo .....	55
7.4.	Metodología .....	56
7.4.1.	Análisis supramolecular del IFA.....	57
7.4.2.	Caracterización física del IFA.....	57
7.4.3.	Elección de coformadores.....	57
7.4.4.	Generación de NFS.....	57
7.4.4.1.	Método de formación de pasta asistida con disolvente (Slurry) .....	58
7.4.4.2.	Método de molienda mecánica asistida con disolvente.....	58
7.4.5.	Caracterización de fenbendazol y NFS .....	58
7.4.5.1.	Análisis por Difracción de Rayos X de Polvos (DRXP) .....	58
7.4.5.2.	Análisis térmico de Calorimetría Diferencial de Barrido acoplado a Termogravimetría (DSC-TGA).....	59
7.4.5.3.	Caracterización espectroscópica.....	59
7.4.5.3.1.	Espectroscopia de infrarrojo .....	59

7.4.6.	Caracterización biofarmacéutica.....	59
7.4.6.1.	Estabilidad indicativa.....	59
7.4.6.2.	Transformación de fase mediada por la solución .....	60
7.4.6.3.	Desarrollo y validación de método de cuantificación mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) .....	60
7.4.6.4.	Constante eutéctica y ventaja de solubilidad .....	61
7.4.6.5.	Disolución de polvos bajo condiciones <i>no-sink</i> .....	61
<b>8.</b>	<b>Resultados y Discusión .....</b>	<b>62</b>
8.1.	Caracterización fisicoquímica fenbendazol.....	62
8.1.1.	Difracción de Rayos X de Polvos (DRXP) fenbendazol.....	63
8.1.2.	Análisis térmico de DSC-TGA fenbendazol.....	64
8.1.3.	Espectroscopia de infrarrojo (IR) fenbendazol.....	65
8.1.4.	Resonancia magnética de protón (RMN <sup>1</sup> H) fenbendazol.....	66
8.1.5.	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono (RMN <sup>-13</sup> C) fenbendazol.....	67
8.2.	Elección de coformadores.....	68
8.3.	Análisis de $\Delta pK_a$ para la formación de sales o cocrystalos .....	68
8.4.	Generación y caracterización de NFS de Fenbendazol .....	71
8.4.1.	Identificación de NFS.....	71
8.5.	Caracterización fisicoquímica de NFS de Fenbendazol .....	82
8.5.1.	Análisis térmico: análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC) .....	82
8.5.2.	Espectroscopia infrarroja (IR).....	86
8.6.	Caracterización biofarmacéutica de NFS de Fenbendazol.....	92
8.6.1.	Estabilidad indicativa.....	92
8.6.2.	Transformación de fase mediada por la solución .....	95
8.6.3.	Desarrollo y validación de método de cuantificación mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) .....	100
8.6.4.	Constante eutéctica y ventaja de solubilidad .....	102
8.6.5.	Disolución de polvos bajo condiciones <i>no-sink</i> pH 1.2 .....	106
8.6.6.	Disolución de polvos bajo condiciones <i>no-sink</i> pH 6.8 .....	109
8.6.7.	Evaluación de la influencia de polímeros en la supersaturación de cocrystalos .....	111
<b>9.</b>	<b>Conclusiones .....</b>	<b>114</b>
<b>10.</b>	<b>Anexos.....</b>	<b>116</b>
<b>11.</b>	<b>Bibliografía.....</b>	<b>134</b>

## El presente trabajo se desarrolló en:

La síntesis de las nuevas fases sólidas de fenbendazol, la caracterización fisicoquímica y su evaluación biofarmaceutica, se realizaron de manera conjunta en el “Laboratorio 2: Biofarmacia y Farmacia Molecular” de la Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección de la Dra. Dea Herrera Ruiz y en el “Laboratorio 221: Química Supramolecular” del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ), Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección del Dr. Hugo Morales Rojas. Estos laboratorios son parte del “Grupo Interdisciplinario de Investigación en Química y Farmacia del Estado Sólido”.



## Abreviaturas

**25DHB** Ácido 2,5-dihidroxibenzoico

**26DHB** Ácido 2,6-dihidroxibenzoico

**ABC** Área Bajo la Curva

**ABZ** Albendazol

**ACT** Acetona

**AEMPS** Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios

**BZ** Benzimidazoles

**CLAR** Cromatografía Líquida de Alta Resolución

**C<sub>max</sub>** concentraciones máximas

**CYP450** Isoformas de citocromos P450

**CSD** The Cambridge Structural Database (por sus siglas en inglés)

**CV** Coeficiente de Variación

**C=O** Carbonilo

**DRXMC** Difracción de Rayos X de Monocristal

**DRXP** Difracción de Rayos X de Polvos

**DSC** Calorimetría diferencial de barrido (Traducción del inglés)

**FBZ** Fenbendazol

**FBZSO<sub>2</sub>** Sulfona de fenbendazol

**FBZ-OH** Hidróxido de fenbendazol

**FDA** Food and Drug Administration (por sus siglas en inglés)

**FMO** Monooxigenasa de flavina (Traducción del inglés)

**GRAS** Generalmente reconocido como seguro (Traducción del inglés)

**H<sub>2</sub>O** Agua

**H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>** Ácido fosfórico

**HCl** Ácido clorhídrico

**IFA** Ingrediente Farmacéutico Activo

**IR** Infrarrojo

**IUPAC** Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (Traducción del inglés)

**$K_{eut}$**  Constante eutéctica

**$K_{sp}$**  Producto de solubilidad (Traducción del inglés)

**LC** Limite de cuantificación

**Na<sup>+</sup>** Contra ion sodio

**NFS** Nueva Fase Sólida

**NGE** Nematodos gastroentéricos

**N-H** Amina

**NOM** Norma Oficial Mexicana

**RCOO<sup>-</sup>** Ion carboxilato

**R<sup>2</sup>** Coeficiente de Regresión

**RBZ** Ricobendazol

**RCOO<sup>-</sup>** Ion carboxilato

**RMN** Resonancia Magnética Nuclear

**SA** Ventaja de solubilidad (Traducción del inglés)

**SCB** Sistema de Clasificación Biofarmacéutica

**TGA** Análisis Termogravimétrico (Traducción del inglés)

**UV-Vis** Ultravioleta-Visible

## Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1 Izquierda, trematodo Fasciola hepática. Centro, cestodo Taenia hydatigena. Derecha, nematodo Toxocaris canis. (Boylu, 2019) (Veterinaria, 2019).....	19
Figura 2 Distribución geográfica donde en estudios se ha mencionado “nematodos gastroentéricos en bovinos” (Over, 1992) .....	21
Figura 3 Distribución geográfica donde se han reportado estos nematodos gastroentéricos en borregos y cabras (Over, 1992) .....	21
Figura 4 Distribución de Cysticercus cellulosae en porcinos (amarillo) y Coenurus spp. en borregos (azul) en países en desarrollo. (Over, 1992).....	22
Figura 5 Estructura molecular Fenbendazol (FBZ) .....	26
Figura 6 Ruta metabólica del Fenbendazol (FBZ) (Gokbulut, 2007).....	27
Figura 7 Diagramas de distribución de especies de FBZ en función del pH (Chemicalize, 2019) ...	30
Figura 8 Representación esquemática de la disposición de fármacos benzimidazoles en rumiantes (Hennessy, 1993).....	31
Figura 9 Presentación comercial de Fenbendazol (Actuol polvo 4% y granulado 22%) (SENOSIAN, 2019) .....	34
Figura 10 Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (Amidon, 1995).....	35
Figura 11 Clasificación de formas sólidas de un ingrediente farmacéutico activo. (Saucedo, 2014).....	37
Figura 12 Homosíntones supramoleculares: (a) homosintón de ácido carboxílico como dímeros y (b) homosintón de amida como dímeros. Heterosíntones: supramoleculares (c) ácido carboxílico-amida (d) ácido carboxílico-piridina. (Duggirala, 2016) .....	38
Figura 13 Representación esquemática de los métodos para la formación de cocristales. (Karagianni, 2018) .....	40
Figura 14 Representación de la geometría utilizada para la derivación simplificada de la ley de Bragg.(Dinnebier, 2008) .....	43
Figura 15 Efecto resorte paracaídas para alcanzar alta solubilidad aparente en IFA´s insolubles. (1) Cristal (estable) forma con baja solubilidad. (2) Especie con vida metaestable media, muestra gran solubilidad, pero cae rápidamente en la forma menos soluble. (3) Concentraciones de IFA se mantienen durante más tiempo en la zona metaestable (Bavishi, 2016) .....	50
Figura 16 Molécula de fenbendazol. Los átomos de los grupos potenciales aceptores de puentes de hidrógeno en color rojo y los átomos de los grupos potenciales donadores de puentes de hidrógeno en color azul.....	62
Figura 17 Patrón de DRXP de Fenbendazol.....	63
Figura 18 Curvas de DSC-TGA de Fenbendazol. Curva de TGA (azul) y curva de DSC (verde). .....	64
Figura 19 Espectro de IR del Fenbendazol .....	65
Figura 20 Espectro de RMN- <sup>1</sup> H de Fenbendazol .....	66
Figura 21 Espectro RMN - <sup>13</sup> C de fenbendazol .....	67
Figura 22 Comparación de patrones de DRXP de <b>a)</b> FBZ, <b>b)</b> ácido 2,5-dihidroxibenzoico (25DHB), productos por el método de slurry de la mezcla de FBZ:25DHB estequiometría 1:1 en los disolventes de <b>c)</b> ACT y <b>d)</b> H <sub>2</sub> O. Productos por el método de molienda mecánica asistida por disolvente de la mezcla de FBZ:25DHB estequiometría 1:1 en los disolventes de <b>e)</b> ACT y <b>f)</b> H <sub>2</sub> O .	72

Figura 23 Comparación de patrones de DRXP de <b>a)</b> FBZ, <b>b)</b> ácido gálico y productos por el método de slurry de la mezcla de FBZ: ácido gálico estequiometría 1:1 en los disolventes de <b>c)</b> ACT y <b>d)</b> H <sub>2</sub> O. Productos por el método de molienda mecánica asistida por disolvente de la mezcla de FBZ: ácido gálico estequiometría 1:1 en los disolventes de <b>e)</b> ACT y <b>f)</b> H <sub>2</sub> O. ....	72
Figura 24 Comparación de patrones de DRXP de <b>1a)</b> FBZ, FBZ por el método de slurry en los disolventes de <b>1b)</b> ACT y <b>1c)</b> H <sub>2</sub> O. FBZ por el método de molienda mecánica asistida por disolvente en los disolventes de <b>1e)</b> ACT y <b>1f)</b> H <sub>2</sub> O. <b>2a)</b> 25DHB, 25DHB por el método de slurry en los disolventes de <b>2b)</b> ACT y <b>2c)</b> H <sub>2</sub> O. 25DHB por el método de molienda mecánica asistida por disolvente en los disolventes de <b>2e)</b> ACT y <b>2f)</b> H <sub>2</sub> O. ....	77
Figura 25 Comparación de patrones de DRXP de <b>a)</b> FBZ, <b>b)</b> ácido oxálico anhidro <b>c)</b> NFS FBZ-ácido oxálico anhidro, <b>d)</b> ácido oxálico anhidro por el método de slurry en ACT, <b>e)</b> ácido oxálico anhidro por el método de molienda mecánica asistida por disolvente en ACT, <b>f)</b> ácido oxálico anhidro por el método de molienda mecánica sin disolvente, <b>g)</b> ácido oxálico dihidratado reportado en el grupo .....	79
Figura 26 Comparación de patrones de DRXP de <b>a)</b> FBZ, <b>b)</b> ácido malónico, y productos por el método de molienda mecánica asistida por disolvente (H <sub>2</sub> O) de la mezcla de FBZ:25DHB estequiometría <b>c)</b> 1:1 <b>d)</b> 1:2 y <b>e)</b> 2:1.....	80
Figura 27 Comparación de patrones de DRXP de <b>a)</b> FBZ, <b>b)</b> 26DHB, <b>c)</b> NFS FBZ 26DHB por el método de molienda mecánica asistida por disolvente (ACT) 50 mg, <b>d)</b> escalamiento NFS FBZ 26DHB por el método de molienda mecánica asistida por disolvente (ACT) 500 mg .....	81
Figura 28 Curvas TGA-DSC de a) FBZ, b) ácido malónico y c) NFS FBZ-ácido malónico 1:2 .....	83
Figura 29 Curvas TGA-DSC de a) FBZ, b) 26DHB y c) NFS FBZ-26DHB 1:1 .....	84
Figura 30 Comparación de curvas TGA de FBZ- <b>a)</b> , NFS aromáticas; y NFS FBZ-25DHB sesquihidrato 1:1 <b>b)</b> y NFS FBZ-26DHB 1:1 <b>c)</b> ( <b>izquierda</b> ). NFS alifáticas; NFS FBZ-ácido malónico 1:2 <b>b)</b> , NFS FBZ-ácido D-tartárico 1:1 <b>c)</b> y NFS FBZ- ácido oxálico anhídrido 1:1 <b>d)</b> ( <b>derecha</b> ) .....	85
Figura 31 Comparación de espectros de IR de a) FBZ, b) ácido malónico y c) NFS FBZ- ácido malónico.....	87
Figura 32 Comparación de espectros de IR de a) FBZ, b) 26DHB y c) NFS FBZ-26DHB.....	89
Figura 33 Comparación de espectros de IR de a) FBZ, b) NFS FBZ- ácido oxálico anhídrido 1:1, c) NFS FBZ- ácido D-tartárico 1:1, d) NFS FBZ-ácido malónico 1:2, e) NFS FBZ-26DHB 1:1 y f) NFS FBZ-25DHB sesquihidrato 1:1.....	91
Figura 34 Comparación de patrones de DRXP de NFS ( <b>1, izquierda</b> ) FBZ- ácido oxálico anhidro (1:1) y ( <b>2, derecha</b> ) FBZ- ácido D-tartárico (1:1). ( <b>a</b> ) NFS; y NFS después de 1 mes de incubación a <b>b)</b> 50 °C, 0% HR; <b>c)</b> 40 °C, 0% HR y <b>d)</b> 40 °C, 75% HR.....	93
Figura 35 Comparación de patrones de DRXP de NFS ( <b>1, izquierda</b> ) FBZ-25DHB anhidra (1:1) y ( <b>2, derecha</b> ) FBZ-25DHB sesquihidratada (1:1)). <b>a)</b> NFS; y NFS después de 1 mes de incubación a <b>b)</b> 50 °C, 0% HR, <b>c)</b> 40 °C, 0% HR y <b>d)</b> 40 °C, 75% HR. <b>e)</b> NFS FBZ-25DHB anhidra. ....	94
Figura 36 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ (t=0 min) y del producto de FBZ en contacto con la solución en pH 1.2 ( <b>izquierda</b> ) y pH 6.8 ( <b>derecha</b> ) a los <b>b)</b> 5 minutos, <b>c)</b> 1 hora, <b>d)</b> 6 horas, <b>e)</b> 10 horas y <b>f)</b> 24 horas.....	96
Figura 37 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) ácido oxálico anhidro y c) NFS FBZ-ácido oxálico anhidro y los productos de la transformación de fase mediada por la solución en pH 1.2 ( <b>izquierda</b> ) y pH 6.8 ( <b>derecha</b> ) a los <b>d)</b> 5 minutos, <b>e)</b> 1 hora, <b>f)</b> 6 horas, <b>g)</b> 10 horas y <b>h)</b> 24 horas. 97	

Figura 38 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) 26DHB y c) NFS FBZ-26DHB y de los productos de transformación de fase mediada por la solución en pH 1.2 ( <b>izquierda</b> ) y pH 6.8 ( <b>derecha</b> ) a los <b>d</b> ) 5 minutos, <b>e</b> ) 1 hora 1 hora, <b>f</b> ) 6 horas, <b>g</b> ) 10 horas y <b>h</b> ) 24 horas.....	98
Figura 39 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) 25DHB y c) NFS FBZ-25DHB anhidra y productos de transformación de fase mediada por la solución en pH 1.2 ( <b>izquierda</b> ) y pH 6.8 ( <b>derecha</b> ) a los <b>d</b> ) 5 minutos, <b>e</b> ) 1 hora 1 hora, <b>f</b> ) 6 horas, <b>g</b> ) 10 horas y <b>h</b> ) 24 horas. <b>i</b> ) Patrón de DRXP de la NFS FBZ-25DHB sesquihidrato. ....	99
Figura 40 Cromatogramas de FBZ con coformadores aromáticos, 25DHB y 26DHB.....	101
Figura 41 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-26DHB ( <b>1a</b> ), NFS FBZ-25DHB anhidra ( <b>2a</b> ) y NFS FBZ-25DHB sesquihidratada ( <b>3a</b> ), FBZ ( <b>1b</b> , <b>2b</b> y <b>3b</b> ) y productos de experimento de constante eutéctica (Ke) ( <b>1c</b> , <b>2c</b> y <b>3c</b> ) primer triplicado, ( <b>1d</b> , <b>2d</b> y <b>3d</b> ) segundo triplicado y ( <b>1e</b> , <b>2e</b> y <b>3e</b> ) tercer triplicado en pH 1.2 . <b>2 f</b> ) NFS FBZ-25DHB sesquihidratada.....	103
Figura 42 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-26DHB ( <b>1a</b> ), NFS FBZ-25DHB anhidra ( <b>2a</b> ) y NFS FBZ-25DHB sesquihidratada ( <b>3a</b> ), FBZ ( <b>1b</b> , <b>2b</b> y <b>3b</b> ) y productos de experimento de constante eutéctica (Ke) ( <b>1c</b> , <b>2c</b> y <b>3c</b> ) primer triplicado, ( <b>1d</b> , <b>2d</b> y <b>3d</b> ) segundo triplicado y ( <b>1e</b> , <b>2e</b> y <b>3e</b> ) tercer triplicado en pH 6.8. <b>2 f</b> ) NFS FBZ-25DHB sesquihidratada.....	104

## Lista de Anexos

Anexo 1 Curvas TGA-DSC de a) FBZ, b) ácido oxálico anhidro y c) NFS FBZ- ácido oxálico anhidro 1:1.....	116
Anexo 2 Curvas TGA-DSC de a) FBZ, b) ácido tartárico y c) NFS FBZ- ácido tartárico 1:1 .....	116
Anexo 3 Curvas TGA-DSC de a) FBZ, b) 25DHB y c) NFS FBZ- 25DHB sesquihidrato 1:1 .....	117
Anexo 4 Comparación de espectros de IR de a) FBZ, b) ácido oxálico anhidro y c) NFS FBZ- ácido oxálico anhidro.....	117
Anexo 5 Comparación de espectros de IR de a) FBZ, b) ácido D-tartárico y c) NFS FBZ- ácido D-tartárico.....	118
Anexo 6 Comparación de espectros de IR de a) FBZ, b) 25DHB y c) NFS FBZ-25DHB sesquihidrato .....	118
Anexo 7 Comparación de patrones de DRXP de NFS ( <b>1, izquierda</b> ) FBZ-ácido malónico (1:2) y ( <b>2, derecha</b> ) FBZ-26DHB (1:1). <b>a</b> ) NFS, y NFS después de 1 mes de incubación a <b>b</b> ) 50 °C, 0% HR, <b>c</b> ) 40 °C, 0% HR y <b>d</b> ) 40 °C, 75% HR. ....	119
Anexo 8 Comparación de patrones de DRXP de FBZ ( <b>1, izquierda</b> ) y ácido oxálico anhidro ( <b>2, derecha</b> ). <b>a</b> ) FBZ, y ácido oxálico anhidro después de 1 mes de incubación a <b>b</b> ) 50 °C, 0% HR, <b>c</b> ) 40 °C, 0% HR y <b>d</b> ) 40 °C, 75% HR. <b>e</b> ) ácido oxálico dihidratado reportado en el grupo de investigación. ....	119
Anexo 9 Comparación de patrones de DRXP de 26DHB ( <b>1, izquierda</b> ) y 25DHB ( <b>2, derecha</b> ). <b>a</b> ) 26DHB, y 25DHB después de 1 mes de incubación a <b>b</b> ) 50 °C, 0% HR, <b>c</b> ) 40 °C, 0% HR y <b>d</b> ) 40 °C, 75% HR. ....	119
Anexo 10 Comparación de patrones de DRXP de ácido D-tartárico ( <b>1, izquierda</b> ) y ácido malónico ( <b>2, derecha</b> ). <b>a</b> ) 26DHB, y 25DHB después de 1 mes de incubación a <b>b</b> ) 50 °C, 0% HR, <b>c</b> ) 40 °C, 0% HR y <b>d</b> ) 40 °C, 75% HR. ....	120

Anexo 11 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) ácido D-tartárico y c) NFS FBZ-ácido D-tartárico y los productos de transformación de fase mediada por la solución en pH 1.2 ( <b>izquierda</b> ) y pH 6.8 ( <b>derecha</b> ) a los <b>d</b> ) 5 minutos, <b>e</b> ) 1 hora, <b>f</b> ) 6 horas, <b>g</b> ) 10 horas y <b>h</b> ) 24 horas.....	120
Anexo 12 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) ácido malónico y c) NFS FBZ-ácido malónico y productos de la transformación de fase mediada por la solución en pH 1.2 ( <b>izquierda</b> ) y pH 6.8 ( <b>derecha</b> ) a los <b>d</b> ) 5 minutos, <b>e</b> ) 1 hora, <b>f</b> ) 6 horas, <b>g</b> ) 10 horas y <b>h</b> ) 24 horas. ....	120
Anexo 13 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) 25DHB y c) NFS FBZ-25DHB sesquihidrato y productos de transformación de fase mediada por la solución en pH 1.2 ( <b>izquierda</b> ) y pH 6.8 ( <b>derecha</b> ) a los <b>d</b> ) 5 minutos, <b>e</b> ) 1 hora, <b>f</b> ) 6 horas, <b>g</b> ) 10 horas y <b>h</b> ) 24 horas. ....	121
Anexo 14 Espectro UV-Vis de FBZ, 25DHB, 26DHB, mezcla física de FBZ con 25DHB y mezcla física de FBZ con 26DHB.....	122
Anexo 15 Curva de regresión ajustada fenbendazol, 25DHB y 26DHB.....	122
Anexo 16 Reportes cromatográficos de la prueba de adecuabilidad por CLAR para FBZ y coformadores aromáticos, 25DHB y 26DHB. ....	123
Anexo 17 Reportes cromatográficos de la prueba de linealidad, precisión y límite de cuantificación por CLAR para FBZ y coformadores aromáticos, 25DHB y 26 DHB.....	125
Anexo 18 Comparación de patrones de DRXP de FBZ <b>a</b> ) y productos de disolución de polvos en pH 1.2 al <b>b</b> ) 1 minuto, <b>c</b> ) 10 minutos, <b>d</b> ) 20 minutos, <b>e</b> ) 60 minutos y <b>f</b> ) 90 minutos. ....	127
Anexo 19 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-25DHB anhidra <b>a</b> ) y productos de disolución de polvos en pH 1.2 al <b>b</b> ) 20 segundos, <b>c</b> ) 40 segundos, <b>d</b> ) 2.5 minutos, <b>e</b> ) 20 minutos, <b>f</b> ) 60 minutos, <b>g</b> ) 90 minutos y <b>h</b> ) NFS FBZ-25DHB sesquihidrato .....	127
Anexo 20 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-25DHB sesquihidrato <b>a</b> ) y productos de disolución de polvos en pH 1.2 al <b>b</b> ) 1 minuto, <b>c</b> ) 10 minutos, <b>d</b> ) 20 minutos, <b>e</b> ) 60 minutos, <b>f</b> ) 90 minutos y <b>g</b> ) FBZ.....	127
Anexo 21 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-26DHB <b>a</b> ) y productos de disolución de polvos en pH 1.2 al <b>b</b> ) 1 minuto, <b>c</b> ) 10 minutos, <b>d</b> ) 20 minutos, <b>e</b> ) 60 minutos y <b>f</b> ) 90 minutos. ..	128
Anexo 22 Comparación de patrones de DRXP de <b>a</b> ) FBZ, <b>b</b> ) 25DHB, <b>c</b> ) mezcla física FBZ y 25DHB y productos de disolución de polvos en pH 1.2 al <b>d</b> ) 1 minuto, <b>e</b> ) 20 minutos, <b>f</b> ) 60 minutos y <b>g</b> ) 90 minutos. ....	128
Anexo 23 Comparación de patrones de DRXP de <b>a</b> ) FBZ, <b>b</b> ) 26DHB, <b>c</b> ) mezcla física FBZ y 26DHB y productos de disolución de polvos en pH 1.2 al <b>d</b> ) 1 minuto, <b>e</b> ) 20 minutos, <b>f</b> ) 60 minutos, <b>g</b> ) 90 minutos y <b>h</b> ) NFS FBZ-26DHB. ....	128
Anexo 24 ANOVA de una vía del ABC de los perfiles de disolución de FBZ, NFS FBZ-25DHB anhidra, NFS FBZ-25DHB sesquihidrato, NFS FBZ-26DHB, mezcla física FBZ con 25DHB y mezcla física FBZ con 26DHB en pH 1.2 .....	129
Anexo 25 Comparación de patrones de DRXP de FBZ <b>a</b> ) y productos de disolución de polvos en pH 6.8 al <b>b</b> ) 1 minuto, <b>c</b> ) 10 minutos, <b>d</b> ) 20 minutos, <b>e</b> ) 60 minutos y <b>f</b> ) 90 minutos. ....	130
Anexo 26 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-25DHB anhidra <b>a</b> ) y productos de disolución de polvos en pH 6.8 al <b>b</b> ) 1 minuto, <b>c</b> ) 10 minutos, <b>d</b> ) 20 minutos, <b>e</b> ) 60 minutos, <b>f</b> ) 90 minutos, <b>g</b> ) NFS FBZ-25DHB sesquihidrato y <b>h</b> ) FBZ. ....	130
Anexo 27 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-25DHB sesquihidrato <b>a</b> ) y productos de disolución de polvos en pH 6.8 al <b>b</b> ) 1 minuto, <b>c</b> ) 10 minutos, <b>d</b> ) 20 minutos, <b>e</b> ) 60 minutos, <b>f</b> ) 90 minutos y <b>g</b> ) FBZ.....	130

Anexo 28 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-26DHB <b>a)</b> y productos de disolución de polvos en pH 6.8 al <b>b)</b> 1 minuto, <b>c)</b> 10 minutos, <b>d)</b> 20 minutos, <b>e)</b> 60 minutos y <b>f)</b> 90 minutos. ..	131
Anexo 29 Comparación de patrones de DRXP de mezcla física FBZ-25DHB <b>a)</b> y productos de disolución de polvos en pH 6.8 al <b>b)</b> 1 minuto, <b>c)</b> 10 minutos, <b>d)</b> 20 minutos, <b>e)</b> 60 minutos, <b>f)</b> 90 minutos y <b>g)</b> FBZ. ....	131
Anexo 30 Comparación de patrones de DRXP de mezcla física FBZ-26DHB <b>a)</b> y productos de disolución de polvos en pH 6.8 al <b>b)</b> 1 minuto, <b>c)</b> 20 minutos, <b>d)</b> 60 minutos, <b>e)</b> 90 minutos y <b>f)</b> FBZ. ....	131
Anexo 31 Comparación de patrones de DRXP de FBZ <b>a)</b> y productos de disolución de polvos en pH 6.8 con Methocel A15 predisoluto al <b>b)</b> 1 minuto, <b>c)</b> 10 minutos, <b>d)</b> 20 minutos, <b>e)</b> 60 minutos y <b>f)</b> 90 minutos. ....	132
Anexo 32 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-25DHB sesquihidrato <b>a)</b> y productos de disolución de polvos en pH 6.8 con Methocel A15 predisoluto al <b>b)</b> 1 minuto, <b>c)</b> 10 minutos, <b>d)</b> 20 minutos, <b>e)</b> 60 minutos y <b>f)</b> 90 minutos. ....	132
Anexo 33 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-26DHB <b>a)</b> y productos de disolución de polvos en pH 6.8 con Methocel A15 predisoluto al <b>b)</b> 1 minuto, <b>c)</b> 10 minutos, <b>d)</b> 20 minutos, <b>e)</b> 60 minutos y <b>f)</b> 90 minutos .....	132
Anexo 34 ANOVA de una vía del ABC de los perfiles de disolución de FBZ puro, NFS de FBZ-25DHB anhidra, NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada, NFS de FBZ-26DHB, mezcla física FBZ-25DHB, mezcla física FBZ-26DHB, y también con METHOCEL TM A15 predisoluto FBZ puro, NFS de FBZ-26DHB y NFS FBZ-25DHB sesquihidrato. ....	134

## Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1 Antihelmínticos de amplio y corto espectro contra nematodos en rumiantes (Marquez, 2017) .....	24
Tabla 2 Clasificación farmacológica de los benzimidazoles (Marquez, 2017) .....	26
Tabla 3 Propiedades fisicoquímicas Fenbendazoles (Alvarez L. , 2004) (Chemicalize, 2019) (CHEMIE, 2019) (DrugBank, 2020) (MERCK SHARP, 2020) (PROVET, 2018) (SENOSIAN, 2019) .....	29
Tabla 4 Principales parámetros farmacocinéticos de FBZ con finalidad veterinaria (Bjelke, 2000) (Beier, 2000) (FAO, 2020) (Sumano, 2006) .....	32
Tabla 5 Dosificación Fenbendazol comercial, Actuol granulado 22% y polvo 4% (SENOSIAN, 2019) .....	34
Tabla 6 Número de estructuras cristalinas y porcentajes de AB (cocrystal) y A-B+ (sal) dentro de las 3 diferentes zonas $\Delta pK_a$ (Cruz, 2012) .....	40
Tabla 7 Gradiente empleado en sistema cromatógrafo para el análisis de materias primas de NFS de FBZ.....	61
Tabla 8 Valores de los ángulos $2\theta$ e intensidad relativa de los picos de difracción del Fenbendazol. ....	64
Tabla 9 Bandas características de vibración de IR del Fenbendazol .....	66

Tabla 10 Número de estructuras cristalinas y porcentajes de AB (cocrystal) y A-B+ (sal) dentro de las 3 diferentes zonas $\Delta pK_a$ (Cruz, 2012) .....	69
Tabla 11 Lista de coformadores empleados en el grupo de investigación para la formación de nuevas fases sólidas .....	70
Tabla 12 Resultados del rastreo de NFS de FBZ con ácidos hidroxicarboxílicos y dicarboxílicos alifáticos, mediante el método de slurry .....	73
Tabla 13 Resultados del rastreo de NFS de FBZ con ácidos hidroxicarboxílicos aromáticos, mediante el método de slurry .....	74
Tabla 14 Resultados del rastreo de NFS de FBZ con ácidos hidroxicarboxílicos y dicarboxílicos alifáticos, mediante el método de molienda mecánica asistida por disolvente.....	75
Tabla 15 Resultados del rastreo de NFS de FBZ con ácidos hidroxicarboxílicos aromáticos, mediante el método de molienda mecánica asistida por disolvente.....	76
Tabla 16 Resultados de estabilidad cristalina de materias primas (FBZ y coformadores) en condiciones de síntesis de NFS mediante el método de slurry.....	78
Tabla 17 Resultados de estabilidad cristalina de materias primas (FBZ y coformadores) en condiciones de síntesis de NFS mediante el método de molienda mecánica asistida por y sin disolvente.....	79
Tabla 18 Resultados de estequiometrias propias de cada NFS de FBZ, obtenidas mediante molienda mecánica asistida por disolvente.....	81
Tabla 19 Datos seleccionados del análisis de TGA de NFS de FBZ .....	86
Tabla 20 Análisis de bandas de vibración de IR de NFS FBZ-ácido malónico y las materias primas.	88
Tabla 21 Análisis de bandas de vibración de IR de NFS FBZ-26DHB y materias primas.....	90
Tabla 22 Análisis de bandas de vibración de IR de FBZ, NFS FBZ- ácido oxálico anhídrido 1:1, NFS FBZ- ácido D-tartárico 1:1, NFS FBZ-ácido malónico 1:2, NFS FBZ-26DHB 1:1 y NFS FBZ-25DHB sesquihidrato 1:1.....	91
Tabla 23 Resultados de estabilidad indicativa de NFS de FBZ y materias primas.....	95
Tabla 24 Resumen de los resultados de transformación de fase mediada por la solución.....	99
Tabla 25 Concentración eutéctica de FBZ y coformadores, constante eutéctica (Keu) y ventaja de solubilidad de (SA) de las NFS de FBZ-25DHB anhidra, NFS de FBZ-25DHB sesquihidrato y NFS FBZ-26DHB a 37 °C. ....	105

## Lista de Graficas

Gráfica 1 Perfil de disolución de polvos en HCl pH 1.2 de FBZ puro, NFS cocrystalinas y mezclas físicas (MF) de los componentes de las NFS a 37°C. ....	107
Gráfica 2 Área bajo la curva del perfil de disolución de FBZ, NFS FBZ-25DHB anhidra, NFS FBZ-25DHB sesquihidrato, NFS FBZ-26DHB en medio de HCl pH 1.2. ....	108
Gráfica 3 Perfil de disolución de polvos en buffer fosfatos pH 6.8 de FBZ puro, NFS de FBZ-25DHB anhidra, NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada, NFS de FBZ-26DHB, mezcla física FBZ-25DHB, mezcla física FBZ-26DHB. ....	110
Gráfica 4 Perfil de disolución de polvos en buffer fosfatos pH 6.8 con methocell A15 pre disuelto, de FBZ puro, NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada y NFS de FBZ-26DHB. ....	112

Gráfica 5 Área bajo la curva del perfil de disolución para las diferentes fases analizadas en buffer fosfatos pH 6.8. .... 112

## 1. Resumen

Las infecciones parasitarias por helmintos son una barrera a la producción pecuaria, causando varios gastos en dicho sector. El Fenbendazol (FBZ) es un antiparasitario que elimina los helmintos inhibiendo los procesos metabólicos relacionados a la obtención de energía. El fenbendazol es un ingrediente farmacéutico activo (IFA) que al momento no ha generado resistencia al tratamiento, sin embargo, existen los inconvenientes de que es un fármaco que se absorbe en cantidades limitadas debido a su baja solubilidad y que tiene una ventana de absorción estrecha en rumiantes. La generación de nuevas fases sólidas (NFS) puede ser una alternativa para mejorar sus propiedades biofarmacéuticas. El objetivo principal de este trabajo fue la obtención de nuevas fases sólidas de FBZ y evaluar sus propiedades biofarmacéuticas.

En el presente trabajo, se realizó un cribado con 17 coformadores entre moléculas derivadas de ácidos dicarboxílicos alifáticos, ácidos hidroxicarboxílicos alifáticos y aromáticos. Se emplearon las técnicas de molienda mecánica asistida por disolvente y formación de pasta asistida por disolvente (slurry), usando agua y acetona. Las NFS de FBZ con estequiometría comprobada que se obtuvieron fueron: FBZ-ácido oxálico anhídrido (1:1), FBZ-ácido D-tartárico (1:1), FBZ-ácido malónico (1:2), FBZ-ácido 2,6-dihidroxibenzoico (26DHB) (1:1), FBZ-ácido 2,5-dihidroxibenzoico (25DHB) anhídrido (1:1) y FBZ-ácido 2,5-dihidroxibenzoico (25DHB) sesquihidrato (1:1).

Dichas NFS de FBZ se sometieron a una caracterización fisicoquímica mediante difracción de rayos X de polvos (DRXP), espectroscopia infrarroja (IR) y dos técnicas térmicas; calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA). De tal modo que demostraron ser auténticas NFS. Esto mediante la observación del comportamiento térmico y espectroscópico de las NFS en contraste con el de las materias primas.

Las NFS de FBZ también fueron sometidas a una caracterización biofarmacéutica que incluyó las pruebas de estabilidad indicativa, transformación de fase mediada por el disolvente, solubilidad y disolución de polvos. La prueba de estabilidad indicativa demostró que todas las NFS de FBZ son estables a excepción de FBZ-25DHB sesquihidratada, la cual sufre una deshidratación a las condiciones de 40°C, 0% HR y a 50 °C 0% HR. En la prueba de transformación de fase mediada por el disolvente, las NFS de FBZ con

coformadores aromáticos en solución HCl pH 1.2 presentaron estabilidad durante más de 24 horas, por el contrario, las NFS alifáticas fueron inestables dentro de las primeras 6 horas y se transforman hacia FBZ. Para el caso de la prueba en buffer fosfatos pH 6.8 ocurre que todas las NFS de FBZ presentaron transformación de fase mediada por la solución, transformándose a materias primas, la única diferencia es que la transformación de fase en las NFS de FBZ con coformadores alifáticos es más rápida que en las de coformadores aromáticos. En la prueba de disolución de polvos bajo condiciones *no-sink* en solución HCl pH 1.2 las NFS de FBZ presentaron una solubilidad muy por encima del FBZ. La ventaja se determinó por el área bajo la curva (ABC) del perfil de disolución, la cual en las NFS presentó una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ). El orden en el cual se obtuvo la ventaja de las NFS de FBZ es el siguiente: FBZ-25DHB anhidra > FBZ-25DHB sesquihidrato > FBZ-26DHB. Este orden también se correlacionó con los valores de constante eutéctica ( $K_{eu}$ ) obtenidos: 48.10 FBZ-25DHB anhidra > 28.37 FBZ-25DHB sesquihidrato > 0.74 FBZ-26DHB. Las NFS en la prueba de disolución de polvos bajo condiciones *no-sink* en buffer fosfatos pH 6.8 no generaron una ventaja de solubilidad frente al FBZ. Por ello, se recurrió a un polímero inhibidor de la precipitación Methocell A15. Se obtuvo una ventaja de solubilidad en las muestras que empleaban Methocell A15 en comparación con el FBZ, presentando una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

## 2. Abstract

Parasitic helminth infections are a barrier to livestock production, causing severe expenses in this sector. Fenbendazole (FBZ) is an antiparasitic drug that eliminates helminths by inhibiting metabolic processes related to obtaining energy. Fenbendazole is an active pharmaceutical ingredient (API) that at the moment has not generated resistance to treatment, however, there are drawbacks as a drug that is absorbed in limited amounts due to its low solubility and that it has a narrow absorption window in ruminants. The generation of new solid phases (NSP) can be an alternative to improve its biopharmaceutical properties. The main objective of this work was to obtain new solid phases of FBZ and to evaluate their biopharmaceutical properties.

In the present work, a screening was carried out with 17 coformers with molecules derived from aliphatic dicarboxylic acids, aliphatic and aromatic hydroxycarboxylic acids. The

techniques of solvent-assisted mechanical milling and solvent-assisted slurry were employed, using water and acetone. The NFS of FBZ with proven stoichiometry that were obtained are: FBZ-anhydrous oxalic acid (1: 1), FBZ-D-tartaric acid (1: 1), FBZ-malonic acid (1: 2), FBZ-2,6-dihydroxybenzoic acid (26DHB) (1: 1), FBZ-2,5-dihydroxybenzoic acid (25DHB) anhydrous (1: 1) and FBZ- 2,5-dihydroxybenzoic acid (25DHB) sesquihydrate (1: 1).

FBZ NSP were subjected to a physicochemical characterization by X-ray powder diffraction (XRPD), infrared spectroscopy (IR) and two thermal techniques; Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Thermogravimetric Analysis (TGA). In such a way that they proved to be authentic NSP. This by observing the thermal and spectroscopic behavior of the NFS in contrast to that of the raw materials.

The FBZ NSP were also subjected to biopharmaceutical characterization that included tests for indicative stability, solvent-mediated phase transformation, solubility, and dissolution of powders. The indicative stability test showed that all the FBZ NSP are stable except for the sesquihydrated FBZ-25DHB, which undergoes dehydration at the conditions of 40°C, 0% RH and at 50°C 0% RH. In the solvent-mediated phase transformation test, the FBZ NSP with aromatic coformers in HCl pH 1.2 solution showed stability for more than 24 hours. On the contrary, the aliphatic NSP transforms towards FBZ within the first 6 hours. In the case of the test in phosphate buffer pH 6.8, it happens that all the FBZ NSP presented solution-mediated phase transformation, transforming into raw materials, the only difference is that the phase transformation in the FBZ NSP with aliphatic coformers is faster than with aromatic coformers. In the test of dissolution of powders under no-sink conditions in HCl solution pH 1.2 the NSP of FBZ presented a superior solubility well above the FBZ. The advantage was determined by the area under the curve (AUC) of the dissolution profile, which in the NSP presented a statistically significant difference ( $p < 0.05$ ). The order in which the FBZ NSP advantage was obtained is as follows: FBZ-25DHB anhydrous > FBZ-25DHB sesquihydrate > FBZ-26DHB. This order was also correlated with the eutectic constant ( $K_{eu}$ ) values obtained: 48.10 FBZ-25DHB anhydrous > 28.37 FBZ-25DHB sesquihydrate > 0.74 FBZ-26DHB. In the powders dissolution test under no-sink conditions in phosphate buffer pH 6.8, the NSP apparently did not generated an advantage of solubility as compared to FBZ. Therefore, a precipitation inhibitor, the polymer Methocell A15 was used. A solubility advantage was obtained in the samples that used methocell A15 compared to FBZ, presenting a statistically significant difference ( $p < 0.05$ ).

## 3. Marco teórico

### 3.1. Parasitología veterinaria

Las enfermedades veterinarias pueden ser de origen no infeccioso o infeccioso. Las enfermedades no infecciosas pueden ser resultado de defectos genéticos, anormalidades fisiológicas, disfunciones estructurales o factores externos como; lesiones, radiaciones o envenenamientos. Por otro lado, las enfermedades infecciosas están relacionadas con agentes infecciosos de auto-replicación, los cuales han evolucionado para ocupar el cuerpo del animal. Por convención, el estudio de los agentes infecciosos se divide dentro de la microbiología en; bacterias, virus y parásitos.

La parasitología veterinaria está constituida por tres distintas disciplinas, cada una con su propia interacción hospedado-parasito:

- Entomología veterinaria: El estudio de parásitos artrópodos, insectos, garrapatas y acaros
- Protozoología veterinaria: El estudio de un amplio rango de organismos unicelulares eucariotas comprendiendo parásitos protozoos
- Helmintología veterinaria: Cubre tres tipos de parásitos principalmente; trematodos, cestodos y nematodos

Siendo esta última de gran importancia para el Grupo Interdisciplinario de Investigación en Química y Farmacia del Estado Sólido de estudio debido a todo lo que implica. (Jacobs, 2016)

### 3.2. Helmintos

De manera general los helmintos en su morfología son parecidos a los gusanos. Los grupos clínicamente relevantes se clasifican de acuerdo al huésped que habitan y a su morfología externa e interna, considerando sus diferentes estadios como; huevos, larvas y estado adulto. A continuación, se describen los tres grupos de helmintos más relevantes:

Trematodos: Los trematodos adultos son gusanos planos en forma de hoja. Usando sus ventosas es que pueden permanecer *in situ*. La mayoría de los casos son hermafroditas y dentro de su ciclo de vida incluyen un caracol como huésped intermediario.

Cestodos: Este tipo de helmintos en su fase adulta son como una tira “cinta”, alargados, segmentados y planos. Suelen ser hermafroditas y habitan el lumen intestinal de su hospedero. Las larvas son quísticas o sólidas, suelen habitar tejidos extraintestinales.

Nematodos: Son comúnmente conocidas como lombrices, tanto la forma adulta como la larva son bisexuales. Pueden habitar tanto sitios intestinales como extraintestinales. (Baron, 1996) En la **Figura 1** se muestran ejemplos de estos tres tipos de helmintos.



Figura 1 Izquierda, trematodo *Fasciola hepática*. Centro, cestodo *Taenia hydatigena*. Derecha, nematodo *Toxocaris canis*. (Boylu, 2019) (Veterinaria, 2019)

### 3.3. Helminthiasis

La helmintiasis es una parasitosis causada por helmintos que puede afectar tanto a humanos como animales, puede alojarse en órganos de todo el tracto gastrointestinal, pulmones, hígado, cerebro entre otros, de manera general pueden presentar un cuadro clínico con los siguientes síntomas: náuseas, dolor abdominal, trastornos del apetito, malestar general, diarrea, anemia, microbronquitis, bronconeumonía, crisis convulsivas, epilepsia parcial con o sin generalización, entre otras. Cabe mencionar que dentro de las helmintiasis que más afectan a los rumiantes se encuentran la nematodiasis y cestodiasis. (Rodríguez, 2017) (Urquhart, 2011)

La helmintiasis de mayor interés para el ganadero por su impacto, es la provocada por nematodos gastroentéricos (NGE), (Urquhart, 2011) la cual lleva por nombre

“nematodiasis”. La distribución geográfica de los NGE es mundial, en México se han reportado especies de los siguientes géneros *Haemonchus*, *Cooperia*, *Mecistocirrus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Strongyloides*, *Nematodirus*, *Bunostomum*, *Oesophagostomum* y *Toxocara*, *Trichuris*, *Chabertia* y *Capillaria* principalmente. La frecuencia y la intensidad varía de acuerdo al clima, sistemas de manejo, importación de animales, entre otros factores.

Las cestodiasis intestinales son ejercidas por la presencia y acción de cestodos adultos que se localizan en el intestino delgado como *Moniezia spp.*, o en los conductos biliares como *Thysanosoma actinioides*, la clase de ganado que se ve mayormente afectada son el bovino, ovino y caprino. La transmisión de los cestodos adultos se realiza por la ingestión de ácaros coprófagos. (Quíroz, 2011)

*Taenia hydatigena* es un cestodo se presenta en el intestino delgado de perros, lobos, coyotes, zorros y otros cánidos, sin embargo, la fase larvaria, conocida como *Cysticercus tenuicollis* se presenta en el hígado y mesenterio, de bovinos ovinos caprinos y porcinos. (Quíroz, 2011) (Urquhart, 2011)

#### 3.4. Distribución geográfica nematodos y cestodos

La distribución geográfica de los helmintos es extremadamente amplia, esto debido a que son un grupo enorme de parásitos. Considerando el hecho de que los nematodos y cestodos gastroentéricos son los principales causantes de problemas en el sector pecuario, es que se presenta la siguiente distribución geográfica. (Urquhart, 2011)

En términos generales, los NGE presentes en el ganado no difieren significativamente entre las regiones. Los animales generalmente están infectados con una variedad de especies diferentes. Los siguientes nematodos son los que se localizan de manera mixta; *Haemonchus spp.*, *H. contortus*, *H. placei* y *H. similis*. La distribución de este tipo de helminto es mundial. A continuación, en la **Figura 2** se muestra la distribución geográfica donde en estudios se ha mencionado “nematodos gastroentéricos en bovinos”. (Over, 1992)

En el caso de los borregos y cabras se presenta el mismo caso que en el ganado, en el cual la presencia de nematodos gastrointestinales no difiere entre regiones. Los nematodos más importantes encontrados en estos animales son: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *T. vitrinus*, *T. capricola*, *Cooperia curticei*, *Nematodirus filicollis* y *N. spathiger*, *Bunostomum trigonocephalum*, *Oesophagostomum*

*columbianum* y *Chabertia ovina*, *Trichuris* spp. y *oxyurid* *Skrjabinema ovis*. En la **Figura 3** se presenta la distribución geográfica donde se han reportado estos nematodos gastroentéricos en borregos y cabras. (Over, 1992)

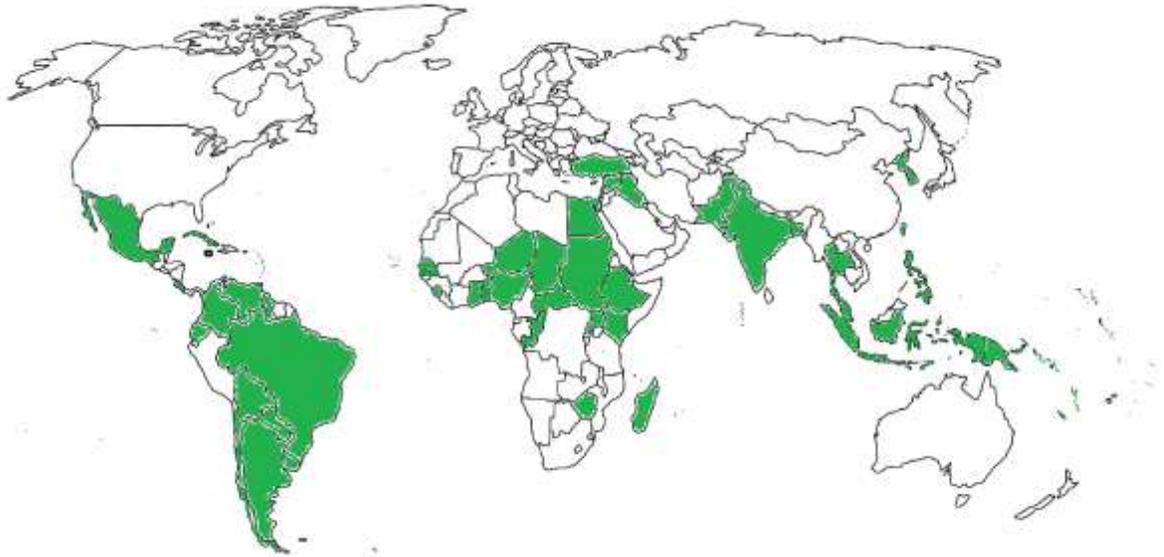


Figura 2 Distribución geográfica donde en estudios se ha mencionado “nematodos gastroentéricos en bovinos” (Over, 1992)



Figura 3 Distribución geográfica donde se han reportado estos nematodos gastroentéricos en borregos y cabras (Over, 1992)

Dentro de los cestodos la *Taenia solium* es la más importante debido a su impacto económico y social. Su fase larvaria *C. cellulosae* puede infectar a porcinos y borregos. A continuación, en la **Figura 4** se muestra la distribución geográfica de este cestodo en fase larvaria en países en vía de desarrollo. (Over, 1992)

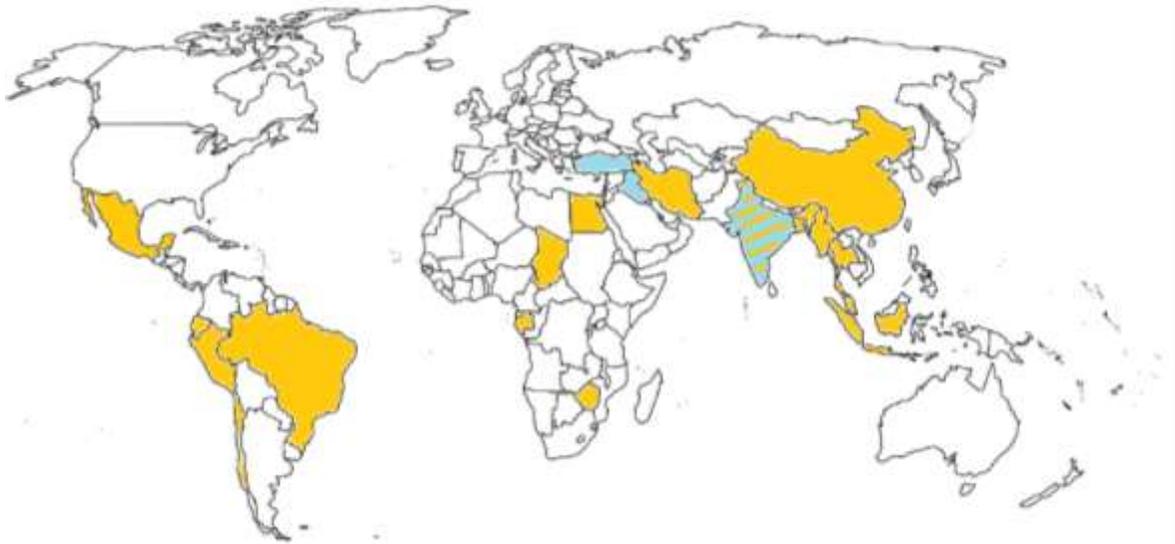


Figura 4 Distribución de *Cysticercus cellulosae* en porcinos (amarillo) y *Coenurus spp.* en borregos (azul) en países en desarrollo. (Over, 1992)

### 3.5. Impacto económico por nematodos y cestodos en el sector pecuario

Las helmintiasis de animales del sector pecuario causan pérdidas económicas significativas. El efecto de la infección depende de varias variables como la susceptibilidad del huésped, patogenicidad de la especie parásita, interacción huésped/parásito y la carga de infección es la más importante. Las pérdidas económicas están estrechamente relacionadas con la producción del huésped, esto debido a la reducción de tasa de crecimiento, pérdida de peso, fecundidad reducida e inclusive la muerte del huésped. (Over, 1992)

Dentro de las helmintiasis la nematodiasis es una de las principales causas que tienen efectos negativos en la producción pecuaria. (Quíroz, 2011) (Urquhart, 2011) La nematodiasis afecta principalmente a rumiantes de regiones tropicales y templadas, debido a que se facilita la continuidad de la infestación; además, son un complejo de agentes cuya patogenicidad es muy severa en animales susceptibles que incluso pueden llegar a ser causa de muerte. (Montalvo, 2006)

Los animales que sobreviven a la infección por NGE, presentan signos de escasa absorción de nutrientes, afectando la producción zootécnica. Por ejemplo, bovinos del trópico sin desparasitar durante tres meses pierden en promedio 28.8 kg de peso en infestaciones naturales, y ovinos en las mismas condiciones pierden de 2 a 5 kg de peso al mes. (Montalvo, 2006) En México en el año 2013 tan solo en el ganado bovino las pérdidas ocasionadas por nematodiasis, contemplando la pérdida de peso, la baja producción de leche y pérdidas de animal, se estimaron en 445 millones de dólares, considerando que la producción bovina en ese año fue de 32 millones de cabezas de ganado, la pérdida anual estimada fue de 14 dólares por animal, esto contemplando solo este tipo de parasitosis. (Rodríguez, 2017) A nivel internacional, en Uruguay en el año 1996 se perdieron alrededor de 41.8 millones de dólares (mdd) y en Kenia en el año 199 se notificó que 26 mdd se perdieron únicamente por causa del nematodo hematófago *Haemonchus contortus*. (Montalvo, 2006)

Como se había mencionado antes en el caso de los cestodos, *Taenia solium* es un parásito ampliamente estudiado debido a su impacto social y económico en el sector pecuario. El cuadro clínico de dicha enfermedad también conduce a una pérdida de la producción, siendo los porcinos los que encabezan la lista de más afectados. (Over, 1992) Tanto así que las fuentes bibliográficas de cisticercosis son fáciles de encontrar. Tan solo en México en el año 2015 las pérdidas relacionadas a cisticercosis porcina fueron estimadas en 19.5 mdd, (Bhattarai, 2019) en países africanos como Nigeria, Togo y República Democrática del Congo en el año 2010 las pérdidas estimadas fueron de 17.5, 2.1 y 2.1 millones de euros respectivamente. (Ngowi, 2013)

### 3.6. Antihelmínticos

Los antihelmínticos son la primera alternativa para el control tanto de los nematodos en rumiantes como cestodos en porcinos alrededor del mundo, con gran auge desde la década de los sesenta para la industria farmacéutica veterinaria, generándose una gran demanda de estos en el sector pecuario durante todo este tiempo. (Marquez, 2017) (Mkupasi, 2013)

Gran parte de estos compuestos poseen alta selectividad y eficacia contra los diferentes parásitos que causan helmintiasis; por lo que estos deben ser usados y elegidos adecuadamente, con fundamentos técnicos para dar como resultado una mejora clínica durante la enfermedad, sin olvidar la posible consecuencia de resistencia a estos fármacos

por una elección incorrecta. Además, estos compuestos se caracterizan por su alta seguridad, alto espectro y actividad en las diferentes fases de maduración de los parásitos. Sin embargo, la efectividad puede verse comprometida por varios factores como propiedades biofarmacéuticas y farmacocinéticas, las características de los animales o del parásito, o también por resistencia antiparasitaria. Existen gran variedad de medicamentos en el mercado conteniendo a este tipo de fármacos para atacar NGE, para diferentes tipos de animales domésticos (**Tabla.1**). Los grupos de los benzimidazoles, las avermectinas y los agonistas nicotínicos son los más usados para atacar NGE en rumiantes. (Marquez, 2017) El caso de los porcinos, para combatir la cisticercosis se ha comprobado que los benzimidazoles, praziquantel y nitazoxanida son eficaces. (Mkupasi, 2013)

*Tabla 1 Antihelmínticos de amplio y corto espectro contra nematodos en rumiantes (Marquez, 2017)*

AMPLIO ESPECTRO			
Mecanismo de acción	Familia	Principio activo	
Fijadores de tubulina	Benzimidazoles	Cambendazol Flubendazol Albendazol Fenbendazol Oxfendazol Mebendazol Tiabendazol Parbendazol	
	Probenzimidazoles	Febantel Tiofanato Netobimin	Levamisol
Bloqueadores ganglionares	Imidazotiazoles	Tetramisol	
	Tetrahidropirimidinas	Morantel	Pirantel
Potenciadores GABA	Avermectinas	Ivermectina Abamectina	Doramectina
	Milbemicinas	Moxidectin	
CORTO ESPECTRO			
Desacopladores de la fosforilación oxidativa	Salicilanilidas	Cloxacida Oxicloxacida Rafoxanida Closantel	
		Sustitutos nitrofenílicos	Nitroxinil
		Disofenol	
Antagonistas de la acetilcolinesterasa	Organofosforados	Triclorfón Haloxon Naftalofos Diclorvos	

### 3.7. Benzimidazoles

La era de los benzimidazoles tiene auge en los años 60 con la introducción del tiabendazol, el cual dio pauta para nuevos benzimidazoles (BZ). El desarrollo de dicha familia fue sostenido, teniendo como resultado compuestos de mayor espectro y más potentes, que actúan contra NGE, pulmonares, cestodos y trematodos, alcanzando así su gran importancia terapéutica.

En lo general son sustancias cristalinas estables, con punto de fusión alto y se caracterizan por su baja solubilidad acuosa, la cual puede afectar su eficacia particularmente en rumiantes. (Marquez, 2017) Los BZ son compuestos aromáticos heterocíclicos que comparten una característica estructural fundamental del benceno fusionado con el imidazol. Estos compuestos también han presentado actividad terapéutica como: antidiabéticos, anticancerígenos, antimicrobianos, analgésicos, antivirales y antihistamínicos. (Marinescu, 2019)

Los BZ se clasifican farmacológicamente en cuatro grupos de acuerdo a sus sustituyentes en la estructura; tiazoles, metilcarbamatos, halogenados y probenzimidazoles, como se muestra en la **Tabla 2**. (Marquez, 2017) Todos los BZ sufren un proceso de biotransformación activador o inactivador. Los probenzimidazoles se metabolizan a etil-BZ o metilcarbamatos para finalmente ejercer su acción terapéutica. Los BZ metilcarbamato se pueden metabolizar en sus respectivos sulfoxidos, los cuales pueden o no tener actividad terapéutica. De manera general la eliminación de los BZ se puede dar por oxidación o hidrólisis mediante orina o heces. (Marquez, 2017) (Sumano, 2006)

Los BZ se unen a  $\beta$ -tubulina, con una constante de inhibición 25-400 veces más a la tubulina de nematodos en comparación con la de los mamíferos. La  $\beta$ -tubulina es una subunidad proteica de los microtúbulos que tienen un papel fundamental y ubicuo en el eje mitótico. El resultado final es una inanición de los nematodos por disrupción intestinal e inhibición de su producción de huevos. En el caso de los cestodos ocurre el mismo mecanismo de acción, pero adicional a ello existe una reducción del consumo energía en forma de glucosa y un decrecimiento en glucógeno. (Mehlhorn, 2008)

Tabla 2 Clasificación farmacológica de los benzimidazoles (Marquez, 2017)

Grupo Farmacológico	Farmacos
Benzimidazoles tiazoles	Tiabendazol Cambendazol
Benzimidazoles metilcarbamatos	Mebendazol Oxibendazol Albendazol Albendazol sulfóxido Fenbendazol Oxfenbendazol
Benzimidazoles tioles halogenados	Triclabendazol
Probenzimidazoles	Tiofanato Febantel Netobimin

### 3.8. Fenbendazol

El Fenbendazol (FBZ) es un antihelmíntico veterinario de amplio espectro del grupo de los benzimidazoles, actuando principalmente contra nematodiasis y cestodiasis, de tipo gastroentéricos o pulmonares, tanto en estadios juveniles y adultos; es usado en un amplio grupo de animales domésticos, destacando también su uso en rumiantes, porcinos y pollos. Es un sólido cristalino, no tiene olor, y es insoluble en agua, pero soluble en sulfóxido de dimetilo y en dimetilformida, se presenta la estructura química en la **Figura 5**.(Marquez, 2017), (SENOSIAN, 2019) (PROVET, 2018) Es de resaltar que en México no se ha encontrado resistencia parasitaria a FBZ, a diferencia de Ivermectina, la cual es también ampliamente utilizada. (Montalvo, 2006)

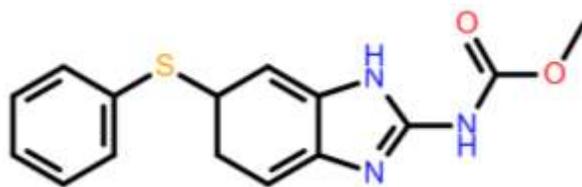


Figura 5 Estructura molecular Fenbendazol (FBZ)

#### 3.8.1. Ruta metabólica

Después de la absorción de una administración oral, el FBZ es sometido a metabolismo hepático, esto se ha demostrado en especies como; ratas, caballos, puercos, borregos, vacas y perros. Dicho proceso es rápido y reversible, para formar las dos formas

enantiómeras del metabolito FBZ. Una proporción de este sufre un segundo paso de oxidación (lento e irreversible) para formar el metabolito sulfona de Fenbendazol (FBZSO<sub>2</sub>) **Figura 6.** (Virkel, 2004)

La formación de FBZSO<sub>2</sub> se da por la catálisis de dos sistemas enzimáticos microsomales: la monooxigenasa de flavina (FMO, por sus siglas en inglés) y las isoformas de citocromos P450 (CYP450) en el hígado y de menor contribución en el intestino. La FMO cataliza el enantiómero (+) FBZSO y mientras que las CYP450 catalizan preferentemente el enantiómero (-) FBZSO. Los enantiómeros de FBZSO se oxidan hacia el metabolito FBZSO<sub>2</sub> catalizado por CYP450.

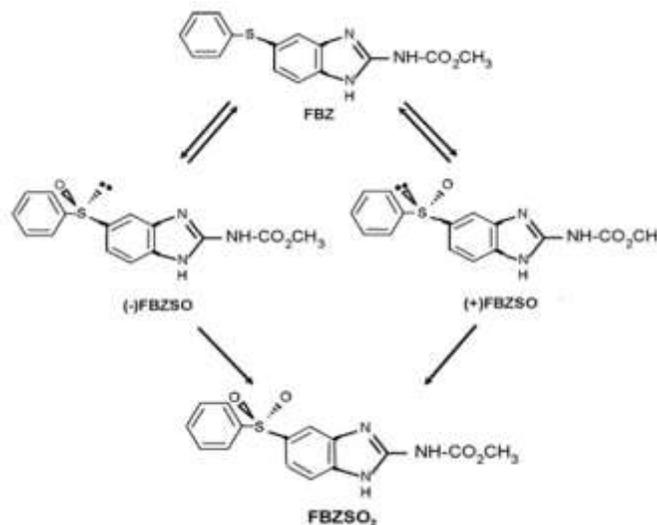


Figura 6 Ruta metabólica del Fenbendazol (FBZ) (Gokbulut, 2007)

Cabe resaltar que los metabolitos también tienen actividad parasitaria, pero se ha demostrado que la sulfona tiene mayor actividad de inhibición de tubulina que el sulfoxido. (Gokbulut, 2007) (Mckellar, 2002) El metabolismo estereoselectivo de un enantiomero u otro depende de cada especie. Por ejemplo, FBZSO<sub>2</sub> no fue detectado en caninos, mientras que en primates, equinos, borregos, porcinos, caprinos, bovinos y conejos si fue encontrado. El metabolismo oxidativo del FBZ ha sido estudiado en fracciones subcelulares hepáticas procedentes de hígado de ganado, borregos, caprinos, pollos, patos, pavos, ratas, conejos y pez gato. Todas estas especies produjeron el FBZSO y el hidróxido de fenbendazol (FBZ-OH) a excepción de los borregos. Los caballos pueden metabolizar más rápido el FBZ a FBZSO que los rumiantes. (Capece, 2009)

### 3.8.2. Espectro de actividad

FBZ es un antihelmíntico de amplio espectro eficaz contra helmintos intestinales y pulmonares, siendo los principales nematodos y cestodos. Sin importar los diferentes estadios (gusanos adultos, huevecillos y larvas) FBZ es eficaz ante dichos helmintos. A continuación, se hace un listado de los helmintos que son susceptibles a FBZ por especie: (MERCK, 2013) (Mkupasi, 2013)

#### **Bovino:**

- Nematodos gastroentericos: *Haemonchus contortus*, *Ostertagia ostertagi*, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *Nematodirus helvetianus*, *Cooperia punctata*, *C. pectinata*, *C. mcmasteri*, *Oesophagostomum radiatum*, *Bunostomum phlebotomum*, *Capillaria spp.*
- Nematodos pulmonares: *Dictyocaulus viviparus*

#### **Ovino y caprino:**

- Nematodos gastroentericos: *Haemonchus spp.*, *Ostertagia spp.*, *Trichostrongylus spp.*, *Cooperia spp.*, *Nematodirus spp.*, *Oesophagostomum spp.*, *Chabertia spp.*, *Bunostomum spp.*, *Trichuris spp.*
- Nematodos pulmonares: *Dictyocaulus spp.*
- Cestodos: *Moniezia spp.* (MERCK, 2013)

#### **Porcinos:**

- Nematodos gastroentéricos: *Hyostromylus rubidus*; *Oesophagostomum spp*; *Ascaris summ*; *Trichuris suis*; *Metastrongylus spp.*
- Cestodos: *Taenia solium* (Mkupasi, 2013) (CHEMIE, 2019)

#### **Equino:**

- Nematodos gastroentéricos: *Strongylus edentatus*, *S. equinus*, *S. vulgaris*, *S. asini*, *Cyathostomum spp.*, *Craterostomum spp.*, *Oesophagostomum spp.*, *Cylicodontophorus spp.*, *Cylicocyclus spp.*, *Cylicocostephanus spp.*, *Cylindropharynx spp.*, *Triodontophorus spp*, *Oxyuris equi*, *Parascaris equorum*, *Gyalocephalus spp.*, *Poteriostomum spp.*, *Strongyloides westeri*.
- Nematodos pulmonares: *Dictyocaulus arnfieldi*. (MERCK, 2013)

#### **Felinos:**

- Nematodos gastroentéricos: *Toxocara cati* (formas adultas), *Ancylostoma tubaeforme* (formas adultas e inmaduras)

#### **Caninos:**

- Nematodos gastroentéricos: *Toxocara canis* (formas adultas), *Ancylostoma caninum* (formas adultas), *Uncinaria stenocephala* (formas adultas e inmaduras), *Giardia spp.* (MERCK SHARP, 2020)

### 3.8.3. Características y propiedades fisicoquímicas

Las características y propiedades fisicoquímicas del FBZ se resumen en la **Tabla 3**.

Tabla 3 Propiedades fisicoquímicas Fenbendazoles (Alvarez L. , 2004) (Chemicalize, 2019) (CHEMIE, 2019) (DrugBank, 2020) (MERCK SHARP, 2020) (PROVET, 2018) (SENOSIAN, 2019)

	FENBENDAZOL
Nombre químico	Metil-N- (6-fenilsulfanil-1H-benzimidazol-2-il) carbamato
Formula condensada	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S
Peso molecular (g/mol)	299.3
Punto de fusión (°C)	233
Solubilidad en agua (mg/ml) (predicción)	0.00609
Log P (experimental)	3.99
pKa	4.2. 9.4
Naturaleza	Anfotérica
Clasificación Biofarmacéutica (SCB)	II
Clase terapéutica	Antiparasitario
Vía de administración	Oral
Formas farmacéuticas	Polvos, granulados, suspensiones, tabletas, pastas y soluciones

El FBZ es una molécula anfótera con pKa's de 9.4 y 4.2. El FBZ es una base débil, por lo tanto, su solubilidad es pH-dependiente, como resultado se obtiene mayor solubilidad en pH ácido. Tal como se muestra en el diagrama de distribución de especies del FBZ **Figura 7**, a pH ácido (pH < 3), el IFA se encuentra protonado (FBZ+), lo que le confiere alta solubilidad en medios ácidos. Conforme se aumenta el pH del medio disminuye la forma protonada y finalmente a pH neutro se encuentra a FBZ en su forma neutra. (Chemicalize, 2019) De manera general en el tracto gastrointestinal de varios animales domésticos el pH oscila entre 1.9 y 8.2, encontrándose el FBZ en su mayoría del tiempo en una forma no ionizada. Cuando transita por el estómago el pH del medio disminuye y el FBZ se encuentra en su forma ionizada . (Chemicalize, 2019) (Kararli, 1995 ) De acuerdo a la guía del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB) un ingrediente farmacéutico activo (IFA) que

presenta solubilidad acuosa <0.1 mg/ml se le considera prácticamente insoluble. El FBZ al tener una solubilidad acuosa de 0.00609 mg/ml es considerado prácticamente insoluble. (FDA, 2017 ) (Kasim, 2013) También se ha puesto a prueba la solubilidad del FBZ con diferentes disolventes y el orden encontrado fue el siguiente: 1,4-dioxano> acetato de etilo> acetona> 1-butanol> n-propanol> etanol> metanol> isopropanol> acetonitrilo. (Yang, 2019) El log P experimental del FBZ es de 3.99. (Alvarez L. , 2004) En estudios sobre el Log P y la relación que este tiene con la permeabilidad, se ha encontrado que IFA´s con Log P mayores a 1.72 se pueden considerar como altamente permeables. (Kasim, 2013) El SCB se diseñó para IFA´s de uso humano, omitiendo dicha parte, el fenbendazol que es de uso veterinario podemos considerarlo como clase II, debido a su baja solubilidad y alta permeabilidad. (Kasim, 2013) (FDA, 2017 )

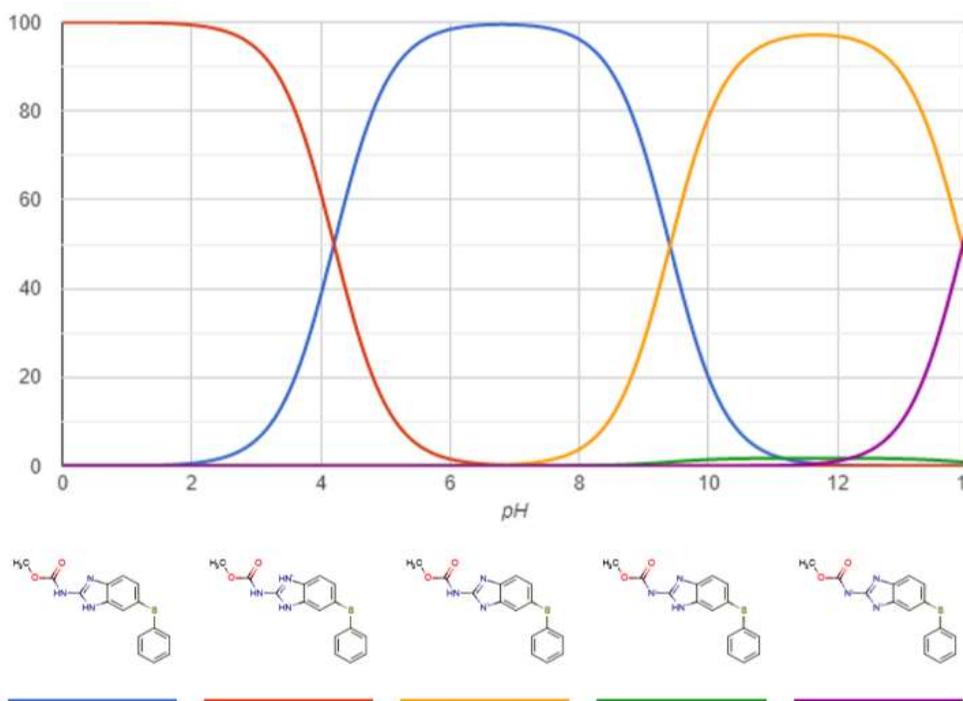


Figura 7 Diagramas de distribución de especies de FBZ en función del pH (Chemicalize, 2019)

### 3.8.4. Farmacodinamia

El FBZ al igual que todos los BZ actúa interfiriendo en los procesos metabólicos relacionados a la obtención de energía del helminto. Ya sea mediante la inhibición de reacciones mitocondriales, bloqueando la actividad de la enzima fumarato reductasa, o

bien, interfiriendo directamente en el transporte de la glucosa. Inhibe la polimerización de los microtúbulos al unirse a la tubulina, por consecuencia decrece la absorción y digestión de nutrientes siendo el principal la glucosa. Altera la morfología de los huevos y evita la eclosión de la larva.

Ambos procesos son de vital impacto para de las funciones de sobrevivencia del parásito (nematodos y cestodos principalmente). (PROVET, 2018) (SENOSIAN, 2019)

### 3.8.5. Farmacocinética

La absorción de FBZ en rumiantes es lenta y limitada, esto debido a que el rumen actúa como depósito de fármaco en el cual el FBZ se absorbe y metaboliza, o se libera progresivamente en la digesta a los intestinos, contribuyendo así al reciclaje prolongado del fármaco original y los metabolitos activos entre los tejidos enterales y parenterales, como se muestra en la **Figura 8**; sin embargo, en animales con sistemas monogástricos es más rápida la absorción. (Sanyal, 1995) (EMEA, 2004) (Mehlhorn, 2008)

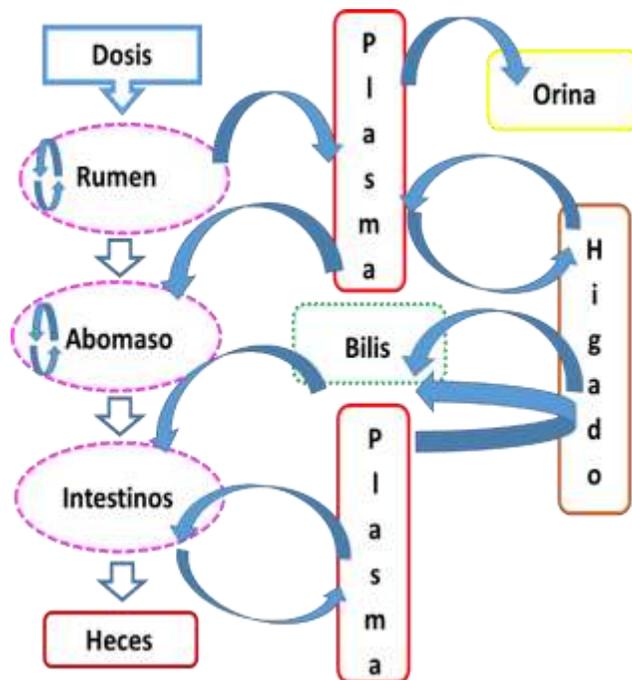


Figura 8 Representación esquemática de la disposición de fármacos benzimidazoles en rumiantes (Hennessy, 1993)

A continuación, en la **Tabla 4** se recopila información sobre parámetros farmacocinéticos del FBZ en diferentes especies. Cabe mencionar que las concentraciones máximas (Cmax)

y biodisponibilidades son bajas debido a que la mayoría del FBZ se transforma en FBZSO, el cual también tiene actividad antiparasitaria. (Bjelke, 2000) (Sumano, 2006) (Beier, 2000)

*Tabla 4 Principales parámetros farmacocinéticos de FBZ con finalidad veterinaria (Bjelke, 2000) (Beier, 2000) (FAO, 2020) (Sumano, 2006)*

Especie	Dosis mg/ peso animal kg	Parámetro farmacocinético	VO
Bovino	5-10 mg/kg	C <sub>max</sub>	0.11 µg/ml
		T <sub>max</sub>	12 h
		Biodisponibilidad	20.80%
Ovinos	5 mg/kg	C <sub>max</sub>	0.06 µg/ml
		T <sub>max</sub>	20 h
		Biodisponibilidad	-
Caprinos	5 mg/kg	C <sub>max</sub>	0.13 µg/ml
		T <sub>max</sub>	24 h
		Biodisponibilidad	23.50%
Porcinos	5 mg/kg	C <sub>max</sub>	0.07 µg/ml
		T <sub>max</sub>	3.7 h
		Biodisponibilidad	27.10%
Llamas	5-10 mg/kg	C <sub>max</sub>	0.28 µg/ml
		T <sub>max</sub>	28 h
		Biodisponibilidad	-
Equinos	5-10 mg/kg	C <sub>max</sub>	0.07 µg/ml
		T <sub>max</sub>	8 h
		Biodisponibilidad	-

Cabe mencionar que la biodisponibilidad se puede ver comprometida por el tipo de dieta, en ganado se ha observado que la alimentación con trigo (alimento seco) en comparación con la alfalfa (alimento verde) puede promover a un incremento en el área bajo la curva, ampliar la C<sub>max</sub> y dilatar el tiempo de vida media. (Knox, 1997) En el caso de la administración oral de Oxfendazol (Sulfoxido de FBZ) en borregos, se ha demostrado que la absorción de este y la transformación a FBZ y a su sulfona es lenta cuando se da una dieta seca en comparación a la fresca. Sin embargo, la dieta seca aumenta el área bajo la curva de FBZ, por lo cual se cree que la dieta seca en borregos promueve el FBZ cuando se administra el Oxfendazol. (Oukessou, 1997) También se ha reportado que cuando la dieta es reducida, se frena el pasaje de FBZ del estómago al intestino, lo que aumenta la permanencia de FBZ en rumen y por consecuencia aumenta la permeabilidad. (Junquera, 2020)

Una vez absorbido se metaboliza en el hígado obteniendo 2 metabolitos activos uno es el silfoxido de FBZ y el otro la sulfona de FBZ. Siendo todo este proceso detallado anteriormente en la sección de ruta metabólica. (Gokbulut, 2007)

La eliminación del FBZ depende del tipo de especie y la vía de administración. Se han reportado depuraciones por vía intravenosa en porcinos de 1.36 L/h/kg, en ganado de 0.17 L/h/kg, en ovinos de 0.26 L/h/kg, en conejos de 0.60 L/h/kg, en pavos de 0.68 L/h/kg y en pollos de 1.11 L/h/kg. (Bjelke, 2000) En la vía oral los tiempos de eliminación también se han reportado en llamas con 120 h, en ganado con 96 h, en caprinos 73 h y ovinos 70 h. (Beier, 2000)

### 3.8.6. Efectos adversos y tóxicos

En estudios con conejas preñadas de 7 a 19 días de gestación que fueron administradas con FBZ a dosis de 0, 10, 30 y 45 mg/kg por día. Los resultados demostraron que no hubo toxicidad materna, tampoco toxicidad sobre el embrión o algún efecto sobre la morfología fetal. Tampoco se demostró que FBZ tuviera efecto carcinogénico. En este mismo estudio el comité evaluador determinó que en ratas el factor de seguridad es de 100. En ovejas el factor de seguridad es de 1000 para efectos taratogenicos. (Fuchs, 1998) En diferentes prospectos de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) mediante su aplicación de búsqueda de medicamentos veterinarios, CIMAVET, se encontró que el FBZ no presenta efectos adversos reportados hasta el momento.

### 3.8.7. Presentación comercial

La presentación comercial en medicamento del FBZ en México, ACTUOL, se ilustra en la **Figura 9** en granulados al 22% y polvo al 4 %, con una fórmula en cada sobre y por cada gramo respectivamente que contienen:

ACTUOL GRANULADO  
Fenbendazol..... 2.24 g  
Excipientes cbp.....10.22 g

ACTUOL POLVO  
Fenbendazol..... 0.04 g

Excipientes cbp.....1 mg

Indicado para parasitosis gastroentéricas y pulmonares, con las siguientes dosificaciones presentadas en la **Tabla 5**



Figura 9 Presentación comercial de Febendazol (Actuol polvo 4% y granulado 22%) (SENOSIAN, 2019)

Tabla 5 Dosificación Febendazol comercial, Actuol granulado 22% y polvo 4% (SENOSIAN, 2019)

Actuol 22% Granulado	
Bovinos productores de carne y leche	0.029 g/Kg
Equivalente a	6.5 mg/Kg
Equinos	0.34 g/Kg
Equivalente a	7.5 mg/Kg
Actuol Polvo al 4%	
Porcinos	12.5g/kg de peso
Pollo de engorda	1.5Kg/Tonelada de alimento
La dosis total puede ser administrada en 1 o 3 días cada 24 horas	
Sugerencia Dosificación	
Kg/Peso	g
100	12.5
200	25
300	37.5
400	50
500	62.5

### 3.9. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (SCB) fue propuesto por Gordon Amidon en el año de 1995. Es una herramienta que fue desarrollada para la evaluación de IFA's, prediciendo el comportamiento de estos en un sistema *in vivo*, de esta manera se ayuda a los organismos reguladores a la aprobación de nuevos medicamentos y también a la industria como guía para el desarrollo de nuevos productos. En este sistema para la clasificación se toman en cuenta la solubilidad y permeabilidad del IFA, características esenciales en la absorción oral y por lo tanto a la biodisponibilidad. Se considera que un IFA tiene alta solubilidad cuando la dosis más alta se puede solubilizar en 250 ml o menos de medio acuoso en un rango de pH de 1-6.8 a  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Por otra parte, se dice que un IFA es altamente permeable cuando el grado de absorción de una dosis determinada en humanos es igual o mayor al 85%, basado en el balance de masas o en comparación con una administración intravenosa. Dentro del SCB existen 4 Clases: I, II, III y VI (**Figura 10**). (FDA, 2017 ) (Amidon, 1995)

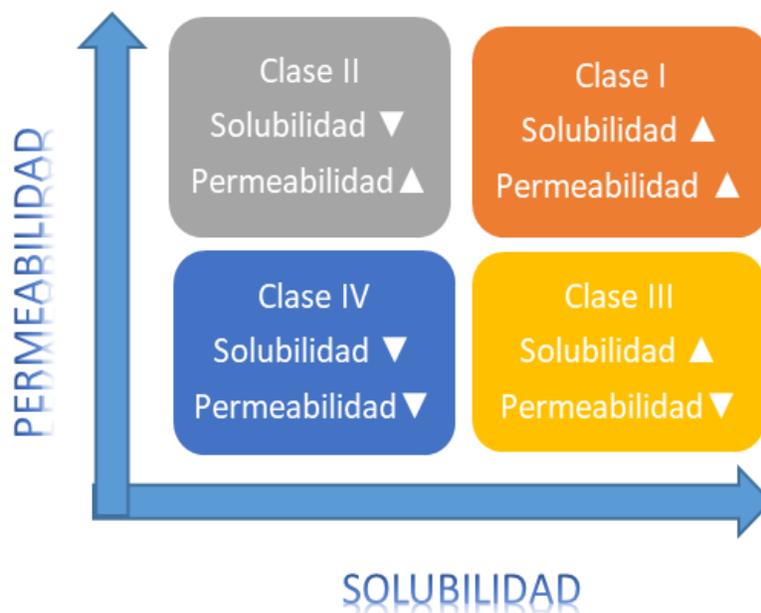


Figura 10 Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (Amidon, 1995)

Los IFA's de la clase I tienen buena absorción, los factores que pueden limitarla son la velocidad de disolución y el vaciamiento gástrico. Los de clase II tienen buena absorción, pero la velocidad de disolución es menor. En la clase III la permeabilidad es el paso que

limita la buena absorción. Por último, la clase IV en donde la liberación oral presente varios problemas. (Amidon, 1995)

Siendo una oportunidad de mejora, el 40% de los 200 medicamentos orales más vendidos en Estados Unidos de América y Europa, presentan problemas de solubilidad. Otros datos relacionados a los problemas de solubilidad se presentan en: el 33% de los medicamentos presentes en la Farmacopea Estadounidense, el 75% de compuestos en desarrollo y el 90% de las nuevas entidades químicas. (Rodríguez, 2005) Con todo esto surge la necesidad de mejorar las propiedades de baja solubilidad de los IFA's ya que esta impacta la biodisponibilidad. Una de las tantas estrategias que existen para mejorar la solubilidad es la modificación del estado sólido mediante la ingeniería de cristales. (Morissette, 2004)

### 3.10. Ingeniería de cristales y nuevas fases sólidas farmacéuticas

La ingeniería de cristales se encarga del estudio de las interacciones intermoleculares en relación del empaquetamiento cristalino y el manejo de estos para el diseño de nuevos sólidos con propiedades físicas y químicas mejoradas aplicadas en el ámbito farmacéutico. Algunas de las propiedades que se mejoran son: solubilidad, velocidad de disolución y biodisponibilidad. (Blagden, 2007) (Gautam, 2013)

La mayoría de los medicamentos en el mercado son formas farmacéuticas sólidas, lo cual implica que por lo general el IFA se encuentre en un estado sólido cristalino. Un sólido cristalino es aquel que tiene arreglos regulares de moléculas en tres dimensiones en el espacio, dichos arreglos se les conocen como celdas unitarias. El estado cristalino en un IFA confiere estabilidad termodinámica, fácil aislamiento con alta pureza y preserva sus propiedades fisicoquímicas. Sin embargo, aun con todas estas bondades el 40% de los IFA's cristalinos comerciales y las drogas en investigación presentan problemas de solubilidad. Con la finalidad de mejorar las propiedades fisicoquímicas de los IFA's se ha recurrido a la modificación del estado sólido ya sea en forma de: amorfos, polimorfos, solvatos, hidratos, sales y recientemente cocrystalos (**Figura 11**). (Datta, 2004) (Karagianni, 2018) (Sheth, 2005)

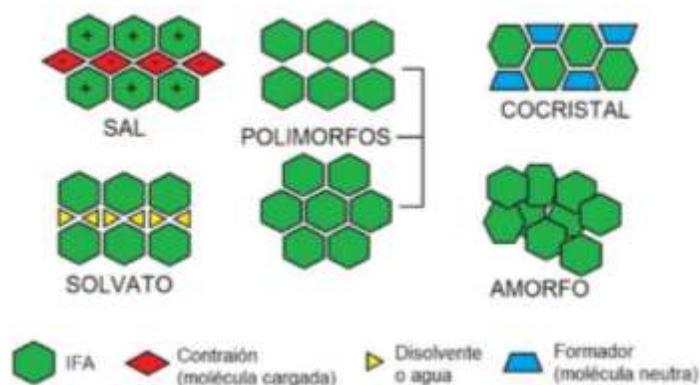


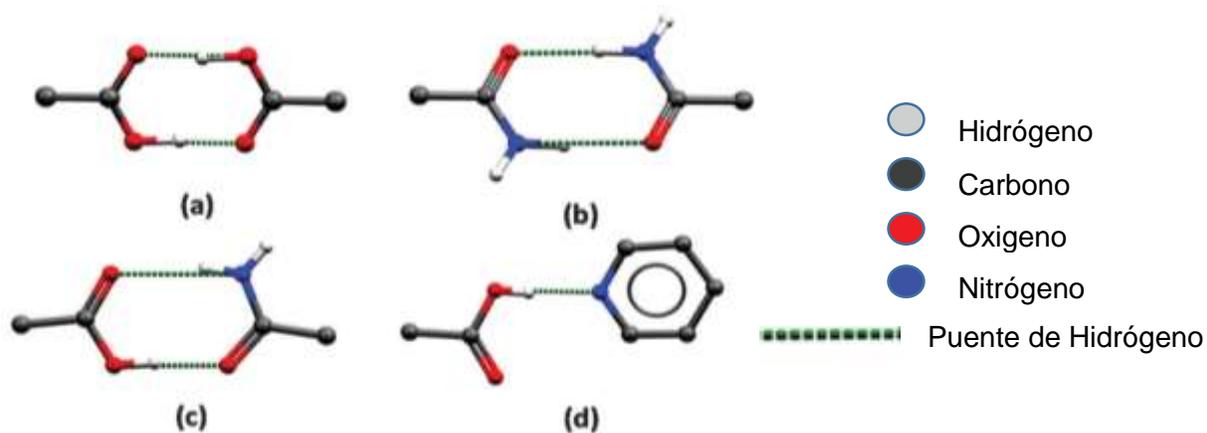
Figura 11 Clasificación de formas sólidas de un ingrediente farmacéutico activo. (Saucedo, 2014)

Un sólido amorfo es aquel que no tiene un arreglo molecular definido y es termodinámicamente menos estable que un sólido cristalino. (Karagianni, 2018) El polimorfismo en un sólido es la capacidad de existir como dos o más fases cristalinas que tienen diferentes disposiciones y/o conformaciones de las moléculas en la red cristalina. (Sheth, 2005) Los solvatos son sólidos que dentro de su red cristalina además de incluir moléculas del componente principal también presentan moléculas de solvente. Por otro lado, y muy parecidos se encuentran los hidratos, en los cuales las moléculas de solvente son de agua. (Datta, 2004) Las sales son sólidos que están compuestos por un anión y catión que interactúan mediante fuerzas iónicas. (Shaikh, 2018) Los cocrystalos son sólidos cristalinos multicomponentes que consisten en dos o más especies neutras (coformador) en relación estequiométrica precisa que están unidas mediante interacciones electrostáticas. (Blagden, 2007) Siendo las sales y los cocrystalos conocidos de manera general como nuevas fases sólidas (NFS). (Hasa, 2017)

### 3.10.1. Cocrystalos farmacéuticos

Los cocrystalos farmacéuticos son cocrystalos multicomponente compuestos por dos o más moléculas neutras, el IFA de interés y molécula o moléculas coformadoras. La molécula coformadora o coformador de preferencia debe ser seleccionada dentro del grupo de moléculas reconocidas como seguras (GRAS, por sus siglas en inglés). Dentro de la red cristalina la estequiometría de estos componentes está bien definida, la formación es mediante interacciones no covalentes y los componentes de forma independiente son sólidos a temperatura ambiente.

El diseño de fases cocrystalinas comprende la formación de sintones supramoleculares. Los sintones supramoleculares son unidades estructurales dentro de supermoléculas que pueden formarse y / o ensamblarse por operaciones sintéticas que involucran interacciones intermoleculares, proporcionando características esenciales de una estructura cristalina. Existen dos tipos de sintones supramoleculares; homosintones y heterosintones. Los homosintones son aquellos que se conforman por dos grupos funcionales iguales, como lo pueden ser: ácido carboxílico-ácido carboxílico y amida-amida. Por otra parte, los heterosintones están conformados por dos grupos funcionales diferentes, tales como: ácido carboxílico- amida y ácido carboxílico-piridina. Siendo los heterosintones los que propician la formación de cocrystalinas (**Figura 12**). (Kuminek, 2019) (Bolla, 2016) (Namin, 2014)



*Figura 12 Homosintones supramoleculares: (a) homosintón de ácido carboxílico como dímeros y (b) homosintón de amida como dímeros. Heterosintones: supramoleculares (c) ácido carboxílico-amida (d) ácido carboxílico-piridina. (Duggirala, 2016)*

Los cocrystalinas representan una vía útil para modificar las características de un cristal. La cocrystalización puede mejorar la biodisponibilidad mediante la velocidad de disolución, la estabilidad térmica y la higroscopicidad (requeridas en la conservación del producto final), la estabilidad química y propiedades mecánicas. (Vioglio, 2017)

### 3.10.2.Sales farmacéuticas

De acuerdo a la IUPAC (por sus siglas en inglés International Union of Pure and Applied Chemistry) se considera una sal a la “entidad química compuesta por la unión de un catión y anión”. Una sal farmacéutica está constituida por un IFA ionizable (catión, anión ó zwitterión) y un contraión que puede ser tanto molecular (mesilato, acetato, etc) como atómicos (bromuro, sodio, cloruro, etc). Sales conformadas por IFA’s ácidos usan por lo general el contraión sodio (Na<sup>+</sup>), mientras que para IFA’s básicos el contraión mas

empleado es el cloruro procedente del ácido clorhídrico. Como principio se debe de cumplir un balanceo de cargas entre las dos entidades ionizables, es por ello que la estequiometría debe ser bien definida. Existe una gran variedad de contraiones y estos deben ser utilizados con la dosis correcta, ya que pueden llegar a tener efectos toxicológicos tanto de manera intrínseca, así como la suma con el IFA. De acuerdo al Orange Book (compendio de medicamentos aprobados en EUA) clasifica a los IFA's en tres categorías, de acuerdo a las sales que forman. (Paulekuhn, 2007) (Saal, 2013) (Vioglio, 2017)

**Categoría I:** Sales formadas por IFAs básicos (contraión ácido).

**Categoría II:** Sales formadas por IFAs ácidos (contraión básico).

**Categoría III:** Agentes sin transferencia de protón (no sales, incluidos los zwitteriones)

Se estima que entre el 65% y 70% de los medicamentos se encuentran en formas farmacéuticas sólidas, siendo el estado cristalino del IFA el preferido por todas sus bondades. Dentro de las principales razones para generar sales farmacéuticas están mejorar la solubilidad, la velocidad de disolución, la sobresaturación, la absorción del IFA y la biodisponibilidad. En la industria farmacéutica la generación de sales se ha empleado también para optimizar propiedades fisicoquímicas como higroscopicidad, punto de fusión, cristalinidad, estabilidad química y física, perfil de impurezas o hábito cristalino. (Paulekuhn, 2007) (Vioglio, 2017)

### 3.10.3. Formación de una sal o cocrystal farmacéutico

Los IFA's pueden formar tanto sales como cocrystal, siempre que se elija la molécula formadora adecuada (coformador en el caso de cocrystal y contraión en el de sales). En el estudio realizado por Aurora J. Cruz-Cabeza se estudiaron 6465 complejos cristalinos y se llegó a la conclusión de que los valores de ( $\Delta pK_a$ ) entre el IFA y molécula formadora podrían darnos una posible predicción sobre la formación de una sal o cocrystal. (Cruz, 2012)

$$\Delta pK_a = pK_a[\text{base protonada}] - pK_a[\text{ácido}]$$

Tabla 6 Número de estructuras cristalinas y porcentajes de AB (cocrystal) y A-B+ (sal) dentro de las 3 diferentes zonas  $\Delta pK_a$  (Cruz, 2012)

Zona	$\Delta pK_a$	AB	A-B+
1	<-1	2076 (99.1%)	18 (0.9%)
2	[-1, 4]	495 (40.7%)	720 (59.3%)
3	>4	26 (0.8%)	3130 (99.2%)

Cuando el  $\Delta pK_a$  del IFA y la molécula formador es <-1, la predisposición se inclina más a la formación de un cocrystal, por otro lado, si es en un valor >4, la predisposición se inclina hacia a la formación de una sal y existe un intervalo de  $\Delta pK_a$ , donde la formación es de un 50/50 la posible formación de cocrystal o sal (**Tabla 6**). (Cruz, 2012) (Vioglio, 2017)

### 3.11. Métodos de obtención de nuevas fases sólidas

La obtención de nuevas fases sólidas es de gran interés para la industria farmacéutica debido a todas las bondades que conllevan. (Douroumis, 2017) Existe una amplia variedad de métodos para la generación de nuevas fases sólidas, estas pueden ser en fase sólida, líquida o gaseosa (**Figura 13**) (Karagianni, 2018) Dichos métodos presentan ventaja como el uso mínimo de disolventes o en ocasiones nulo, la excelente pureza y calidad de las nuevas fases formadas, altos rendimientos y en algunas ocasiones tiempos en el proceso muy cortos. (Douroumis, 2017) Algunas de estas técnicas mayormente empleadas para el desarrollo de nuevas fases sólidas son: molienda mecanoquímica en seco y asistida con disolvente, método de formación de pasta (slurry) y reacción de cristalización. (Douroumis, 2017) (Hasa, 2017)



Figura 13 Representación esquemática de los métodos para la formación de cocrystal. (Karagianni, 2018)

### 3.11.1. Molienda mecanoquímica en seco y asistida con disolvente

La reacción mecanoquímica en seco consiste en la formación de nuevas fases sólidas en cantidades estequiométricas de las materias de partida, mediante fuerza mecánica sin uso de disolventes, por ello se considera amable con el medio ambiente. En este proceso la reducción de tamaño de partícula aumenta la superficie específica entre las materias de partida para la formación de interacciones intermoleculares. Los equipos y materiales empleados en este proceso son: molino de bolas, molino vibratorio y motero con pistilo, siendo este último el que menor rendimientos ofrece. El molino de bolas es el que ha reportado mayores rendimientos. La molienda asistida con disolvente se basa en el mismo principio solo que tiene como extra la presencia de un catalizador que en este caso es el disolvente. Aunque se use disolvente, la cantidad que se añade es mínima y no forma parte del producto final. Las ventajas sobre la molienda en seco son vastas: mayor rendimiento, control de la producción de polimorfos, obtención de productos más puros y disminución de los tiempos de preparación. (Douroumis, 2017) (Karagianni, 2018)

### 3.11.2. Formación de pasta (slurry)

Este método simple y rápido consiste en la cristalización de las nuevas fases sólidas mediante la formación de una suspensión con las materias primas; IFA y molécula formadora de fase, con estequiometría definida en disolvente bajo condiciones de agitación constantes. Al final se seca para obtener el polvo. La elección de este método depende principalmente de la estabilidad física de la suspensión. (Karagianni, 2018) (Akki, 2019)

### 3.11.3. Reacción de cristalización

Este método consiste en la formación de la fase sólida cristalina mediante la preparación de una solución supersaturada de las materias primas; IFA y molécula formadora de fase, con estequiometría definida en disolvente, el cual se va a eliminar poco a poco por medio de evaporación. El fundamento de esta técnica se lleva a cabo en tres pasos: supersaturación, nucleación y crecimiento de cristales, donde la supersaturación es el paso que limita la nucleación y el crecimiento de cristales. Este método tiende a formar

monocristales, los cuales pueden mediante estudios de difracción elucidar el empaquetamiento cristalino. (Akki, 2019) (Barikah, 2018)

### 3.12. Técnicas de caracterización física de nuevas fases sólidas

La caracterización de nuevas fases sólidas es crucial para identificar la obtención. La caracterización se puede hacer en base a dos parámetros: la estructura cristalina y sus propiedades físicas. La caracterización estructural cristalina envuelve las siguientes pruebas: Difracción de rayos X de polvos (DRXP), Difracción de rayos X de monocristal (DRXMC), espectroscopia infrarroja (IR), espectroscopia de Raman y resonancia magnética nuclear (RMN) de sólidos. Para la caracterización de propiedades físicas se realizan las siguientes pruebas: calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y microscopia. (Karagianni, 2018) (Shaikh, 2018)

#### 3.12.1. Difracción de rayos X de polvos (DRXP) y difracción de rayos X de monocristal (DRXMC)

La Difracción de rayos X en polvos (DRXP) y monocristal (DRXMC) son técnicas no destructivas usadas ampliamente para la caracterización de sólidos. La DRXP proporciona información que es complementaria a diversos métodos microscópicos y electroscopicos, así como: identificación de fase, pureza de la muestra, tamaño de cristales y en algunos casos la morfología. (Holder, 2019)

La difracción de rayos X involucra la medición de la intensidad de los rayos X dispersados por los electrones de los átomos que componen el sólido. Las ondas dispersadas por los átomos en diferentes posiciones llegan al detector con un cambio de fase relativo. Por lo tanto, las intensidades medidas proporcionan información sobre las posiciones atómicas relativa. En la DRXP, la difracción ocurre a ángulos concretos entre la muestra y el haz de rayos X que cumplen la ecuación de Bragg:  $n\lambda = 2d \sin \theta$  (**Figura 14**). Donde,  $n$  es un número entero,  $\lambda$  es la longitud de onda de los rayos X empleados,  $d$  es el espacio perpendicular entre una serie de planos de la red cristalina y  $\theta$  es el ángulo entre los rayos-X incidentes y el plano de reflexión. (Dinnebier, 2008)

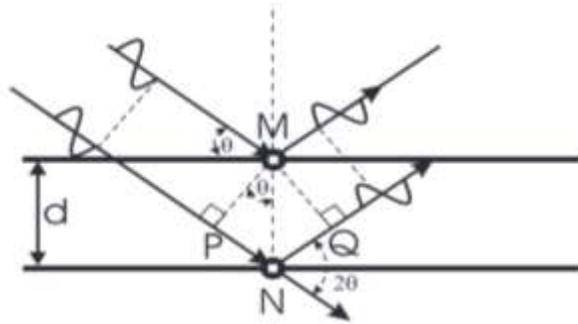


Figura 14 Representación de la geometría utilizada para la derivación simplificada de la ley de Bragg. (Dinnebier, 2008)

Los datos obtenidos se presentan como intensidad contra ángulo de  $2\theta$ , dando un patrón de picos únicos que puede considerarse la huella digital de un cristal. El patrón de difracción brinda información sobre los parámetros de la celda unitaria, que se puede obtener mediante el ordenamiento de datos. El tamaño de partícula y la morfología pueden influir en la intensidad de los picos en un patrón DRXP. Se puede elucidar la estructura cristalina tridimensional a partir de datos de DRXP de alta calidad por medio de un proceso conocido como Refinamiento de Rietveld. La DRXP se considera como “la técnica de oro” para la identificación de polimorfos. Esto debido a que es muy sensible a los parámetros de la celda unitaria, ya que entre polimorfos varían la mayoría de las veces.

En el caso de la difracción de rayos X de monocristal (DRXC) comparte el mismo principio que la DRXP, pero con la diferencia de que la muestra es un cristal único. Los datos monocristalinos proporcionan información sobre la conformación y empaquetamiento molecular del cristal, las interacciones intermoleculares que actúan para la formación del cristal tales como puentes de hidrógeno, la presencia de canales y la ubicación del disolvente. La DRXC también nos ayuda a la determinar formas polimórficas. (Munson, 2009)

### 3.12.2. Espectroscopia infrarroja (IR) reflectancia total atenuada ATR

La espectroscopia ATR-IR es una técnica analítica ampliamente usada para la caracterización de sólidos. Es una técnica que goza de muchas bondades como: análisis rápido y simple, requiere cantidades mínimas de muestra, no requiere ser un cristal único y es una técnica no destructiva. La espectroscopia ATR-IR analiza las vibraciones fundamentales de las especies moleculares y las diferentes regiones en el espectro que

pueden ser establecidas a grupos funcionales específicos. De esta manera la técnica se puede usar con un enfoque para explorar la diferencia en las bandas espectrales entre las materias primas y la fase sólida en estudio. También sirven para reconocer la generación de puentes de hidrógeno y para evaluar si la transferencia de protones se ha producido o no, entre el IFA y en contra ion en el caso de las sales o con coformadores en cocristales, respectivamente. De manera general se ha observado que en las bandas de los grupos funcionales que generan puentes de hidrógeno característicos de la cocrystalización tienden a un leve desplazamiento, mientras que en el caso de las sales la transferencia del protón genera cambios drásticos en el desplazamiento de bandas. El espectro IR se puede dividir en 2 regiones muy importantes, la región IR cercano que va de los 4000-14000  $\text{cm}^{-1}$  y la región IR medio que va de los 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Dentro de la región de IR medio se encuentran dos regiones, donde la región de 400-1000  $\text{cm}^{-1}$  se puede considerar como huella dactilar del espectro, ya que es única de un compuesto molecular en específico. En la otra región que va de 1000-4000  $\text{cm}^{-1}$  se encuentran los grupos funcionales. Por ejemplo, el doble enlace carbono-oxígeno (C=O), como el que se encuentra en muchos grupos funcionales que contienen el carbonilo, como lo son: acetona, aldehídos, ésteres y ácidos carboxílicos, los cuales absorben en la región de 1600-1800  $\text{cm}^{-1}$ . (Munson, 2009) (Silva, 2016) (Ali, 2012)

### 3.12.3. Análisis térmico: calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico

El análisis térmico es un conjunto de técnicas comúnmente empleadas para la caracterización de sólidos. Dichas técnicas de manera general monitorean cambios físicos o químicos en las propiedades térmicas de la muestra por medio de un cambio de temperatura establecido con el paso del tiempo en una atmósfera controlada. La ventaja de estas técnicas es que requieren cantidades limitadas de muestras (en muchos casos miligramos). Algunas desventajas son que a temperaturas altas las lecturas pueden variar de manera significativa en comparación a cuando se hacen en temperaturas bajas, también que son técnicas destructivas. Dentro de las técnicas más empleadas están la calorimetría diferencial de barrido (Por sus siglas en inglés DSC) y análisis termogravimétrico (TGA).

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) es el método de análisis térmico más empleado, principalmente por su velocidad, simplicidad y disponibilidad. El DSC es una técnica donde la muestra y una referencia son calentadas simultáneamente mientras conservan la misma temperatura. Con ello se monitorea la cantidad de energía requerida para calentar tanto la muestra como la referencia, de esta forma se obtiene una diferencia de temperatura ( $dT/dt$ ) para después ser graficada en función del tiempo o temperatura. La energía asociada a la técnica se obtiene usando la fórmula  $Dq/dt = \Delta T/R$ , donde  $Dq/dt$  es el flujo de calor,  $\Delta T$  es la diferencia de temperatura entre el horno y el crisol que porta la muestra y  $R$  es la resistencia térmica entre el horno y el crisol. Las principales aplicaciones para la técnica de DSC son: transición de fase, punto de fusión, transición vítrea, punto de Curie, determinación de cristalinidad, estudios cinéticos, pruebas de transformación de IFA's y estabilidad física, huellas dactilares de materiales y control de pureza.

La técnica DSC es una potente herramienta para la detección de polimorfos y el estudio de la estabilidad de polimorfos relativa a cierta temperatura. En el caso de los cocristales la técnica de DSC sirve para generar diagramas binarios, los cuales muestran información sobre la formación de cocristales, ayudando así al cribado y también sobre la estabilidad del cocrystal, siendo así herramienta de caracterización. El punto de fusión del cocrystal difiere de los puntos de fusión de los componentes de partida, IFA y coformador. Teniendo como comportamiento general que el punto de fusión del cocrystal se encuentre entre los componentes de partida. (Karagianni, 2018) (Munson, 2009) (Pindelska, 2017)

El análisis termogravimétrico (TGA) es una técnica donde la muestra es colocada en un crisol abierto para después ser calentada en una rampa específica de calentamiento. Se analiza la variación de masa de la muestra en función del tiempo o temperatura. Usualmente esta técnica se complementa con el DSC para comparar la entalpía de las transiciones con los cambios de peso resultantes. La técnica es principalmente usada para monitorear la pérdida de solventes, descomposición de la muestra y predecir la estabilidad térmica. A partir de los estudios de TGA se puede conseguir información sobre la muestra en relación a su estabilidad oxidativa, estabilidad térmica, composición de sistemas multicomponentes (sean sales o cocristales), cinética de descomposición, vida útil estimada de un producto y efectos de atmósferas reactivas o corrosivas. (Munson, 2009) (Pindelska, 2017)

### 3.13. Técnicas de caracterización biofarmacéutica de nuevas fases sólidas

La generación de nuevas fases sólidas tiene como objetivo mejorar las propiedades biofarmacéuticas del IFA de partida. Algunas de las pruebas para demostrar que las propiedades biofarmacéuticas se modifican son las siguientes: estabilidad, solubilidad, disolución de polvos o también llamada disolución bajo condiciones no-sink y estabilidad de fase mediada por el disolvente. (Pindelska, 2017)

#### 3.13.1. Estabilidad

La estabilidad de un IFA es la propiedad biofarmacéutica más importante después de la solubilidad, que puede verse modificada por la generación de nuevas fases sólidas. De acuerdo con la FDA (Por sus siglas en inglés Food and Drug Administration) un IFA es estable cuando sus propiedades físicas, químicas, biológicas, terapéuticas y microbianas se mantienen a lo largo del tiempo que son almacenados hasta su uso. Existen diferentes variantes que pueden afectar la estabilidad de un IFA: la temperatura, la cual puede degradar al IFA; el pH, el cual puede llevar al IFA a la descomposición o alterar la solubilidad del mismo; la humedad, porque el agua puede reaccionar con el IFA mediante reacciones de oxidación, hidrólisis y reducción, también el agua puede promover el crecimiento bacteriano; la forma farmacéutica; la incompatibilidad de IFA's; la exposición al oxígeno y a la radiación. La estabilidad del estado sólido en las nuevas fases sólidas es de gran importancia y debe ser monitoreado ya sea mediante técnicas directas o indirectas. Las técnicas más empleadas para evaluar la estabilidad física son DSC y TGA, cabe mencionar que estas se pueden ver complementadas con técnicas como DRXP y técnicas espectroscópicas. (Pindelska, 2017)

De acuerdo a la normativa mexicana de la Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2015 los estudios de estabilidad son "pruebas que se efectúan a un fármaco, a un medicamento o a un remedio herbolario por un tiempo determinado, bajo la influencia de temperatura, humedad o luz en el envase que lo contiene, para demostrar el periodo de vida útil de éstos y determinan su fecha de caducidad" y los estudios de estabilidad acelerada son " estudios diseñados bajo condiciones extremas de almacenamiento para incrementar la velocidad de degradación química, biológica o los cambios físicos de un fármaco, de un medicamento o de un remedio herbolario". La NOM-073-SSA1-2015 marca que para un fármaco nuevo las

pruebas de estabilidad acelerada deben realizarse en 3 lotes piloto por 6 meses, en los cuales los tiempos de análisis son: tiempo inicial, 3 y 6 meses, bajo condiciones  $40 \pm 2$  °C / 75 % HR.

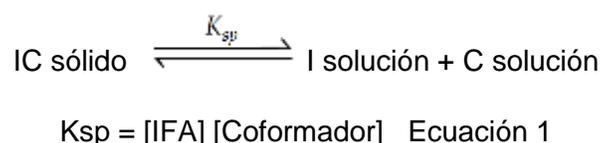
### 3.13.2. Transformación de fase mediada por la solución

Los estudios de estabilidad de fase en el estado sólido son importantes debido a que la aparición o desaparición repentina de una forma cristalina puede amenazar el desarrollo farmacéutico, teniendo como consecuencias graves efectos negativos en la biodisponibilidad. Por ello el entendimiento de la cinética y mecanismo de la transformación de fase es de suma importancia. Este comportamiento se monitorea mediante el estudio del sólido en contacto con el medio a diferentes tiempos para después ser analizado por DRXP. Las transformaciones de fase más frecuentes en el estado sólido son; el polimorfismo, desolvatación, formación de un hidrato, la conversión de una forma cristalina a una amorfa, o bien, en el caso de los cocristales, la transformación a materias primas. Para explicar el mecanismo de la transformación de fase se han propuesto cuatro pasos: 1) desprendimiento molecular de la fase sólida inicial 2) formación de una solución sólida intermedia 3) nucleación del nuevo sólido transformado 4) crecimiento del nuevo sólido transformado. (Vippagunta, 2001)

### 3.13.3. Solubilidad

De manera general la solubilidad se puede definir como la concentración al equilibrio que existe en un sistema donde la sustancia sólida pura (soluto) entra en contacto en el seno del líquido puro (solvente) a temperatura y presión constante. (Connors, 2010) La solubilidad de un IFA es una de las propiedades fisicoquímicas más importantes. Esto debido a que tanto la solubilidad como la absorción tienen una correlación directa con la biodisponibilidad del IFA. En una formulación sólida una vez el fármaco se encuentre disuelto en el tracto gastrointestinal este pasa a ser absorbido para después estar biodisponible en sangre y así llegar al sitio de acción. La determinación de la solubilidad de IFA y los medio por los cuales se puede modificar, son esenciales para el desarrollo farmacéutico. La solubilidad es tan importante que se contempla en el sistema de clasificación biofarmaceutico. (Pindelska, 2017) (Mantri, 2009)

Una de las razones por la cual se estudia la generación de nuevas fases sólidas (NFS) (sales o cocrisales) es para mejorar la solubilidad de IFA's poco solubles. La determinación de la solubilidad de NFS puede ser basada en un enfoque termodinámico y cinético. Los estudios de equilibrio termodinámico, también llamados disolución de polvos proporcionan una medida de los procesos de solubilidad de las NFS, mientras que los estudios cinéticos proporcionan información sobre la escala de tiempo de los procesos dinámicos y las fluctuaciones de concentración durante la disolución de la NFS. Los experimentos de equilibrio termodinámico pueden dar información sobre el diseño de los estudios cinéticos. La solubilidad de una NFS (Concentración de IFA en solución procedente de la NFS como sólido de partida) puede ser expresada como el producto de la solubilidad ( $K_{sp}$ ) de los 2 componentes (IFA y en el caso de cocrisales coformador y en sales contraión) de la NFS solo cuando estos no interactúan en solución. Ecuación 1 tomando como ejemplo un cocrystal, siendo expresado con "I" el IFA y con "C" el coformador.



Las NFS metaestables, son aquellas que en contacto con el medio de disolución tienden a reprecipitar en la forma sólida menos soluble, siendo normalmente el IFA. Para la evaluación de solubilidad de estas NFS metaestables se requiere alcanzar el punto eutéctico en el equilibrio trifásico, entre dos fases sólidas (NFS y IFA) y una fase en solución. Este punto de equilibrio se puede verificar mediante el análisis de DRXP donde se puede ver el patrón de difracción del IFA y la NFS. Tomando como ejemplo un cocrystal, una vez alcanzado el punto eutéctico se procede a la cuantificación de  $[IFA]_{eut}$  y  $[Coformador]_{eut}$ . La comparación de las concentraciones eutécticas con la estequiometría de las NFS proporciona información clave sobre la solubilidad. Retomando el ejemplo del cocrystal, considerando que se alcanzó el punto eutéctico y es un cocrystal estequiometría 1:1, si la  $[Coformador]_{eut} > [IFA]_{eut}$  entonces la  $S_{cocrystal} > S_{IFA}$ . Expresado también en fórmula de la constante eutéctica, **Ecuación 2** cuando la  $K_e > 1$  entonces  $S_{cocrystal} > S_{IFA}$ . (Mantri, 2009) (Schultheiss, 2009) (Thakuria, 2013)

$$K_{eut} = [Coformador]_{eut} / [IFA]_{eut} \quad \text{Ecuación 2}$$

#### 3.13.4. Disolución de polvos

La disolución de polvos es una técnica que nos puede ayudar a predecir el comportamiento *in vivo* de la entidad sólida que se está evaluando. Nombrada también solubilidad al equilibrio, debido a que esta prueba biofarmacéutica para llevarse a cabo se requiere un sistema saturado, en donde el sólido en cuestión se encuentra en exceso dentro del medio de disolución (condiciones *no-sink*). Todo esto bajo condiciones experimentales controladas. Se toman muestras a lo largo del experimento para conocer la concentración de IFA disuelto a los diferentes tiempos. La formación de una meseta en los datos de concentración evidencia que la disolución alcanzó el equilibrio. (Schultheiss, 2009) (Pindelska, 2017) Existen varios factores que pueden intervenir en este comportamiento, como lo son: el tipo y concentración de excipientes (polímeros o surfactante), la cantidad de sólido que se pone a prueba, así como el volumen y tipo de medio de disolución. (Childs, 2013) El tiempo en que la disolución logra el equilibrio es de suma importancia para el desarrollo de formulaciones farmacéuticas, esto basado en el tiempo de residencia en estomago e intestinos. Si un IFA prolonga en alcanzar la solubilidad al equilibrio la cantidad de IFA que se absorbe en el tracto gastrointestinal se verá afectada, esto debido a que el IFA debe estar disuelto para proceder a ser absorbido. Dentro de los principales factores que pueden influir en la disolución de polvos se encuentran, el tamaño de partícula, alteraciones de la estructura cristalina durante el experimento y el pH del medio de disolución. (Schultheiss, 2009)

Debido a la saturación en el medio, durante la prueba se puede monitorear la estabilidad cristalina del sólido en cuestión, esto mediante DRXP. Debido a que puede ocurrir una transformación polimórfica, transformación a hidrato o solvato. (Mantri, 2009)

#### 3.14. Inducción de la sobresaturación y modulación de la transformación de fase

La disolución de IFA's formulados como amorfos (sólidos de alta energía), formas cristalinas metaestables, así como algunas sales y cocristales, generan estados de supersaturación del IFA disuelto en la solución con respecto a la solubilidad de la forma cristalina estable. A este comportamiento se le conoce como efecto "resorte". La sobresaturación puede proporcionar ventajas de absorción por encima de las soluciones insaturadas por un aumento de la actividad termodinámica. Sin embargo, Cuándo y dónde

la concentración de las moléculas de forma libre excede su solubilidad de equilibrio, la forma libre puede precipitar en forma más estable pero menos soluble. La tasa de separación de fases depende del grado de sobresaturación en esa ubicación. Normalmente la precipitación se puede dar en el seno de la solución o en algunos casos en la superficie del sólido que se disuelve. La velocidad de precipitación puede reducirse con aditivos que funcionen como inhibidores de la precipitación, principalmente inhibiendo la tasa de nucleación, provocando un crecimiento lento de los cristales o ambos. Algunas veces estos inhibidores de la precipitación también actúan como cosolvente para la disolución directa del IFA. Algunos de los inhibidores de la precipitación son los polímeros, surfactantes y ciclodextrinas. Siguiendo con la analogía del “resorte” (inducción de la supersaturación), la inhibición de la precipitación del IFA se ha denominado efecto “paracaídas”; por lo tanto, a la combinación de ambos fenómenos se le ha designado efecto “resorte-paracaídas” (Figura 15). (Bavishi, 2016) (Omori, 2020) (Warren, 2013)

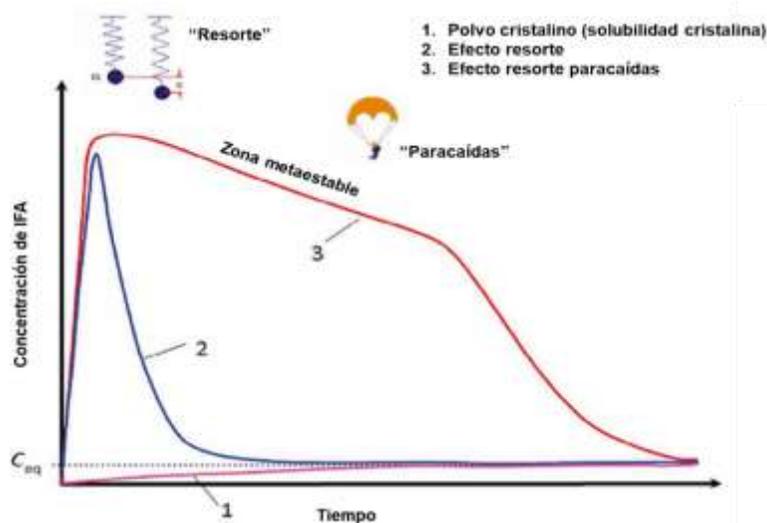


Figura 15 Efecto resorte paracaídas para alcanzar alta solubilidad aparente en IFA's insolubles. (1) Cristal (estable) forma con baja solubilidad. (2) Especie con vida metaestable media, muestra gran solubilidad, pero cae rápidamente en la forma menos soluble. (3) Concentraciones de IFA se mantienen durante más tiempo en la zona metaestable (Bavishi, 2016)

El proceso de precipitación de una solución supersaturada se rige por dos pasos críticos: nucleación y crecimiento cristalino. Dichos procesos se pueden ver influenciados por la estructura cristalina y la flexibilidad molecular, el solvente, la temperatura, la agitación y presencia de impurezas o aditivos. (Zhang, 2007)

Se ha demostrado en varios estudios que los polímeros son buenos inhibidores de la precipitación, manteniendo el IFA en un estado sobresaturado cinéticamente estabilizado (pero termodinámicamente inestable) y, por lo tanto, mejorando la absorción oral. (Warren, 2013) Existen diferentes mecanismos propuestos por los cuales un polímero mantiene el estado de supesaturación:

Incremento de la solubilidad del IFA. Los polímeros pueden interactuar con el IFA para formar un complejo soluble en agua (similar a los complejos IFA-ciclodextrina).

Inhibición del proceso de nucleación del cristal. Los polímeros pueden interactuar con el IFA libre y así prevenir la formación de núcleos de cristales.

Inhibición del proceso de crecimiento de cristal. Los polímeros se pueden acoplar en la superficie del cristal del IFA, ocupando sitios para el crecimiento del cristal. Inhibiendo la difusión del IFA y, por lo tanto, dejando más moléculas de IFA libres en la supersaturación.

Aumento de la viscosidad de la solución y disminución del movimiento molecular. El polímero puede actuar sobre la viscosidad de la solución en general. (Yang., 2015)

## 4. Justificación

Las infecciones parasitarias por helmintos (nematodos, cestodos y trematodos), helmintiasis, son de las principales causas que tienen efectos negativos en la producción pecuaria. Siendo los rumiantes de regiones tropicales y templadas los principales afectados.

En México en el año 2013 tan solo en el ganado bovino las pérdidas ocasionadas por nematodos se estimaron en 445 millones de dólares (mdd) y a en otros países como Uruguay se han perdido alrededor de 41.8 millones de dólares (mdd) y en Kenia se notificó que 26 mdd se pierden únicamente por causa del nematodo hematófago *Haemonchus contortus*. En el caso de los cestodos, las pérdidas solo por *Taenia solium* en el sector porcino en países africanos como Nigeria, Togo y República Democrática del Congo en el año 2010 se estimaron en 17.5, 2.1 y 2.1 millones de euros respectivamente.

El fenbendazol es un antiparasitario que elimina los nematodos y cestodos inhibiendo los procesos metabólicos relacionados a la obtención de energía y la polimerización de los microtúbulos al unirse a la tubulina, también altera la morfología de los huevos y evita la eclosión de la larva. Dicho fármaco aún no presenta resistencia en México, pero existe el inconveniente de que es un fármaco que se absorbe en cantidades limitadas debido a su baja solubilidad y con una gran variabilidad individual.

Ante esta problemática nace la necesidad de mejorar las propiedades biofarmacéuticas para la administración oral del FBZ. Existen diferentes alternativas para mejorar dichas propiedades como el uso de formulaciones en solución, ciclodextrinas y tensoactivos, pero se considera que la generación de nuevas fases sólidas (NFS) conlleva una serie de ventajas de formulación, manufactura y costo por encima de las antes mencionadas. Sumado a estas ventajas se espera que NFS de FBZ pueden mejorar principalmente sus propiedades biofarmacéuticas.

En el ámbito científico es de gran interés el estudio del estado sólido de los IFA's, ya que este tiene diferentes efectos en sus propiedades fisicoquímicas. En los últimos años la publicación de artículos científicos relacionados a el estado sólido ha ido aumentando considerablemente. Se han encontrado sales de FBZ con propiedades biofarmacéuticas mejoradas por ello la importancia de seguir buscando NFS de dicho IFA en donde la generación de sales ha sido factible.

## 5. Hipótesis

La generación de nuevas fases sólidas (NFS) de Fenbendazol ya sea en forma cocrystalina o como una sal, modificará las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas del IFA; estos nuevos sólidos de FBZ ampliarán en número y diversidad de propiedades de las formas sólidas disponibles para la mejora en las formulaciones farmacéuticas.

## 6. Objetivos

### 6.1. Objetivo general

Obtener y caracterizar nuevas fases sólidas de fenbendazol, evaluando propiedades farmacéuticas relevantes.

### 6.2. Objetivos específicos

1. Realizar el análisis supramolecular de las estructuras químicas derivadas del bencimidazol y seleccionar el grupo de coformadores candidatos para la generación de nuevas fases sólidas.
2. Realizar los estudios de rastreo de nuevas fases sólidas farmacéuticas mediante formación de pasta asistida por disolvente (*slurry*).
3. Realizar el escalamiento de las nuevas fases sólidas mediante molienda mecánica asistida por disolvente y la determinación de estequiometría de las mismas.
4. Caracterizar mediante técnicas físicas y espectroscópicas (calorimetría, DRXP, IR y RMN) las nuevas fases sólidas de fenbendazol.
5. Desarrollar y validar una técnica espectroscópica por UV o por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) para la cuantificación del IFA de muestras de disolución de nuevas fases sólidas.
6. Realizar la caracterización biofarmacéutica de las nuevas fases sólidas de interés mediante la determinación de solubilidad al equilibrio, constante eutéctica, estabilidad indicativa, estabilidad de fase en solución y perfiles de disolución en pH 1.2 y 6.8.

## 7. Materiales y metodología

### 7.1. Reactivos

A continuación, se enlista la serie de reactivos empleados en este trabajo

- Fenbendazol (FBZ), Laboratorios Senosiain S.A de C.V. Lote 1912026652
- Acetonitrilo (grado CLAR), Merck KGaA, CAS 75-05-8 Lote JA105430
- Agua destilada y desionizada
- Trietilamina ( $\geq 99.5\%$ ), Sigma-Aldrich, CAS 121-44-8, Lote SHBD5029V
- Metanol (grado CLAR) Merck KGaA, CAS 67-56-1 Lote I1092318024
- Ácido Fosfórico, J.T.Baker, CAS 7664-38-2 Lote 0260-02
- Ácido clorhídrico J.T.Baker ACS, CAS 7647-01-0 Lote Y06C15
- Fosfato de potasio dibásico anhidro (ACS reagent,  $\geq 98\%$ ), Sigma-Aldrich, CAS 7758-11-4
- Fosfato de sodio monobásico anhidro (ACS reagent,  $\geq 99\%$ ), Sigma-Aldrich, CAS 7778-77-0
- METHOCELTM A15 (COLORCON) viscosidad (10-12 cP)
- Ácido L-málico, ( $\geq 99\%$ ), Sigma-Aldrich, CAS 97-67-6, Lote BCBP3213V
- Ácido oxálico anhidro, ( $\geq 99.0\%$ ), Sigma-Aldrich, CAS 144-62-7, Lote BCBR0609V
- Ácido malónico ( $\geq 99\%$ ), Sigma-Aldrich, CAS 141-82-2, Lote 06326BJ
- Ácido glutárico ( $\geq 99\%$ ), Aldrich, CAS 110-94-1, Lote MKBB1878
- Ácido D-tartárico ( $\geq 99\%$ ), Aldrich, CAS 147-71-7, Lote 16801TD
- Ácido succínico ( $\geq 99.0\%$ ), Sigma-Aldrich, CAS 110-15-6, Lote 027K00971
- Ácido adípico ( $\geq 99.5\%$ ), Fluka Analytical, CAS 124-04-9, Lote 23208224
- Ácido benzoico ( $\geq 99.5\%$ ), Sigma-Aldrich, CAS 65-85-0, Lote 04707HC
- Ácido 2,3-dihidroxibenzoico ( $\geq 99\%$ ), Aldrich, CAS 303-38-8, Lote 09026KB
- Ácido 2,4-dihidroxibenzoico ( $\geq 97\%$ ), Aldrich, CAS 89-86-1, Lote 30398PJ
- Ácido 2,5-dihidroxibenzoico ( $\geq 98\%$ ), Aldrich, CAS 490-79-9, Lote 09026EE
- Ácido 2,6-dihidroxibenzoico ( $\geq 98\%$ ), Aldrich, CAS 303-07-1, Lote MKBB5244
- Ácido 3,4-dihidroxibenzoico ( $\geq 97\%$ ), Aldrich, CAS 99-50-3, Lote BCBH2769V
- Ácido 3,5-dihidroxibenzoico ( $\geq 97\%$ ), Aldrich, CAS 99-10-5, Lote 09611BU
- Ácido tereftálico ( $\geq 98\%$ ), Aldrich, CAS 100-21-0, Lote MKAA3866
- Ácido gálico ( $\geq 97.5\%$ ), Sigma, CAS 149-91-7, Lote 039k0066
- Ácido glicólico ( $\geq 97\%$ ), Aldrich, CAS 79-14-1, Lote 00519CJ

### 7.2. Materiales

Se enlista el material de laboratorio utilizado en el presente trabajo

- Vasos de precipitado (10, 50, 100, 500, 1000 y 2000 mL)
- Matraces volumétricos (5, 10, 25, 50 y 1000 mL)
- Pipetas volumétricas (1, 5, 10 mL)

- Probetas (100, 500 mL)
- Agitadores magnéticos
- Viales de 4 mL
- Viales CLAR de 2 mL
- Micropipetas (200, 1000  $\mu$ L)
- Termómetro digital
- Espátulas
- Swinnex
- Filtros Whatman #3
- Jeringas (3, 5 y 10 mL)

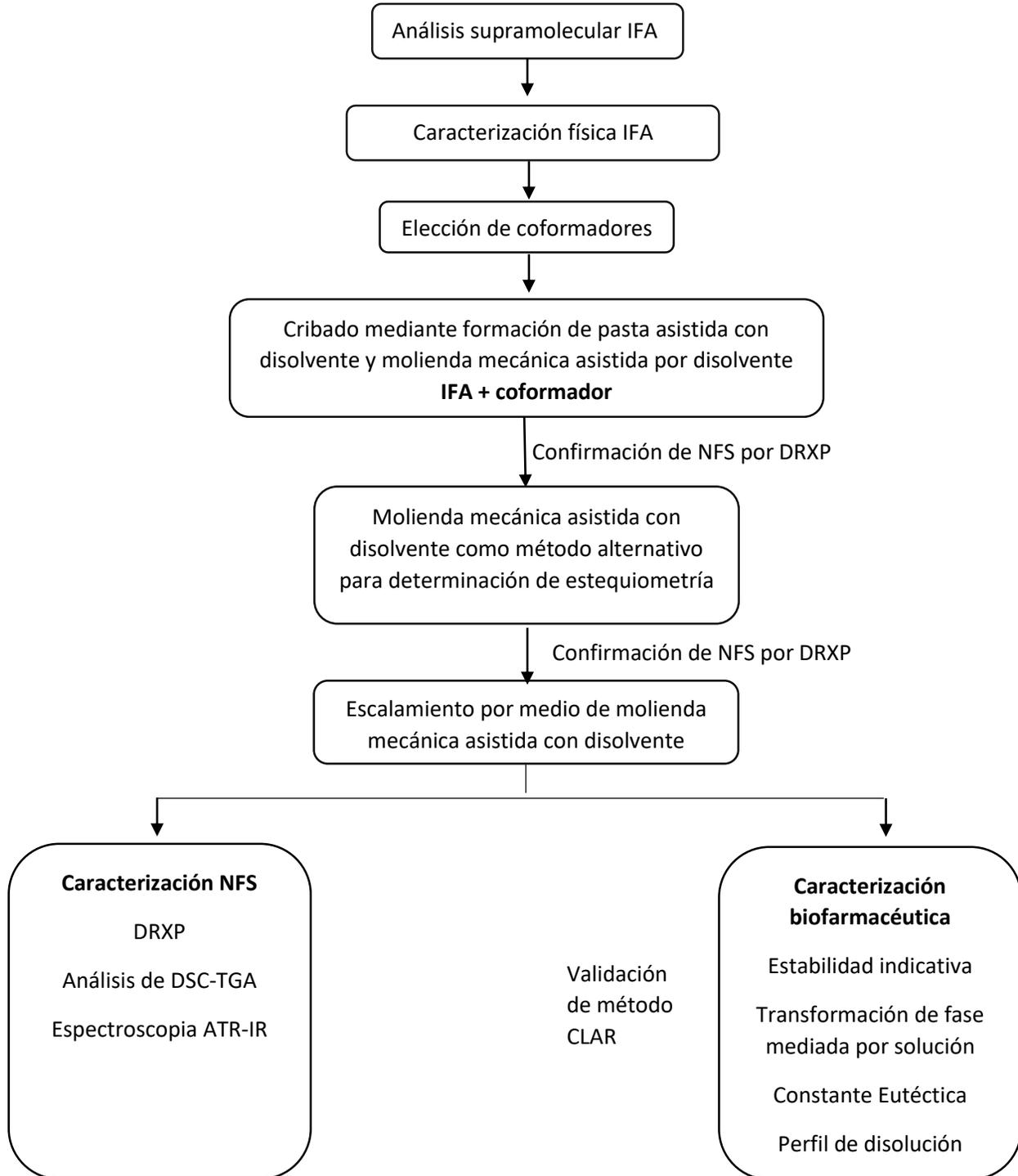
### 7.3. Equipo

Se enlistan los equipos de laboratorio empleados en el presente trabajo

- Balanza analítica OHAUS Modelo Adventur Serie 10841225060407
- Molino Retsch® Modelo MM400 Serie 128210105
- Destilador y desionizador de agua Elga Purelab Modelo OptionR7BP Serie OR07D227538BP
- Difractómetro de rayos X de polvos Bruker D2 Phaser 2nd Gen con un detector de Lynx eye ( $\lambda$ Cu-K $\alpha$ 1 1.54184 Å)
- Potenciómetro Conductronic pH120, electrodo PG101C-BNC4949
- Espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier NICOLET 6700 con detector DTGS ATR
- Analizador simultáneo TGA-DSC TA Instrument SDT Q2000
- Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) Hitachi LACHromeUltra
- Recirculador de agua SD07R-20-AA1B POLYSCIENSE
- Disolutor de polvos-personal reaction station J-KEM Scientific
- Cámaras ambientales Revco Incubator Chamber RI-23-1060-ABA, Rios Rocha Chamber E0-51 y Binder Climatic Chamber IP 20.

## 7.4. Metodología

A continuación, se muestra el esquema de trabajo global empleado para la generación, identificación, caracterización física, química y biofarmacéutica de las NFS.



#### 7.4.1. [Análisis supramolecular del IFA](#)

Se llevó a cabo la búsqueda en fuentes bibliográficas especializadas acerca de las fases sólidas cristalinas existentes en la CSD del fenbendazol y estructuras químicas relacionadas, identificando sintones supramoleculares entre el IFA y el coformador.

#### 7.4.2. [Caracterización física del IFA](#)

La caracterización física y espectroscópica del fenbendazol se realizó mediante las siguientes técnicas: DRXP, análisis térmico de DSC-TGA, espectroscopia IR, Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno ( $^1\text{H}$ ) y carbono ( $^{13}\text{C}$ ).

#### 7.4.3. [Elección de coformadores](#)

Se llevó a cabo la selección de coformadores con átomos potenciales formadores de puente de hidrógeno capaces de formar sintones supramoleculares con el fenbendazol de acuerdo al análisis supramolecular y a los cocrystalos obtenidos anteriormente en el grupo de investigación del ricobendazol, el cual es muy parecido molecularmente al IFA de estudio. Se seleccionaron coformadores derivados de ácidos dicarboxílicos alifáticos y ácidos hidroxicarboxílicos alifáticos y aromáticos. (Millán, 2013)

#### 7.4.4. [Generación de NFS](#)

Se realizó el cribado para la generación de las NFS a partir de los coformadores seleccionados por los métodos de formación de pastas asistida por disolvente (slurry) y molienda mecánica asistida por disolvente, en el cual se utilizó una mezcla en proporción molar 1:1 IFA:coformador en los disolventes acetona (ACT) y agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Se verificó la obtención de las NFS mediante DRXP entre los polvos obtenidos y las materias primas.

Como controles se efectuaron ensayos con el fenbendazol y los coformador seleccionados de manera separada en los diferentes disolventes por el método de slurry y molienda asistida con disolvente para comparar su patrón de DRXP.

La verificación de la estequiometría y el escalamiento de las NFS para la caracterización fisicoquímica y biofarmacéutica se realizó mediante molienda mecánica asistida por disolvente.

#### 7.4.4.1. Método de formación de pasta asistida con disolvente (Slurry)

En un vial de 4 mL, se pesaron 100 mg de la mezcla en la proporción molar 1:1 fármaco:coformador, se agregaron de 20-60  $\mu$ L (cantidad suficiente para mantener en agitación a la mezcla) de acetona o agua. Las mezclas se agitaron a 60 rpm por 4.5 horas a temperatura ambiente. El producto se secó en una bomba de vacío y se recolectaron los polvos para analizarlos por DRXP.

#### 7.4.4.2. Método de molienda mecánica asistida con disolvente

Se pesaron 100 mg de la mezcla en proporción molar 1:1 de fármaco:coformador y se colocaron en un contenedor de acero inoxidable con capacidad de 1.5 g de polvo. Se adicionó una posta de acero inoxidable de 7 mm de diámetro y 15  $\mu$ L de disolvente; acetona o agua. Se cerraron los contenedores y se colocaron en un molino marca Restch modelo MM400. Se programó el ensayo por 15 minutos a 25 Hz, este ciclo se realizó por duplicado junto con la adición de disolvente. Se recuperaron los polvos de los contenedores y fueron colocados en bolsas para su posterior análisis.

### 7.4.5. Caracterización de fenbendazol y NFS

#### 7.4.5.1. Análisis por Difracción de Rayos X de Polvos (DRXP)

Para la identificación de las NFS se realizó la difracción de rayos X de polvos (DRXP) de las materias primas y los productos de los métodos de generación de NFS en un equipo

BRUKER D2 PHASER con un detector LynxEye (1D mode, con un tubo de Cu  $\lambda = 1.54184$  Å). Se colectaron los datos a temperatura ambiente en un rango de  $2\theta = 5-45^\circ$  con giro durante 15 minutos.

#### 7.4.5.2. [Análisis térmico de Calorimetría Diferencial de Barrido acoplado a Termogravimetría \(DSC-TGA\)](#)

El análisis DSC se realizó utilizando el instrumento SDT Q2000 TA. Se colocaron muestras de aproximadamente 3 mg en la charola de aluminio y se analizaron en un rango de temperatura de 25-450 ° C con una velocidad de calentamiento de 10 ° C / min. Se utilizó nitrógeno como purga de gas inerte con un flujo de 50 ml / min.

Para el análisis de TGA se utilizó el instrumento TGA Q50 TA. Se colocaron muestras de aproximadamente 3 mg en la charola de aluminio y se analizaron en un rango de temperatura de 25-450 ° C con una velocidad de calentamiento de 10 ° C / min. Se utilizó nitrógeno como purga de gas inerte con un flujo de 50 ml / min.

#### 7.4.5.3. [Caracterización espectroscópica](#)

##### 7.4.5.3.1. [Espectroscopia de infrarrojo ATR](#)

Los espectros de las materias primas y NFS generadas fueron obtenidos en un equipo Nicolet 6700 en un intervalo de 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$  empleando un accesorio de muestreo de reflectancia total atenuada (ATR) con sonda de diamante

#### 7.4.6. [Caracterización biofarmacéutica](#)

##### 7.4.6.1. [Estabilidad indicativa](#)

Se pesaron 20 mg de las materias primas y las NFS en viales de 4 mL, por triplicado. Los sólidos fueron expuestos por un mes a diversas condiciones de almacenamiento en una

incubadora con temperatura y humedad controlada (laboratorio de desarrollado en Laboratorios Senoisaiain S.A. de C.V.). Las condiciones evaluadas fueron: a) 40 °C calor seco, b) 50 °C calor seco, y c) 40 °C con 75% de humedad relativa. Al final del ensayo se analizaron las muestras por DRXP.

#### 7.4.6.2. Transformación de fase mediada por la solución

En viales de 4 mL se colocaron 200 mg de FBZ o la NFS, se adicionó 3 mL de solución amortiguadora (las soluciones amortiguadoras empleadas fueron: ácido clorhídrico pH: 1.2, y fosfatos pH: 6.8). Cada experimento se realizó por duplicado, se mantuvo en agitación constante y a temperatura de 37 °C, se tomaron muestras a diferentes tiempos (5 minutos y 1, 6, 10 y 24 horas) y se filtró y recupero el sólido para posteriormente analizarse por DRXP.

#### 7.4.6.3. Desarrollo y validación de método de cuantificación mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)

Después de las pruebas de estabilidad de fase en solución y estabilidad indicativa, las NFS que presentaron transformación lenta durante dichas pruebas fueron candidatas a evaluarse en otros aspectos biofarmacéuticos. Estos componentes se consideraron para el desarrollo y validación de un método analítico de cuantificación mediante CLAR para el FBZ y el respectivo coformador. Las condiciones del método fueron las siguientes: Se empleó un sistema en gradiente **Tabla 7** con fase móvil H3P04 0.25M/ ajustando con trietilamina a pH 3 y acetonitrilo, columna C18 ZORBAX Eclipse XDB-C18, con un volumen de inyección de 60 µL y temperatura de columna 50 °C. Los parámetros de desempeño que se evaluaron para la validación del método fueron: adecuabilidad, linealidad, precisión y límite de cuantificación con base en la guía de validación de métodos analíticos del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C.

Tabla 7 Gradiente empleado en sistema cromatógrafo para el análisis de materias primas de NFS de FBZ

Tiempo (min)	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 0.25M/ ajustando con trietilamina a pH 3	Acetonitrilo
0	1.2	0.3
0.2	1.2	0.3
3.0	0.9	1.0
4.0	0.9	1.0
4.5	1.2	0.3
5.0	1.2	0.3

#### 7.4.6.4. Constante eutéctica y ventaja de solubilidad

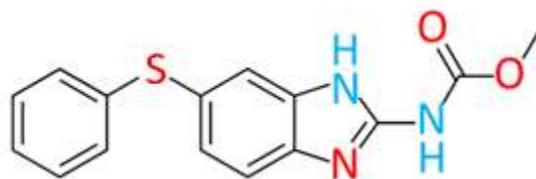
Se pesaron 15 mg de FBZ con 30 mg de la NFS de interés. La mezcla de sólidos se puso en contacto con 3 ml del medio HCl pH 1.2, a 37 °C con agitación constante durante 48 horas, por triplicado. Transcurrido el tiempo de agitación, la mezcla de sólidos y la solución se separó mediante filtración con ayuda de swinnex y papel filtro whatman #3. Los sólidos se analizaron mediante DRXP, mientras que la concentración de FBZ y los respectivos cofomadores en la solución se cuantificó mediante CLAR. El mismo procedimiento se repitió en el medio buffer fosfatos pH 6.8, a excepción de las condiciones de pesado: 15 mg de FBZ con 90 mg de la NFS de interés.

#### 7.4.6.5. Disolución de polvos bajo condiciones *no-sink*

Se pesaron 200 mg de sólido ya sea NFS, mezcla física del FBZ, cofomador correspondiente ó FBZ puro. A dichos sólidos se añadió 10 ml de medio HCl pH 1.2 ó buffer fosfatos pH 6.8 con y sin METHOCELTM A15 predisuelto en una concentración de 0.5% p/v, bajo agitación y temperatura constante (37 °C). Se recolectaron muestras de 1 mL en los siguientes tiempos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 35, 60 y 90 minutos, y se recuperaba medio. Cada muestra se filtró con ayuda de swinnex y papel filtro whatman #3, y el sólido aislado se analizó mediante DRXP para monitorear la transformación de fase del sólido cristalino. La solución filtrada se analizó mediante CLAR para conocer la concentración de fármaco y del cofomador disueltos, en función del tiempo.

## 8. Resultados y Discusión

La molécula de Fenbendazol se muestra en la **Figura 16**, donde se indican los átomos de los grupos aceptores de puentes de hidrógeno en color rojo y los átomos de los grupos donadores de puentes de hidrógeno en color azul.



*Figura 16 Molécula de fenbendazol. Los átomos de los grupos potenciales aceptores de puentes de hidrógeno en color rojo y los átomos de los grupos potenciales donadores de puentes de hidrógeno en color azul.*

La molécula de FBZ tiene como átomos aceptores de puentes de hidrógeno a los oxígenos del grupo éster del carbamato y al nitrógeno de la amina terciaria heterocíclica del imidazol. Los grupos donadores de puentes de hidrógeno son los nitrógenos de la amina secundaria heterocíclica del imidazol y el del carbamato.

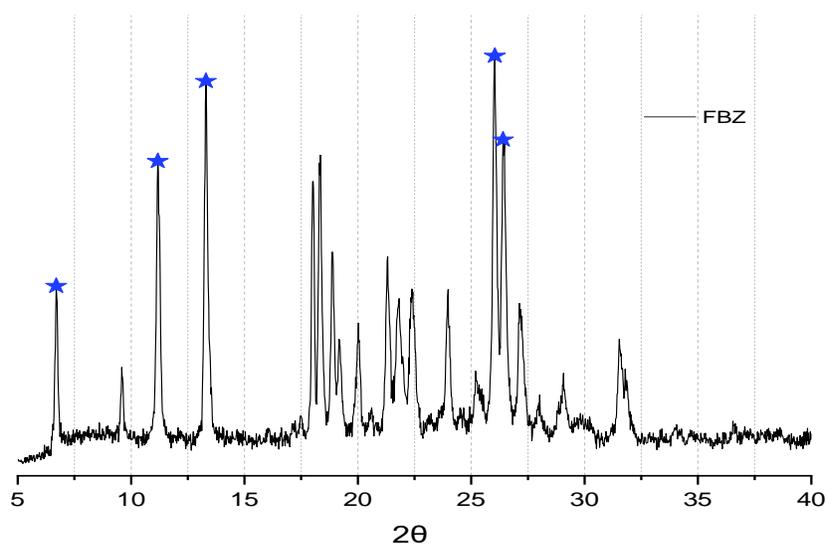
En nuestra revisión bibliográfica y en la consulta dentro de la CSD (Base de Datos estructurales de Cambridge, por sus siglas en inglés, versión 5.33, actualización hasta julio del 2020) no se encontraron reportes de estructuras cristalinas del FBZ (Z. Yang, 2019).

### 8.1. Caracterización fisicoquímica fenbendazol

El FBZ fue donado por Laboratorios Senosiain S.A. de C.V y se llevó a cabo su caracterización física y espectroscópica para confirmar su identidad, y tener los experimentos de referencia para realizar las comparaciones en las diferentes técnicas empleadas para la elucidación de las NFS. Las técnicas empleadas fueron las siguientes: DRXP, análisis térmico de DSC-TGA, espectroscopia ATR-IR, Resonancia Magnética Nuclear de protón (RMN<sup>1</sup>H) y carbono (RMN<sup>13</sup>C).

### 8.1.1. Difracción de Rayos X de Polvos (DRXP) fenbendazol

En la **Figura 17** se muestra el difractograma del sólido FBZ. Los valores de los ángulos  $2\theta$  y las intensidades relativas del patrón de difracción del FBZ se agrupan en la **Tabla 8**. Los picos de difracción de mayor intensidad del FBZ se localizan en los siguientes ángulos  $2\theta$ : 6.71, 11.20, 13.19, 25.99 y 26.40. Estos picos de difracción sirvieron como referencia para la comparación con los patrones de DRXP en los experimentos de cribado para la identificación de nuevas fases sólidas (NFS).



*Figura 17 Patrón de DRXP de Fenbendazol  
Estrellas azules indican picos con mayor intensidad*

Como se menciona anteriormente, no se encontró reportada en la literatura la estructura cristalina de FBZ ya sea a partir de monocristales o en un experimento de difracción en polvos (Z. Yang, 2019), por lo que no es posible comparar el patrón de DRXP del FBZ con alguna referencia estándar.

Tabla 8 Valores de los ángulos  $2\theta$  e intensidad relativa de los picos de difracción del Fenbendazol.

ángulo $2\theta$	Intensidad relativa
6.71	0.42
11.2	0.37
13.19	1
17.96	0.26
18.32	0.23
18.83	0.18
19.94	0.12
21.27	0.21
21.84	0.24
22.42	0.2
23.91	0.23
25.99	0.59
26.4	0.43
27.08	0.17
29.08	0.12
31.43	0.18

### 8.1.2. Análisis térmico de DSC-TGA fenbendazol

En la **Figura 18** se muestra el análisis térmico de DSC-TGA del FBZ, el cual se llevó a cabo en el intervalo de temperatura de 25 a 450 °C. La curva del análisis termogravimétrico (TGA) del FBZ se muestra en color azul y la curva de calorimetría de barrido diferencial (DSC) se muestra en color verde.

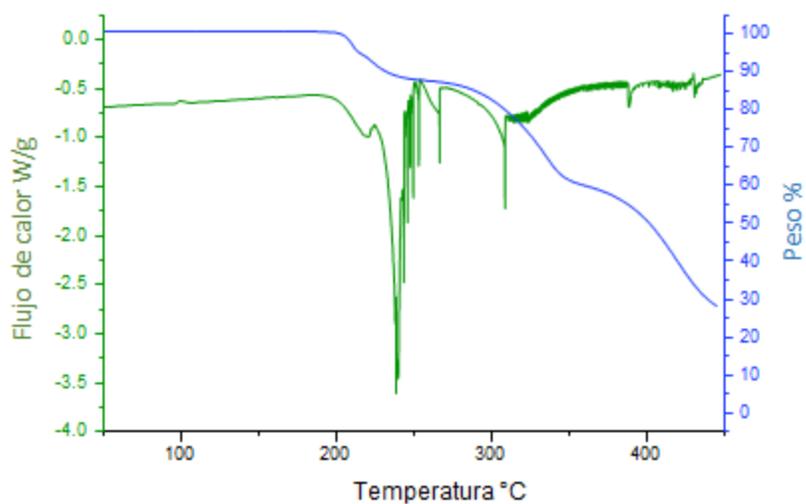


Figura 18 Curvas de DSC-TGA de Fenbendazol. Curva de TGA (azul) y curva de DSC (verde).

En el TGA (curva azul) se observa que sólido no presenta una pérdida de masa en el intervalo de 25 a 190 °C, lo que indica que la muestra de FBZ se encuentra anhidra; a partir de los 196°C la muestra empieza a descomponer mostrando tres etapas de pérdida de peso hasta los 445 °C. Al final del experimento se muestra que hay un residuo de 28.30% con respecto al peso inicial de la muestra. El termograma del DSC (curva verde) presenta un evento exotérmico en 100 °C, posiblemente debido a una transformación polimórfica ya que en este intervalo la muestra no pierde masa (ver TGA). A mayores temperaturas se observa un evento endotérmico que inicia aproximadamente en 190 °C (Tonset), y que coincide con la descomposición de la muestra de acuerdo a las fragmentaciones observadas en el TGA. Este último evento endotérmico tiene una temperatura en el máximo de la curva (Tpeak) de 238 °C, la cual es muy cercana al punto de fusión reportado de 233 °C para FBZ. (DrugBank, 2020) (PubChem, 2020)

### 8.1.3. Espectroscopia de infrarrojo (IR) fenbendazol

En la **Figura 19** se muestra el espectro de ATR-IR del FBZ y en la **Tabla 9** se muestran las bandas de vibración asignadas a los grupos funcionales que se encuentran en la molécula. Las señales del FBZ se encuentran en buena correspondencia con el espectro de IR reportando recientemente por Surov y colaboradores (Surov, 2021). Cabe mencionar que las bandas más características del FBZ son la vibración de tensión de la amina  $\nu(\text{N-H})$  en  $3327\text{ cm}^{-1}$  y la banda de tensión del grupo carbonilo  $\nu(\text{C=O})$  del carbamato a  $1707\text{ cm}^{-1}$ . Estas bandas serán de importancia para establecer la posible formación de una nueva forma sólida debido a que en ambos casos representan a grupos que forman puentes de hidrógeno. (Surov, 2021)

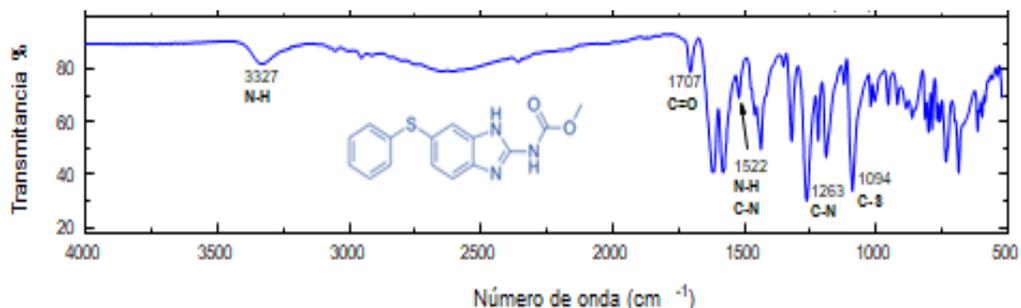


Figura 19 Espectro de IR del Fenbendazol

Tabla 9 Bandas características de vibración de IR del Fenbendazol

Grupo	Banda asignada (cm <sup>-1</sup> )	Asignación
N-H	3327	-CO-NH- Estiramiento
C=O	1707	-CO-NH- Estiramiento
N-H C-N	1522	-CO-NH- N-H deformación y C-N estiramiento
C-N	1263	-C-NH- Estiramiento
C-S	1094	=CH-S-

#### 8.1.4. Resonancia magnética de protón (RMN<sup>1</sup>H) fenbendazol

En la **Figura 20** se muestra el espectro de RMN<sup>1</sup>H donde se indican las seis señales correspondientes a los hidrógenos presentes en la molécula de fenbendazol.

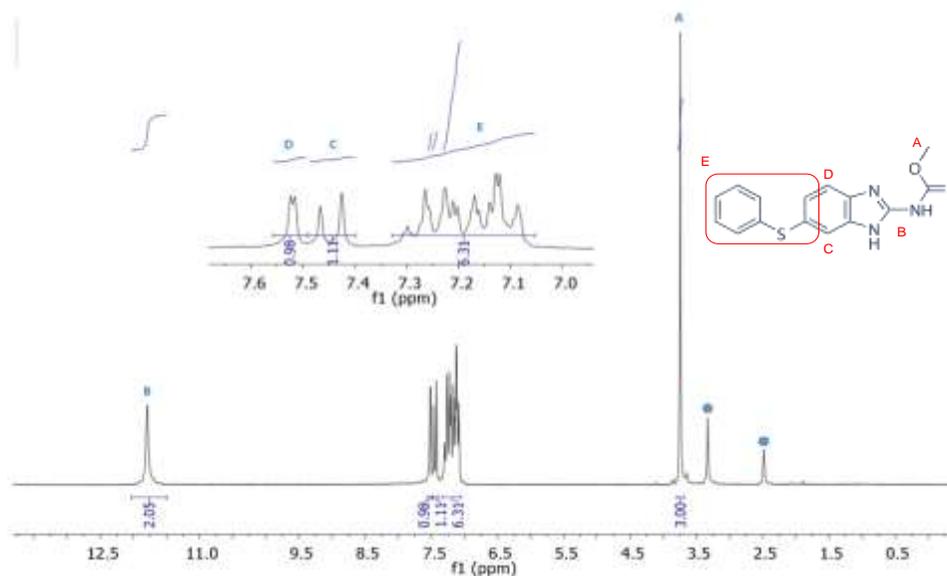


Figura 20 Espectro de RMN<sup>1</sup>H de Fenbendazol

El singulete A con un desplazamiento químico en 3.75 ppm se asignó al grupo metilo del éster. El singulete B con desplazamiento 11.75 ppm se asignó a los protones de la amina

del carbamato y del NH del benzimidazol. En la región entre 7.00 a 7.60 se encuentran los ocho protones aromáticos tanto del grupo benzimidazol como del fenilo. Se distinguen los dobletes que aparecen en 7.52 ppm correspondiente al protón C y otro en 7.45 ppm que corresponde al protón D, siendo estos del grupo benzimidazol. Las señales con asterisco en el espectro corresponden a las señales del disolvente DMSO-d<sub>6</sub> y agua. (Banfi & Patiny, 2021)

#### 8.1.5. Resonancia Magnética Nuclear de Carbono (RMN <sup>-13</sup>C) fenbendazol

En la **Figura 21** se muestra el espectro de RMN <sup>-13</sup>C de la molécula de fenbendazol en donde se indican las asignaciones siguientes: la señal A que se encuentra a 52.97 ppm corresponde al carbono del metilo del éster; la señal B que se encuentra a 155 ppm corresponde al carbono del carbonilo C=O y la señal C que se encuentra por 149 ppm corresponde al carbono cuartanario del imidazol que se encuentra entre los dos nitrógenos del anillo. Las nueve señales restantes agrupadas como D en la región 105-140 ppm corresponden a los carbonos aromáticos tanto del grupo benzimidazol como del fenilo.

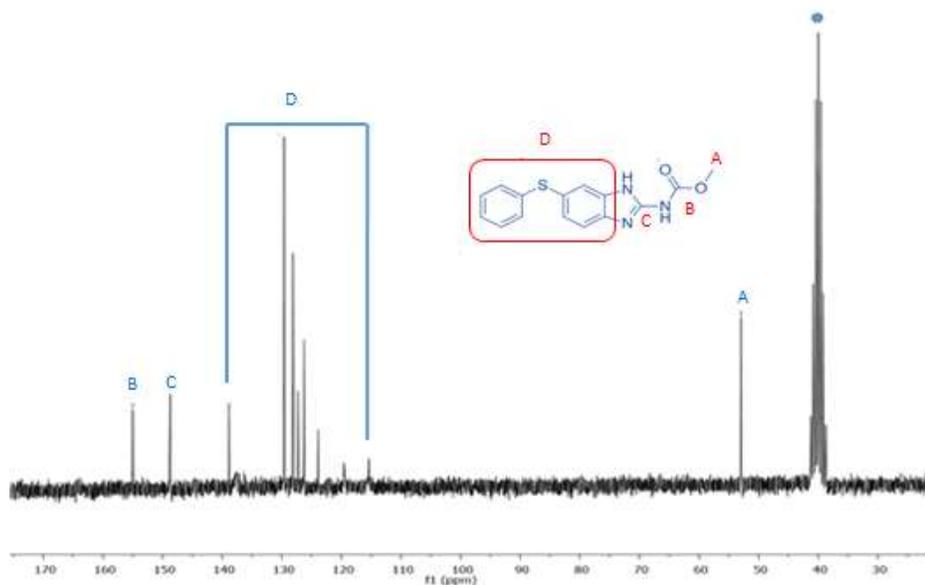


Figura 21 Espectro RMN <sup>-13</sup>C de fenbendazol

Con base a todos los resultados obtenidos de la materia prima proporcionada por Laboratorios Senosiain S.A. de C.V, se puede establecer que efectivamente se trata del antiparasitario FBZ. (Banfi & Patiny, 2021)

## 8.2. Elección de coformadores

Como se ha citado anteriormente, las interacciones por enlace de hidrógeno son de gran relevancia para la obtención de NFS. El FBZ es un gran prospecto para la formación de estas interacciones como se ha observado en otros bencimidazoles con actividad antihelmíntica tales como albendazol (Bongioanni, 2019) (Carvalho, 2021), mebendazol (Brusau, 2008) (Gutiérrez, 2018) y flubendazol (Araujo, 2018). En el Grupo Interdisciplinario de Investigación en Química y Farmacia del Estado Sólido se han obtenido previamente NFS de albendazol con el ácido málico y el ácido oxálico (ácidos dicarboxílicos alifáticos), y el ácido 2,5-dihidroxibenzoico (ácido carboxílico aromático). En el caso del ricobendazol se han obtenido NFS con ácido oxálico (ácido dicarboxílico alifático), con ácido 2,5-dihidroxibenzoico y ácido 2,6-dihidroxibenzoico (ácido carboxílico aromático), y ácido gálico (ácido trihidroxibenzoico aromático). Con base en esta información se seleccionaron 17 coformadores (**Tabla 11**) derivados de ácidos dicarboxílicos alifáticos, ácidos hidroxicarboxílicos alifáticos y aromáticos como posibles generadores de NFS para realizar el cribado sistemático con FBZ. En la **Tabla 11** se muestra los coformadores empleados para este estudio, así como su estructura y la constante de disociación ácida (pKa) para estos compuestos.

## 8.3. Análisis de $\Delta pK_a$ para la formación de sales o cocristales

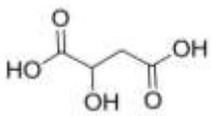
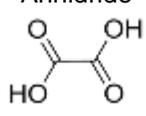
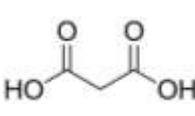
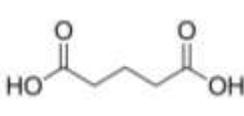
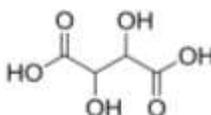
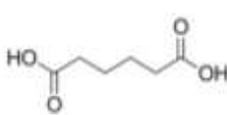
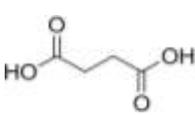
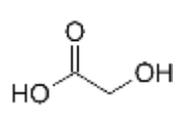
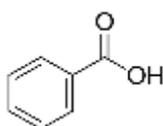
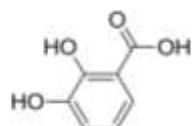
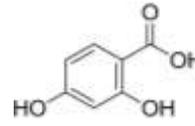
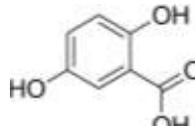
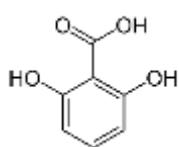
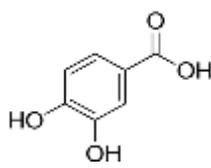
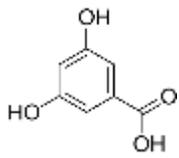
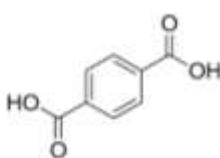
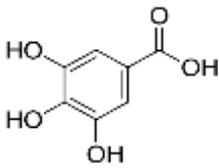
Un parámetro que permite predecir la transferencia de un protón entre un ácido y una base en una solución acuosa ha sido el denominado  $\Delta pK_a$  (definido como la diferencia entre el pKa de la base protonada menos el pKa del ácido). Como se describió en la sección 3.10.3. Formación de una sal o cocrystal farmacéutico, en el estudio reportado por el grupo de A. Cruz-Cabeza. (Cruz, 2012) se establece que en el estado sólido la diferencia entre las constantes de acidez de los componentes también se relaciona con la posibilidad de formar una sal (Zona 3) o un cocrystal (Zona 1) de acuerdo con los datos de la **Tabla 10**. Tomando en cuenta el primer pKa de FBZ (4.06) y el primer pKa de los coformadores que aparecen en la **Tabla 11**, se estimó el  $\Delta pK_a$  como un posible indicador del resultado de su

combinación para la formación de una NFS y se muestran en la **Tabla 11**. Todas las combinaciones de FBZ con coformadores que contienen al menos un ácido carboxílico presentan un  $\Delta pK_a$  que cae en la Zona 2 [  $\Delta pK_a$  entre -1 a 4] en donde no hay una preferencia dominante para la formación de una sal o un cocrystal.

*Tabla 10 Número de estructuras cristalinas y porcentajes de AB (cocrystal) y A-B+ (sal) dentro de las 3 diferentes zonas  $\Delta pK_a$  (Cruz, 2012)*

Zona	$\Delta pK_a$	AB	A-B+
1	<-1	2076 (99.1%)	18 (0.9%)
2	[-1, 4]	495 (40.7%)	720 (59.3%)
3	>4	26 (0.8%)	3130 (99.2%)

Tabla 11 Lista de cofomadores empleados en el grupo de investigación para la formación de nuevas fases sólidas

Ácidos hidroxidicarboxílicos alifáticos	Ácidos dicarboxílicos alifáticos		
<p>Ácido L-málico</p>  <p>pKa (3.40, 5.13) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: 0.66 ZONA 2</b></p>	<p>Ácido oxálico Anhidrido</p>  <p>pKa (1.27, 4.28) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: 2.79 ZONA 2</b></p>	<p>Ácido malónico</p>  <p>pKa (2.83, 5.69) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: 1.23 ZONA 2</b></p>	<p>Ácido glutárico</p>  <p>pKa (4.34, 5.43) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: -0.28 ZONA 2</b></p>
<p>Ácido D-tartárico</p>  <p>pKa (3.02, 4.36) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: 1.04 ZONA 2</b></p>	<p>Ácido adípico</p>  <p>pKa (4.43, 5.41) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: -0.37 ZONA 2</b></p>	<p>Ácido succínico</p>  <p>pKa (4.16, 5.61) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: -0.1 ZONA 2</b></p>	<p>Ácido Glicólico</p>  <p>pKa (3.83) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: 0.23 ZONA 2</b></p>
Ácido benzoico	Ácidos hidroxibenzoicos		
<p>Ácido benzoico</p>  <p>pKa (4.21) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: -0.15 ZONA 2</b></p>	<p>Ácido 2,3- dihidroxibenzoico</p>  <p>pKa (2.91) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: 1.15 ZONA 2</b></p>	<p>Ácido 2,4- dihidroxibenzoico</p>  <p>pKa (3.11) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: 0.95 ZONA 2</b></p>	<p>Ácido 2,5- dihidroxibenzoico</p>  <p>pKa (3.01) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: 1.05 ZONA 2</b></p>
	<p>Ácido 2,6- dihidroxibenzoico</p>  <p>pKa (1.30) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: 2.76 ZONA 2</b></p>	<p>Ácido 3,4- dihidroxibenzoico</p>  <p>pKa (4.48, 8.83) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: -0.42 ZONA 2</b></p>	<p>Ácido 3,5- dihidroxibenzoico (4.04)</p>  <p>pKa (4.04) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: 0.02 ZONA 2</b></p>
Ácidos dicarboxílicos aromáticos		Ácido trihidroxibenzoico aromático	
<p>Ácido tereftálico</p>  <p>pKa (3.51, 4.82) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: 0.55 ZONA 2</b></p>		<p>Ácido gálico</p>  <p>pKa (4.40) <b><math>\Delta pK_{a1}</math>: -0.43 ZONA 2</b></p>	

## 8.4. Generación y caracterización de NFS de Fenbendazol

### 8.4.1. Identificación de NFS

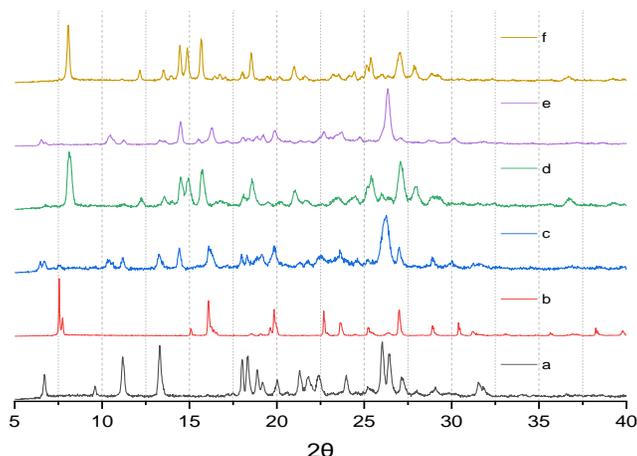
El cribado sistemático para la identificación de NFS se llevó a cabo por el método de formación de pasta inducida por disolvente, método que denominaremos en adelante “slurry”. Dicho método es muy útil en un cribado debido a que es rápido y se requiere poca cantidad de las materias primas en cada experimento. También se usó la técnica de molienda mecánica asistida por disolvente. Para la ejecución de los métodos se utilizaron disolventes aceptables farmacéuticamente con diferente polaridad como acetona (ACT,  $\epsilon_r$  20.7 e índice de polaridad 5.1) o agua (H<sub>2</sub>O,  $\epsilon_r$  78.5 e índice de polaridad 10.2).

Los experimentos de slurry se realizaron inicialmente con una mezcla en proporción molar 1:1 FBZ:coformador (50 mg de mezcla total); la mezcla se mantuvo en agitación por dos horas (en algunos casos para concluir la síntesis de la NFS se extendieron los experimentos a cuatro horas y media) y la cantidad de disolvente utilizado fue la necesaria (40-100  $\mu$ L) para mantener humectado los polvos bajo agitación constante. En el caso de los experimentos de molienda mecánica asistida por disolvente estos se realizaron inicialmente con una mezcla en proporción molar 1:1 FBZ:coformador (50 mg de mezcla total) en contenedores. Las condiciones del molino fueron dos ciclos de 15 minutos a 25 Hz. Agregando en cada ciclo 15  $\mu$ L del disolvente en cuestión.

La identificación de NFS se llevó a cabo por la comparación de los patrones de DRXP de los productos del slurry y la molienda mecánica, en contraste con los patrones de las materias primas respectivas. A manera de ejemplo se muestra en la **Figura 22** los patrones de DRXP de las materias primas a) FBZ y b) ácido 2,5-dihidroxibenzoico (25DHB), así como los productos de los experimentos de slurry en proporción FBZ: 25DHB 1:1 en los disolventes c) ACT y d) H<sub>2</sub>O, respectivamente. También los productos de los experimentos de molienda mecánica asistida por disolvente en proporción FBZ: 25DHB 1:1 en los disolventes e) ACT y f) H<sub>2</sub>O, respectivamente.

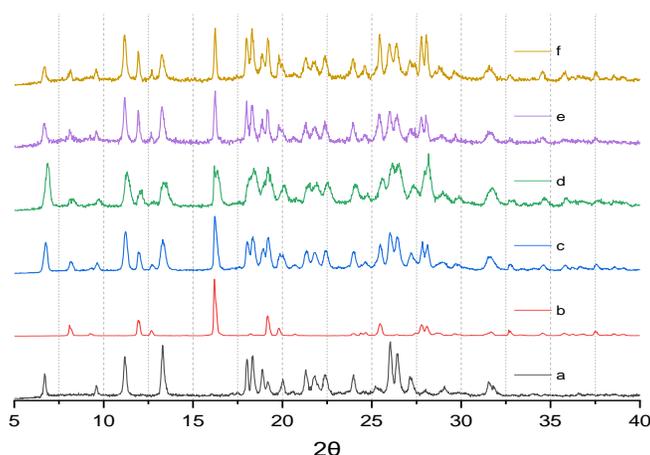
En la **Figura 22** el patrón de DRXP de los productos de los experimentos de slurry son diferentes a los de las materias primas, no existiendo una superposición de picos. Se observa un patrón de DRXP diferente por disolvente **Figura 22 c y d**. El mismo caso se repitió en los productos de los experimentos de molienda mecánica asistida por disolvente

**Figura 22 e y f.** Con esto podemos deducir que la formación de la NFS de FBZ-25DHB se ve condicionada por el tipo de disolvente que se emplee y no por la técnica de obtención.



*Figura 22 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) ácido 2,5-dihidroxibenzoico (25DHB), productos por el método de slurry de la mezcla de FBZ:25DHB estequiometría 1:1 en los disolventes de c) ACT y d) H<sub>2</sub>O. Productos por el método de molienda mecánica asistida por disolvente de la mezcla de FBZ:25DHB estequiometría 1:1 en los disolventes de e) ACT y f) H<sub>2</sub>O*

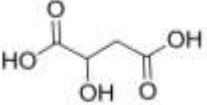
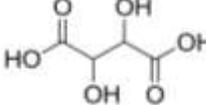
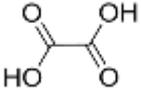
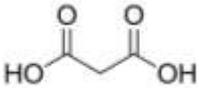
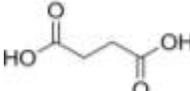
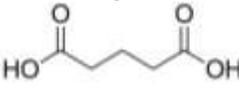
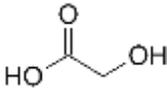
Caso contrario en la **Figura 23** los productos de FBZ y ácido gálico, sin importar la técnica de obtención (slurry o molienda mecánica asistida por disolvente) y el disolvente empleado (ACT o H<sub>2</sub>O), en cada producto (**Figura 23 c, d, e y f**) se observa la superposición de los picos de difracción de las materias primas. Para estos casos se concluye que el producto es la mezcla física de los componentes iniciales.



*Figura 23 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) ácido gálico y productos por el método de slurry de la mezcla de FBZ: ácido gálico estequiometría 1:1 en los disolventes de c) ACT y d) H<sub>2</sub>O. Productos por el método de molienda mecánica asistida por disolvente de la mezcla de FBZ: ácido gálico estequiometría 1:1 en los disolventes de e) ACT y f) H<sub>2</sub>O.*

El cribado se realizó por slurry y molienda mecánica con FBZ en combinación con todos cofomadores que se presentan en la **Tablas 11**. En la **Tabla 12** y **Tabla 13** se exponen los resultados mediante el método de slurry para los cofomadores de ácidos hidroxicarboxílicos y dicarboxílicos alifáticos, y los cofomadores ácidos hidroxicarboxílicos aromáticos, respectivamente. Los resultados de los experimentos por molienda mecánica se exponen en la **Tabla 14** y la **Tabla 15** para los cofomadores de ácidos hidroxicarboxílicos y dicarboxílicos alifáticos, así como los cofomadores ácidos hidroxicarboxílicos aromáticos, respectivamente. Se marcó con una **✓** las condiciones a las cuales se observó un nuevo patrón de DRXP, indicando la formación de NFS, y con una **X** aquellas condiciones en donde el producto fue la mezcla física de las materias primas.

*Tabla 12 Resultados del rastreo de NFS de FBZ con ácidos hidroxicarboxílicos y dicarboxílicos alifáticos, mediante el método de slurry*

Cofomador	Disolvente		Cofomador	Disolvente	
	ACT	H <sub>2</sub> O		ACT	H <sub>2</sub> O
Ácido L-málico 	<b>X</b>	<b>X</b>	Ácido D-tartárico 	<b>✓</b> (c)	<b>X</b>
Ácido oxálico Anhidrido 	<b>✓</b> (a)	<b>✓</b> (a)	Ácido adípico 	<b>X</b>	<b>X</b>
Ácido malónico 	<b>X</b>	<b>✓</b> (b)	Ácido succínico 	<b>X</b>	<b>X</b>
Ácido glutárico 	<b>X</b>	<b>X</b>	Ácido Glicólico 	<b>X</b>	<b>X</b>

**✓**. En el patrón de DRXP del producto de slurry se observó un patrón diferente comparado con el de las materias primas.

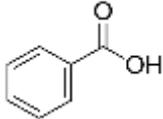
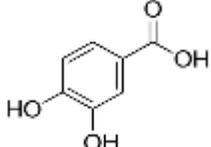
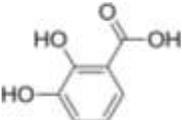
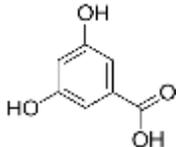
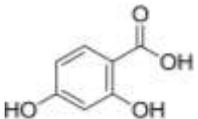
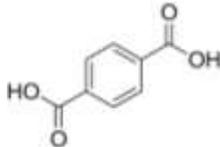
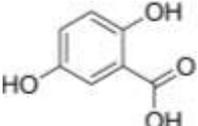
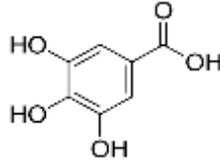
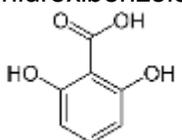
**X**. En el patrón de DRXP del producto de slurry se observó mezcla física (MF) de las materias primas.

-(a). El patrón de DRXP del producto de slurry entre el FBZ y ácido oxálico anhidro indica una NFS igual con los dos disolventes ensayados.

-(b). El patrón de DRXP del producto de slurry entre el FBZ y ácido malónico indica una NFS y trazas de FBZ, únicamente con el H<sub>2</sub>O.

-(c). El patrón de DRXP del producto de slurry entre el FBZ y ácido D-tartárico indica una NFS, únicamente con el ACT.

Tabla 13 Resultados del rastreo de NFS de FBZ con ácidos hidroxicarboxílicos aromáticos, mediante el método de slurry

Coformador	Disolvente		Coformador	Disolvente	
	ACT	H <sub>2</sub> O		ACT	H <sub>2</sub> O
Ácido benzoico 	X	X	Ácido 3,4-dihidroxibenzoico 	X	X
Ácido 2,3-dihidroxibenzoico 	X	X	Ácido 3,5-dihidroxibenzoico 	X	X
Ácido 2,4-dihidroxibenzoico 	X	X	Ácido tereftálico 	X	X
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico 	✓ (a)	✓ (b)	Ácido gálico 	X	X
Ácido 2,6-dihidroxibenzoico 	✓ (c)	✓ (c)			

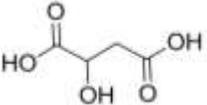
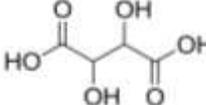
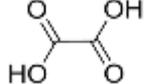
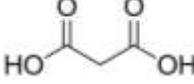
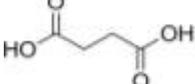
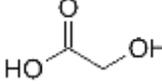
✓. En el patrón de DRXP del producto de slurry se observó un patrón diferente comparado con el de las materias primas.

X. En el patrón de DRXP del producto de slurry se observó mezcla física (MF) de las materias primas.

-(a)(b). El patrón de DRXP del producto de slurry entre el FBZ y ácido 2,5-dihidroxibenzoico indica una NFS con ACT (a) y otra diferente NFS con H<sub>2</sub>O (b).

-(c). El patrón de DRXP del producto de slurry entre el FBZ y ácido 2,6-dihidroxibenzoico indica una NFS igual con los dos disolventes ensayados.

Tabla 14 Resultados del rastreo de NFS de FBZ con ácidos hidroxicarboxílicos y dicarboxílicos alifáticos, mediante el método de molienda mecánica asistida por disolvente

Coformador	Disolvente		Coformador	Disolvente	
	ACT	H <sub>2</sub> O		ACT	H <sub>2</sub> O
Ácido L-málico 	X	X	Ácido D-tartárico 	✓ (c)	X
Ácido oxálico Anhidrido 	✓ (a)	✓ (a)	Ácido adípico 	X	X
Ácido malónico 	X	✓ (b)	Ácido succínico 	X	X
Ácido glutárico 	X	X	Ácido Glicólico 	X	X

✓. En el patrón de DRXP del producto de la molienda mecánica asistida por disolvente se observó un patrón diferente comparado con el de las materias primas.

X. En el patrón de DRXP del producto de la molienda mecánica asistida por disolvente se observó mezcla física (MF) de las materias primas.

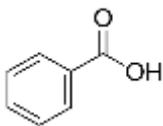
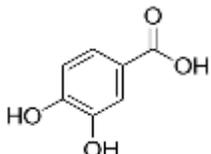
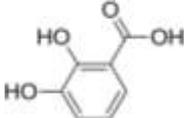
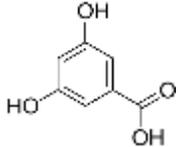
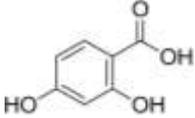
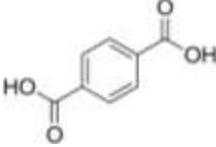
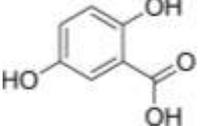
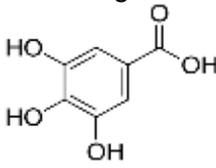
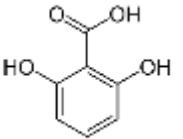
-(a). El patrón de DRXP del producto de la molienda mecánica asistida por disolvente entre el FBZ y ácido oxálico anhidro indica una NFS igual con los dos disolventes ensayados.

-(b). El patrón de DRXP del producto de la molienda mecánica asistida por disolvente entre el FBZ y ácido malónico indica una NFS y trazas de FBZ, únicamente con el H<sub>2</sub>O.

-(c). El patrón de DRXP del producto de molienda mecánica asistida por disolvente entre el FBZ y ácido D-tartárico indica una NFS, únicamente con el ACT.

Como se aprecia en los resultados anteriores (**Tablas 12-15**), los experimentos de cribado por slurry y molienda mecánica muestran un nuevo patrón de difracción para la combinación de FBZ con el ácido oxálico, ácido malónico y ácido D-tartárico, así como con los ácidos 2,5-dihidroxibenzoico y 2,5-dihidroxibenzoico. Es notable que la técnica de slurry o molienda mecánica asistida por disolvente no tiene una influencia para la formación de una NFS, y en ambos casos, el disolvente resultó el factor más relevante. Por ejemplo, la formación de la NFS FBZ-ácido malónico sólo se observó en agua mientras que la NFS de FBZ- ácido D-tartárico solo se formó en la presencia de acetona.

Tabla 15 Resultados del rastreo de NFS de FBZ con ácidos hidroxicarboxílicos aromáticos, mediante el método de molienda mecánica asistida por disolvente

Coformador	Disolvente		Coformador	Disolvente	
	ACT	H <sub>2</sub> O		ACT	H <sub>2</sub> O
Ácido benzoico 	X	X	Ácido 3,4-dihidroxibenzoico 	X	X
Ácido 2,3-dihidroxibenzoico 	X	X	Ácido 3,5-dihidroxibenzoico 	X	X
Ácido 2,4-dihidroxibenzoico 	X	X	Ácido tereftálico 	X	X
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico 	✓ (a)	✓ (b)	Ácido gálico 	X	X
Ácido 2,6-dihidroxibenzoico 	✓ (c)	✓ (c)			

✓. En el patrón de DRXP del producto de la molienda mecánica asistida por disolvente se observó un patrón diferente comparado con el de las materias primas.

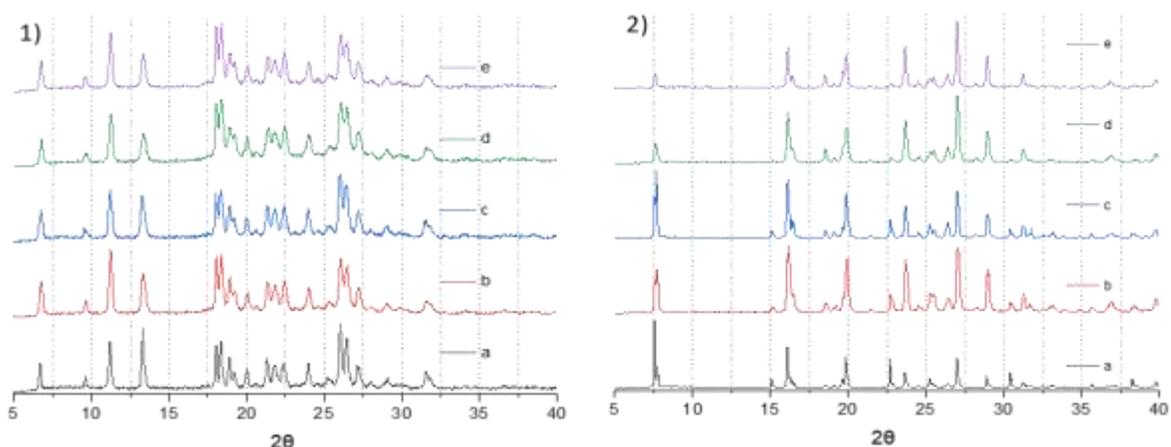
X. En el patrón de DRXP del producto de la molienda mecánica asistida por disolvente se observó mezcla física (MF) de las materias primas.

-(a)(b). El patrón de DRXP del producto de la molienda mecánica asistida por disolvente entre el FBZ y ácido 2,5-dihidroxibenzoico indica una NFS con ACT (a) y otra diferente NFS con H<sub>2</sub>O (b).

-(c). El patrón de DRXP del producto de la molienda mecánica asistida por disolvente entre el FBZ y ácido 2,6-dihidroxibenzoico indica una NFS igual con los dos disolventes ensayados.

Con los resultados anteriores se puede confirmar que mediante el cribado se identificaron seis NFS de FBZ con cinco coformadores diferentes. Las NFS obtenidas son NFS FBZ-

ácido oxálico anhidro, NFS FBZ- ácido D-tartárico, NFS de FBZ- ácido malónico, NFS FBZ- 26DHB y las dos NFS de FBZ-25DHB. Como un experimento control, los compuestos FBZ, ácido oxálico anhidro, ácido D-tartárico, ácido malónico, 25DHB y 26DHB, respectivamente, se colocaron de manera individual bajo condiciones de slurry y molienda mecánica asistida por disolvente, usando como disolventes H<sub>2</sub>O o ACT. Esto con la finalidad de constatar si las materias primas sufren una transformación de fase por efecto del disolvente.

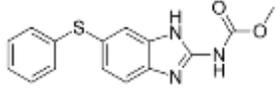
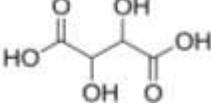
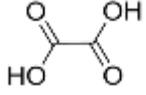
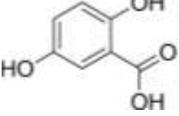
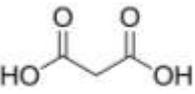
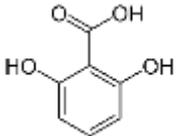


*Figura 24 Comparación de patrones de DRXP de 1a) FBZ, FBZ por el método de slurry en los disolventes de 1b) ACT y 1c) H<sub>2</sub>O. FBZ por el método de molienda mecánica asistida por disolvente en los disolventes de 1e) ACT y 1f) H<sub>2</sub>O. 2a) 25DHB, 25DHB por el método de slurry en los disolventes de 2b) ACT y 2c) H<sub>2</sub>O. 25DHB por el método de molienda mecánica asistida por disolvente en los disolventes de 2e) ACT y 2f) H<sub>2</sub>O.*

Como ejemplo, en la **Figura 24** se muestran los patrones de DRXP de FBZ y 25DHB en las diferentes condiciones de síntesis de NFS. Como se puede observar en la **Figura 24 (1)** los patrones de DRXP del FBZ no cambian en las diferentes condiciones de síntesis, por ende, podemos decir que el FBZ es estable a las condiciones por las cuales se sintetizan las NFS. En el caso del coformador 25DHB también se observó que es estable a las condiciones por las cuales se obtienen las NFS. **Figura 24 (2)**.

El mismo análisis se le realizó a los coformadores restantes. En las **Tablas 16** y **Tabla 17** se exponen los resultados de la estabilidad cristalina del FBZ y los cinco coformadores implicados bajo condiciones de slurry (**Tablas 16**) y molienda mecánica asistida por disolvente (**Tablas 17**), usando como disolventes H<sub>2</sub>O y ACT.

Tabla 16 Resultados de estabilidad cristalina de materias primas (FBZ y coformadores) en condiciones de síntesis de NFS mediante el método de slurry

Coformador	Disolvente		Coformador	Disolvente	
	ACT	H <sub>2</sub> O		ACT	H <sub>2</sub> O
Fenbendazol 	✓	✓	Ácido D-tartárico 	✓	N/A (b)
Ácido oxálico Anhidrido 	X (a)	N/A (b)	Ácido 2,5- dihidroxibenzoico 	✓	✓
Ácido malónico 	✓	N/A (b)	Ácido 2,6- dihidroxibenzoico 	✓	✓

✓. En el patrón de DRXP del slurry de la materia prima no se presentó un patrón diferente en comparación con la materia prima antes de someterse a condiciones de síntesis de NFS.

X. En el patrón de DRXP del slurry de la materia prima se presentó un patrón diferente en comparación con la materia prima antes de someterse a condiciones de síntesis de NFS.

-(a). El patrón de DRXP del slurry de ácido oxálico anhidro en ACT presentó un patrón de DRXP diferente al del ácido oxálico anhidro antes de estar bajo condiciones de síntesis de NFS.

-(b). Los coformadores implicados en esta sección se disolvieron por completo, formando una solución difícil de secar.

En la **Tabla 16** se puede observar que la mayoría de las materias primas bajo condiciones de slurry en ACT no presentan cambio en sus patrones de DRXP, a excepción del coformador ácido oxálico anhidro. En trabajos previos del “Grupo Interdisciplinario de Investigación en Química y Farmacia del Estado Sólido” se han reportado dos formas del ácido oxálico, una anhidra y otra dihidratada. (Millán, 2013) Al comparar los patrones de difracción del ácido oxálico anhidro bajo las diferentes condiciones de síntesis de NFS, podemos observar que los patrones de difracción son idénticos a la forma dihidratada reportada en el grupo **Figura 25**. La hidratación de este coformador se puede dar por la presencia de agua en la ACT que se agrega durante la síntesis. Los cambios en el patrón de DRXP son mínimos y no se superponen sobre el patrón de difracción de la NFS FBZ-ácido oxálico anhidro, por ello podemos decir que la síntesis de esta NFS es auténtica.

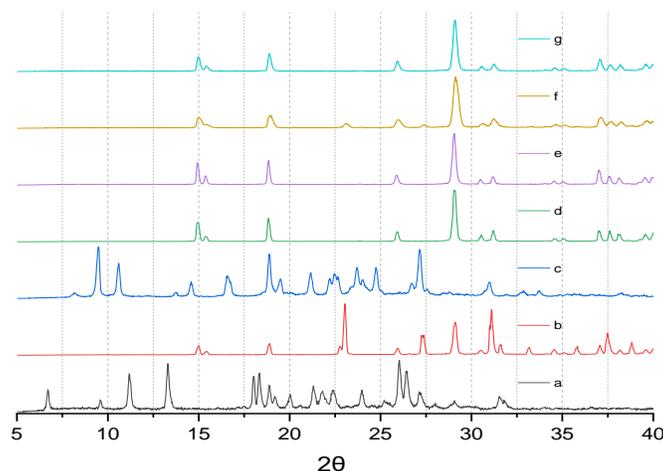
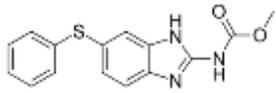
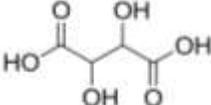
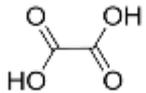
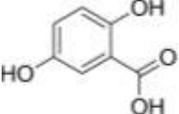
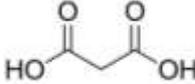
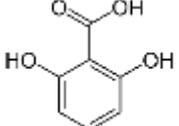


Figura 25 Comparación de patrones de DRXP de **a)** FBZ, **b)** ácido oxálico anhidro **c)** NFS FBZ-ácido oxálico anhidro, **d)** ácido oxálico anhidro por el método de slurry en ACT, **e)** ácido oxálico anhidro por el método de molienda mecánica asistida por disolvente en ACT, **f)** ácido oxálico anhidro por el método de molienda mecánica sin disolvente, **g)** ácido oxálico dihidratado reportado en el grupo

Tabla 17 Resultados de estabilidad cristalina de materias primas (FBZ y cofomadores) en condiciones de síntesis de NFS mediante el método de molienda mecánica asistida por y sin disolvente.

Cofomador	Disolvente		Cofomador	Disolvente	
	ACT	H <sub>2</sub> O		ACT	H <sub>2</sub> O
Fenbendazol 	✓	✓	Ácido D-tartárico 	✓	✓
Ácido oxálico Anhidrido 	X (a)	X S/D (a)	Ácido 2,5-dihidroxibenzoico 	✓	✓
Ácido malónico 	✓	✓ S/D	Ácido 2,6-dihidroxibenzoico 	✓	✓

✓. En el patrón de DRXP de la molienda mecánica de la materia prima no se presentó un patrón diferente en comparación con la materia prima antes de someterse a condiciones de síntesis de NFS.

X. En el patrón de DRXP de la molienda mecánica de la materia prima se presentó un patrón diferente en comparación con la materia prima antes de someterse a condiciones de síntesis de NFS.

S/D. (Sin disolvente) En estos experimentos no se utilizó disolvente

-(a). El patrón de DRXP de la molienda mecánica de ácido oxálico anhidro en ACT y sin disolvente presentaron un patrón de DRXP diferente al del ácido oxálico anhidro antes de estar bajo condiciones de síntesis de NFS.

En el caso de los slurry con H<sub>2</sub>O los coformadores alifáticos se disolvieron por completo y fue imposible obtener un polvo que analizar. En estos casos, la molienda se realizó sin disolvente. En la **Tabla 17** se puede observar que la mayoría de las materias primas bajo condiciones de molienda mecánica no presentaron un cambio. A excepción del ácido oxálico anhidro el cual se transformó al dihidrato de forma similar al método de slurry (**Figura 25**). Los resultados anteriores confirman la estabilidad de la mayoría de los coformadores utilizados para obtener NFS de FBZ en las condiciones de síntesis, mientras que el ácido oxálico anhidro forma un dihidrato que no interfiere en la síntesis de la NFS FBZ- ácido oxálico anhidro.

Finalmente, para establecer la relación estequiométrica entre los componentes de la NFS, se realizaron experimentos adicionales con relaciones molares FBZ:Coformador (1:2) y (2:1). En estos experimentos solo se empleó la técnica de molienda mecánica asistida por disolvente. En la **Figura 26** se exponen los patrones de difracción de los sólidos resultantes en los experimentos con las siguientes relaciones molares FBZ-ácido malónico 1:1, 2:1 y 1:2. Como se puede observar en la **Figura 26**, los experimentos con relación molar 1:1 y 2:1 presentan los picos característicos del FBZ, marcadas con estrellas rojas, demostrando que existe un exceso de IFA. Mientras que en la relación molar 1:2 no se observan picos característicos de FBZ y ácido malónico. A partir de estos resultados se estableció una estequiometría FBZ-ácido malónico 1:2 para este sólido. Experimentos similares se realizaron con cada una de las combinaciones FBZ:coformador en donde se identificó un patrón de difracción novedoso. En la **Tabla 18** se resumen los resultados de la propuesta de estequiometría para cada sólido que se ha identificado como una NFS que contiene FBZ.

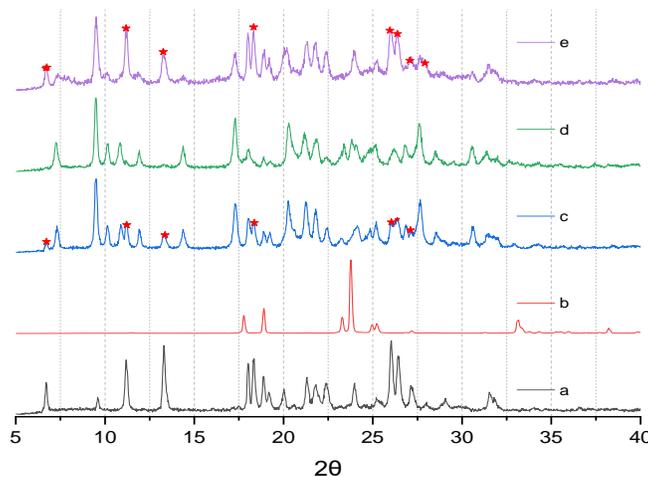


Figura 26 Comparación de patrones de DRXP de **a)** FBZ, **b)** ácido malónico, y productos por el método de molienda mecánica asistida por disolvente (H<sub>2</sub>O) de la mezcla de FBZ:25DHB estequiometría **c)** 1:1 **d)** 1:2 y **e)** 2:1.

Tabla 18 Resultados de estequiometrias propias de cada NFS de FBZ, obtenidas mediante molienda mecánica asistida por disolvente.

NFS	Estequiometria (FBZ:coformador)
NFS FBZ-ácido oxálico anhídrido	1:1
NFS FBZ- ácido D-tartárico	1:1
NFS de FBZ- ácido malónico	1:2
NFS FBZ-26DHB	1:1
NFS de FBZ-25DHB (a)	1:1
NFS de FBZ-25DHB (b)	1:1

(a). NFS FBZ-25DHB obtenida mediante molienda mecánica asistida por disolvente, empleando ACT.

(b). NFS FBZ-25DHB obtenida mediante molienda mecánica asistida por disolvente, empleando H<sub>2</sub>O.

Con la finalidad de tener suficiente cantidad de las seis NFS de FBZ para realizar su caracterización fisicoquímica y biofarmacéutica (ver las siguientes dos secciones), se llevó a cabo su síntesis en una escala 10 veces mayor a los experimentos de cribado. Para ello, se obtuvieron 500 mg de cada NFS mediante molienda mecánica asistida por disolvente de acuerdo a las condiciones de la **Tabla 18**. A modo de ejemplo se exponen en la **Figura 27** los patrones de DRXP de las materias primas, la NFS FBZ-26DHB obtenida en una escala de 50 mg y el sólido resultante del escalamiento a 500 mg. Como se puede observar, los patrones de difracción de las muestras provenientes de la síntesis la NFS FBZ-26DHB en 50 mg y 500 mg presentan los mismos picos de difracción, coincidiendo no solo en el ángulo  $2\theta$  sino también en la intensidad relativa, lo que confirma que se obtuvo la misma fase sólida.

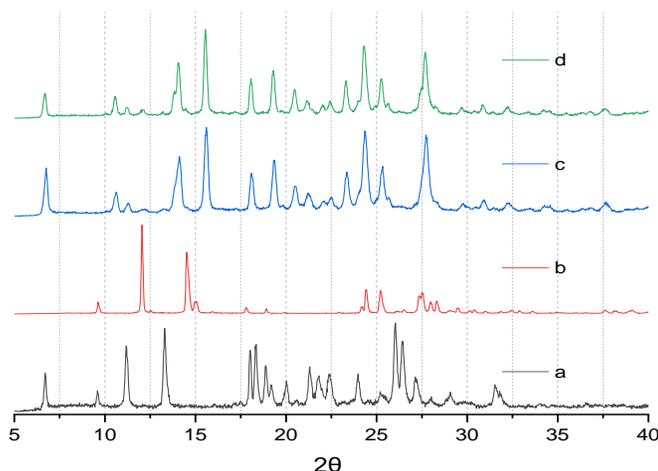


Figura 27 Comparación de patrones de DRXP de **a)** FBZ, **b)** 26DHB, **c)** NFS FBZ 26DHB por el método de molienda mecánica asistida por disolvente (ACT) 50 mg, **d)** escalamiento NFS FBZ 26DHB por el método de molienda mecánica asistida por disolvente (ACT) 500 mg

## 8.5. Caracterización fisicoquímica de NFS de Fenbendazol

En esta sección se describe la caracterización fisicoquímica de las seis NFS de FBZ que se identificaron en el cribado y se obtuvieron en una escala de 500 mg. Los sólidos obtenidos presentaron la siguiente composición IFA-coformador: FBZ-ácido oxálico anhídrido (1:1), NFS FBZ- ácido D-tartárico (1:1), NFS FBZ-ácido malónico (1:2), NFS FBZ-26DHB (1:1) y las dos NFS de FBZ-25DHB (1:1). En este estudio se incluyen tres técnicas de caracterización como son la calorimetría diferencial de barrido (DSC), el análisis termogravimétrico (TGA) y la espectroscopia en el infrarrojo (ATR-IR).

### 8.5.1. Análisis térmico: análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El análisis térmico es un conjunto de técnicas comúnmente empleadas para la caracterización de sólidos. Dichas técnicas de manera general estudian los cambios físicos o químicos de la muestra cuando está sometida a cambios en la temperatura en función del tiempo en una atmosfera controlada.

El análisis termogravimétrico (TGA) es una técnica principalmente usada para monitorear la pérdida de solventes, la descomposición de la muestra y predecir la estabilidad térmica. A partir de los estudios de TGA se puede conseguir información sobre la muestra en relación a su estabilidad oxidativa, estabilidad térmica, composición de sistemas multicomponentes (sean sales o cocristales), cinética de descomposición, vida útil estimada de un producto y efectos de atmósferas reactivas o corrosivas. (Pindelska, 2017) (Munson, 2009)

La técnica DSC es una potente herramienta para la detección de polimorfos y el estudio de la estabilidad de polimorfos relativa a cierta temperatura. En el caso de los cocristales la técnica de DSC sirve para generar diagramas binarios, los cuales muestran información sobre la formación de cocristales, ayudando así al cribado y también sobre la estabilidad del cocrystal, siendo así herramienta de caracterización. El punto de fusión del cocrystal difiere de los puntos de fusión de los componentes de partida, IFA y coformador. Teniendo

como comportamiento general que el punto de fusión del cocrystal se encuentre entre los componentes de partida. (Pindelska, 2017) (Munson, 2009) (Karagianni, 2018)

En la **Figura 28** se ilustran las curvas de TGA y DSC del FBZ (azul), el ácido malónico (rojo) y la NFS FBZ-ácido malónico (verde). En el TGA del FBZ se aprecia una descomposición que inicia en  $T_{\text{onset}} = 238$  °C. Antes de esta temperatura no hay ningún evento térmico que se registre en la curva del DSC. En el TGA del ácido malónico (rojo) se observa una pérdida del 99.44% de masa que empieza a los 124.5 °C, indicando la sublimación-descomposición del coformador casi en su totalidad. En el DSC ocurren dos eventos endotérmicos a temperaturas menores a su descomposición. Un primer evento en 92.6 °C que se explica como una transformación polimórfica y un segundo evento que corresponde a la fusión en 125 °C. Por otra parte, la NFS FBZ-ácido malónico presenta una primera pérdida en el TGA que inicia en 132.5 °C con un porcentaje del 46.1% *p/p*, el cual se asocia a la liberación de dos equivalentes del ácido malónico que corresponden a un valor calculado de 41.0% *p/p*; este resultado confirma la estequiometría 1:2 FBZ:coformador para la NFS. En el DSC se observa un evento endotérmico en 112 °C que se asocia a una transformación polimórfica o la fusión de la NFS. En ambos termograma se aprecian etapas de pérdida de masa que se atribuyen a la descomposición del FBZ.

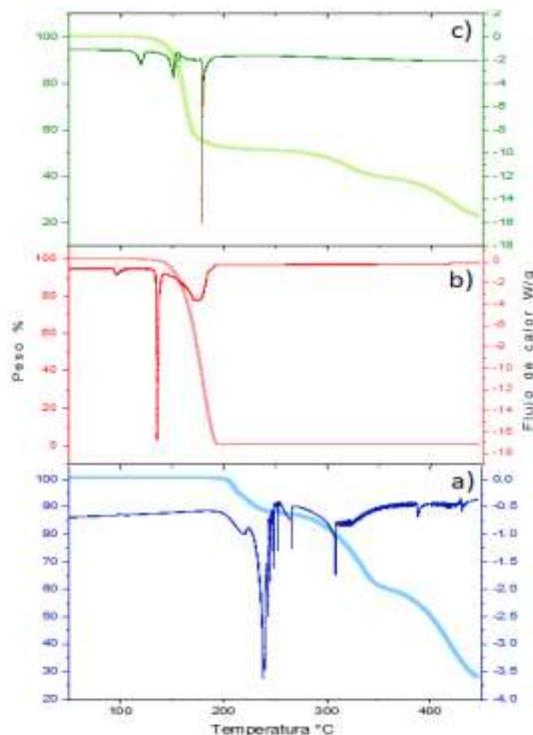


Figura 28 Curvas TGA-DSC de a) FBZ, b) ácido malónico y c) NFS FBZ-ácido malónico 1:2

En la **Figura 29**, se ilustran las curvas de TGA y DSC del FBZ (azul), el ácido 26DHB (rojo) y la NFS FBZ-26DHB (verde). Las curvas de FBZ se describieron en el párrafo anterior. En el DSC del 26DHB (rojo) hay un evento endotérmico a una temperatura  $<100$  °C, que puede deberse a una transformación polimórfica ya que no hay pérdida de masa en el TGA en este intervalo de temperatura y su punto de fusión se ha reportado en 166 °C. La pérdida de masa en el TGA comienza en 141 °C ( $T_{\text{onset}}$ ), cuya descomposición es prácticamente completa (con una pérdida del 94.7% en masa). La NFS FBZ-26DHB no presenta eventos térmicos a bajas temperaturas, siendo estable hasta los 180 °C en donde inicia la pérdida de masa con un porcentaje del 32.3% *p/p*; este evento se asocia a la liberación de un equivalente molar del 26DHB que corresponde a un valor calculado de 33.97% *p/p*. La siguiente etapa de pérdida de masa se observa en 251 °C, y se atribuye al inicio de descomposición del FBZ remanente.

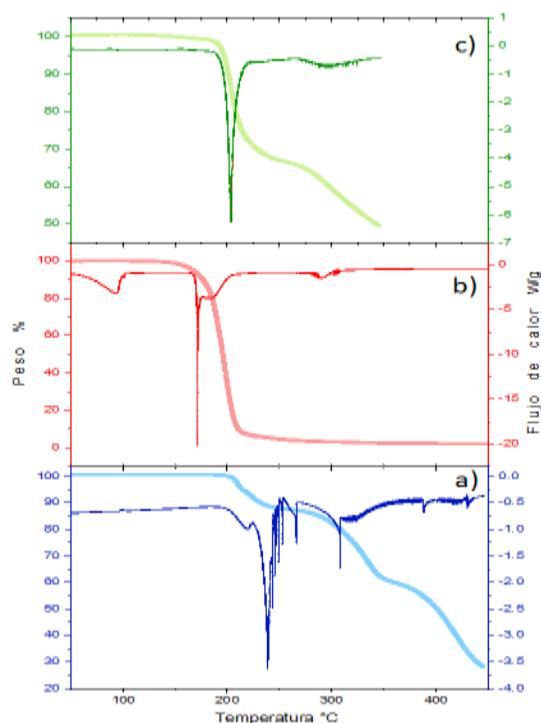
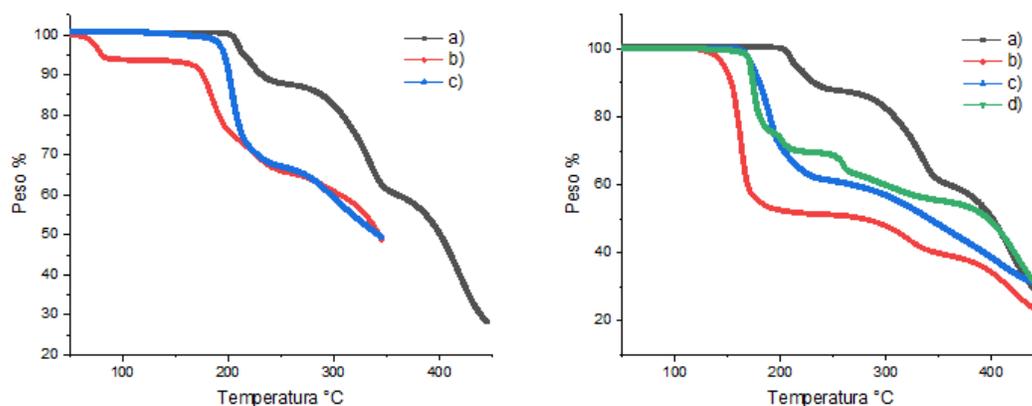


Figura 29 Curvas TGA-DSC de a) FBZ, b) 26DHB y c) NFS FBZ-26DHB 1:1

Las curvas de análisis térmico TGA y DSC para el resto de las NFS sintetizadas (FBZ- ácido oxálico anhídrido 1:1, NFS FBZ- ácido D-tartárico 1:1 y NFS FBZ-25DHB 1:1 (sintetizada con agua)) se incluyen en el **Anexo 1, 2 y 3**, respectivamente. En la **Figura 30** se presentan de forma comparativa las curvas de TGA para todas las NFS, incluyendo al FBZ (negro)

como referencia. Para simplificar este análisis, en la **Figura 30 Izquierda** se presentan las NFS con coformadores aromáticos (NFS FBZ-26DHB 1:1 (azul) y NFS FBZ-25DHB 1:1 (sintetizada con agua) (rojo)) y en la **Figura 30 Derecha** se muestran las NFS con coformadores alifáticos (NFS FBZ- ácido oxálico anhídrido 1:1 (verde), NFS FBZ- ácido D-tartárico 1:1 (azul) y NFS FBZ-ácido malónico 1:2 (rojo)).



*Figura 30 Comparación de curvas TGA de FBZ- a), NFS aromáticas; y NFS FBZ-25DHB sesquihidrato 1:1 b) y NFS FBZ-26DHB 1:1 c) (izquierda). NFS alifáticas; NFS FBZ-ácido malónico 1:2 b), NFS FBZ- ácido D-tartárico 1:1 c) y NFS FBZ- ácido oxálico anhídrido 1:1 d) (derecha)*

Se observa que el comportamiento térmico de todas NFS es diferente al de FBZ cristalino puro. Todas las NFS tienen un evento de pérdida de masa en temperaturas más bajas que la descomposición de FBZ que comienza en 238 °C. Esto se debe a que la generación de NFS genera un cambio en las propiedades fisicoquímicas de la nueva entidad sólida. En la **Tabla 19** se agrupan las temperaturas de la primera pérdida de masa observada en los termogramas de las NFS de la **Figura 30**, así como los valores experimentales y calculados del porcentaje de la pérdida en masa (% *p/p*). De manera general la primera pérdida se asocia con la liberación del coformador en la NFS, ya que hay una buena concordancia entre el valor experimental y el calculado. Solo la NFS conteniendo al 25DHB (sintetizada con agua) presenta una pérdida del 6.1% de peso antes de los 100 °C, el cual se asocia con la liberación de uno y medio equivalentes molares de agua que corresponde al 5.6% *p/p*. Una vez que el sólido se deshidrata, se presenta el evento de liberación del 25DHB como en las otras NFS.

Tabla 19 Datos seleccionados del análisis de TGA de NFS de FBZ

NFS	$T_{\text{onset}}$ [°C] Coformador	$T_{\text{onset}}$ [°C] NFS	Pérdida de peso % Experimental/calculada	Evento térmico
FBZ- ácido oxálico anhídrido 1:1	87.5	145.3	23.2 / 23.12	Liberación del ácido oxálico anhídrido
FBZ- ácido D- tartárico 1:1	173.3	160.0	38.3 / 33.39	Liberación de ácido D-tartárico
FBZ-ácido malónico 1:2	124.5	132.5	46.0 / 41.01	Liberación de ácido malónico
FBZ-26DHB 1:1	141	180.1	32.3 / 33.97	Liberación de 26DHB
FBZ-25DHB sesquihidrato 1:1	167.5	57.8 152.6	6.1 / 5.6 28.9 / 33.97	-Deshidratación -Liberación de 25DHB

### 8.5.2. Espectroscopia infrarroja (ATR-IR)

La espectroscopia ATR-IR es una técnica analítica ampliamente usada para la caracterización de sólidos. Los modos vibraciones fundamentales de grupos funcionales específicos en las especies químicas se observan como bandas en las diferentes regiones en el espectro. De esta manera la técnica se puede usar con un enfoque para explorar la diferencia en las firmas espectrales entre las materias primas y las NFS en nuestro estudio (Silva, 2016) (Munson, 2009).

Cuando el IFA o el coformador tienen un ácido carboxílico, el espectro de IR es una herramienta muy útil para discernir entre la forma neutra del ácido (RCOOH) y su forma iónica como un carboxilato (RCOO<sup>-</sup>), permitiendo en algunos casos distinguir entre la formación de un cocrystal o una sal. Un ácido carboxílico muestra bandas de estiramiento del OH en el intervalo 2500-3300 cm<sup>-1</sup>, una banda de intensidad fuerte alrededor de ≈1700 cm<sup>-1</sup> debida al estiramiento del grupo carbonilo y otra de intensidad débil alrededor de ≈1200 cm<sup>-1</sup> debida a la deformación fuera del plano del grupo OH. La pérdida o disminución significativa de las bandas antes mencionadas y la aparición de las bandas intensas antisimétrica de estiramiento entre ≈1550-1650 cm<sup>-1</sup> y simétrica entre ≈1350-1450 cm<sup>-1</sup> son características del ion carboxilato (RCOO<sup>-</sup>). Estos cambios se observan durante la formación de una sal.

Existen también otros grupos funcionales que pueden ser reconocidos. La formación de un puente de hidrógeno N-H...O se observa como una banda débil de estiramiento a  $\approx 1950\text{ cm}^{-1}$  y la banda de estiramiento del grupo OH se ensancha hacia menor frecuencia  $\approx 2400\text{ cm}^{-1}$ . Una sal de amina presenta una banda de IR entre  $\approx 2500$  a  $2300\text{ cm}^{-1}$ , si es una amina aromática o en  $\approx 2000\text{ cm}^{-1}$  si es amina alifática. (Brittain, 2009) (Brittain., 2010) (MacDonald, 2001) (Schultheiss, 2009)

En la **Figura 31** se muestran los espectros de IR de FBZ, ácido malónico y la NFS FBZ-ácido malónico. La **Tabla 20** indican los principales grupos funcionales presentes en FBZ, ácido malónico y la NFS, así como la asignación de las bandas de vibración observadas. Las bandas en los espectros de IR del FBZ (azul), ácido malónico (rojo) y NFS FBZ-ácido malónico (verde) (**Figura 31**) muestran diferencias observables en la región de la huella dactilar y en la región de alta frecuencia. En la región de alta frecuencia se puede observar la banda de estiramiento del grupo N-H en el carbamato del FBZ a  $3327\text{ cm}^{-1}$ . El ácido malónico presenta una banda ancha en la región entre  $2500$ - $3500\text{ cm}^{-1}$ , y no es visible la banda de estiramiento del O-H. En la literatura esta banda  $\nu\text{O-H}$  se reporta en  $3398\text{ cm}^{-1}$  en espectros de mayor resolución. En esta región se observan bandas alrededor de  $2900\text{ cm}^{-1}$  debidas al estiramiento de los grupos C-H aromáticos. En la NFS FBZ-ácido malónico la banda  $\nu\text{N-H}$  del FBZ se desplaza a menores números de onda con un  $\Delta\nu_{\text{N-H}}$  de  $208\text{ cm}^{-1}$  (MacDonald, 2001).

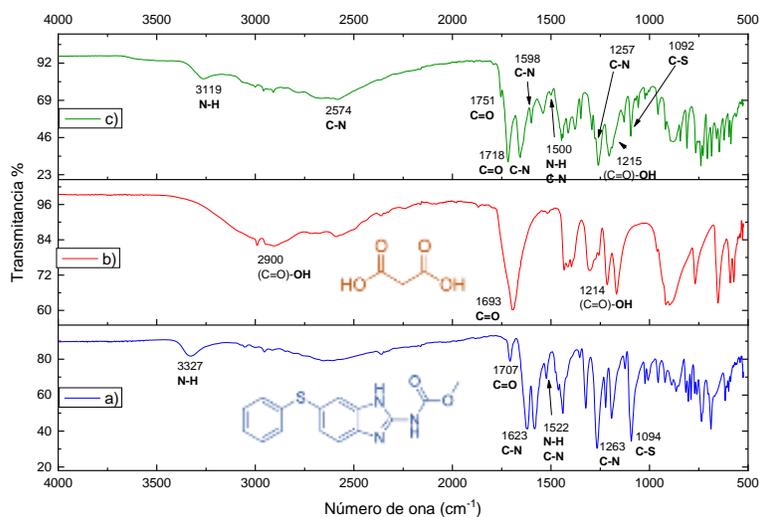


Figura 31 Comparación de espectros de IR de a) FBZ, b) ácido malónico y c) NFS FBZ- ácido malónico

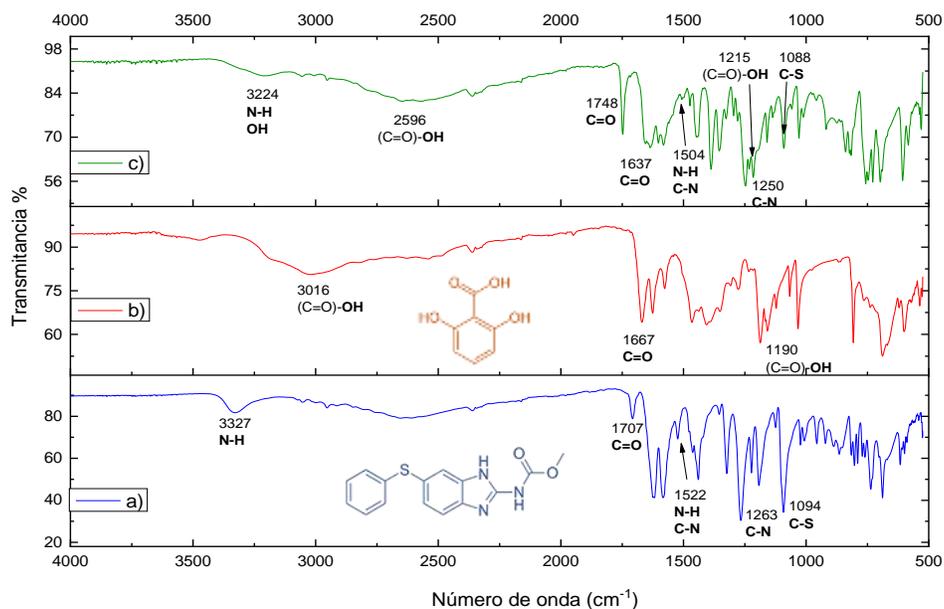
Tabla 20 Análisis de bandas de vibración de IR de NFS FBZ-ácido malónico y las materias primas

Grupo	FBZ	Ácido malónico	NFS FBZ- ácido malónico	Asignación
N-H	3327		3119	-CO-NH- Estiramiento
C-H		~2900	~2900	<b>C-H</b> Estiramiento
C=O	1707		1751	-( <b>C=O</b> )-NH- Estiramiento
C=O		1693	1718	( <b>C=O</b> )-OH Estiramiento antisimétrico
C-N	1623		1718	C-N estiramiento
N-H C-N	1522		1500	-CO-NH- N-H deformación
C-N			1598	C-N Perdida de doble enlace por protonación

En la región de los grupos carbonilos la banda de estiramiento  $\nu\text{C=O}$  del carbamato de FBZ está en  $1707\text{ cm}^{-1}$  y en el ácido malónico esta vibración se presenta como una banda ancha en  $1693\text{ cm}^{-1}$ . En la NFS hay un desplazamiento de estas bandas hacia mayores energías en  $1751$  y  $1718\text{ cm}^{-1}$ , no obstante, no es posible asignar inequívocamente a cuál carbonilo corresponde cada una. Adicionalmente, se observa que la vibración  $\nu\text{C-N}$  para FBZ que se ubica en  $1630\text{ cm}^{-1}$  sufre un corrimiento hacia  $1670\text{ cm}^{-1}$ . En la región de la huella dactilar ( $<1500\text{ cm}^{-1}$ ) se aprecia que la NFS no es una combinación simple de las moléculas precursoras, sin embargo, debido al número y traslape de las bandas no es posible una asignación directa. (Brittain, 2009) (Brittain., 2010) (MacDonald, 2001) (Schultheiss, 2009) (Surov, 2021)

Para el ácido malónico la formación de una sal podría ser identificada por la presencia de dos bandas de absorción intensas entre  $\approx 1550\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$  y  $\approx 1350\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$  características del ion carboxilato ( $\text{RCOO}^-$ ). Sin embargo, es difícil distinguir en el espectro de la NFS estas bandas. En la literatura se ha reportado la formación de sales del FBZ con los ácidos *p*-toluensulfónico (TSA) y metilsulfónico (MSA), en donde las vibraciones del grupo carbonilo cambian hacia mayores frecuencias (Surov, 2021). No obstante, estos compuestos son mucho más propensos a la formación de una sal con FBZ ya que son ácidos más fuertes que el ácido malónico ( $\text{pK}_a(\text{ácido malónico}) = 2.8$ ,  $\text{pK}_a(\text{MSA}) = -1.9$ ,  $\text{pK}_a(\text{TSA}) = -2.8$ ). La forma más segura para definir si la NFS FBZ-ácido malónico es un cocrystal o una sal, es mediante el análisis de difracción de rayos X de monocristal (Millán, 2013).

En la **Figura 32** se muestran los espectros de IR de FBZ, 26DHB y NFS FBZ-26DHB. La **Tabla 21** se indica los principales grupos funcionales presentes en la NFS FBZ-26DHB y las materias primas. En la región de alta frecuencia la NFS FBZ-26DHB solo muestra bandas anchas, sin una distinción clara de la banda de estiramiento del grupo O–H del 26DHB. Tampoco es muy clara la posición de la banda de estiramiento del N–H del FBZ.



*Figura 32 Comparación de espectros de IR de a) FBZ, b) 26DHB y c) NFS FBZ-26DHB*

En la región de los carbonilos se observa la banda de estiramiento  $\nu\text{C}=\text{O}$  en  $1748\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente al FBZ. Esta banda presenta un corrimiento a mayores frecuencias  $\Delta\nu\text{C}=\text{O}$  de  $41\text{ cm}^{-1}$  en la NFS FBZ-26DHB. El grupo carbonilo en el 26DHB aparece en  $1667\text{ cm}^{-1}$  y parece tener un corrimiento a menores frecuencias en la NFS. En la región de la huella dactilar ( $<1500\text{ cm}^{-1}$ ) se aprecia que la NFS no es una combinación simple de las moléculas precursoras, sin embargo, como en el caso anterior no es posible una asignación directa (Brittain, 2009) (Brittain., 2010) (MacDonald, 2001) (Schultheiss, 2009) (Surov, 2021)

Tabla 21 Análisis de bandas de vibración de IR de NFS FBZ-26DHB y materias primas

Grupo	NFS FBZ-26DHB			Asignación
	FBZ	26DHB		
N-H	3327		-	-CO-NH- Estiramiento
OH		3016	-	(C=O)-OH Estiramiento
C=O	1707		1748	-CO-NH- Estiramiento
C=O		1667	1637	(C=O)-OH Estiramiento antisimétrico

En la **Figura 33** se presentan de forma comparativa los espectros IR para todas las NFS, incluyendo al FBZ (negro) como referencia. Los gráficos comparativos de los espectros de IR para el resto de las NFS sintetizadas (FBZ- ácido oxálico anhídrido 1:1, NFS FBZ- ácido D-tartárico 1:1 y NFS FBZ-25DHB 1:1 sesquihidrato) se incluyen en el **Anexo 4, 5 y 6**, respectivamente. En la **Tabla 22** se agrupan las bandas de vibración principales de todas las NFS de FBZ identificadas en este trabajo. En la región de alta frecuencia se puede observar que la banda de estiramiento del NH del FBZ a  $3327\text{ cm}^{-1}$ , sufre modificaciones en todas las NFS. En esta misma región la NFS FBZ-25DHB 1:1 sesquihidrato presenta una banda a  $3480\text{ cm}^{-1}$  debida a la vibración  $\nu(\text{O-H})$  del agua cristalizada. Por otro lado, en la región de los carbonilos la vibración  $\nu\text{C=O}$  del FBZ a  $1707\text{ cm}^{-1}$  se desplaza en todas las NFS a números de onda mayores. Es notable que el espectro de IR de todas las NFS no es una combinación simple de las materias primas, sin embargo, debido a la complejidad de la región  $<1500\text{ cm}^{-1}$  no es posible distinguir si los nuevos sólidos son un cocrystal o una sal.

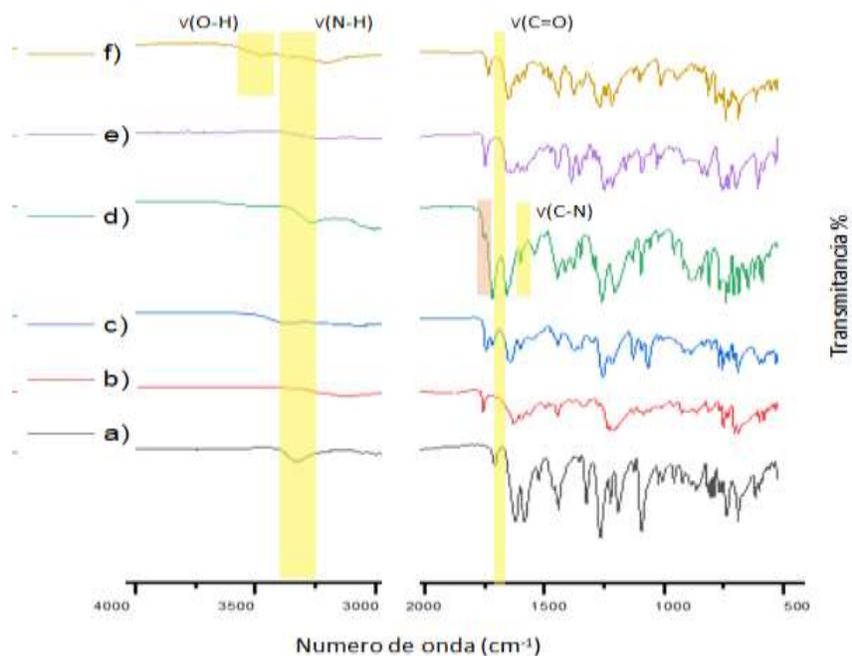


Figura 33 Comparación de espectros de IR de a) FBZ, b) NFS FBZ- ácido oxálico anhídrido 1:1, c) NFS FBZ- ácido D-tartárico 1:1, d) NFS FBZ-ácido malónico 1:2, e) NFS FBZ-26DHB 1:1 y f) NFS FBZ-25DHB sesquihidrato 1:1

Tabla 22 Análisis de bandas de vibración de IR de FBZ, NFS FBZ- ácido oxálico anhídrido 1:1, NFS FBZ- ácido D-tartárico 1:1, NFS FBZ-ácido malónico 1:2, NFS FBZ-26DHB 1:1 y NFS FBZ-25DHB sesquihidrato 1:1

Grupo	FBZ	NFS FBZ- ácido oxálico anhídrido	NFS FBZ- ácido D-tartárico	NFS FBZ- ácido malónico	NFS FBZ- 26DHB	NFS FBZ-25DHB sesquihidratada	Asignación
N-H	3327	3119	3376	3119	3224	3210	-CO-NH- Estiramiento
C=O	1707	1756	1744	1751	1748	1737	-CO-NH- Estiramiento
C=O	-	1628	1714	1718	1637	1647	(C=O)-OH Estiramiento
OH						3480	Agua cristalizada

## 8.6. Caracterización biofarmacéutica de NFS de Fenbendazol

La principal razón para desarrollar NFS, sean sales o cocristales, se debe a la posibilidad de modificar las propiedades biofarmacéuticas de los IFA, tales como: solubilidad, velocidad de disolución, estabilidad térmica, higroscopicidad, estabilidad química, punto de fusión, perfil de impurezas o hábito cristalino y propiedades mecánicas. (Paulekuhn, 2007) (Vioglio, 2017)

Las NFS de FBZ que se estudiaron fueron: NFS de FBZ- ácido oxálico anhídrido (1.1), NFS FBZ- ácido D-tartárico (1.1), NFS FBZ-ácido malónico (1:2), NFS FBZ-26DHB (1.1), NFS de FBZ-25DHB anhidra (1.1) y NFS de FBZ-25DHB sesquihidrato (1.1).

Algunas de las pruebas que se realizaron para evaluar la modificación de propiedades biofarmacéuticas del IFA, son las siguientes: estabilidad indicativa, la cual nos ayuda a comprender el comportamiento cristalino de la NFS en diferentes condiciones de humedad y temperatura, estabilidad de fase mediada por el disolvente, para comprender el comportamiento del estado cristalino de la NFS al entrar en contacto con el medio de disolución, solubilidad, para saber la solubilidad de la NFS mediante el equilibrio en solución del IFA y coformador, y disolución de polvos - también llamada disolución bajo condiciones no-sink, para la comprensión del comportamiento de disolución y del estado cristalino de la NFS cuando entra en disolución al medio. (Pindelska, 2017)

### 8.6.1. Estabilidad indicativa

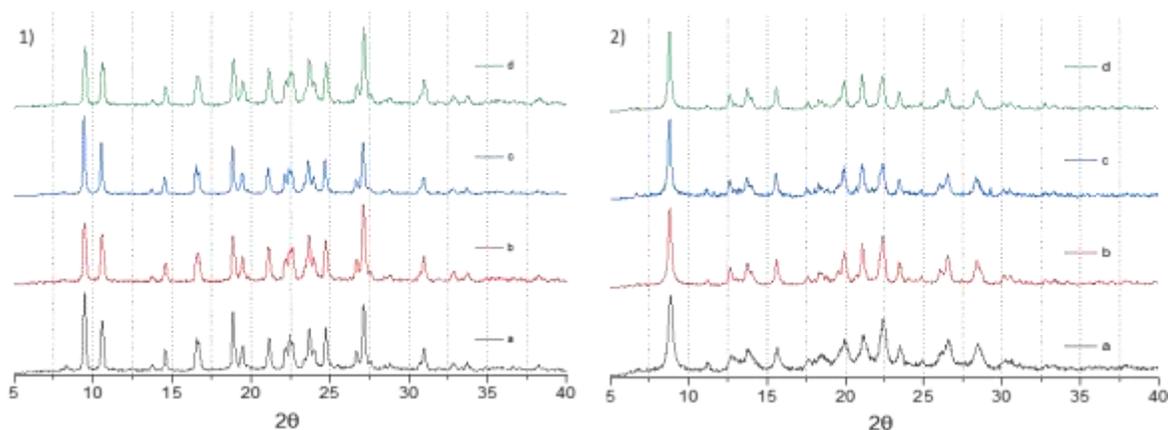
De acuerdo a la normativa mexicana, referida en la Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2015, los estudios de estabilidad son “pruebas que se efectúan a un fármaco, a un medicamento o a un remedio herbolario por un tiempo determinado, bajo la influencia de temperatura, humedad o luz en el envase que lo contiene, para demostrar el periodo de vida útil de éstos y determinan su fecha de caducidad” y los estudios de estabilidad acelerada son “ estudios diseñados bajo condiciones extremas de almacenamiento para incrementar la velocidad de degradación química, biológica o los cambios físicos de un fármaco, de un medicamento o de un remedio herbolario”. La NOM-073-SSA1-2015 marca que para un fármaco nuevo las pruebas de estabilidad acelerada deben realizarse en 3

lotes piloto por 6 meses, en los cuales los tiempos de análisis son: tiempo inicial, 3 y 6 meses, bajo condiciones de  $40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C} / 75 \text{ \% HR}$ .

Debido a que estos estudios requieren una inversión de tiempo prolongado, en la industria farmacéutica se realiza de manera homóloga, estudios de estabilidad acelerada durante tiempos más cortos -un mes-, donde se evalúa la estabilidad del sólido bajo condiciones de estrés de temperatura y humedad por arriba de las condiciones habituales. Resultados favorables para esta prueba en las muestras de sólidos farmacéuticos usualmente indican que la posibilidad de mantener la estabilidad física y química (estabilidad indicativa), bajo los parámetros marcados en la NOM-073-SSA1-2015 es buena. La estabilidad indicativa se evaluó durante un mes bajo las siguientes condiciones:

- a)  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , 0% Humedad relativa (HR)
- b)  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , 0% Humedad relativa
- c)  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , 75% Humedad relativa

En la **Figura 34** se muestra los patrones de DRXP de la NFS FBZ- ácido oxálico anhidro (1:1) (**Figura 34a izquierda**) y la NFS FBZ- ácido D-tartárico (1:1) (**Figura 34a derecha**). Los patrones de DRXP del análisis de estabilidad indicativa a b)  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , 0% HR, c)  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , 0% HR y d)  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  y 75% HR, muestran que estas NFS de FBZ son estables bajo las condiciones evaluadas. Esto nos da un indicio de que las NFS de FBZ con ácido oxálico anhidro y ácido D-tartárico, pueden ser estables bajo condiciones normales de manufactura y almacenaje, ayudando a reducir el riesgo de transformación de fase o degradación del IFA.

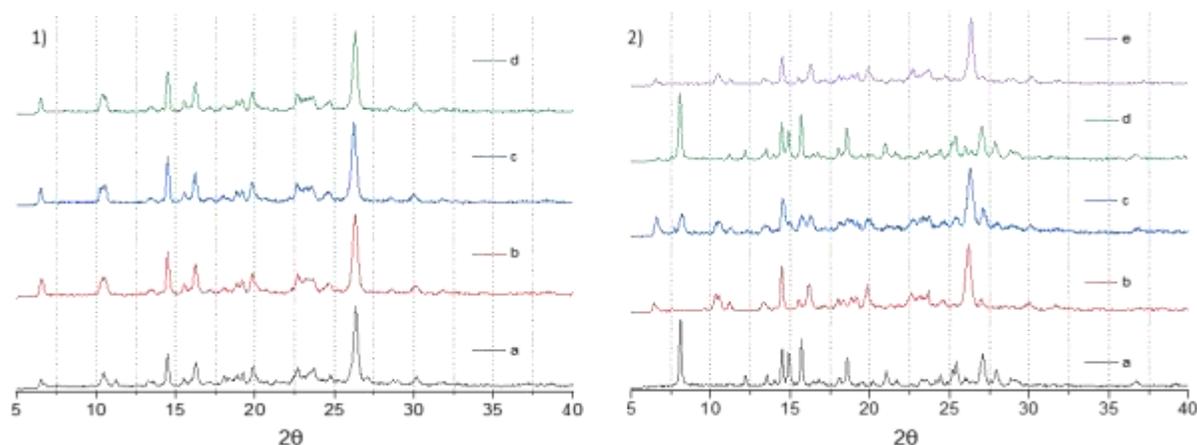


*Figura 34 Comparación de patrones de DRXP de NFS (1, izquierda) FBZ- ácido oxálico anhidro (1:1) y (2, derecha) FBZ- ácido D-tartárico (1:1). (a) NFS; y NFS después de 1 mes de incubación a b)  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , 0% HR; c)  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , 0% HR y d)  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , 75% HR.*

En el **Anexo 7** se pueden consultar los resultados obtenidos para la NFS FBZ-ácido malónico (1:2) y la NFS FBZ-26DHB (1:1). Estos resultados muestran que las NFS son también estables bajo las condiciones de temperatura y humedad evaluadas.

En la **Figura 35** se muestran los patrones de DRXP de la NFS FBZ-25DHB anhidra (1:1) (**Figura 35a, izquierda**) y la NFS FBZ-25DHB sesquihidratada (1:1) (**Figura 35a derecha**). Los patrones de DRXP del análisis de estabilidad indicativa de la NFS FBZ-25DHB anhidra a b) 50 °C, 0% HR, c) 40 °C, 0% HR y d) 40 °C, 75% HR, muestran que tampoco hay un cambio de patrón de DRXP en las diferentes condiciones. Por lo tanto, la NFS FBZ-25DHB anhidra es estable bajo las condiciones de temperatura y humedad evaluadas. Caso contrario, la NFS FBZ-25DHB sesquihidratada presenta cambios en el patrón de DRXP a las condiciones b) 50 °C, 0% HR y c) 40 °C, 0% HR. A 50 °C y 0% HR, la NFS FBZ-25DHB sesquihidratada se transforma por completo a la forma cocrystalina anhidra e), mientras que, a 40 °C y 0% HR, coexiste una mezcla entre la forma sesquihidratada y anhidra del cocrystal. La identidad de la forma sesquihidratada se verificó mediante DSC y TGA. La forma anhidra a diferencia de la sesquihidratada se sintetizó con acetona y no con agua, por ello se deduce que es anhidra.

Al parecer, bajo dichas condiciones de 0% HR, el agua que tiene la forma sesquihidratada sublima para posteriormente pasar a la forma anhidra. A d) 40 °C y 75% HR, la NFS FBZ-25DHB sesquihidratada no presenta un cambio en el patrón de DRXP, y por lo tanto es estable.



*Figura 35 Comparación de patrones de DRXP de NFS (1, izquierda) FBZ-25DHB anhidra (1:1) y (2, derecha) FBZ-25DHB sesquihidratada (1:1). a) NFS; y NFS después de 1 mes de incubación a b) 50 °C, 0% HR, c) 40 °C, 0% HR y d) 40 °C, 75% HR. e) NFS FBZ-25DHB anhidra.*

En la **Tabla 23** se resumen los resultados de los ensayos de estabilidad indicativa, los patrones de DRXP que mostraron ser estables bajo la condición evaluada se indican con una ✓ y aquellos que mostraron cambios de fase se indican con una X. En el **Anexo 8, 9** y **10** se exponen los patrones de DRXP de las materias primas implicadas en la síntesis de las NFS de FBZ, tanto IFA como coformadores.

*Tabla 23 Resultados de estabilidad indicativa de NFS de FBZ y materias primas*

Muestra	Condiciones de estabilidad		
	50 °C, 0% HR	40 °C, 0% HR	40 °C, 75% HR
FBZ	✓	✓	✓
Ácido oxálico anhidro	✓	✓	X (a)
NFS FBZ-ácido oxálico anhidro	✓	✓	✓
ácido D-tartárico	✓	✓	✓
NFS FBZ- ácido D-tartárico	✓	✓	✓
ácido malónico	✓	✓	✓
NFS de FBZ- ácido malónico	✓	✓	✓
26DHB	✓	✓	✓
NFS FBZ-26DHB	✓	✓	✓
25DHB	✓	✓	✓
NFS FBZ-25DHB anhidra	✓	✓	✓
NFS FBZ-25DHB sesquihidratada	X (b)	X (c)	✓

✓. En el patrón de DRXP de la NFS de FBZ o materia prima se mantuvo estable bajo la condición de análisis.

X. En el patrón de DRXP de la NFS de FBZ o materia prima cambio bajo la condición de análisis.

a. El patrón de DRXP del ácido oxálico anhidro bajo la condición de 40 °C, 75% HR cambio, el producto corresponde al patrón de DRXP del ácido oxálico dihidratado.

b. El patrón de DRXP de la NFS FBZ-25DHB sesquihidratada (1:1) bajo la condición de 50 °C, 0% HR cambio a su forma anhidra.

c. El patrón de DRXP de la NFS FBZ-25DHB sesquihidratada (1:1) bajo la condición de 40 °C, 0% HR coexiste con su forma anhidra.

### 8.6.2. Transformación de fase mediada por la solución

El estudio de transformación de la fase mediada por la solución del FBZ y sus NFS, se realizó en soluciones con diferente valor de pH con la finalidad de simular condiciones relevantes del tracto gastrointestinal animal (solución HCl pH 1.2 y buffer fosfatos pH 6.8), bajo condiciones de temperatura y agitación controladas y adicionalmente, para evaluar el efecto de los componentes ionizables. Este comportamiento se monitorea mediante el estudio del sólido en contacto con el medio a diferentes tiempos para después ser analizado por DRXP.

En la **Figura 36** se muestra la comparación de los patrones de DRXP de FBZ (a) y los productos del ensayo de transformación de fase mediada por la solución del FBZ en pH 1.2 (izquierda) y pH 6.8 (derecha), después de mantener las condiciones experimentales por b) 5 minutos, c) 1 hora, d) 6 horas, e) 10 horas y f) 24 horas. Los patrones de DRXP de los

productos de ambos ensayos en pH 1.2 y 6.8 no muestran cambios en comparación con el FBZ de partida durante todos los experimentos, lo cual indica que el FBZ es estable en las condiciones evaluadas.

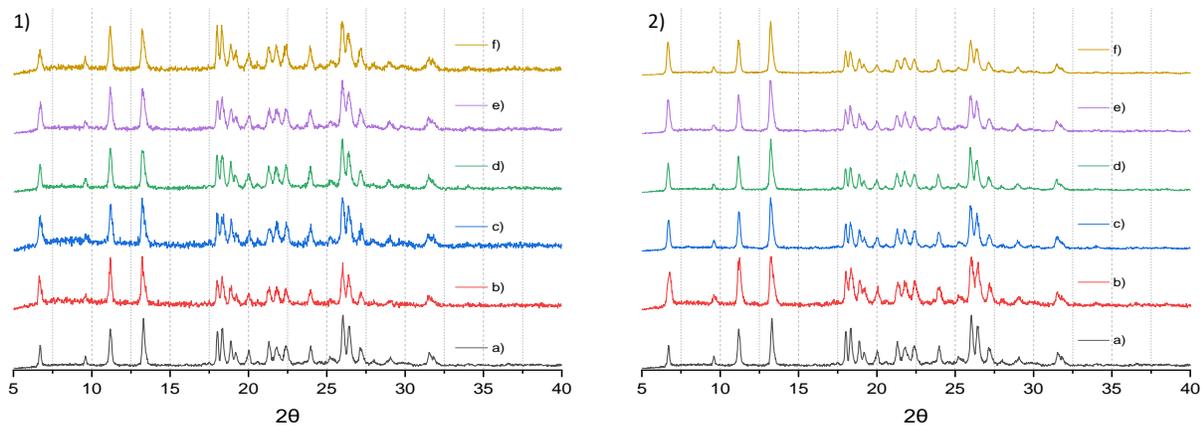


Figura 36 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ ( $t=0$  min) y del producto de FBZ en contacto con la solución en pH 1.2 (izquierda) y pH 6.8 (derecha) a los b) 5 minutos, c) 1 hora, d) 6 horas, e) 10 horas y f) 24 horas.

En la **Figura 37** se muestra la comparación de los patrones de DRXP de FBZ, ácido oxálico anhidro y NFS FBZ-ácido oxálico anhidro (a, b y c, respectivamente) y productos del ensayo de transformación de fase de la NFS en pH 1.2 (izquierda) y pH 6.8 (derecha) a los d) 5 minutos, e) 1 hora, f) 6 horas, g) 10 horas y h) 24 horas. Los patrones de DRXP de los productos de ambos ensayos a pH 1.2 y 6.8 muestran una cinética de transformación de fase que empieza desde los primeros 5 minutos y se observa completa al término de la prueba, a las 24 horas. El patrón de DRXP obtenido a las 24 horas en ambas condiciones (pH 1.2 y pH 6.8) corresponde al patrón de DRXP del FBZ. Por lo tanto, podemos decir que la NFS FBZ-ácido oxálico anhidro se transforma a materias primas independientemente del pH (pH 1.2 y pH 6.8), haciéndolo progresivamente a FBZ en el tiempo en que se llevan a cabo los experimentos.

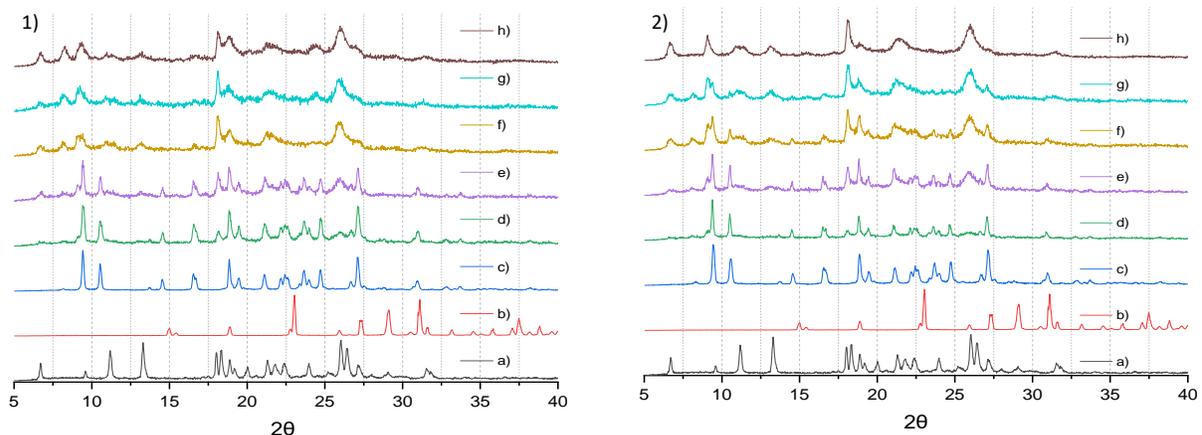


Figura 37 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) ácido oxálico anhidro y c) NFS FBZ-ácido oxálico anhidro y los productos de la transformación de fase mediada por la solución en pH 1.2 (izquierda) y pH 6.8 (derecha) a los d) 5 minutos, e) 1 hora, f) 6 horas, g) 10 horas y h) 24 horas.

Las NFS con ácidos alifáticos, FBZ-ácido D-tartárico y FBZ-ácido malónico, presentaron un comportamiento similar, tanto a pH 1.2 como a pH 6.8; mostrándose una transformación de fase a FBZ de forma inmediata (ver **Anexo 11** y **12**).

En la **Figura 38** se muestra la comparación de los patrones de DRXP de FBZ, 26DHB y NFS FBZ-26DHB (a,b y c, respectivamente) y productos del ensayo de transformación de fase mediada por la solución de la NFS FBZ-26DHB en pH 1.2 (izquierda) y pH 6.8 (derecha) a los d) 5 minutos, e) 1 hora, f) 6 horas, g) 10 horas y h) 24 horas. Los patrones de DRXP de los productos de los ensayos en pH 1.2 y 6.8, muestran diferentes resultados. En el caso de la condición pH 1.2 los patrones de DRXP no muestran cambios en comparación con la NFS FBZ-26DHB de partida durante todo el experimento, lo cual indica que la NFS FBZ-26DHB es estable en la condición de pH 1.2. Caso contrario a pH 6.8, donde los patrones de DRXP de las muestras analizadas refieren una cinética de transformación de fase lenta, que empieza desde la primera hora y no se concluye en las 24 horas que dura el experimento. El patrón de DRXP obtenido a las 24 horas en pH 6.8 presenta una mezcla entre la NFS FBZ-26DHB y el FBZ. Por lo tanto, se puede decir que la NFS FBZ-26DHB es inestable a pH 6.8, transformándose lentamente. Estos resultados demuestran que la NFS FBZ-26DHB sufre una transformación de fase en solución pH-dependiente, debido a la capacidad de solubilización de los componentes de la NFS. El coformador 26DHB tiene un pka de 1.51. Por lo tanto, dicha base débil al encontrarse en un medio básico como pH 6.8, se hallará en su forma ionizada. De modo que su solubilización en el medio será propicia.

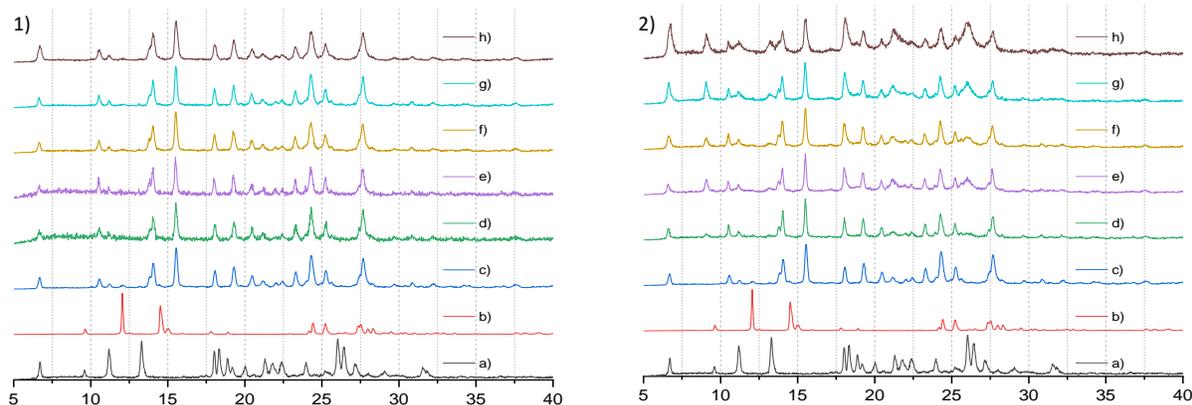


Figura 38 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) 26DHB y c) NFS FBZ-26DHB y de los productos de transformación de fase mediada por la solución en pH 1.2 (izquierda) y pH 6.8 (derecha) a los d) 5 minutos, e) 1 hora, f) 6 horas, g) 10 horas y h) 24 horas.

La otra fase conteniendo a un coformador derivado de ácido benzóico, la NFS FBZ-25DHB sesquihidrato, tuvo un comportamiento similar a la NFS FBZ-26DHB (Anexo 13).

En la **Figura 39** se muestra la comparación de los patrones de DRXP de FBZ, 25DHB y NFS FBZ-25DHB anhidra (a, b y c, respectivamente) y productos del ensayo de transformación de fase mediada por la solución de la NFS FBZ-25DHB anhidra en pH 1.2 (izquierda) y pH 6.8 (derecha) a los d) 5 minutos, e) 1 hora, f) 6 horas, g) 10 horas y h) 24 horas. Los patrones de DRXP de los productos de los ensayos en pH 1.2 y 6.8 muestran diferentes resultados. En el caso de la condición pH 1.2 los patrones de DRXP muestran una transformación de fase desde los primeros 5 minutos a la forma sesquihidratada (**Figura 39**) y esta se mantiene así hasta el final del experimento. Con esto se puede decir que la NFS FBZ-25DHB anhidra se hidrata al contacto con la solución HCl de pH 1.2. Un comportamiento parecido se observó a pH 6.8, sin embargo, los patrones de DRXP muestran una cinética de transformación de fase en tres etapas que empieza desde los primeros minutos: La NFS FBZ-25DHB anhidra en los primeros 5 minutos muestra ser estable, a la hora esta NFS se hidrata y se transforma a la forma sesquihidratada, para después a las 24 horas tener una mezcla de la NFS FBZ-25DHB sesquihidratada y FBZ. Por lo tanto, se puede decir que la NFS FBZ-25DHB anhidra es inestable a pH 6.8, transformándose lentamente a FBZ, no concluyendo el proceso de transformación en el tiempo de experimentación. Estos resultados demuestran que la NFS FBZ-25DHB anhidra sufre una transformación de fase en solución pH-dependiente.

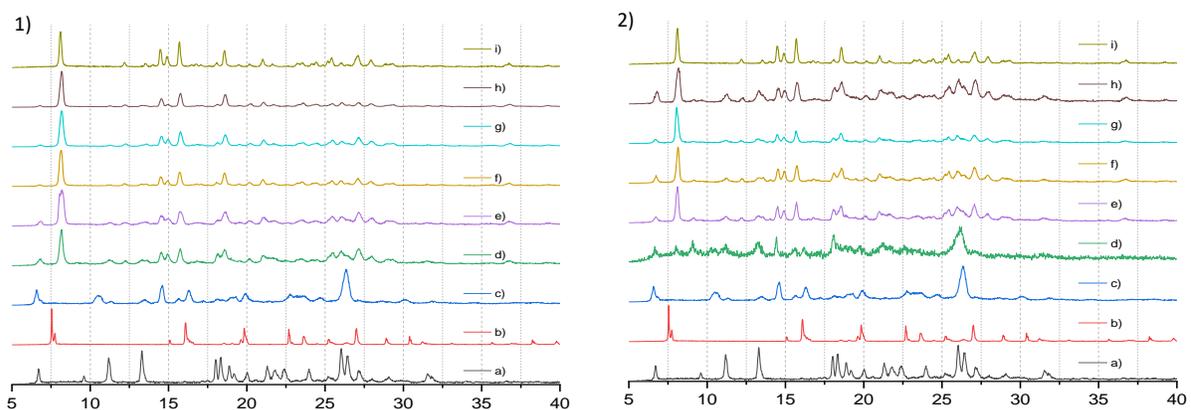


Figura 39 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) 25DHB y c) NFS FBZ-25DHB anhidra y productos de transformación de fase mediada por la solución en pH 1.2 (izquierda) y pH 6.8 (derecha) a los d) 5 minutos, e) 1 hora, f) 6 horas, g) 10 horas y h) 24 horas. i) Patrón de DRXP de la NFS FBZ-25DHB sesquihidrato.

Los resultados de transformación de fase mediada por la solución para las diferentes NFS se resumen en la **Tabla 24**.

Tabla 24 Resumen de los resultados de transformación de fase mediada por la solución.

Fase sólida	pH 1.2	pH 6.8	Observaciones
FBZ	NT	NT	NT = No Transformación
FBZ-ácido oxálico anhidro	+++	+++	+++ Transformación muy rápida, observada desde los 5 min
FBZ-ácido tartárico	+++	+++	+++ Transformación muy rápida, observada desde los primeros tiempos
FBZ-ácido malónico	+++	+++	+++ Transformación muy rápida, observada desde los 5 min
FBZ-26DHB	NT	+	+ Transformación lenta, en proceso aún a las 24 hr
FBZ-25DHB sesquihidratada	NT	++	++ Transformación gradual, completa a las 24 hr
FBZ-25DHB anhidra	+++	+	+++ Transformación muy rápida, observada desde los 5 min a la NFS sesquihidratada + Transformación gradual: NFS se hidrata y se transforma gradualmente a FBZ. A las 24 hr mezcla de NFS sesquihidratada y FBZ.

Analizando los resultados por grupos de pH en que se llevaron a cabo los experimentos, solución pH 1.2 y solución pH 6.8; se puede observar que a pH 1.2 las NFS de FBZ con cofomadores ácidos dicarboxílicos alifáticos (ácido oxálico anhidro y ácido malónico) y ácidos hidroxicarboxílicos alifáticos (ácido D-tartárico) presentan transformación de fase casi de manera inmediata, a excepción de la NFS FBZ-ácido oxálico anhidro. Caso

contrario, las NFS de FBZ con ácidos aromáticos (26DHB y 25DHB) en pH 1.2 presentaron estabilidad durante todo el ensayo. Este comportamiento en donde una NFS de un bencimidazol con coformador dicarboxílico alifático (ácido oxálico anhidro), presenta transformación de fase y con coformadores aromáticos (26DHB y 25DHB) muestra estabilidad en solución pH 1.2, ya se han reportado en el grupo de investigación multidisciplinario con cocrisales de ricobendazol de los coformadores antes mencionados. (Millán, 2013)

En la solución pH 6.8 las NFS de FBZ con coformadores ácidos dicarboxílicos alifáticos (ácido oxálico anhidro y ácido malónico) y ácidos hidroxicarboxílicos alifáticos (ácido D-tartárico) presentan los mismos resultados que a pH 1.2, por ello se dice que no son pH-dependientes. Por otra parte, las NFS de FBZ con coformadores aromáticos presentan transformación de fase en solución pH 6.8, contrario a lo que paso en pH 1.2. Por lo tanto, podemos decir que las NFS de FBZ con coformadores aromáticos (26DHB y 25DHB) son pH-dependientes. Este fenómeno pH-dependiente en las NFS de bencimidazoles con coformadores aromáticos, ya ha sido reportado en el grupo de investigación multidisciplinario con cocrisales de ricobendazol-26DHB y ricobendazol-25DHB. (Alvarez L. , 2004)

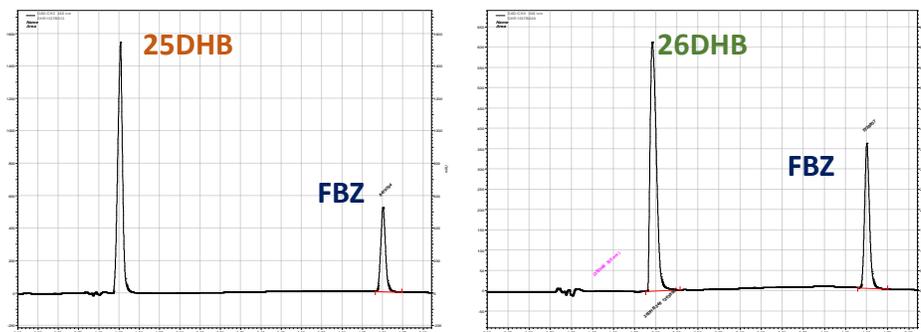
Con estos resultados se procedió a seleccionar las NFS de FBZ que presentaron una transformación de fase mediada por la solución gradual, dado que se esperaba que su ventaja de solubilización no fuese muy alta (lo cual se esperaría de las NFS con ácidos alifáticos) y por lo tanto generaran una supersaturación cuantificable, así como una mayor oportunidad de modularla. A estas NFS se les realizaron las pruebas biofarmacéuticas de constante eutéctica ( $K_{eu}$ ) y disolución de polvos en condiciones *no-sink*. Las NFS de FBZ que se seleccionaron fueron las siguientes: NFS FBZ-26DHB, NFS FBZ-25DHB anhidra y NFS FBZ-25DHB sesquihidratada.

### 8.6.3. Desarrollo y validación de método de cuantificación mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)

Para cuantificar FBZ y los coformadores aromáticos, 25DHBA y 26DHB, provenientes de las pruebas de disolución de polvos se desarrolló un método analítico por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), dado que no era posible cuantificar los analitos por espectrofotometría UV-vis por la interferencia en la longitud de onda de absorción del FBZ

y los coformadores (**Anexo 14**), requiriéndose una separación para asegurar especificidad en la cuantificación.

En la **Figura 40** se muestran los cromatogramas del FBZ con cada coformador. Los parámetros de desempeño que se evaluaron para la validación del método fueron: adecuabilidad, linealidad, precisión y límite de cuantificación con base en la guía de validación de métodos analíticos del colegio nacional de químicos farmacéuticos biólogos, A.C.



*Figura 40 Cromatogramas de FBZ con coformadores aromáticos, 25DHB y 26DHB*

Para la prueba de adecuabilidad se analizaron soluciones de IFA y coformador por quintuplicado. Se midieron área y tiempo de retención. El criterio de aceptación era que el CV de estos parámetros fuese menor al 2%. En esta prueba tanto los coformadores aromáticos como FBZ cumplieron con el criterio, obteniendo los siguientes CV: FBZ 1.25%, 25DHB 0.53% y 26DHB 0.43% (**Anexo 16**).

Para continuar con la validación se realizaron curvas de calibración durante tres días diferentes con triplicados cada uno de ellos. Esto con la finalidad de evaluar la linealidad y precisión. Las curvas eran mezclas de FBZ y el coformador correspondiente. En el caso de FBZ se obtuvo un coeficiente de regresión ( $R^2$ ) de 0.99991, el 25DHB mostro una  $R^2$  de 0.99998 y el 26DHB una  $R^2$  de 0.99997. En este caso tanto como el FBZ y coformadores cumplen con el criterio de linealidad que estipula un coeficiente  $R^2$  de 0.999. (**Anexo 15**).

Para validar la precisión se determinó el coeficiente de variación del factor respuesta de todas las concentraciones de la curva de calibración. La guía de validación indica que un método es preciso cuando tienen un CV% menor al 2%. En el caso del FBZ se obtuvo un CV del 1.32%, en 25DHB 1,56% y en 26DHB de 1.33%. Con estos datos podemos decir

que el método cumple el criterio de precisión. En el **Anexo 17** se recopila todos los datos experimentales.

Para determinar el límite de cuantificación se usó la fórmula

$$LC=(10 \times S_{y/x}) /b_1$$

donde LC es el límite de cuantificación y b1 es la pendiente,  $S_{y/x}$  se calculó con la siguiente fórmula:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n-2}}$$

Los datos obtenidos arrojaron los siguientes resultados de límite de cuantificación: FBZ de 1.15 ug/ml, 25DHB de 1.21 ug/ml y para el 26DHB de 0.65 ug/ml. **Anexo 17**.

#### 8.6.4. Constante eutéctica y ventaja de solubilidad

El experimento para evaluar la constante eutéctica en pH 1.2 ( $K_{eu}$ ) se realizó pesando 15 mg de FBZ con 30 mg de la NFS en cuestión: NFS FBZ-26DHB, NFS FBZ-25DHB anhidra o NFS FBZ-25DHB sesquihidratada. La mezcla de sólidos se puso en contacto con 3 ml de medio HCl pH 1.2 a 37 °C con agitación constante durante 48 horas por triplicado. Después de este tiempo, la mezcla de sólidos y la solución se separó mediante filtración. Los sólidos se analizaron mediante DRXP (**Figura 41 y 42**), mientras que la concentración de FBZ y los respectivos coformadores en la solución se cuantificó mediante CLAR.

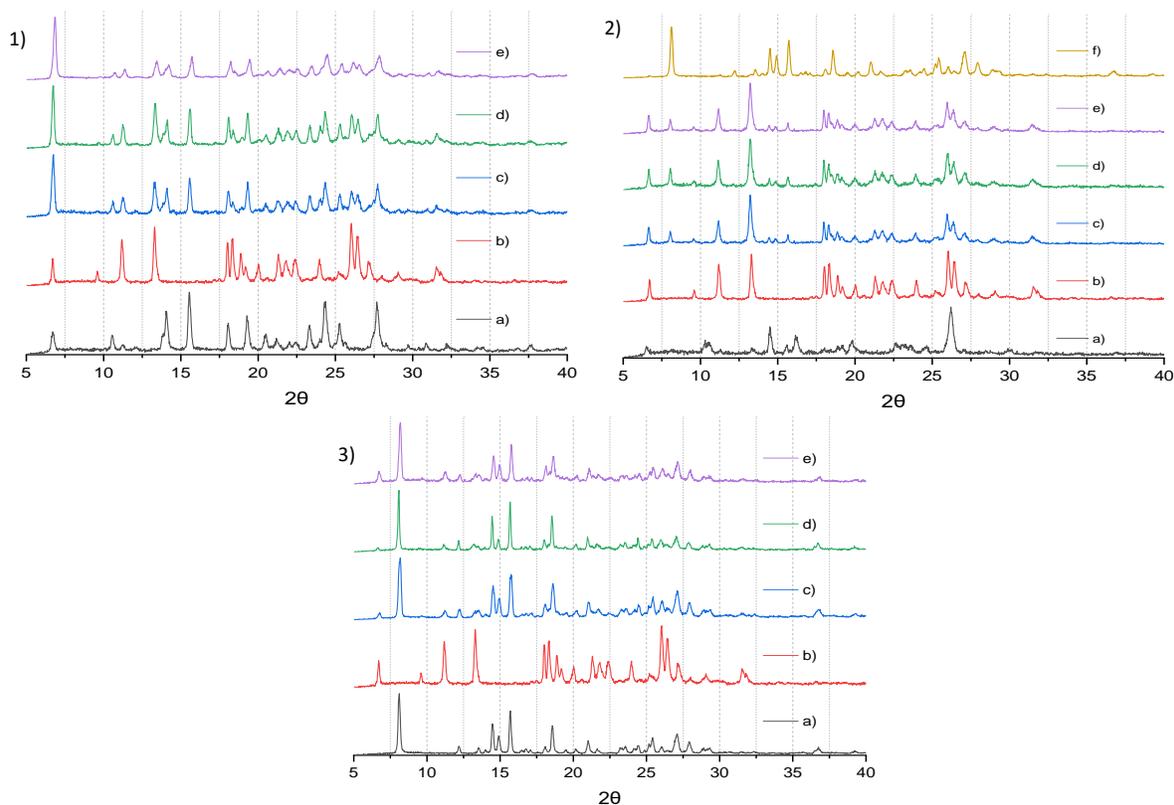


Figura 41 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-26DHB (**1a**), NFS FBZ-25DHB anhidra (**2a**) y NFS FBZ-25DHB sesquihidratada (**3a**), FBZ (**1b**, **2b** y **3b**) y productos de experimento de constante eutéctica (*Ke*) (**1c**, **2c** y **3c**) primer triplicado, (**1d**, **2d** y **3d**) segundo triplicado y (**1e**, **2e** y **3e**) tercer triplicado en pH 1.2 . **2 f**) NFS FBZ-25DHB sesquihidratada.

En la **Figura 41 1)** se muestran los difractogramas relacionados con el experimento de constante eutéctica de la NFS de FBZ-26DHB. Como se puede observar, los triplicados del experimento muestran picos de difracción tanto del FBZ como de la NFS de FBZ-26DHB, por lo tanto, ambos sólidos estuvieron presentes en equilibrio con el FBZ y el coformador disueltos en el medio tal y como se espera en el punto eutéctico. En la **Figura 41 2)** se muestran los difractogramas relacionados con el experimento de constante eutéctica de la NFS de FBZ-25DHB anhidra. En los triplicados de los experimentos se muestra el patrón de difracción de FBZ y del sesquihidrato de FBZ-25DHB. Este experimento se inició con la forma anhidra de FBZ-25DHB, sin embargo, ocurrió una transformación de fase hacia el sesquihidrato. Aun así, la NFS-25DHB sesquihidratada y el FBZ se mantuvieron en equilibrio eutéctico. En la **Figura 41 3)** se muestran los difractogramas relacionados con el experimento de constante eutéctica de la NFS de FBZ-25DHB sesquihidrato, ambos sólidos estuvieron presentes en equilibrio con el FBZ y el coformador disueltos en el medio tal y como se espera en el punto eutéctico.

El experimento para evaluar la constante eutéctica en pH 6.8 ( $K_{eu}$ ) se realizó de manera similar que a pH 1.2, sin embargo, fue necesario agregar más cantidad de cocrystal ya que se esperaba que la solubilidad de estos fuera superior que a pH 1.2.

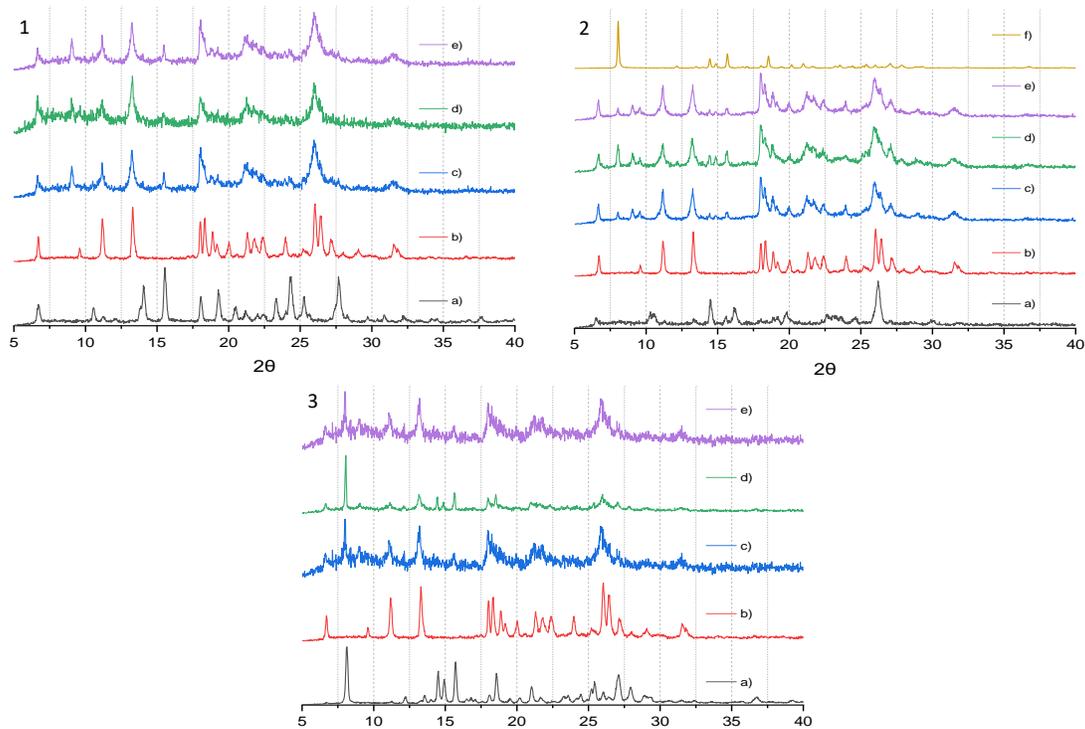


Figura 42 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-26DHB (**1a**), NFS FBZ-25DHB anhidra (**2a**) y NFS FBZ-25DHB sesquihidratada (**3a**), FBZ (**1b**, **2b** y **3b**) y productos de experimento de constante eutéctica ( $K_e$ ) (**1c**, **2c** y **3c**) primer triplicado, (**1d**, **2d** y **3d**) segundo triplicado y (**1e**, **2e** y **3e**) tercer triplicado en pH 6.8. **2 f**) NFS FBZ-25DHB sesquihidratada.

En la **Figura 42 1)**, **2)** y **3)** se muestran los difractogramas relacionados con los experimentos de constante eutéctica de la NFS de FBZ-26DHB, FBZ-25DHB anhidra y FBZ-25DHB sesquihidratada, respectivamente, en cada caso los sólidos estuvieron presentes en equilibrio con el FBZ y el coformador disueltos en el medio tal y como se espera en el punto eutéctico. En el experimento mostrado en la **Figura 42 2)** se inició con la forma anhidra de FBZ-25DHB, sin embargo, ocurrió una transformación de fase hacia el sesquihidrato, de forma similar a lo observado a pH 1.2.

Por otra parte, se cuantificaron mediante CLAR las concentraciones eutécticas a pH 1.2 y pH 6.8 de FBZ y del coformador correspondiente, y los datos se agrupan en la **Tabla 25**. La constante eutéctica se calculó empleando la siguiente fórmula, la cual es válida para un sólido con los componentes en una relación estequiometría (1:1). (Huang, 2019)

$$K_{eu} = \frac{[\text{coformador}]_{eu}}{[\text{fármaco}]_{eu}} = \frac{S_{\text{cocrystal}}}{S_{\text{fármaco}}} = (SA)^2$$

A modo de resumen se expone en la **Tabla 25** los resultados de constante eutéctica y ventaja de solubilidad (SA, por sus siglas en inglés) a pH 1.2 y pH 6.8.

*Tabla 25 Concentración eutéctica de FBZ y coformadores, constante eutéctica (Keu) y ventaja de solubilidad de (SA) de las NFS de FBZ-25DHB anhidra, NFS de FBZ-25DHB sesquihidrato y NFS FBZ-26DHB a 37 °C.*

	pH	[FBZ] eu mM	[Coformador]eu mM	Keu	SA
<b>NFS FBZ-25DHB anhidra</b>	1.2	1.27x10 <sup>-4</sup>	6.11x10 <sup>-3</sup>	48.10	6.94
	6.8	2.10x10 <sup>-6</sup>	0.02	8121.51	90.12
<b>NFS FBZ-25DHB sesquihidrato</b>	1.2	2.10x10 <sup>-4</sup>	5.97x10 <sup>-3</sup>	28.37	5.32
	6.8	2.43x10 <sup>-6</sup>	0.01	5588.14	74.75
<b>NFS FBZ-26DHB</b>	1.2	9.05x10 <sup>-5</sup>	6.72x10 <sup>-5</sup>	0.74	0.86
	6.8	1.69x10 <sup>-6</sup>	0.02	10943.83	104.61

De acuerdo con la literatura, cuando la Keu < 1 un cocrystal es menos soluble que el fármaco, a valores de Keu =1 el cocrystal es igual de soluble que el fármaco, y si la Keu > 1 el cocrystal es más soluble.

Con esto podemos decir que la NFS de FBZ-25DHB anhidro y sesquihidrato son más solubles que el FBZ, mientras que la NFS de FBZ-26DHB es menos soluble que el FBZ, todo esto bajo las condiciones experimentales de pH 1.2.

La NFS de FBZ-25DHB anhidra, NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada y la NFS de FBZ-26DHB son más solubles que el FBZ a pH 6.8.

Con los resultados de constante eutéctica de las dos condiciones en las que se realizaron los experimentos, pH 1.2 y pH 6.8, se puede concluir que la solubilidad de las NFS de FBZ-25DHB anhidra, NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada y NFS de FBZ-26DHB es pH-dependiente y que las NFS son más solubles cuando se incrementa el pH. Esto se ilustra mejor al comparar la ventaja de solubilidad que tiene cada NFS de FBZ en los diferentes pHs.

#### 8.6.5. Disolución de polvos bajo condiciones *no-sink* pH 1.2

La prueba de disolución de polvos en condiciones *no-sink* se realiza para estudiar las condiciones de supesaturación para un IFA y sus fases. Los cocrystalos y sales son fases sólidas que pueden inducir supersaturación, esto quiere decir que incrementan la concentración por encima de la solubilidad del IFA puro.

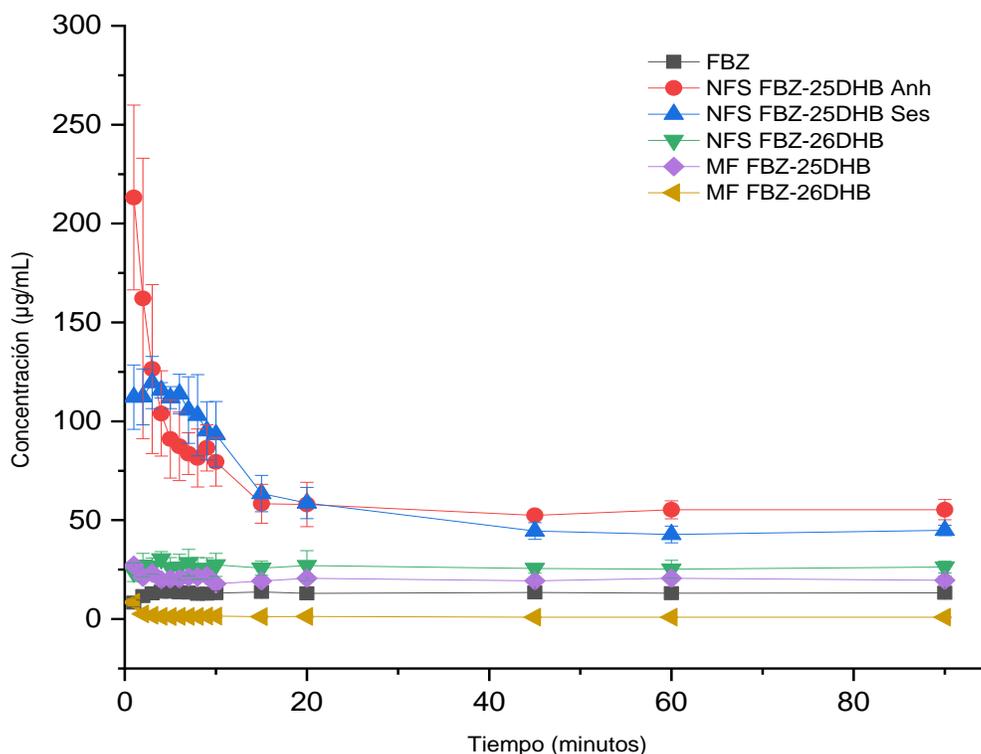
En la **Gráfica 1** se observa el perfil de disolución de polvos de FBZ, FBZ-25DHB anhidra, NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada, NFS de FBZ-26DHB, mezcla física FBZ-25DHB y mezcla física FBZ-26DHB solución HCl pH 1.2 bajo condiciones *no-sink*. El perfil de disolución de FBZ a los 4 minutos alcanza una meseta la cual muestra la solubilidad del FBZ en pH 1.2, con un valor de 13 µg/mL. El sólido cristalino del FBZ durante toda la prueba fue estable, como se muestra en el **Anexo 18**.

El perfil de disolución de la NFS FBZ-25DHB anhidra alcanzó una  $C_{m\acute{a}x} = 213$  µg/mL en el  $t = 1$  min, es decir, 16 veces más que FBZ. La NFS FBZ-25DHB anhidra generó un estado supersaturado, descrito en la literatura como el efecto resorte-paracaídas. (Omori, 2020) Sin embargo, la alta concentración generada por esta NFS disminuye gradualmente a los 15 min hasta 55 µg/mL, para mantenerse así hasta el término del experimento. La disminución de la concentración de FBZ se atribuye a una transformación de fase de la forma anhidra a la sesquihidratada, tal como se muestra el análisis por DRXP de los sólidos residuales recuperados (**Anexo 19**). En este último análisis se observó una transformación de fase mediada por la solución a la forma sesquihidratada a partir del minuto 2.5. Entre el minuto 2.5 y 20, tanto la forma anhidra como la sesquihidratada se encontraban presentes. En el minuto 45 la transformación de fase se ve completada a la forma sesquihidratada, después esta forma persiste hasta el término del experimento. Esto coincide con el perfil de disolución, ya que entre estos minutos se presenta una meseta en la concentración de FBZ. (**Anexo 19**)

El perfil de disolución también se vio modificado por la NFS FBZ-25DHB sesquihidratada ya que alcanzó una  $C_{m\acute{a}x} = 112$  µg/mL en  $t = 1$  min, es decir, 8 veces más que el IFA. Sin embargo, la alta concentración generada por esta NFS disminuye gradualmente hasta los 45 min a 44 µg/mL, para mantenerse así hasta el término del experimento. La disminución de la concentración de FBZ se atribuye a la precipitación de FBZ puro, tal como lo indica el análisis por DRXP de los sólidos residuales recuperados (**Anexo 20**). En este último análisis

se observó una transformación de fase a FBZ puro a partir del minuto 20. Después de este tiempo y hasta concluir la prueba, se observó una mezcla de IFA y de la NFS FBZ-25DHB sesquihidratada.

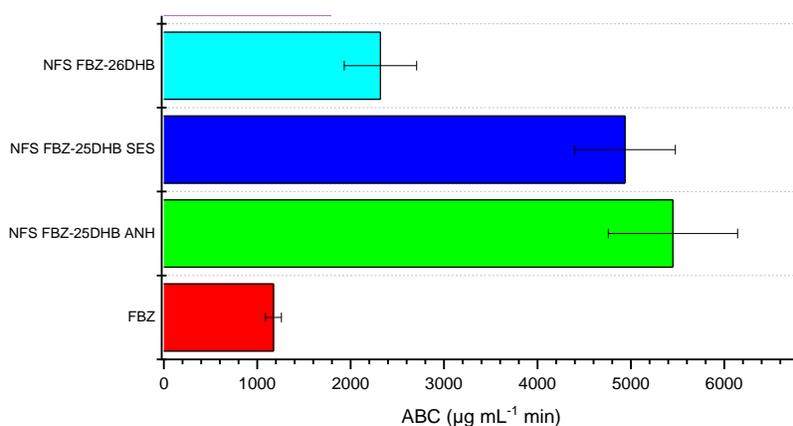
La NFS FBZ-26DHB generó una  $C_{m\acute{a}x} = 26 \text{ ug/mL}$  en el  $t = 1 \text{ min}$ , es decir, 2 veces más que el IFA. Bajo las condiciones del estudio, no se observó un estado supersaturado generado por la NFS FBZ-26DHB y se alcanzó una meseta desde el primer minuto y hasta el término del experimento. Los sólidos residuales recuperados analizados por DRXP (**Anexo 21**) muestran que la NFS FBZ-26DHB se mantuvo estable durante todo el experimento; esta observación es congruente con los resultados del perfil de disolución, ya que la supersaturación se produce normalmente cuando existe una transformación de fase.



Gráfica 1 Perfil de disolución de polvos en HCl pH 1.2 de FBZ puro, NFS cocrystalinas y mezclas físicas (MF) de los componentes de las NFS a 37°C.

La mezcla física de FBZ y los diferentes coformadores, no influyó en la solubilización del IFA. Los sólidos residuales recuperados analizados por DRXP (**Anexo 22** y **23**) muestran que todo el coformador se disolvió, mientras que FBZ se solubilizó sin cambios significativos (prácticamente insoluble).

Para cuantificar el impacto de la supersaturación inducida por las fases cocrystalinas en la solubilización de las NFS de FBZ, se calculó el área bajo la curva (ABC) a partir de los perfiles de disolución de la **Gráfica 1**. El análisis de varianza (**Anexo 24**) mostró una diferencia estadísticamente significativa entre las fases ( $p < 0.05$ ) y la prueba de comparaciones múltiples Tukey reveló que la NFS FBZ-25DHB anhidra, la NFS FBZ-25DHB sesquihidrato y la NFS FBZ-26DHB tienen una ventaja de solubilización en comparación con el FBZ puro, siendo las NFS FBZ-25DHB anhidra y sesquihidratada las que incrementaron la solubilización de FBZ de forma más pronunciada ( $p < 0.05$ ).



*Gráfica 2 Área bajo la curva del perfil de disolución de FBZ, NFS FBZ-25DHB anhidra, NFS FBZ-25DHB sesquihidrato, NFS FBZ-26DHB en medio de HCl pH 1.2.*

Las NFS FBZ-25DHB anhidra, NFS FBZ-25DHB sesquihidrato, NFS FBZ-26DHB aumentaron significativamente la solubilización del FBZ ( $p < 0.05$ ) por 4.6, 4.2, y 2.0 veces, respectivamente, en comparación al IFA puro en medio HCl pH 1.2 (Gráfica 2). En el medio HCl pH 1.2, es evidente que la generación de NFS de FBZ genera una ventaja de solubilidad frente a la forma pura del FBZ.

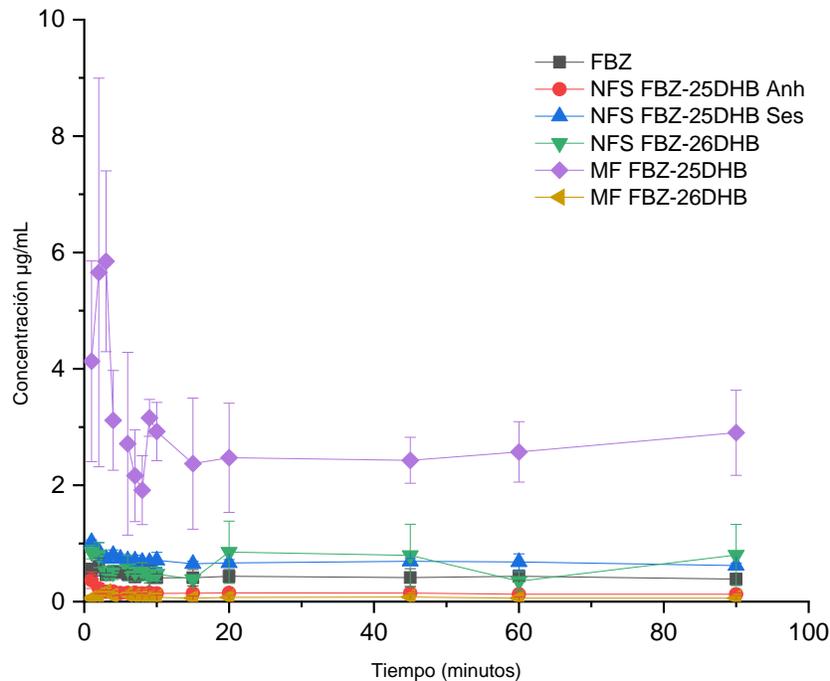
Este fenómeno está relacionado con el valor de constante eutéctica determinado anteriormente, dado que, a mayor valor de  $K_{eu}$  una entidad cocrystalina presenta una rápida disolución (alta solubilidad) y existe una mayor probabilidad de que ocurra la precipitación del IFA y no se logró alcanzar la ventaja de solubilización. Esto se pudo observar en la NFS FBZ-25DHB anhidra con una  $K_{eu}$  de 48.10, demostrando una rápida disolución y alta solubilidad en comparación del IFA puro. También se observó en los polvos obtenidos una transformación de fase, pasando a la NFS sesquihidratada.

### 8.6.6. Disolución de polvos bajo condiciones no-sink pH 6.8

En la **Grafica 3** se observa el perfil de disolución de FBZ, NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada, NFS de FBZ-26DHB, mezcla física FBZ-25DHB y mezcla física FBZ-26DHB buffer fosfatos pH 6.8 bajo condiciones no-sink. El perfil de disolución de FBZ a los 5 minutos alcanza una meseta la cual se interpreta como la solubilidad del FBZ en pH 6.8, con un valor de 0.3  $\mu\text{g/mL}$ . El sólido cristalino del FBZ durante toda la prueba fue estable, como se muestra en el **Anexo 25**.

El perfil de disolución no fue mejorado por la NFS FBZ-25DHB anhidra ya que alcanzó una  $C_{\text{máx}} = 0.3 \text{ ug/mL}$  en el  $t = 1 \text{ min}$ , es decir, igual que el IFA. La concentración generada por esta NFS disminuye desde el segundo minuto a 0.15  $\mu\text{g/mL}$ , para mantenerse así hasta el término del experimento. La disminución de la concentración de FBZ se atribuye a una transformación de fase de la forma anhidra a la sesquihidratada junto con FBZ puro, tal como se muestra el análisis por DRXP de los sólidos residuales recuperados (**Anexo 26**). En este último análisis se observó desde el primer minuto y hasta el término de este, una transformación de fase mediada por la solución a la forma sesquihidratada, con mezcla de FBZ puro. Esto coincide con el perfil de disolución, ya que entre estos minutos se presenta una meseta en la concentración de FBZ. (**Anexo 26**)

El perfil de disolución por la NFS FBZ-25DHB sesquihidratada se vio mejorado de forma mínima, ya que alcanzó una  $C_{\text{máx}} = 1 \text{ ug/mL}$  en el  $t = 1 \text{ min}$ , es decir, 3 veces más que el IFA. La concentración generada por esta NFS disminuye desde el segundo minuto a 0.7  $\mu\text{g/mL}$  aproximadamente, para mantenerse así hasta el término del experimento. La disminución de la concentración de FBZ se atribuye a una transformación de fase, de la forma sesquihidratada a FBZ puro, tal como se muestra el análisis por DRXP de los sólidos residuales recuperados (**Anexo 27**). En este último análisis se observó desde el primer minuto una transformación gradual al FBZ, con mezcla de la NFS sesquihidratada. La transformación se ve completada a los 60 minutos. Esto coincide con el perfil de disolución, ya que entre estos minutos se presenta una meseta en la concentración de FBZ. (**Anexo 27**)



Gráfica 3 Perfil de disolución de polvos en buffer fosfatos pH 6.8 de FBZ puro, NFS de FBZ-25DHB anhidra, NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada, NFS de FBZ-26DHB, mezcla física FBZ-25DHB, mezcla física FBZ-26DHB.

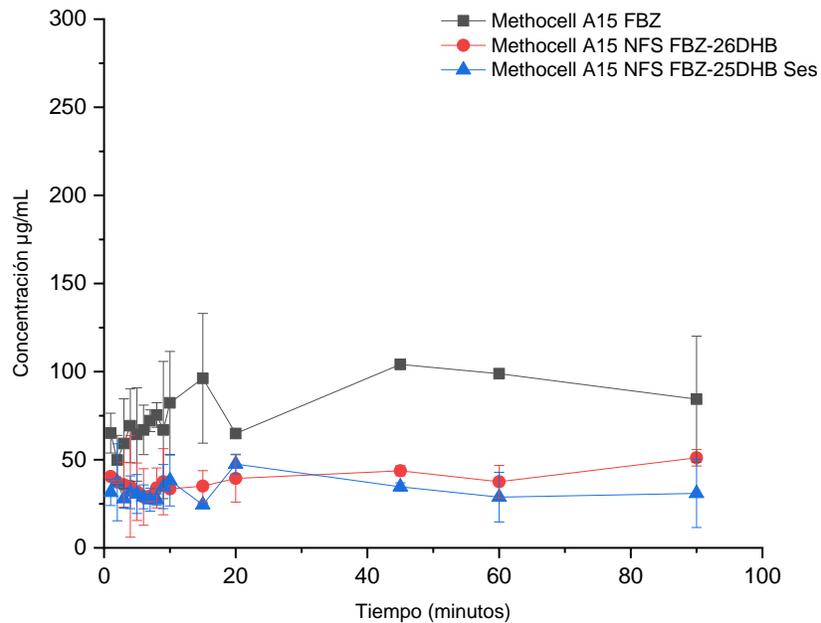
La NFS FBZ-26DHB también mejoró el perfil de disolución, ya que alcanzó una  $C_{m\acute{a}x} = 0.6$  ug/mL en el  $t = 1$  min, es decir, 2 veces más que el IFA. La NFS FBZ-26DHB no generó un estado supersaturado y se alcanzó una meseta desde el primer minuto hasta el término del experimento. Los sólidos residuales recuperados analizados por DRXP (**Anexo 28**) muestran que la NFS FBZ-26DHB se mantuvo estable durante todo el experimento. Esto coincide con el perfil de disolución, ya que la supersaturación se produce normalmente cuando existe una transformación de fase.

### 8.6.7. Evaluación de la influencia de polímeros en la supersaturación de cocristales

Se ha reportado que la supersaturación alcanzada por dispersiones sólidas amorfas, sales y cocristales se puede sostener con la adición de excipientes poliméricos. La implementación del uso de polímeros se debe a que pueden modular la disolución de los cocristales y la supersaturación del fármaco, inhibiendo la precipitación del IFA una vez liberado de la fase cocrystalina. La selección correcta de estos aditivos trae como consecuencia el mantenimiento por tiempos más prolongados de la mejora en la solubilización del IFA.

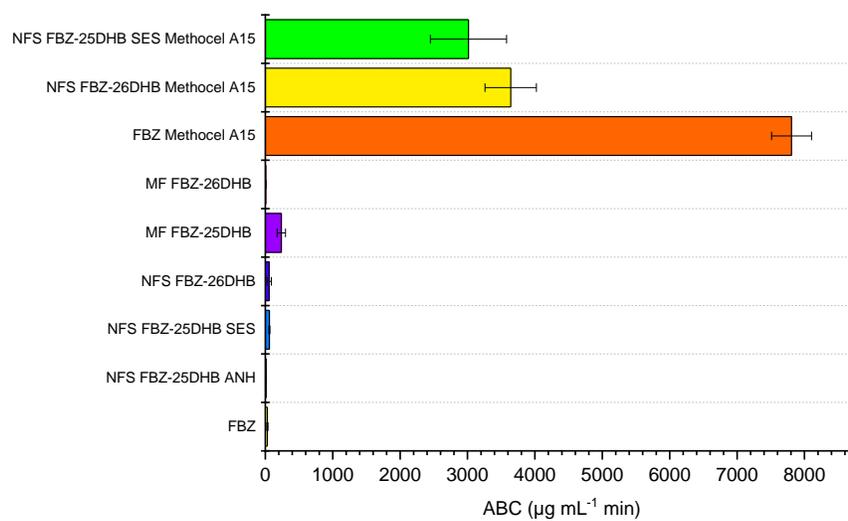
Recientemente, en el grupo de investigación multidisciplinario se observó que el polímero Methocel TM A15 generó y mantuvo concentraciones supersaturadas de ricobendazol (RBZ) a partir de formas cocrystalinas de este IFA. Con otro IFA en investigación por este grupo, el albendazol (ABZ), se observó también que el Methocel TM A15 es capaz de diferir gradualmente la precipitación en solución acuosa de ABZ proveniente de fases cocrystalinas. Debido a la similitud estructural de FBZ con ABZ y RBZ, se realizaron pruebas de disolución de polvos en presencia de Methocel TM A15 predisoluto al 0.5% p/v, con el propósito de evaluar y contrastar el efecto de este excipiente polimérico en el perfil de disolución de FBZ y las NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada y FBZ-26DHB.

En comparación con los perfiles de disolución en ausencia de polímero, en presencia de Methocel TM A15 predisoluto en el medio de disolución (Gráfica 4), el FBZ presentó un aumento en la solubilización de manera general, es decir, el polímero actuó como solubilizante del IFA. La modificación en el perfil de disolución del FBZ debido al Methocel TM A15, también se observó en el perfil de disolución de la NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada y la NFS de FBZ-26DHB; alcanzando una  $C_{\text{máx}} = 62 \mu\text{g/mL}$  en el  $t = 2 \text{ min}$  y  $C_{\text{máx}} = 55 \mu\text{g/mL}$  en el  $t = 4 \text{ min}$ , respectivamente. Los sólidos residuales recuperados analizados por DRXP (**Anexos 31, 32 y 33**, respectivamente) muestran que el FBZ, la NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada y la NFS de FBZ-26DHB, no presentan transformación de fase en pH 6.8 en presencia de Methocel TM A15 predisoluto, caso contrario de lo que se observó en pH 1.2 y 6.8 sin polímero, donde se presentó transformación de fase. Con base en estos resultados podemos decir que el Methocel TM A15 mantiene soluble al FBZ proveniente de las NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada y la NFS de FBZ-26DHB.



Gráfica 4 Perfil de disolución de polvos en buffer fosfatos pH 6.8 con methocell A15 pre disuelto, de FBZ puro, NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada y NFS de FBZ-26DHB.

El área bajo la curva (ABC) calculada a partir de los perfiles de disolución de FBZ y las NFS con y sin polímero, se representan en la **Gráfica 5**. El análisis de varianza (**Anexo 34**) mostró una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).



Gráfica 5 Área bajo la curva del perfil de disolución para las diferentes fases analizadas en buffer fosfatos pH 6.8.

La prueba de Tukey, reveló que la NFS FBZ-25DHB anhidra, la NFS FBZ-25DHB sesquihidrato y la NFS FBZ-26DHB con methocell A15 predisuelto, no tienen una ventaja de solubilización en comparación con el FBZ puro a pH 6.8 ( $p < 0.05$ ). Una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) se observó en las muestras que emplearon Methocel A15 y las que se analizaron en buffer pH 6.8 sin polímero. Es de resaltar que el polímero tiene la capacidad de disolver tanto al FBZ puro, como mantener en solución al FBZ procedente de las NFS en el medio buffer fosfatos pH 6.8.

Esta última observación resultó inesperada, ya que como se mencionó anteriormente, el Methocel ha sido evaluado como inhibidor de la precipitación de diferentes IFAs estudiados por este grupo de investigación; siendo esta es la primera vez que se observa un efecto solubilizante sobre el IFA.

## 9. Conclusiones

Se caracterizó la materia prima por DRXP, análisis térmico de DSC-TGA, espectroscopia IR, Resonancia Magnética Nuclear de Hidrogeno (RMN-<sup>1</sup>H) y carbono (RMN-<sup>13</sup>C), corroborandose la identidad de la materia prima, fenbendazol.

El análisis del  $\Delta pK_a$ , como un parámetro que ayuda en la predicción de formación de sales o cocrystal para la elección de los coformadores, no es indicativo de la forma cristalina preferente (sal o cocrystal) que se produciría de la combinación del fenbendazol con ácidos dicarboxílicos alifáticos, ácidos hidroxycarboxílicos alifáticos y aromáticos. No obstante, se obtuvieron seis nuevas fases sólidas (NFS) con estequiometría definida: FBZ-ácido oxálico anhídrido (1:1), FBZ-ácido D-tartárico (1:1), FBZ-ácido malónico (1:2), FBZ-ácido 2,6-dihidroxibenzoico (26DHB) (1:1), FBZ-ácido 2,5-dihidroxibenzoico (25DHB) anhidra (1:1) y FBZ- ácido 2,5-dihidroxibenzoico (25DHB) sesquihidrato (1:1).

El disolvente juega un papel importante para la obtención de las NFS de FBZ. En varios casos las NFS sólo se pueden obtener en acetona (p.ej., FBZ-ácido D-tartárico, FBZ-25DHB anhidra) o en agua (p.ej., FBZ-ácido malónico, NFS FBZ-25DHB sesquihidratada). En otros casos, las fases se generan independientemente del disolvente empleado (FBZ-ácido oxálico anhidro y FBZ-26DHB). Una vez que se conoce el disolvente, la generación de las NFS se puede realizar mediante la formación de pasta asistida por disolvente (slurry) y por molienda mecánica asistida por disolvente.

La prueba de estabilidad bajo condiciones de estrés térmico y HR, nos indicó que todas las NFS de FBZ son estables excepto la NFS FBZ-25DHB sesquihidratada la cual a condiciones de 40 °C 0%HR y 50 °C 0% HR se transforma a su forma anhidra.

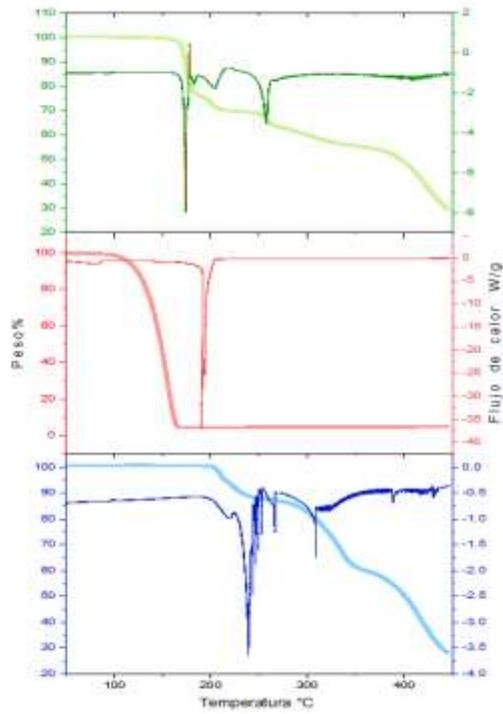
A partir del estudio de transformación de fase mediada por la solución para las seis NFS de FBZ se llegó a las siguientes conclusiones: las NFS de coformadores aromáticos en solución HCl pH 1.2 son estables durante más de 24 horas debido a que no se transforman, a excepción de la NFS FBZ-25DHB anhidra, la cual se transforma a su forma

sesquihidratada desde los primeros 5 minutos. Las NFS alifáticas por el contrario son inestables dentro de las primeras 6 horas y se transforman a FBZ. Para el caso del medio buffer fosfatos pH 6.8 ocurre que las NFS con aromáticos son estables durante más tiempo que las NFS con alifáticos. A dicha condición los aromáticos si sufren una transformación parcial o completa a FBZ dentro de a las 24 horas. Todas las transformaciones dan por resultado FBZ o FBZ con residuos de la NFS.

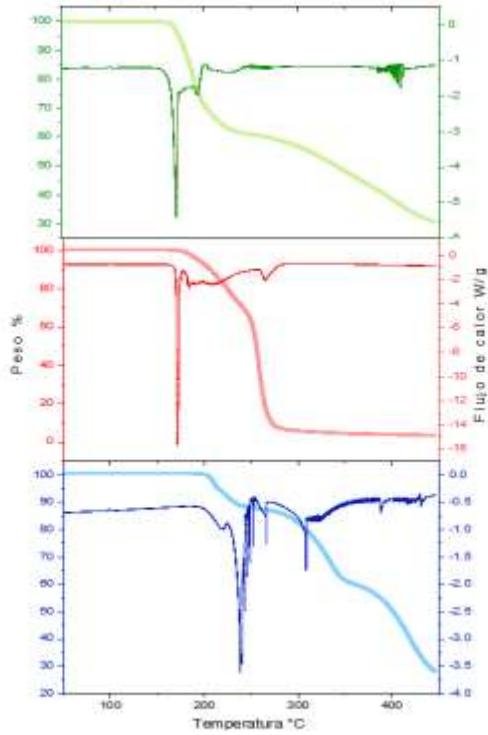
Las NFS FBZ-25DHB anhidra y sesquihidratada presentan supersaturación durante la prueba de disolución de polvos bajo condiciones *no sink* en medio HCl pH 1.2. En el caso de la fase sesquihidratada, esta sufre una transformación de fase mediada por la solución y al final de la prueba hay una mezcla de NFS sesquihidratada y FBZ. En el caso de la NFS FBZ-25DHB anhidra esta se transforma en la fase sesquihidratada. La NFS FBZ 26DHB no presento supersaturación durante la prueba de disolución de polvos bajo condiciones *no-sink* en medio HCl pH 1.2. Dicha NFS es estable y durante la prueba alcanzó un valor de solubilidad que duplica la solubilidad de FBZ puro.

Al adicionar el polímero Methocell A15 se obtuvo una ventaja de solubilidad tanto en los sistemas conteniendo las NFS de FBZ, como en aquel con sólo FBZ. El análisis estadístico mostró que, bajos condiciones *no-sink* en medio buffer fosfatos pH 6.8 empleando Methocel A15 las NFS no presentaron una ventaja de solubilidad frente al FBZ ( $p < 0.05$ ).

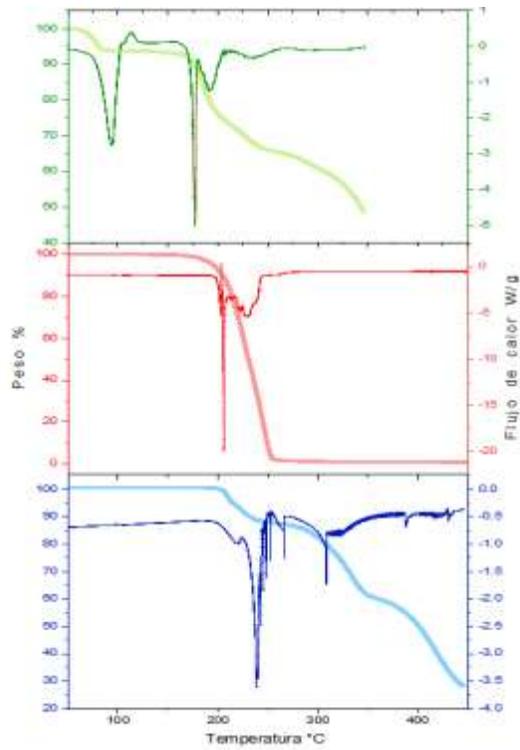
## 10. Anexos



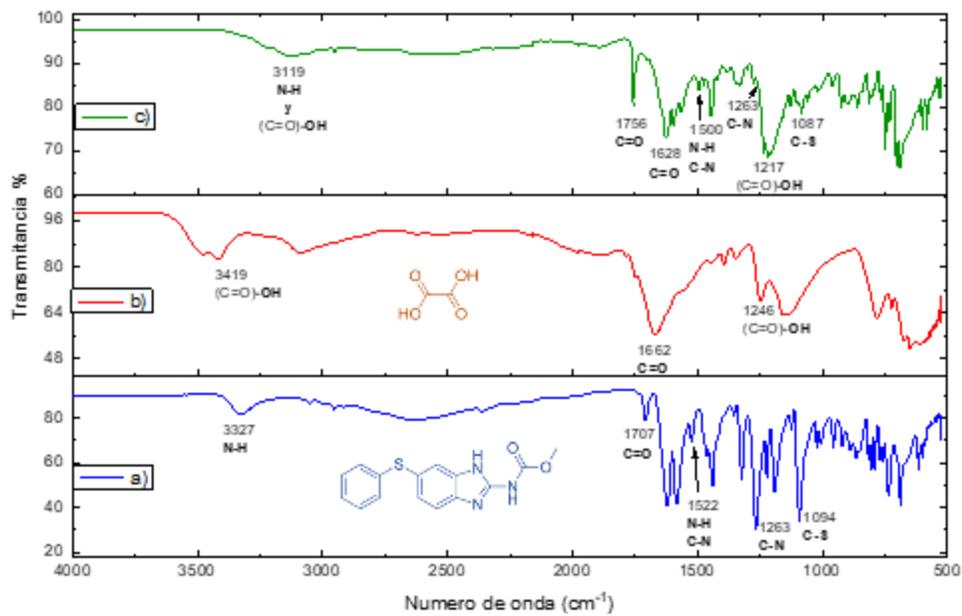
Anexo 1 Curvas TGA-DSC de a) FBZ, b) ácido oxálico anhidro y c) NFS FBZ- ácido oxálico anhidro 1:1



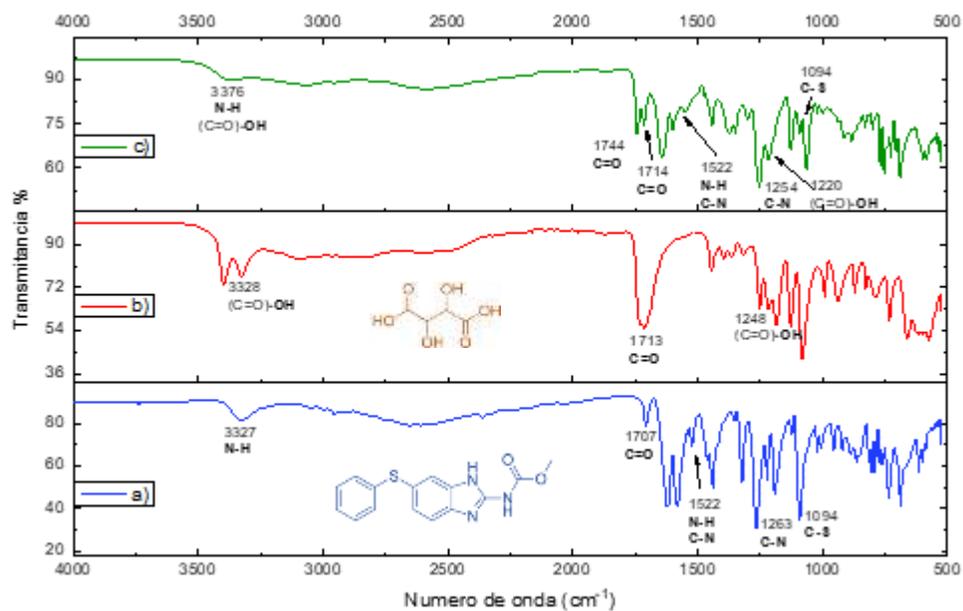
Anexo 2 Curvas TGA-DSC de a) FBZ, b) ácido tartárico y c) NFS FBZ- ácido tartárico 1:1



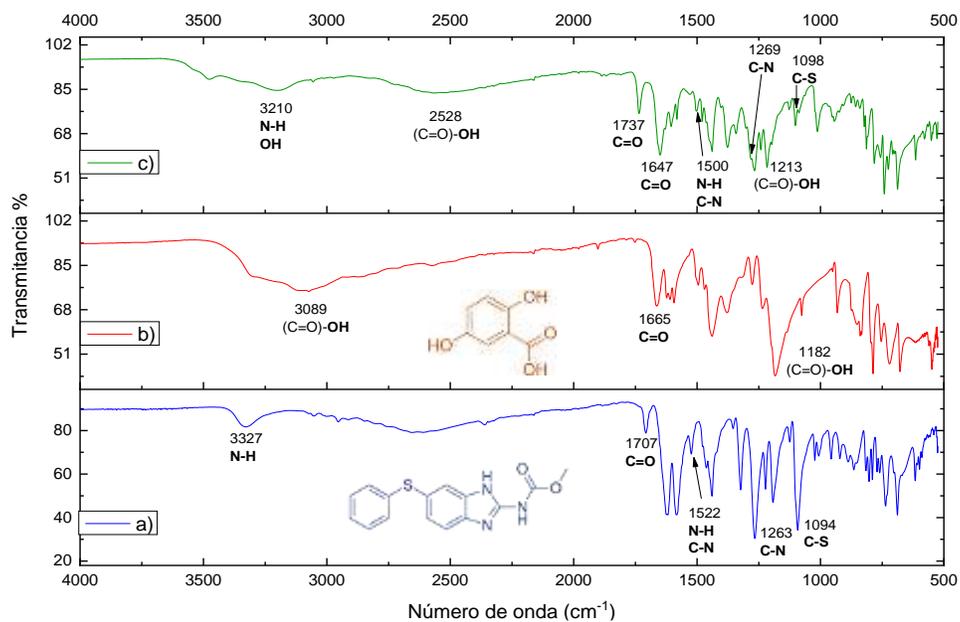
Anexo 3 Curvas TGA-DSC de a) FBZ, b) 25DHB y c) NFS FBZ- 25DHB sesquihidrato 1:1



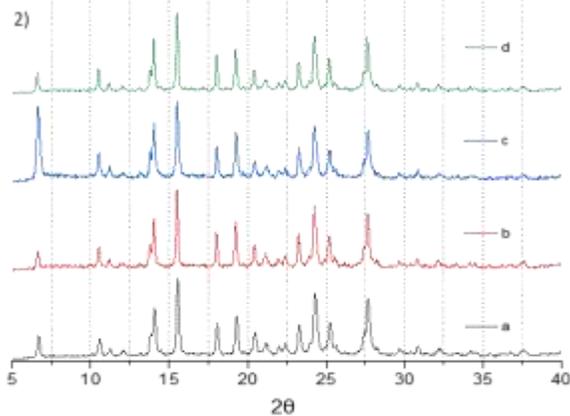
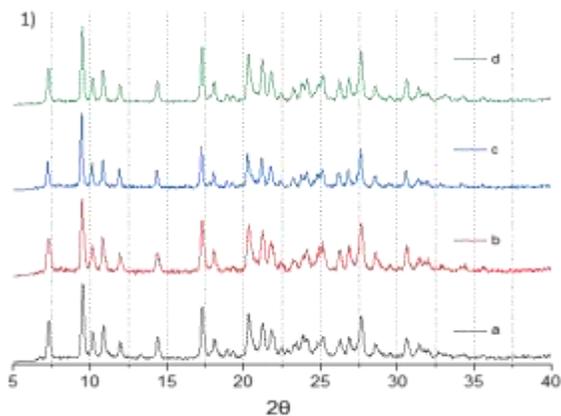
Anexo 4 Comparación de espectros de IR de a) FBZ, b) ácido oxálico anhidro y c) NFS FBZ- ácido oxálico anhidro



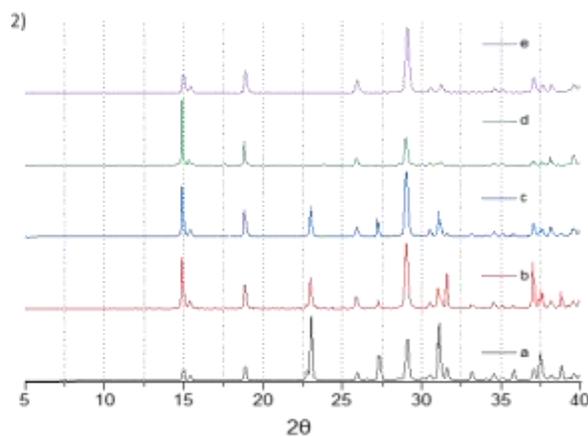
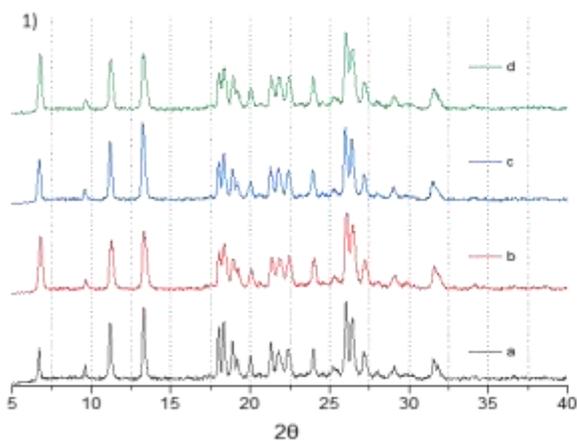
Anexo 5 Comparación de espectros de IR de a) FBZ, b) ácido D-tartárico y c) NFS FBZ- ácido D-tartárico



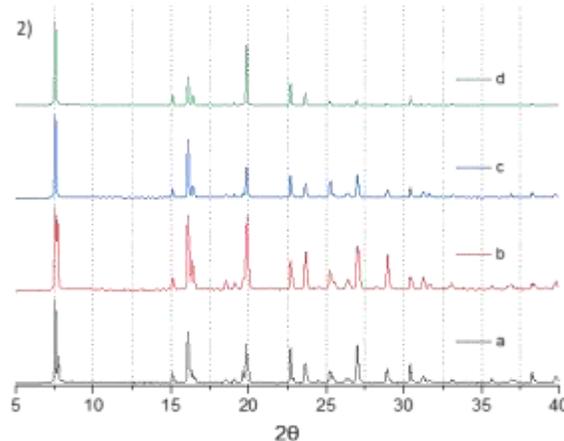
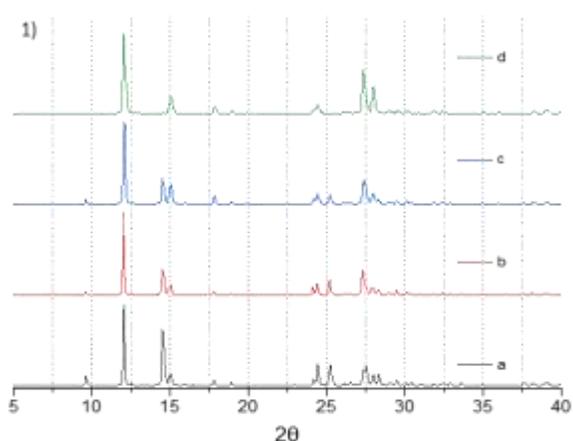
Anexo 6 Comparación de espectros de IR de a) FBZ, b) 25DHB y c) NFS FBZ-25DHB sesquihidrato



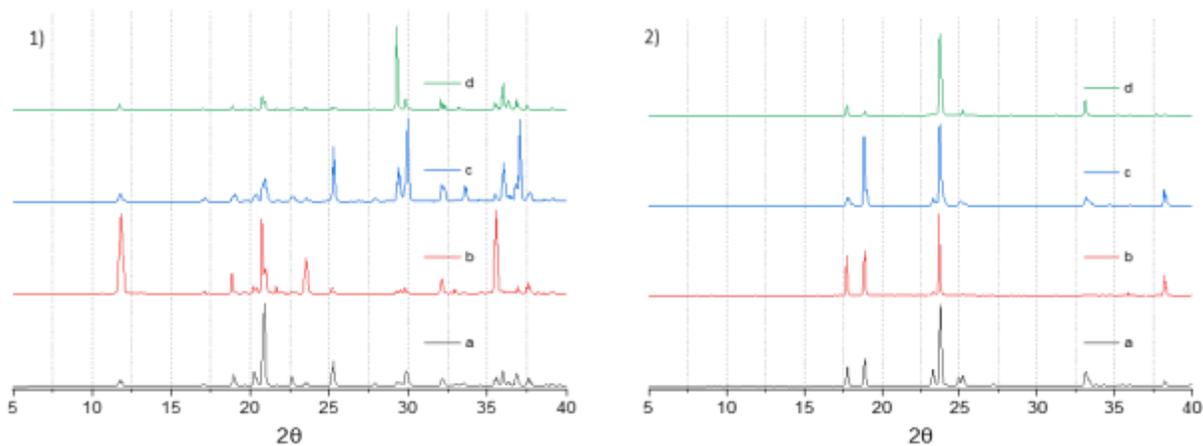
Anexo 7 Comparación de patrones de DRXP de NFS (1, izquierda) FBZ-ácido malónico (1:2) y (2, derecha) FBZ-26DHB (1:1). a) NFS, y NFS después de 1 mes de incubación a b) 50 °C, 0% HR, c) 40 °C, 0% HR y d) 40 °C, 75% HR.



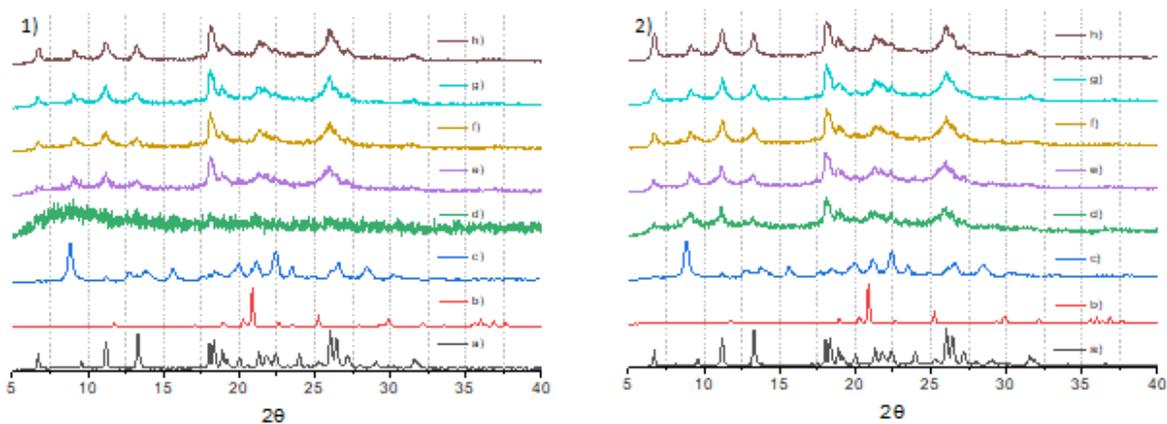
Anexo 8 Comparación de patrones de DRXP de FBZ (1, izquierda) y ácido oxálico anhidro (2, derecha). a) FBZ, y ácido oxálico anhidro después de 1 mes de incubación a b) 50 °C, 0% HR, c) 40 °C, 0% HR y d) 40 °C, 75% HR. e) ácido oxálico dihidratado reportado en el grupo de investigación.



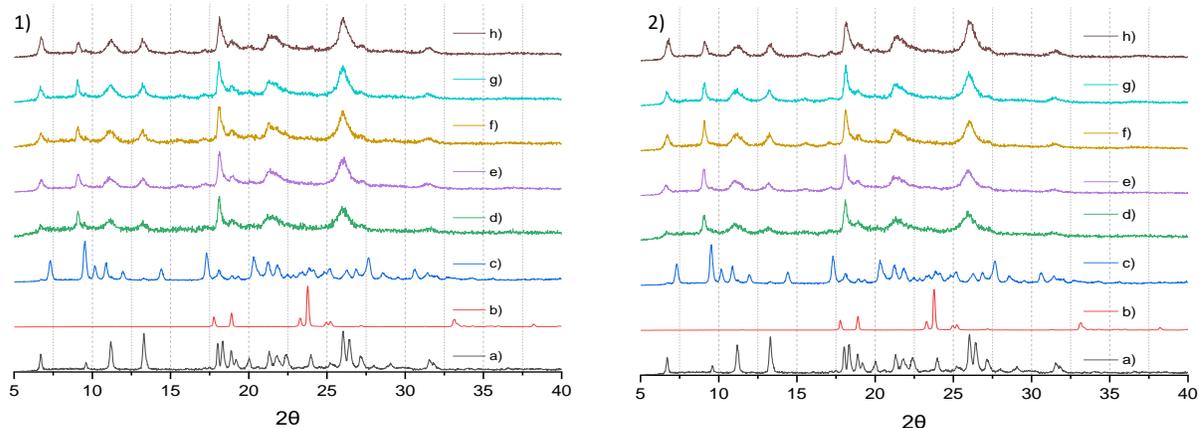
Anexo 9 Comparación de patrones de DRXP de 26DHB (1, izquierda) y 25DHB (2, derecha). a) 26DHB, y 25DHB después de 1 mes de incubación a b) 50 °C, 0% HR, c) 40 °C, 0% HR y d) 40 °C, 75% HR.



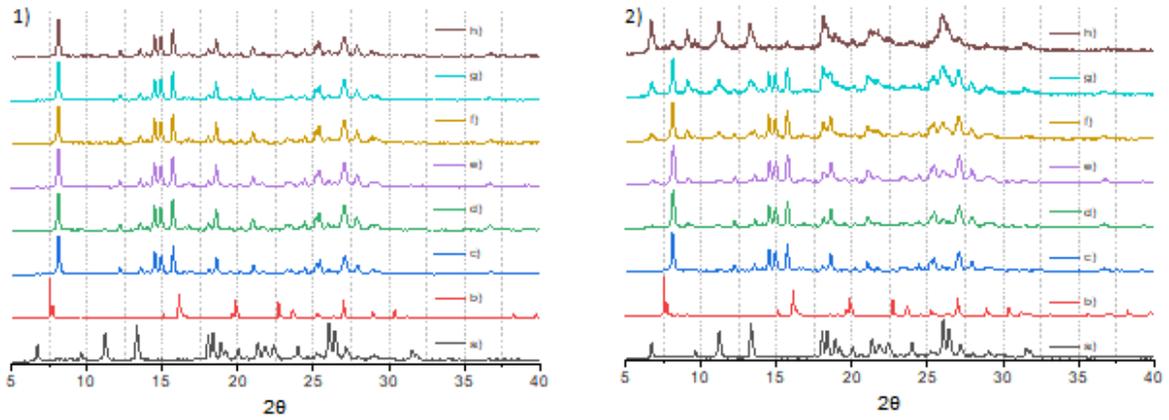
Anexo 10 Comparación de patrones de DRXP de ácido D-tartárico (1, izquierda) y ácido malónico (2, derecha). a) 26DHB, y 25DHB después de 1 mes de incubación a b) 50 °C, 0% HR, c) 40 °C, 0% HR y d) 40 °C, 75% HR.



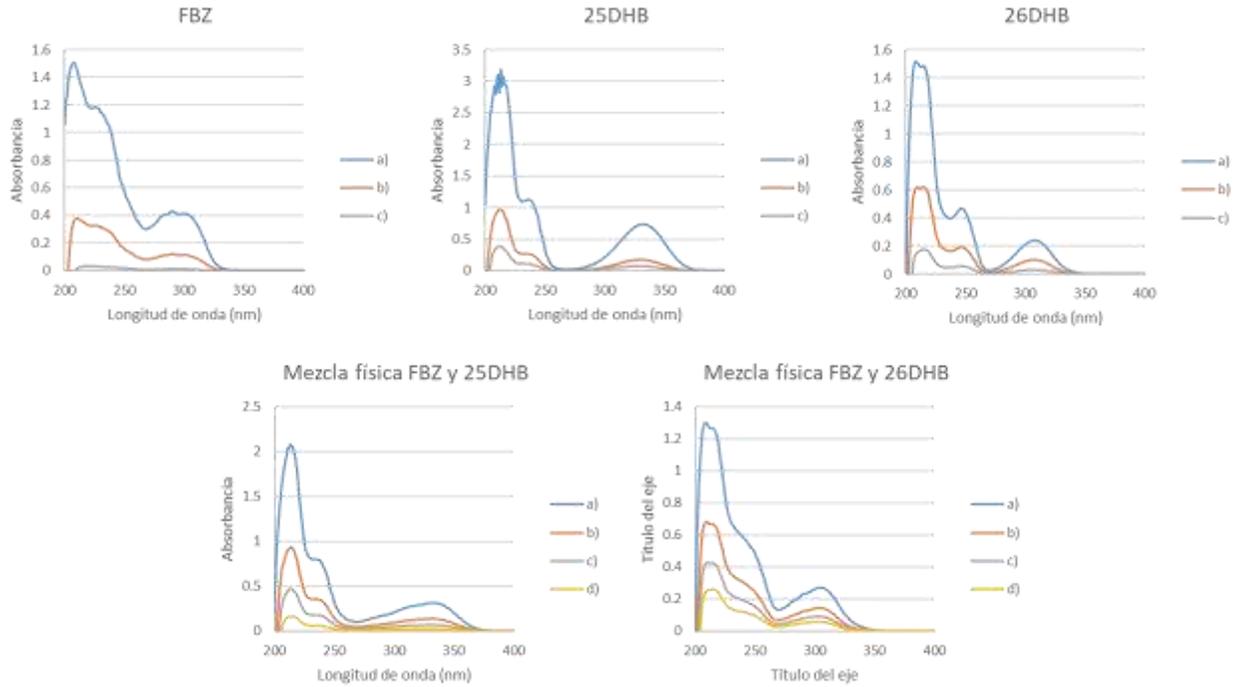
Anexo 11 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) ácido D-tartárico y c) NFS FBZ-ácido D-tartárico y los productos de transformación de fase mediada por la solución en pH 1.2 (izquierda) y pH 6.8 (derecha) a los d) 5 minutos, e) 1 hora, f) 6 horas, g) 10 horas y h) 24 horas.



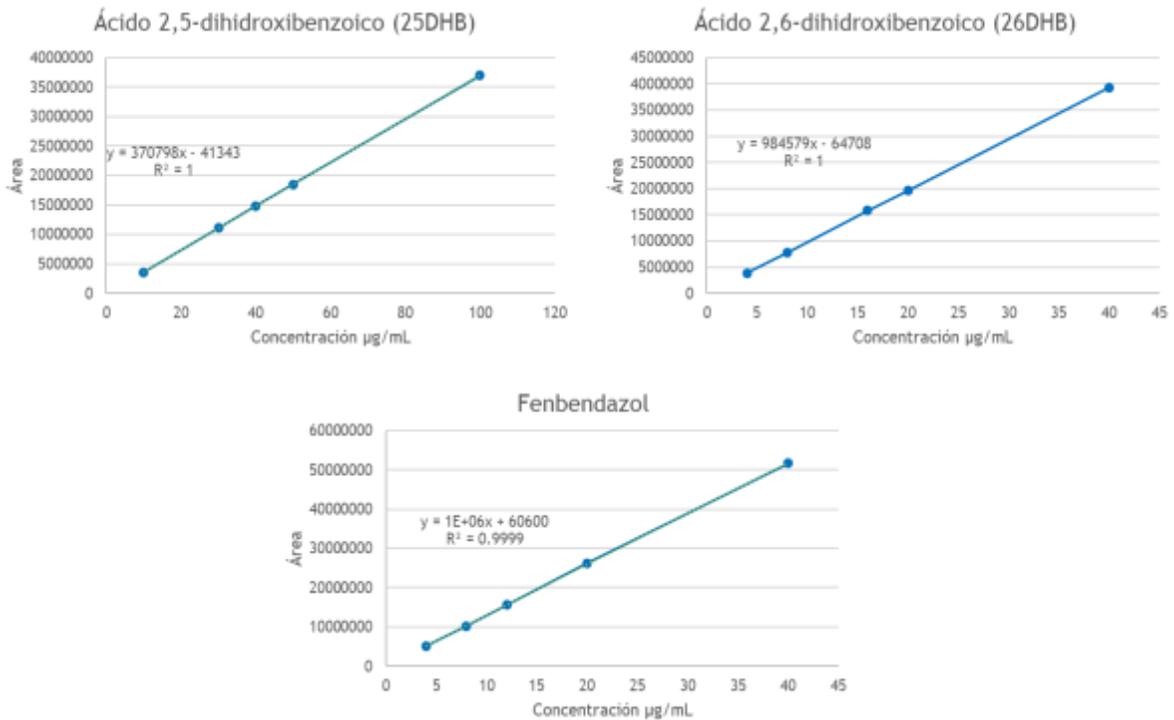
Anexo 12 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) ácido malónico y c) NFS FBZ-ácido malónico y productos de la transformación de fase mediada por la solución en pH 1.2 (izquierda) y pH 6.8 (derecha) a los d) 5 minutos, e) 1 hora, f) 6 horas, g) 10 horas y h) 24 horas.



Anexo 13 Comparación de patrones de DRXP de a) FBZ, b) 25DHB y c) NFS FBZ-25DHB sesquihidrato y productos de transformación de fase mediada por la solución en pH 1.2 (**izquierda**) y pH 6.8 (**derecha**) a los **d**) 5 minutos, **e**) 1 hora 1 hora, **f**) 6 horas, **g**) 10 horas y **h**) 24 horas.



Anexo 14 Espectro UV-Vis de FBZ, 25DHB, 26DHB, mezcla física de FBZ con 25DHB y mezcla física de FBZ con 26DHB



Anexo 15 Curva de regresión ajustada fenbendazol, 25DHB y 26DHB

Anexo 16 Reportes cromatográficos de la prueba de adecuabilidad por CLAR para FBZ y coformadores aromáticos, 25DHB y 26DHB.

System Suitability Report

Page 1 of 2

Sequence : C:\EZChrom Elite Enterprise Projects Default\Sequence\18\_Andres Lopez\2020\_Agosto\13\_DHR1528.seq  
 User : System  
 Printed : 14/08/2020 12:08:25 p.m.

Sample ID	Data Filename
DHR1528009	C:\EZChrom Elite Enterprise Projects Default\Data\DHR1528009.dat
DHR1528010	C:\EZChrom Elite Enterprise Projects Default\Data\DHR1528010.dat
DHR1528011	C:\EZChrom Elite Enterprise Projects Default\Data\DHR1528011.dat
DHR1528012	C:\EZChrom Elite Enterprise Projects Default\Data\DHR1528012.dat
DHR1528013	C:\EZChrom Elite Enterprise Projects Default\Data\DHR1528013.dat

System is Suitable

DAD-CH2	Compound	Parameter	Min	Max	%RSD	
220 nm	25DHD	rt			2	
		area			2	
	FBZ	rt			2	
		area			2	

Sample ID	Compound	Parameter	Average	Low	High	%RSD	Status
	25DHD	rt	1.359	1.328	1.342	0.445	
DHR1528009		1.342					Passed
DHR1528010		1.342					Passed
DHR1528011		1.342					Passed
DHR1528012		1.328					Passed
DHR1528013		1.342					Passed
	FBZ	area	206394225	204815362	207708702	0.534	
DHR1528009		206128395					Passed
DHR1528010		207708702					Passed
DHR1528011		206198203					Passed
DHR1528012		204815362					Passed
DHR1528013		207120464					Passed
	FBZ	rt	4.501	4.490	4.516	0.234	
DHR1528009		4.492					Passed
DHR1528010		4.516					Passed
DHR1528011		4.502					Passed
DHR1528012		4.505					Passed

**System Suitability Report**

Page 2 of 2

Sequence : C:\EZChrom Elite Enterprise\Projects\Default Sequence\18\_Andres Lopez\2020\Agosto\13\DHR1528.seq  
 User : System  
 Printed : 14/08/2020 12:08:25 p.m.

DHR1528013	4.490					Passed
	area	14905100	14734402	15135763	1.125	
DHR1528009	14734402					Passed
DHR1528010	15016295					Passed
DHR1528011	15135763					Passed
DHR1528012	14779747					Passed
DHR1528013	14859295					Passed

**System Suitability Report**

Page 1 of 2

Sequence : C:\EZChrom Elite Enterprise\Projects\Default Sequence\18\_Andres Lopez\2020\Agosto\24\DHR1530.seq  
 User : System  
 Printed : 24/08/2020 05:19:52 p.m.

Sample ID	Data Filename
DHR1530002	C:\EZChrom Elite Enterprise\Projects\Default Data\DHR1530002.dat
DHR1530003	C:\EZChrom Elite Enterprise\Projects\Default Data\DHR1530003.dat
DHR1530004	C:\EZChrom Elite Enterprise\Projects\Default Data\DHR1530004.dat
DHR1530005	C:\EZChrom Elite Enterprise\Projects\Default Data\DHR1530005.dat
DHR1530006	C:\EZChrom Elite Enterprise\Projects\Default Data\DHR1530006.dat

**System is Suitable**

DAD-CH2 220 nm	Compound	Parameter	Min	Max	%RSD		
	26DHB 220 nm	rt			2		
		area			2		
	FBZ 220 nm	rt			2		
		area			2		
Sample ID	Compound	Parameter	Average	Low	High	%RSD	Status
DHR1530002	26DHB 220 nm	rt	2.000	1.991	2.009	0.368	Passed
DHR1530003		1.997					Passed
DHR1530004		1.991					Passed
DHR1530005		2.009					Passed
DHR1530006		2.005					Passed
		1.996					Passed
		area	19285971	19153214	19353922	0.439	Passed
DHR1530002		19153214					Passed
DHR1530003		1929678					Passed
DHR1530004		19343182					Passed
DHR1530005		19249577					Passed
DHR1530006		19353922					Passed
	FBZ 220 nm	rt	4.469	4.448	4.487	0.334	Passed
DHR1530002		4.472					Passed
DHR1530003		4.476					Passed
DHR1530004		4.461					Passed
DHR1530005		4.487					Passed

**System Suitability Report**

Page 2 of 2

Sequence : C:\EZChrom Elite Enterprise\Projects\Default Sequence\18\_Andres Lopez\2020\Agosto\24\DHR1530.seq  
 User : System  
 Printed : 24/08/2020 05:19:52 p.m.

DHR1530006	4.448					Passed
	area	4153046	4094979	4215072	1.385	
DHR1530002	4137666					Passed
DHR1530003	4215072					Passed
DHR1530004	4105339					Passed
DHR1530005	4212174					Passed
DHR1530006	4094979					Passed

Anexo 17 Reportes cromatográficos de la prueba de linealidad, precisión y límite de cuantificación por CLAR para FBZ y coformadores aromáticos, 25DHB y 26 DHB

FBZ									
Concentración FBZ (ug/mL) (X)	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio (Y)	Concentración, misma curva	% Recuperado	$\chi^2$	$\gamma^2$	XY
4.0	5174446.7	5201095.3	5266752.6	5214098.19	3.985221872	99.6305468	16	2.7187E+13	20856392.7
8.0	10308608.0	10175972.0	10296663.7	10260414.6	7.887559442	98.594493	64	1.0528E+14	82083316.4
12.0	15386812.0	15479691.7	15839612.3	15568705.3	11.99248292	99.9373577	144	2.4238E+14	186824464
20.0	26177913.0	26647204.7	25787769.3	26204295.7	20.21702944	101.085147	400	6.8667E+14	524085913
40.0	52259977.7	51849335.0	50931494.7	51680269.1	39.91770633	99.7942658	1600	2.6709E+15	2067210764
<b>84.0</b>			<b>Sumatoria</b>	108927783		<b>99.8083621</b>	<b>2224</b>	<b>3.7324E+15</b>	<b>2881060851</b>
			<b>Pendiente</b>	1293152.19		<b>0.88770985</b>			
			<b>Intercepto</b>	60599.7986		<b>0.88941431</b>			
n=	5		<b>R2</b>	<b>0.999918</b>		$(\sum X)^2$	7056		
			<b>Promedio Y</b>	14311878.4			0.001230315		
				2.2338E+10			0.035075846		
LMC	1.15578375		$S_{y/x}$	<b>149460.428</b>		$S_{b1}$	<b>5242.450937</b>		
			$IC(B_1)$	1278599.14			22338419595		
				1307705.23			149460.4282		
						$S_{y/x,r}$	<b>1.044310353</b>		

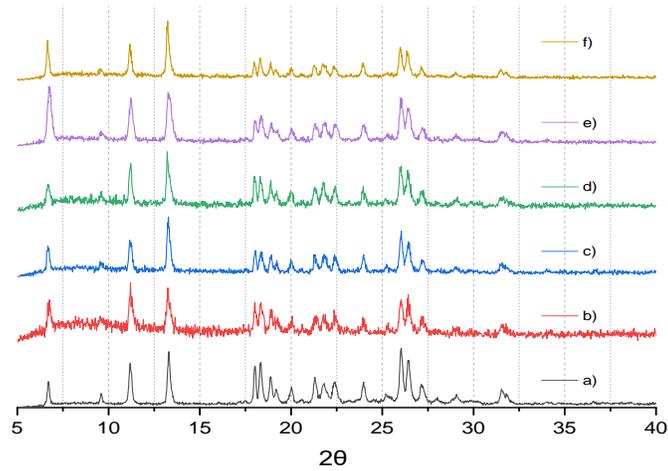
Concentración FBZ (ug/mL) (X)	Absorbancia/Concentración			Media	Desvest	CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
4.0	1293612	1300274	1316688	1297138	17116.8815	1.31958832
8.0	1288576	1271997	1287083			
12.0	1282234	1289974	1319968			
20.0	1308896	1332360	1289388			
40.0	1306499	1296233	1273287			

25DHB									
Concentración 25DHB (ug/mL) (X)	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio (Y)	Concentración n, misma curva	% Recuperado	$\chi^2$	$\gamma^2$	XY
10	3651810	3566355	3580612	3599592.22	9.81919145	98.1919145	100	1.2957E+13	35995922.2
30	10965866	11118107	11227900	11103957.6	30.0576202	100.192067	900	1.233E+14	333118727
40	14694444	14744963	15114130	14851179	40.1634548	100.408637	1600	2.2056E+14	594047160
50	18308301	18530152	18711301	18516584.7	50.0486414	100.097283	2500	3.4286E+14	925829233
100	36787956	37326227	36902235	37005473	99.9110922	99.9110922	10000	1.3694E+15	3700547289
<b>230.0</b>			<b>Sumatoria</b>	85076786.3		<b>99.7601987</b>	<b>15100</b>	<b>2.0691E+15</b>	<b>5589538331</b>
			<b>Pendiente</b>	370797.823		<b>0.89483136</b>			
			<b>Intercepto</b>	-41342.5895		<b>0.89698233</b>			
n=	5		<b>R2</b>	<b>0.999984</b>		$(\sum X)^2$	52900		
			<b>Promedio Y</b>	12017828.4			0.00022124		
				2007365173			0.0148741		
LMC	1.20830345		$S_{y/x}$	<b>44803.629</b>		$S_{b1}$	<b>666.41379</b>		
			$IC(B_1)$	368947.858			2007365173		
				372647.788			44803.629		
						$S_{y/x,r}$	<b>0.37280969</b>		

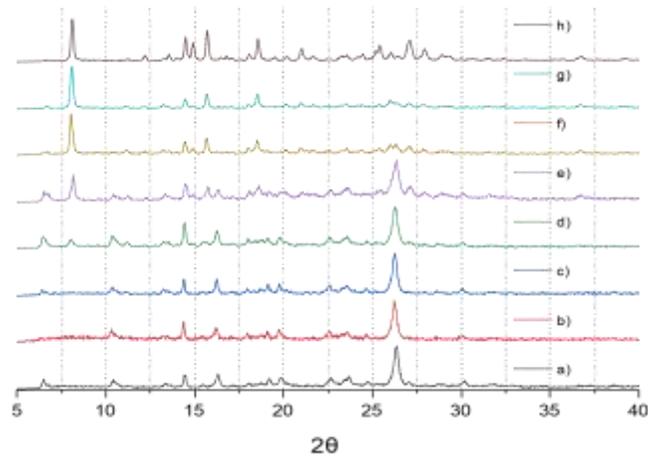
Concentración 25DHB (ug/mL) (X)	Absorbancia/Concentración			Media	Desvest	CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
10	365181	356636	358061	368351	5742.56472	1.55899084
30	365529	370604	374263			
40	367361	368624	377853			
50	366166	370603	374226			
100	367880	373262	369022			

26DHB									
Concentración 26DHB (ug/mL) (X)	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio (Y)	Concentración, misma curva	% Recuperado	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	XY
4	3819257	3903147	3925833	3882745.667	4.009281668	100.232042	16	1.5076E+13	15530982.7
8	7732495	7742461	7719958	7731638.222	7.918458911	98.9807364	64	5.9778E+13	61853105.8
16	15744903	16076001	15590934	15803946.11	16.11720227	100.732514	256	2.4976E+14	252863138
20	19649033	19875629	19276528	19600396.56	19.97311601	99.8655801	400	3.8418E+14	392007931
40	39225730	39641094	39035153	39300659.11	39.98194114	99.9548528	1600	1.5445E+15	1572026364
<b>88.0</b>			<b>Sumatoria</b>	86319385.67		<b>99.953145</b>	<b>2336</b>	<b>2.2533E+15</b>	<b>2294281522</b>
			<b>Pendiente</b>	984578.6764		<b>0.64000953</b>			
			<b>Intercepto</b>	-64707.57091		<b>0.64030955</b>			
n=	5		<b>R2</b>	<b>0.999973</b>		( $\sum X$ ) <sup>2</sup>	7744		
			<b>Promedio Y</b>	11754681.64			0.001270325		
				4172343326			0.035641622		
LMC	0.65605401		<b>S<sub>y/x</sub></b>	<b>64593.67869</b>		<b>S<sub>b1</sub></b>	<b>2302.223465</b>		
			<b>IC(B<sub>1</sub>)</b>	978187.704			4172343326		
				990969.6487			64593.67869		
						<b>S<sub>y/x,r</sub></b>	<b>0.549514489</b>		

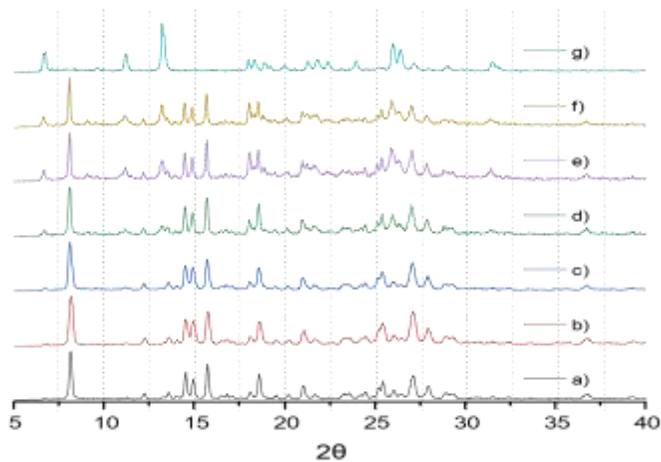
Concentración 26DHB (ug/mL) (X)	Absorbancia/Concentración			Media	Desvest	CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
4	954814	975787	981458	977485	13011.635	1.33113422
8	966562	967808	964995			
16	984056	1004750	974433			
20	982452	993781	963826			
40	980643	991027	975879			



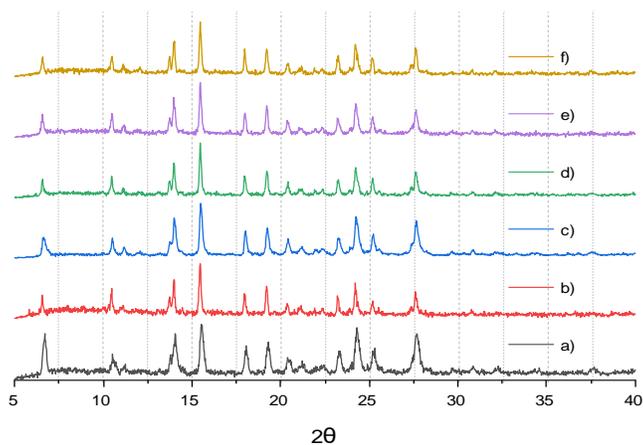
Anexo 18 Comparación de patrones de DRXP de FBZ **a)** y productos de disolución de polvos en pH 1.2 **b)** 1 minuto, **c)** 10 minutos, **d)** 20 minutos, **e)** 60 minutos y **f)** 90 minutos.



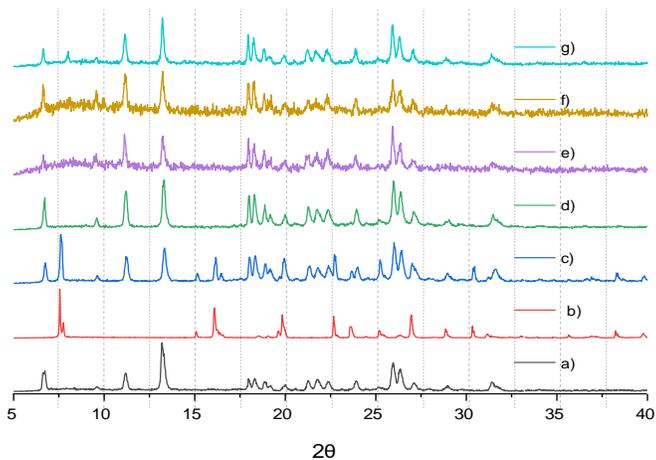
Anexo 19 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-25DHB anhidra **a)** y productos de disolución de polvos en pH 1.2 **b)** 20 segundos, **c)** 40 segundos, **d)** 2.5 minutos, **e)** 20 minutos, **f)** 60 minutos, **g)** 90 minutos y **h)** NFS FBZ-25DHB sesquihidrato



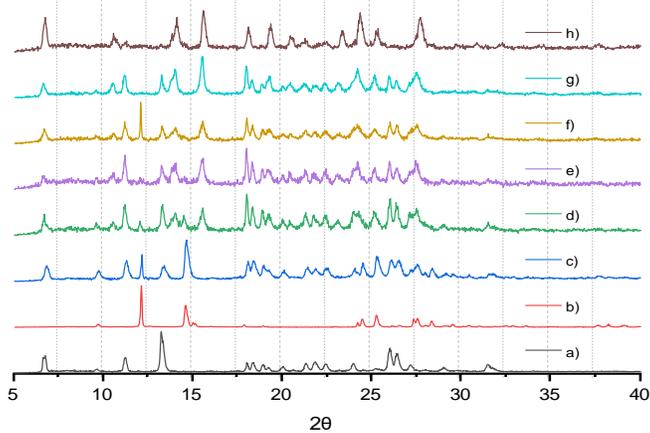
Anexo 20 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-25DHB sesquihidrato **a)** y productos de disolución de polvos en pH 1.2 **b)** 1 minuto, **c)** 10 minutos, **d)** 20 minutos, **e)** 60 minutos, **f)** 90 minutos y **g)** FBZ



Anexo 21 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-26DHB **a)** y productos de disolución de polvos en pH 1.2 **b)** 1 minuto, **c)** 10 minutos, **d)** 20 minutos, **e)** 60 minutos y **f)** 90 minutos.



Anexo 22 Comparación de patrones de DRXP de **a)** FBZ, **b)** 25DHB, **c)** mezcla física FBZ y 25DHB y productos de disolución de polvos en pH 1.2 **d)** 1 minuto, **e)** 20 minutos, **f)** 60 minutos y **g)** 90 minutos.



Anexo 23 Comparación de patrones de DRXP de **a)** FBZ, **b)** 26DHB, **c)** mezcla física FBZ y 26DHB y productos de disolución de polvos en pH 1.2 **d)** 1 minuto, **e)** 20 minutos, **f)** 60 minutos, **g)** 90 minutos y **h)** NFS FBZ-26DHB.

ANOVAOneWay (18/08/2021 16:08:58)

Notes

Input Data

Descriptive Statistics

	N Analysis	N Missing	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
FBZ	3	0	1173.81757	85.24762	49.21773
NFS FBZ-25DHB ANH	3	0	5450.41907	692.48059	399.80386
NFS FBZ-25DHB SES	3	0	4936.32141	540.2138	311.89259
NFS FBZ-26DHB	3	0	2318.83268	386.94874	223.40496
MF FBZ-25DHB	3	0	1787.40963	98.36189	56.78926
MF FBZ-26DHB	3	0	100.45025	32.6506	18.85083

One Way ANOVA

Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	5	6.77992E7	1.35598E7	86.63529	5.43117E-9
Error	12	1.8782E6	156516.3208		
Total	17	6.96774E7			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.  
 Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.  
 At the 0.05 level, the population means are significantly different.

Fit Statistics

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	Data Mean
	0.97304	0.15055	395.62144	2627.8751

Means Comparisons

Tukey Test

	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
NFS FBZ-25DHB ANH FBZ	4276.6015	323.02355	18.72318	2.00681E-7	0.05	1	3191.59119	5361.61182
NFS FBZ-25DHB SES FBZ	3762.50385	323.02355	16.47243	7.20747E-7	0.05	1	2677.49353	4847.51416
NFS FBZ-25DHB SES NFS FBZ-25DHB ANH	-514.09766	323.02355	2.25075	0.61832	0.05	0	-1599.10797	570.91266
NFS FBZ-26DHB FBZ	1145.01511	323.02355	5.01293	0.03659	0.05	1	60.0048	2230.02542
NFS FBZ-26DHB NFS FBZ-25DHB ANH	-3131.58639	323.02355	13.71024	5.80965E-6	0.05	1	-4216.59671	-2046.57608
NFS FBZ-26DHB NFS FBZ-25DHB SES	-2617.48874	323.02355	11.4595	3.79417E-5	0.05	1	-3702.49905	-1532.47842
MF FBZ-25DHB FBZ	613.59206	323.02355	2.68634	0.44655	0.05	0	-471.41825	1698.60238
MF FBZ-25DHB NFS FBZ-25DHB ANH	-3663.00944	323.02355	16.03684	9.9837E-7	0.05	1	-4748.01975	-2577.99913
MF FBZ-25DHB NFS FBZ-25DHB SES	-3148.91178	323.02355	13.7861	5.47386E-6	0.05	1	-4233.9221	-2063.90147
MF FBZ-25DHB NFS FBZ-26DHB	-531.42305	323.02355	2.3266	0.58749	0.05	0	-1616.43336	553.58727
MF FBZ-26DHB FBZ	-1073.36731	323.02355	4.69926	0.05311	0.05	0	-2158.37763	11.643
MF FBZ-26DHB NFS FBZ-25DHB ANH	-5349.96882	323.02355	23.42244	4.57975E-6	0.05	1	-6434.97913	-4264.9585
MF FBZ-26DHB NFS FBZ-25DHB SES	-4835.87116	323.02355	21.17169	2.54894E-7	0.05	1	-5920.88147	-3750.86085
MF FBZ-26DHB NFS FBZ-26DHB	-2218.38242	323.02355	9.71219	1.94354E-4	0.05	1	-3303.39274	-1133.37211
MF FBZ-26DHB MF FBZ-25DHB	-1686.95938	323.02355	7.38559	0.00227	0.05	1	-2771.96969	-601.94906

Sig equals 1 indicates that the difference of the means is significant at the 0.05 level.  
 Sig equals 0 indicates that the difference of the means is not significant at the 0.05 level.

Homogeneity of Variance Test

Levene's Test(Absolute Deviations)

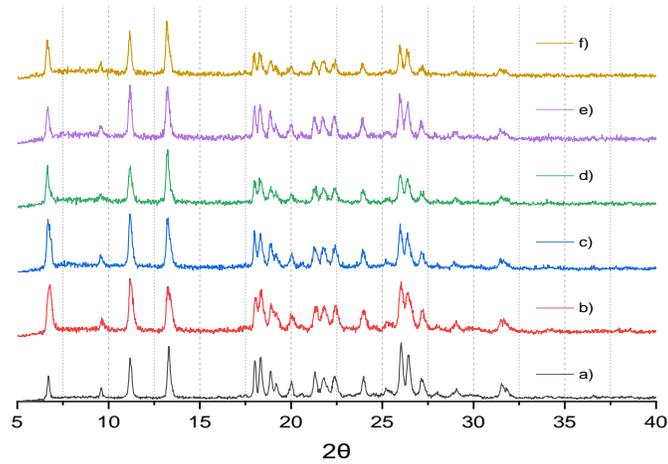
	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	5	503121.52782	100624.30556	1.9287	0.16293
Error	12	626065.27854	52172.10655		

At the 0.05 level, the population variances are not significantly different.

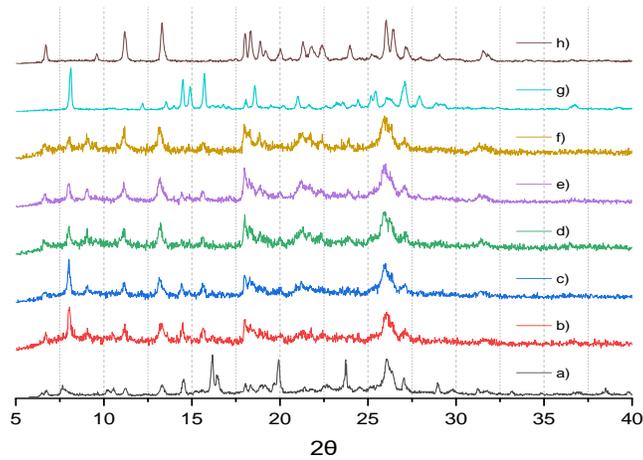
Powers

	Alpha	Sample Size	Power
Actual Power	0.05	18	1

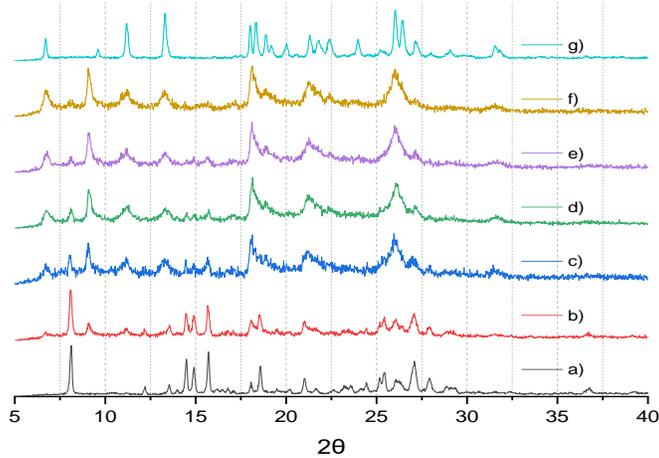
Anexo 24 ANOVA de una vía del ABC de los perfiles de disolución de FBZ, NFS FBZ-25DHB anhidra, NFS FBZ-25DHB sesquihidrato, NFS FBZ-26DHB, mezcla física FBZ con 25DHB y mezcla física FBZ con 26DHB en pH 1.2



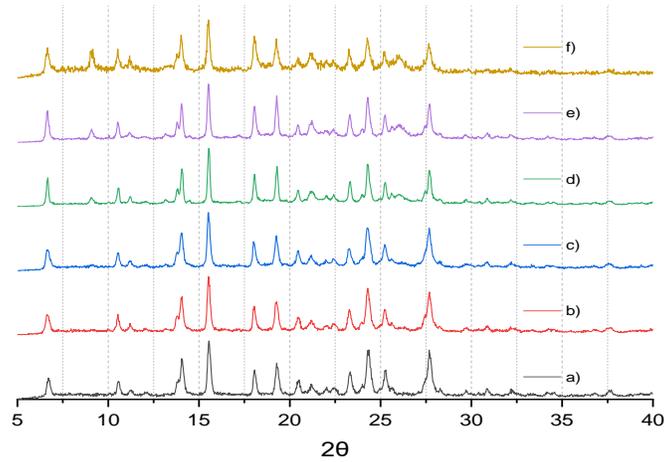
Anexo 25 Comparación de patrones de DRXP de FBZ **a)** y productos de disolución de polvos en pH 6.8 **al b)** 1 minuto, **c)** 10 minutos, **d)** 20 minutos, **e)** 60 minutos y **f)** 90 minutos.



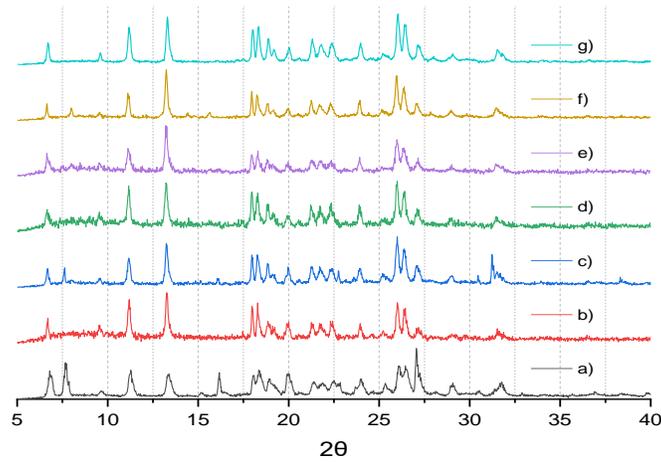
Anexo 26 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-25DHB anhidra **a)** y productos de disolución de polvos en pH 6.8 **al b)** 1 minuto, **c)** 10 minutos, **d)** 20 minutos, **e)** 60 minutos, **f)** 90 minutos, **g)** NFS FBZ-25DHB sesquihidrato y **h)** FBZ.



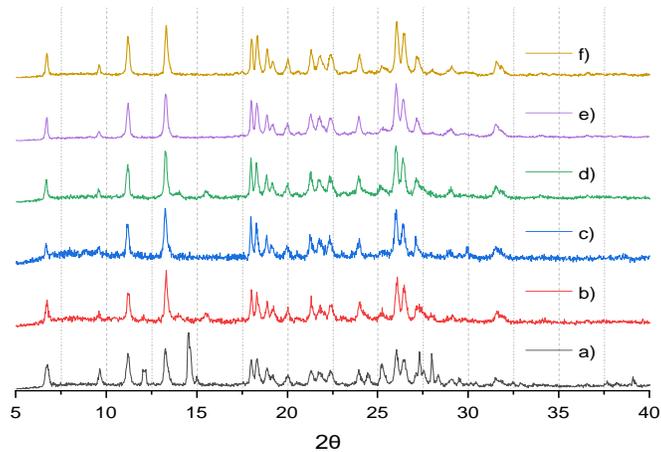
Anexo 27 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-25DHB sesquihidrato **a)** y productos de disolución de polvos en pH 6.8 **al b)** 1 minuto, **c)** 10 minutos, **d)** 20 minutos, **e)** 60 minutos, **f)** 90 minutos y **g)** FBZ.



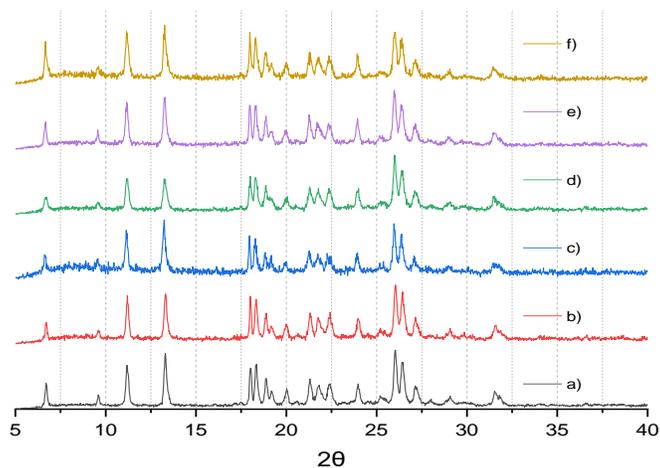
Anexo 28 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-26DHB **a)** y productos de disolución de polvos en pH 6.8 **al b)** 1 minuto, **c)** 10 minutos, **d)** 20 minutos, **e)** 60 minutos y **f)** 90 minutos.



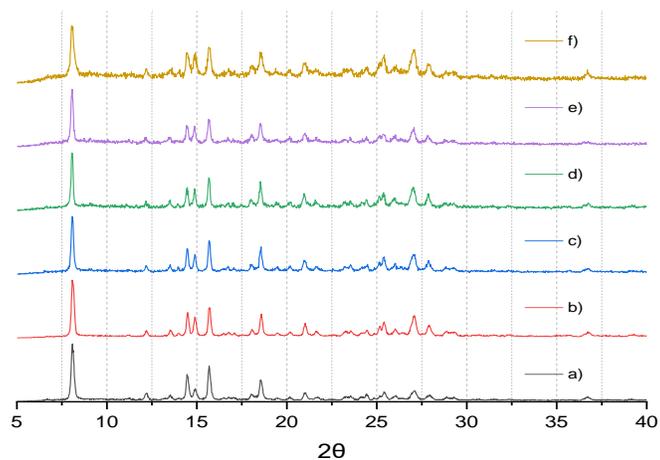
Anexo 29 Comparación de patrones de DRXP de mezcla física FBZ-25DHB **a)** y productos de disolución de polvos en pH 6.8 **al b)** 1 minuto, **c)** 10 minutos, **d)** 20 minutos, **e)** 60 minutos, **f)** 90 minutos y **g)** FBZ.



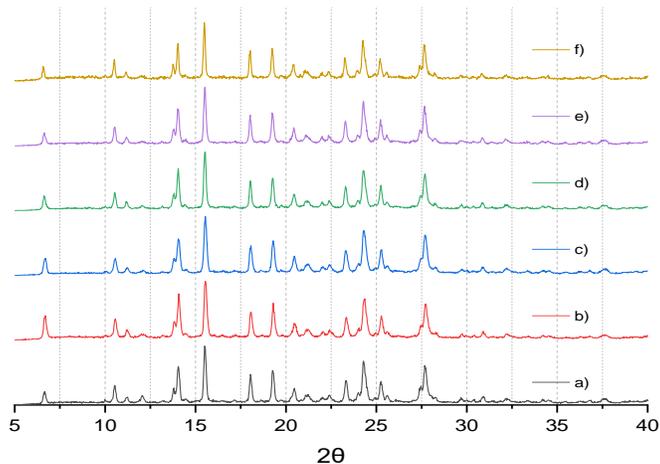
Anexo 30 Comparación de patrones de DRXP de mezcla física FBZ-26DHB **a)** y productos de disolución de polvos en pH 6.8 **al b)** 1 minuto, **c)** 20 minutos, **d)** 60 minutos, **e)** 90 minutos y **f)** FBZ



Anexo 31 Comparación de patrones de DRXP de FBZ **a)** y productos de disolución de polvos en pH 6.8 con Methocel A15 predisoluto al **b)** 1 minuto, **c)** 10 minutos, **d)** 20 minutos, **e)** 60 minutos y **f)** 90 minutos.



Anexo 32 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-25DHB sesquihidrato **a)** y productos de disolución de polvos en pH 6.8 con Methocel A15 predisoluto al **b)** 1 minuto, **c)** 10 minutos, **d)** 20 minutos, **e)** 60 minutos y **f)** 90 minutos.



Anexo 33 Comparación de patrones de DRXP de NFS FBZ-26DHB **a)** y productos de disolución de polvos en pH 6.8 con Methocel A15 predisoluto al **b)** 1 minuto, **c)** 10 minutos, **d)** 20 minutos, **e)** 60 minutos y **f)** 90 minutos

ANOVAOneWay (22/08/2021 18:30:51)

Notes

Input Data

Descriptive Statistics

	N Analysis	N Missing	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
FBZ	3	0	29.38275	9.33169	5.38765
NFS FBZ-25DHB ANH	3	0	12.60567	3.19476	1.84449
NFS FBZ-25DHB SES	3	0	60.33444	6.77572	3.91196
NFS FBZ-26DHB	3	0	57.14992	32.10894	18.53811
MF FBZ-25DHB	3	0	238.90639	61.90294	35.73968
MF FBZ-26DHB	3	0	6.31161	3.06925	1.77203
FBZ Methocel A15	3	0	6530.41095	2721.73953	1571.39705
NFS FBZ-26DHB Methocel A15	3	0	3955.08062	873.87064	504.52945
NFS FBZ-25DHB SES Methocel A15	3	0	6839.81664	2820.70566	1628.53517

One Way ANOVA

Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	8	2.10627E8	2.63284E7	14.68769	1.9352E-6
Error	18	3.22658E7	1.79255E6		
Total	26	2.42893E8			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.

Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.

At the 0.05 level, the population means are significantly different.

Fit Statistics

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Data Mean
0.86716	0.67962	1338.85988	1969.99989

Means Comparisons

Tukey Test

	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
NFS FBZ-25DHB ANH FBZ	-16.77708	1093.17451	0.0217	1	0.05	0	-3847.08789	3813.53373
NFS FBZ-25DHB SES FBZ	30.95169	1093.17451	0.04004	1	0.05	0	-3799.35912	3861.2625
NFS FBZ-25DHB SES NFS FBZ-25DHB ANH	47.72877	1093.17451	0.06175	1	0.05	0	-3782.58204	3878.03958
NFS FBZ-26DHB FBZ	27.76717	1093.17451	0.03592	1	0.05	0	-3802.54364	3858.07798
NFS FBZ-26DHB NFS FBZ-25DHB ANH	44.54425	1093.17451	0.05763	1	0.05	0	-3785.76656	3874.85506
NFS FBZ-26DHB NFS FBZ-25DHB SES	-3.18452	1093.17451	0.00412	1	0.05	0	-3833.49533	3827.12629
MF FBZ-25DHB FBZ	209.52364	1093.17451	0.27106	1	0.05	0	-3620.78717	4039.83445
MF FBZ-25DHB NFS FBZ-25DHB ANH	226.30072	1093.17451	0.29276	1	0.05	0	-3604.01009	4056.61153
MF FBZ-25DHB NFS FBZ-25DHB SES	178.57195	1093.17451	0.23101	1	0.05	0	-3651.73886	4008.88276
MF FBZ-25DHB NFS FBZ-26DHB	181.75647	1093.17451	0.23513	1	0.05	0	-3648.55434	4012.06728
MF FBZ-26DHB FBZ	-23.07114	1093.17451	0.02985	1	0.05	0	-3853.38195	3807.23967
MF FBZ-26DHB NFS FBZ-25DHB ANH	-6.29406	1093.17451	0.00814	1	0.05	0	-3836.60487	3824.01675
MF FBZ-26DHB NFS FBZ-25DHB SES	-54.02283	1093.17451	0.06989	1	0.05	0	-3884.33364	3776.28798
MF FBZ-26DHB NFS FBZ-26DHB	-50.83831	1093.17451	0.06577	1	0.05	0	-3881.14912	3779.4725
MF FBZ-26DHB MF FBZ-25DHB	-232.59478	1093.17451	0.3009	1	0.05	0	-4062.90559	3597.71603
FBZ Methocel A15 FBZ	6501.0282	1093.17451	8.41022	3.40688E-4	0.05	1	2670.71739	10331.33901

FBZ Methocel A15 NFS FBZ-25DHB ANH	6517.80529	1093.17451	8.43193	3.30403E-4	0.05	1	2687.49448	10348.1161
FBZ Methocel A15 NFS FBZ-25DHB SES	6470.07652	1093.17451	8.37018	3.60532E-4	0.05	1	2639.76571	10300.38733
FBZ Methocel A15 NFS FBZ-26DHB	6473.26103	1093.17451	8.3743	3.58437E-4	0.05	1	2642.95022	10303.57184
FBZ Methocel A15 MF FBZ-25DHB	6291.50457	1093.17451	8.13917	5.00534E-4	0.05	1	2461.19376	10121.81538
FBZ Methocel A15 MF FBZ-26DHB	6524.09934	1093.17451	8.44007	3.26678E-4	0.05	1	2693.78853	10354.41015
NFS FBZ-26DHB Methocel A15 FBZ	3925.69787	1093.17451	5.07858	0.04213	0.05	1	95.38706	7756.00868

NFS FBZ-26DHB Methocel A15 NFS FBZ-25DHB ANH	3942.47495	1093.17451	5.10028	0.04087	0.05	1	112.16414	7772.7857	
NFS FBZ-26DHB Methocel A15 NFS FBZ-25DHB SES	3894.74618	1093.17451	5.03854	0.04454	0.05	1	64.43537	7725.0569	
NFS FBZ-26DHB Methocel A15 NFS FBZ-26DHB	3897.9307	1093.17451	5.04266	0.04429	0.05	1	67.61989	7728.2415	
NFS FBZ-26DHB Methocel A15 MF FBZ-25DHB	3716.17423	1093.17451	4.80753	0.06123	0.05	0	-114.13658	7546.4850	
NFS FBZ-26DHB Methocel A15 MF FBZ-26DHB	3948.76901	1093.17451	5.10843	0.04041	0.05	1	118.4582	7779.0798	
NFS FBZ-26DHB Methocel A15 FBZ Methocel A15	-2575.33034	1093.17451	3.33164	0.36186	0.05	0	-6405.64115	1254.9804	
NFS FBZ-25DHB SES Methocel A15 FBZ	6810.43389	1093.17451	8.81049	1.94357E-4	0.05	1	2980.12308	10640.744	
NFS FBZ-25DHB SES Methocel A15 NFS FBZ-25DHB ANH	6827.21097	1093.17451	8.8322	1.88574E-4	0.05	1	2996.90016	10657.5217	
NFS FBZ-25DHB SES Methocel A15 NFS FBZ-25DHB SES	6779.4822	1093.17451	8.77045	2.05508E-4	0.05	1	2949.17139	10609.7930	
NFS FBZ-25DHB SES Methocel A15 NFS FBZ-26DHB	6782.66672	1093.17451	8.77457	2.04331E-4	0.05	1	2952.35591	10612.9775	
NFS FBZ-25DHB SES Methocel A15 MF FBZ-25DHB	6600.91025	1093.17451	8.53944	2.84048E-4	0.05	1	2770.59944	10431.2210	
NFS FBZ-25DHB SES Methocel	6833.50503	1093.17451	8.84034	1.8645E-4	0.05	1	3003.19422	10663.8158	
NFS FBZ-25DHB SES Methocel	309.40568	1093.17451	0.40027		1	0.05	0	-3520.90513	4139.7164
NFS FBZ-25DHB SES Methocel	2884.73602	1093.17451	3.73191	0.23712	0.05	0	-945.57479	6715.0468	

Sig equals 1 indicates that the difference of the means is significant at the 0.05 level.  
Sig equals 0 indicates that the difference of the means is not significant at the 0.05 level.

Anexo 34 ANOVA de una vía del ABC de los perfiles de disolución de FBZ puro, NFS de FBZ-25DHB anhidra, NFS de FBZ-25DHB sesquihidratada, NFS de FBZ-26DHB, mezcla física FBZ-25DHB, mezcla física FBZ-26DHB, y también con METHOCEL TM A15 predisuelto FBZ puro, NFS de FBZ-26DHB y NFS FBZ-25DHB sesquihidrato.

## 11. Bibliografía

- acid, D. m. (2021). *Drugbank*. Obtenido de malonic acid: <https://go.drugbank.com/drugs/DB02175>
- Akki, R. e. (2019). Pharmaceutical Co-Crystals: An Overview on Synthesis and Regulatory . *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 623-628.
- Ali, H. e. (2012). Solid-state vibrational spectroscopic investigation of cocrystals and salt of indomethacin. *crystengcomm*, 6665–6674.
- Alvarez, L. (2004). Comparative assessment of the access of albendazole, fenbendazole and triclabendazole to *Fasciola hepatica*: effect of bile in the incubation medium. *Parasitology*, 75-76.
- Alvarez, L. e. (2004). Comparative assessment of the access of albendazole, fenbendazole and triclabendazole to *Fasciola hepatica*: effect of bile in the incubation medium. *Parasitology*, 75-76.
- Amidon, G. e. (1995). Theoretical Basis for a Biopharmaceutical Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. *Pharmaceutical research* , 413-420.

- Araujo, G. L.-C. (2018). A New Thermodynamically Favored Flubendazole/Maleic Acid Binary Crystal Form: Structure, Energetics, and in Silico PBPK Model-Based Investigation. *Crystal Growth & Design*, 2377–2386.
- Avilez, J. (2020). “Estudios de preformulación de nuevas fases sólidas farmacéuticas de ricobendazol”. Cuernavaca : Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UEAM).
- Banfi, D., & Patiny, L. (2021). *nmrdb.org*. Obtenido de [https://www.nmrdb.org/new\\_predictor/index.shtml?v=v2.130.1](https://www.nmrdb.org/new_predictor/index.shtml?v=v2.130.1)
- Barikah, K. (2018). Traditional and Novel Methods for Cocrystal Formation: A Mini Review. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 79-82.
- Baron, S. (1996). *Medical Microbiology*. Texas: Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
- Bavishi, D. D. (2016). Spring and parachute: How cocrystals enhance solubility. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials* , 1-8.
- Beier, E. e. (2000). Oral pharmacokinetics of fenbendazole in llamas, South American Camelids. *Small Ruminant Research*, 209-214.
- Bhattarai, R. e. (2019). The monetary burden of cysticercosis in. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 12.
- Bjelke, M. e. (2000). Pharmacokinetics of fenbendazole following intravenous and oral administration to pigs. *Journal American of Veterinary Research*, 573–576.
- Blagden, N. e. (2007). Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improvesolubility and dissolution rates. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 617–63.
- Bolla, G. e. (2016). Pharmaceutical cocrystals: walking the talk. *Chemical Communications*, 8323–8480.
- Bongioanni, A. B. (2019). Investigating a soluble pharmaceutical salt: Albendazole Hydrochloride. *Crystal Growth & Design*, 1-24.
- Boylu, D. e. (2019). Biological control of gastrointestinal helminthes of livestock. *International Congress on Domestic Animal Breeding, Genetics and Husbandry*, 125.
- Brittain, H. G. (2009). Vibrational Spectroscopic Studies of Cocrystals and Salts. 1. The Benzamide-Benzoic Acid System. *Crystal Growth & Design*, 2492–2499.
- Brittain., H. G. (2010). Vibrational Spectroscopic Studies of Cocrystals and Salts. 3. Cocrystal Products Formed by Benzenecarboxylic Acids and Their Sodium Salts. *Crystal Growth & Design*, 1990–2003.
- Brusau, E. V. (2008). Synthesis and characterization of a new mebendazole salt: Mebendazole hydrochloride. *Journal Pharmaceutical Sciences*, 542-552.
- Capece, B. e. (2009). Enantiomeric behaviour of albendazole and fenbendazole sulfoxides in domestic animals: Pharmacological implications. *The Veterinary Journal* , 241–250.

- Carvalho, P. D.-S.-I. (2021). Carvalho, P. D. S.; Diniz, L. F.; da Silva, G. T. S. T.; Coutinho, N. D.; dos Tautomerism in the Salt Formation of Albendazole: Hydrobromide and Nitrate Salts. *Crystal Growth & Design*, 1122-1135.
- Chemicalize. (2019). *Chemicalize*. Obtenido de Chemicalize: <https://chemicalize.com/#/calculation/fenbendazole>
- CHEMIE, L. (Marzo de 2019). Ficha tecnica, MELTRA (FENBENDAZOL).
- Childs, S. L. (2013). Formulation of a Danazol Cocrystal with Controlled Supersaturation Plays an Essential Role in Improving Bioavailability. *Molecular Pharmaceutics*, 3112–3127.
- Connors, K. M. (2010). *Thermodynamics of pharmaceutical systems An Introduction to Theory and Application*. Canada: WILEY.
- Cruz, A. J. (2012). Acid–base crystalline complexes and the pKa rule. *CrystEngComm*, 6362–6365.
- Datta, S. e. (2004). Crystal structures of drugs:advances in determination,prediction and engineering. *Journal nature reviews drug discovery*, 42-57.
- Dinnebier, R. e. (2008). Principles of Powder Diffraction. En *Powder Diffraction: Theory and Practice* (págs. 1-19).
- Douroumis, D. e. (2017). Advanced methodologies for cocrystal synthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 178-195.
- DrugBank. (2020). *DrugBank*. Obtenido de Fenbenedazole: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB11410>
- Drugbank. (2021). *Drugbank*. Obtenido de Oxalic Acid: <https://go.drugbank.com/drugs/DB03902>
- Drugbank. (2021). *Drugbank*. Obtenido de D-tartaric acid: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01694>
- Duggirala, N. K. (2016). Pharmaceutical cocrystals: along the path to improved medicines. *Chemical communications*, 640-655.
- EMA. (2004). Committee for medicinal products for veterinary use fenbandazole. *European Medicines Agency Veterinary Medicines and Inspections*, 1-4.
- FAO. (2020). *FAO Monography*. Obtenido de <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/jecfa-vetdrugs/details/es/c/25/>
- FDA. (2017 ). Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System Guidance for Industry. 1-15.
- FDA Administration, U. D. (2017). Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System Guidance for Industry. *FDA*, 1-16.

- Fuchs, R. (1998). *INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY WORLD HEALTH ORGANIZATION*. Obtenido de <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v041je03.htm>
- Gautam, R. (2013). Crystal Engineering: From Molecule to Crystal. *Journal of the American Chemical Society*, 9952–9967.
- Gokbulut, C. e. (2007). Comparative plasma disposition of fenbendazole, oxfendazole and albendazole in dogs. *Veterinary Parasitology* , 279–287.
- Gutiérrez, E. L. (2018). Synthesis, characterization and solubility of a new anthelmintic salt: Mebendazole nitrate. *Journal of Molecular Structure*, 113-121.
- Hasa, D. e. (2017). Screening for new pharmaceutical solid forms using mechanochemistry: A practical guide. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1-15.
- Hennessy. (1993). Pharmacokinetic disposition of benzimidazole drugs in the ruminant gastrointestinal tract. *Parasitology Today*, 329-333. .
- Holder, C. e. (2019). Tutorial on Powder X-ray Diffraction for Characterizing Nanoscale Materials. *ACS,NANO*, 7359-7365.
- Huang, Y. K. (2019). Cocrystal solubility advantage diagrams as a means to control dissolution, drug supersaturation and precipitation. *Molecular Pharmaceutics*, 1-25.
- Jacobs, D. e. (2016). *Principes of Veterinary Parasitology*. Reino Unido: WILEY Blackwell.
- Junquera, P. (2020). *PARASITIPEDIA.net*. Obtenido de Fenbendazol: [https://parasitipedia.net/index.php?option=com\\_content&view=article&id=281](https://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=281)
- Karagianni, A. e. (2018). Pharmaceutical Cocrystals: New Solid Phase Modification Approaches for the Formulation of APIs. *Pharmaceutics*, 1-30.
- Kararli, T. (1995 ). Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals . *biopharmaceutics & drug disposition*, 351-380 .
- Kasim, A. e. (2013). Molecular Properties of WHO Essential Drugs and Provisional Biopharmaceutical Classification. *Molecular pharmaceutics*, 85-91.
- Knox, M. e. (1997). Effects of diet and species on the pharmacokinetics of fenbendazole in cattle. *Veterinary Research Communications*, 37-43.
- Kuminek, G. e. (2019). Posaconazole Cocrystal with Superior Solubility and Dissolution Behavior. *Crystal Growth and Design*, 6592–6602.
- MacDonald, J. C. (2001). Design of Supramolecular Layers via Self-Assembly of Imidazole and Carboxylic Acids. *Crystal Growth & Design*, 29-38.
- Mantri, R. V. (2009). Developing Solid Oral Dosage Forms. *Pharmaceutical Theory and Practice*. En *Solubility of Pharmaceutical Solids* (págs. 3-24). New York: ELSEVIER and BOOK AID International.

- Marinescu, M. (2019). *Chemistry and Applications of Benzimidazole and its Derivatives*. Bucarest: IntechOpen.
- Marquez, D. (2017). *Resistencia a los antihelmínticos en nematodos de rumiantes y estrategias para su control*. Bogota: CORPOICA.
- Martínez, Y. (2011). Síntesis y caracterización biofarmacéutica de cocrystalos de albendazol. *Tesis de Maestría en Farmacia*. Cuernavaca, Morelos, México: Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Mckellar, Q. (2002). Fenbendazole pharmacokinetics, metabolism, and potentiation in horses. *drug metabolism and disposition*, 1230-1239.
- Mehlhorn, N. (2008). *Encyclopedia of Parasitology*. New York: Springer.
- MERCK SHARP, L. (Abril de 2020). AEMPS, Ficha tecnica PANACUR PASTA (FENBENDAZOL). España.
- MERCK, L. (Diciembre de 2013). AEMPS, Ficha tecnica PANACUR (FENBENDAZOL). España.
- Millán, I. (2013). "Síntesis y caracterización de nuevas fases sólidas farmacéuticas de ricobendazol". *Tesis de Maestría en Farmacia*. Cuernavaca, Morelos, México : Universidad Autónoma del Eestado de Morelos, UAEM.
- Mkupasi, E. e. (2013). Efficacy and Safety of Anthelmintics Tested against *Taenia solium* Cysticercosis in Pigs. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 1-6.
- Montalvo, X. e. (2006). Resistencia antihelmíntica de nematodos gastroentéricos en ovinos a febendazol e ivermectina en la región noroeste del estado de Tlaxcala. *Tecnología Pecuaria México*, 44, 81-82.
- Morissette, S. (2004). High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 275-300.
- Munson, E. (2009). Analytical Techniques in Solid-state Characterization. En *Developing Solid Oral Dosage Forms* (págs. 61-74).
- Namin, A. N. (2014). Salicylamide Cocrystals: Screening, Crystal Structure, Sublimation Thermodynamics, Dissolution and Solid-State DFT Calculations. *The Journal of Physical Chemistry*, 1-35.
- Ngowi, H. e. (2013). *Agricultural Impact of Porcine*. IntechOpen.
- Omori, M. W. (2020). Effects of Coformer and Polymer on Particle Surface Solution-Mediated Phase Transformation of Cocrystals in Aqueous Media. *Molecular Pharmaceutics*, 3825-3836.
- Oukessou, M. e. (1997). Effect of Diet Variations on the Kinetic Disposition of Fenbendazole in sheep. *International Journal for parasitology*, 1347-1351.
- Over, H. J. (1992). *Distribution and impact of helminth diseases of livestock in developing countries*. Países Bajos: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.

- Paulekuhn, G. S. (2007). Trends in Active Pharmaceutical Ingredient Salt Selection based on Analysis of the Orange Book Database. *Journal of Medicinal Chemistry*, 6665–6672.
- Pindelska, E. (2017). Pharmaceutical cocrystals, salts and polymorphs: Advanced characterization techniques. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 111-146.
- PROVET, L. (Noviembre de 2018). Ficha Técnica GANAFEN® (FENBENDAZOL).
- PubChem. (2020). *PubChem*. Obtenido de Fenbendazole: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fenbendazole>
- Quíroz, H. e. (2011). *Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos*. México: Independiente.
- Rodriguez, M. e. (2005). Strategies for formulating and delivering poorly water-soluble drugs. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 1-10.
- Rodríguez, R. e. (2017). Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8, 61-74.
- Saal, C. B. (2013). Pharmaceutical salts: A summary on doses of salt formers from the Orange Book. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1-10.
- Sanyal, P. e. (1995). Influence of Diet Type on the Kinetic Disposition of Fenbendazole in Cattle and Buffalo. *International Journal for Parasitology*, 1201-1205.
- Saucedo, M. e. (2014). Los cocrystalos farmacéuticos: conceptos generales. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 265-273.
- Schultheiss, N. N. (2009). Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties. *Crystal Growth & Design*, 2950–2967.
- SENOSIAN, L. (Junio de 2019). Ficha técnica ACTUOL (FENBENDAZOL).
- Shaikh, R. e. (2018). Pharmaceutical Cocrystal Drug Products: An Outlook on Product Development. *Trends in Pharmacological Sciences*, 1-16.
- Sheth, A. e. (2005). Relationship between the Structure and Properties of Pharmaceutical Crystals. *KONA Powder and Particle Journal*, 36-48.
- Silva, C. e. (2016). Salt or cocrystal of salt? Probing the nature of multicomponent crystal forms with infrared spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 89-95.
- Sumano, H. e. (2006). *Farmacología veterinaria. Antiparasitarios*. Mc Graw Hill.
- Surov, A. O. (2021). Pharmaceutical Salts of Fenbendazole with Organic Counterions: Structural Analysis and Solubility Performance. *Crystal Growth & Design*.
- Thakuria, R. D. (2013). Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 101-125.
- Urquhart, G. e. (2011). *Veterinary Parasitology*. Oxford: Blackwell Science Ltd.

- Veterinaria, P. (2019). *Portal Veterinaria* . Obtenido de Fasina Hepatica :  
<https://www.portalveterinaria.com/rumiantes/actualidad/31032/la-expresion-de-una-proteina-clave-para-la-infecciosidad-de-em-fasciola-hepatica-em.html>
- Vioglio, P. C. (2017). Pharmaceutical aspects of salt and cocrystal forms of APIs and characterization challenges. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 86-110.
- Vippagunta, S. R. (2001). Crystalline solids. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 3-26.
- Virkel, G. e. (2004). Comparative hepatic and extrahepatic enantioselective sulfoxidation of albendazole and fenbendazole in sheep and cattle. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 536-544.
- Warren, D. B. (2013). Evaluation of the Structural Determinants of Polymeric Precipitation Inhibitors Using Solvent Shift Methods and Principle Component Analysis. *Molecular Pharmaceutics*, 2823–2848.
- Wikipedia. (2020). Obtenido de Nematoda: <https://es.wikipedia.org/wiki/Nematoda>
- Wikipedia. (2020). *Wikipedia*. Obtenido de Fenbendazol:  
<https://en.wikipedia.org/wiki/Fenbendazole>
- Willians, R. W. (2016). *Formulating Poorly Water Soluble Drugs*. Texas, EU: Springer.
- Yang, Z. e. (2019). Analysis of solubility parameters of fenbendazole in pure and mixed. *J. Chem. Thermodynamics*, 2.
- Yang., X. S. (2015). Mechanistic Study of HPMC-Prolonged Supersaturation of Hydrocortisone. *Crystal Growth & Design*, 546–551.
- Z. Yang, e. a. (2019). Analysis of solubility parameters of fenbendazole in pure and mixed. *J. Chem. Thermodynamics*, 2.
- Zhang, G. G. (2007). Efficient Co-crystal Screening Using Solution-Mediated Phase Transformation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* , 990-995.



**VOTO APROBATORIO PROGRAMA  
DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA  
UAEM**



**Nombre del estudiante:** Andrés López Velázquez

**Título de la tesis:** "Obtención de nuevas fases sólidas de fenbendazol y evaluación de propiedades biofarmacéuticas"

**Grado a obtener:**

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

**Miembro del jurado:** Dr. Efrén Hernández Baltazar

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Firma del miembro del jurado

Noviembre 2021  
Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**EFREN HERNANDEZ BALTAZAR** | Fecha:2021-11-11 09:12:08 | Firmante

b0uxN2YvK8lBssESk43SjaKzEcWau9U7EDlaUaB57LxtffqymOOchTl72acOunDqXTFKKg53v/GwqQFVtAABebNhivaWh0DM+YsQiiTlrZBrqz+OTcm6vaV3dnUAFU8h3CD4ZOWlkssePNob90UXLXUHVWeDHi+PrnncT+Lj4blVmcAmVWW5lzTJMzJn4lAtOb+cquS2li8RziazF7IHae8lCXChRb0vjRc7V4PR8xKsLBD17kf7DQAnhyElaDSXdDkqvAXGFMdQvoZSCNIqUiVPBCVAvl0qM8n+zEOP4coykKomaUy4sl/Cz3k8yWfQ3J4j/urtl7wpQZOJU88Q==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[6SJCaOvmg](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/CdHoZd2HgLAFLDI6531OnXA6bOhdvLXD>





**VOTO APROBATORIO PROGRAMA  
DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA  
UAEM**



**Nombre del estudiante:** Andrés López Velázquez

**Título de la tesis:** "Obtención de nuevas fases sólidas de fenbendazol y evaluación de propiedades biofarmacéuticas"

**Grado a obtener:**

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

**Miembro del jurado:** Dra. Adriana Valladares Méndez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Firma del miembro del jurado

Noviembre 2021  
Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**ADRIANA VALLADARES MENDEZ** | Fecha:2021-11-11 11:54:26 | Firmante

IV3hzzbsKirsMwPfhK3G7FWjBWjnfliKHhoEmvaXZbA5zwa6nr6olv/XWc1+5ZXB3gc1LJX0z03l8M07Kk0wdCulzBEYxGsRm1oaoTjwg0ChAWV0H/GmfW2K4NabYRJNlKo681fkH  
Wxth1O4BU2wBMz6V/0aOHFmMRtuSpU/zO+Wehgj+8pmVH/FEC5z60hOJTwtDwR9g0UGANXvZ8TOKilbEmxMVpeUoLfJrCQvZp9CF+/Swk1Pwk7wuQlbJC3D+U53y9+AawV  
BpwnuHMOXokRsDbk3VdR8i16A0c4a/zNBhsY3/ZBwaiKtai6qzfgj2qb+uN1D4xAmoUzSluVJI+w==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[7xILZv3bo](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/ykgnhBVi7RANuaiOYauJ6DsD5y5HMw21>





**VOTO APROBATORIO PROGRAMA  
DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA  
UAEM**



**Nombre del estudiante:** Andrés López Velázquez

**Título de la tesis:** "Obtención de nuevas fases sólidas de fenbendazol y evaluación de propiedades biofarmacéuticas"

**Grado a obtener:**

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

**Miembro del jurado:** Dr. Ángel Daniel Herrera España

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Firma del miembro del jurado

Noviembre 2021  
Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

ANGEL DANIEL HERRERA ESPAÑA | Fecha:2021-11-11 12:33:28 | Firmante

olt2oXpFjF2kiFfN2jhyKB3UuO10Z6/JCWhG7DuWbBLESS0JRXFsASjkqBa54cJ1prtnA9FvzHaiLqmCMP6I5JD7L9qa4O0ph64uG2KfduSrGBrbxMfbJJoXuHT5C8ZVrqOvq5n3ip5E  
c1uapRyQsEZ2igPxpPzAGmXJ7170vBPJJOcRxv7Qpe5x2vhz04ZmVG7xOMLA+ZuKrLelpq++H9rQ9TFzkMwJc9zYcsy3bzOjQS7bsLxMKFiTZGVxTwyAsZEVJFY3p60X6QyLM  
3YBphi9sZAGb9piHXVAYpxQIAsDDqliSqqyl+hk/xAWppzedGGOGMI6n00vDqUEYz0g==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[VL4dcPHoW](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/D6tHpuDGSYquaWGaieCApZ07rP7m8j2Y>





**VOTO APROBATORIO PROGRAMA  
DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA  
UAEM**



**Nombre del estudiante:** Andrés López Velázquez

**Título de la tesis:** Obtención de nuevas fases sólidas de fenbendazol y evaluación de propiedades biofarmacéuticas

**Grado a obtener:**

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

**Miembro del jurado:** Dr. Herbert Hopfl Bachner

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Firma del miembro del jurado

Noviembre 2021  
Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**HERBERT HOPFL BACHNER** | Fecha:2021-11-11 08:59:03 | Firmante

IFsdgBKHYsStZMfl8ORyA2LNTInZyUkX1m7xuuaqFy0uz6Tkt781BGwx0gpe1mAclS5/cNV56flS0ZQ1pAMp9K2jRtgWa4t/Q1FEpgdwPISXQnc1CQ0zOatRivkYAiV6ytTWWjWFFMYKyWqm5QYEcJYinrJAEkYvugW8Fdzb+vtOVu4jVVX4UBovBd4gOWNaTifrnRsLE9qZnucz6oCH2BSigkUwV+bLx1rQFRVKH1/ZAzetNfgtndLRYBYJp+71eqJNwzez1YFHUQ4rguvuUOolxaZtjiYtOwmB9d88YciD5vmglyr5XTB9APT/KmlDYZ3dBSXiGHRY84RVMSw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[8hzwF2P37](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/jBskyv46OUHh7GTZJxtEFUM34MwppJUA>





**VOTO APROBATORIO PROGRAMA  
DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA  
UAEM**



**Nombre del estudiante:** Andrés López Velázquez

**Título de la tesis:** "Obtención de nuevas fases sólidas de fenbendazol y evaluación de propiedades biofarmacéuticas"

**Grado a obtener:**

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

**Miembro del jurado:** Dra. Dea Herrera Ruiz

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Firma del miembro del jurado

Noviembre 2021  
Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

DEA HERRERA RUIZ | Fecha:2021-11-11 08:42:17 | Firmante

TZ/qd0/kSXyBllk8WiygK4xzyg2jzHWaMmzPMqpM8qfEvNfIWvURJpswE4wc+AzkXtU9Vi1AZvur+jfw4HN0gE8imgTllqMI4WN0E1+wB+xC3tlksiY0KiAeE277W0f7iCmmQ2ka6Bul5C5AhtldAwglITdxIsXA0soccVx3B4ccijUAw9P80KPMNXJQVGeNhT3mnnXol6M1jCVIb4ULCQvXSb1KJ2K4pz9nnizfRIEH4KX75coXcHdlz5vo9N9IEqN8dNVdDDgFDdx+f/sOPjKESiLwh9CQUI78RM1Jeiy5MCSAZA+OLxSN8VejjnkVU67lgOfS+fOsGBfb003GSQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[LGzXWv1Pe](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Gu7lwzqtGja1Nml15AstaabhA5sXGEJp>

