



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO
DE
MORELOS**

FACULTAD DE FARMACIA



**“DESARROLLO DE PREFORMULACIONES CONTENIENDO
NUEVAS FASES SÓLIDAS
DE ALBENDAZOL
TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
LICENCIADO EN FARMACIA**

PRESENTA: JENNIFER MONSERRAT GAONA BONFIL

DIRECTOR DE TESIS:

DR. HUGO MORALES ROJAS (CIQ-UAEM)

ASESORES TÉCNICOS:

DRA. MARÍA GUADALUPE VASQUEZ RÍOS

M. F. REYNALDO SALAS ZÚÑIGA

CUERNAVACA, MORELOS

DICIEMBRE, 2020

Fecha: 17 de noviembre de 2020
Asunto: VOTOS APROBATORIOS
Medio de Notificación: Electrónica
Folio: FF/D/SD/JLF/0187/2020

**DRA. DULCE MARIA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA DE SERVICIOS ESCOLARES
U.A.E.M
PRESENTE**

Los suscritos catedráticos de la Facultad de Farmacia, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, se dirigen a Usted con el fin de comunicarle que, después de haber revisado el trabajo de tesis **“Desarrollo de preformulaciones conteniendo nuevas fases sólidas de Albendazol”** presentada por la pasante de la carrera de Licenciado en Farmacia. **C. Jennifer Monserrat Gaona Bonfil, (20151004608)**, consideramos que reúne todos los requisitos que exige un trabajo de esta especie, por lo que hacemos saber nuestro **VOTO APROBATORIO**.

Jurado

Firma

Dr. Jesús Rivera Islas

Dr. Víctor Barba López

Dra. Adriana Valladares Méndez

Dra. Dea Herrera Ruíz

Dr. Ángel Daniel Herrera España

**ATENTAMENTE
“POR UNA HUMANIDAD CULTA”**



Cp. Archivo
Cp. Bdm

**M.P.D. Reyna América Serrano López
Secretaría de Docencia**

Av. Universidad 1001 Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México.
C.P. 62210 Tel. 777 329 7000 Ext. 3365



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

REYNA AMERICA SERRANO LOPEZ | Fecha:2020-11-17 17:00:51 | Firmante

Z9vzwVjSKarGFOs1La+WjBwC0C4GGj2Bg087ldqZz3NHU7fdpk2AxeQlfO8gmGQ9VTD7LOy/e5ebwTJOM01sHWyi3zYYZijDe6dFCsLaqrdYkubd4yXTbDFyzufxWppuGwN1DV2GfBV8LInfM5g3Z9Pb4+K7FPGCIRNXU6LRj17luuNA27pg1BYjhqZ94At+7ce3oslfj8WhKFTEUu/TRligrMWjjsjTsGmhHzfnmByppbC1/xjvr70QiXKpYaJhW4/BkrqEerKu9DB16vc eYQHvXPbVHu2rOtpjtnf0s3geB4dJ5YZv71zFcqj0P/AOu9vzzFGyriT+P1VdVI6Zg==

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



1qkwat

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/yzgvlgkTMcjOTvbPFQKWleq9rnSnKb9E>





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:2020-12-05 13:11:11 | Firmante

pdoVsM7Ukchdy98a6JBHp1p4LWLILRRT6jdwjJ77vPYf+0i6x6t+6dOCCUkWHn4n9F8X0WwXvM9I0RaqnDxzBzWkymInBdlmjtEGxThSKimCC4q+QPAZHM20cH9bWa3zaKs yTiuFlvyxOHmZWQc0xqK64MeOUrGG0Hu1Yllhq7qogX7qmErvcscsuaSKK4dSqwradQZjr0K01oaZFw41Sn4z6XjVO97sqQqECB3jsFpCkoQd5vUerb1LdWth3aJeGmF+kp7S/Qh kXP8GTptalqtspJ4pZaC1skkMMh+JQ0EvhXRe7QVNuv09V+iJH0IzVLE7BhHTMr+id/v2v8g==

ANGEL DANIEL HERRERA ESPAÑA | Fecha:2020-12-05 16:43:35 | Firmante

GmBNgiWRRuXT9V0Qj/l80i0s6KmJjQS/YOKI6PuHSQ0UEsCsOJHmJ5mpRevy/v8oe/5vC+vktmLMLVb4U0iq5bbMtRCVzZbyRrJj79Ei6ziyW1RMHgdBziNB9Igt7R19Ir5oCnSI BnzOjIToBhkPenQTRqNM1VutG4JbrsXUJyveTzofgFUsBAurexzGMIv+UFuBNKUtXeQ6tCDaoUz7J7eKxrymAISWbqXDOQnm4Keqz+wDwr/l94z2dn2viKxxtLkUA6JO4h+0JTC0 08lkiHD6k39zOm26iirGKSWsW9cMFnbL1EGV5UK5c3CT66yq+jNV/ijByyf0/nrA==

JESUS RIVERA ISLAS | Fecha:2020-12-05 17:02:05 | Firmante

R8dUU0ZgjymGYtUzeNu5fchHXZJ5MikGE/dYf2rFrCxNeHOTxxEKxCKX/OIXwtz+Nf78ECffTckNrf/b2Qx3tAMVf16F+Sz8LmQqxIUoxp5pmbHJ8aQ/QgJarI2Leb2a5ulhvSk7kSkV LyXZ34NC29GZshRcKTnqJAvfncMuu8lomqZ1mcUD2077A/xSY82YnLZXdbm1tjveK5Hf02VXZHBVjor3KwxfxcBfY298PwHnnCtuNWY3XMMIcJYWHSJY/51hIEXbl9c7ROtALJ VuW2dNd21Co4Vavpc+sQiaA3QOAx60zaV96EChRR5w3w8XoOm7Uk1j/psecJHFAv+w==

ADRIANA VALLADARES MENDEZ | Fecha:2020-12-06 15:51:46 | Firmante

kwP+rjXFQuqP+P9EZ6aceAg3NBY3YK06kUBnotaaU2pMWCZljK7TnxONVyrYBlz5W0SD0ec3jllYy4k5DuQxPUPQos/6TiyqSfz+xSDtDj0bAtD33RxtVc5FTBxWwJAGxnNy9P dRXUK1+3C8Ofr6RLI/ed4RAvqy3wzvWAbENrYk+m10cTS+SaWBj6uEeS4bBAu5u06rE0IUvXDA4GULJdP7GjL/GR9BRn2KY/cUGB3zPeeXbdPNsf+HJmOONFiv0N3XhHyA oWggtmgDYeD7SHq7qd1JBjtw6MjU69J/yIvoserobn7tPGc/dFCv+6WX6AYBXPncZWzhFJ/w==

VICTOR BARBA LOPEZ | Fecha:2020-12-06 22:10:00 | Firmante

sw5tHB8sxV28qbUN2EU0CxDweqnuBs4CuoapSYozB93Q2PjlxUNGpghIEye5jyKizwrsjSwOKgtK193rpf5ohjNEi4FbtAMi8LnSnVyz/UNTrfJRCyYrgaiP7d4OpXw2K0XWj1YF9 KGd3Gb7AF5KUFngcvYI2FOy2692LgXQLDwB4QDaNvxtOrWAmmozNToUrlRJKa/zoUy7lqsA2UdHk4wIaY1FeJd9pnnwDPHZV0Whed+nXhy0GXjfos4M9fx+qtubnEHVdsC h6/m0m8aPIRnCYV3jZ6Wxqh4S1bmX4zTXwllm6vBoCC+FQVBCMFz8ND4BwFLJUwE5nEiaA==

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



XRLvcG

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/bgNfw4C22xqjIwJCs4ct5vg0Te6n9CcA>



AGRADECIMIENTOS

El desarrollo del presente trabajo se realizó en el Laboratorio 2 de "Biofarmacia y Farmacia Molecular" de la Facultad de Farmacia y en el Laboratorio 221 de "Química Supramolecular" del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, con la asesoría técnica del M.F. Reynaldo Salas Zúñiga, la Dra. María Guadalupe Vásquez Ríos y la Dra. Dea Herrera Ruiz, bajo la dirección del Dr. Hugo Morales Rojas.

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado para la realización de este trabajo a través de los proyectos de infraestructura INF- 2015-251898 y de Ciencia Básica A1-S-21143 "Síntesis de Cocrystal Orgánicos Bajo un Enfoque Integral de Interacciones Intermoleculares". Se agradece el acceso a los equipos analíticos del Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas (LANEM).

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis el Dr. Hugo Morales Rojas quien se tomó el arduo trabajo de transmitirme su conocimiento de algunos temas que pertenecieron a mi formación profesional, gracias por todo su apoyo incondicional y por brindarme las herramientas para el desarrollo de este trabajo de investigación.

A la Dra. Dea Herrera Ruiz por darme la oportunidad de pertenecer a un grupo de investigación tan enriquecido en conocimiento y por brindarme las herramientas necesarias y el conocimiento para el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. María Guadalupe Vasquez Ríos por su apoyo, su conocimiento y sus asesorías para este trabajo.

Al M.F Reynaldo Salas Zúñiga por todo su apoyo incondicional, por la confianza, por el conocimiento, por todos sus consejos y sobre todo por esos agradables momentos que compartimos durante el desarrollo de este trabajo que hicieron de mi estancia en laboratorio un lugar muy ameno para trabajar, más que un asesor encontré un gran amigo.

Al Dr. Juan Manuel Martínez Alejo por todos sus conocimientos, por apoyarme en la realización de algunas actividades, por todos y cada uno de sus consejos que compartió conmigo durante mi estancia en laboratorio.

Al M.F Christian Rodríguez Ruiz quien sin saberlo me ayudó, por poner a la disposición el incalculable valor de su conocimiento, compartiendo mis dudas, recibiendo sus consejos, comentarios o técnicas para llevar a cabo algún procedimiento de manera muy práctica.

Agradezco también a mi comité revisor: Dr. Jesús Rivera Islas, Dr. Víctor Barba López, Dra. Adriana Valladares Méndez, Dra. Dea Herrera Ruiz y al Dr. Ángel Daniel Herrera España por sus comentarios y observaciones realizadas en este manuscrito.

DEDICATORIA

Desde antes que yo naciera ustedes ya estaban pensando en darme lo mejor como lo han hecho hasta ahora, a quiénes dedico con todo mi corazón esta tesis, mis padres Justina Bonfil Blas y Salomón Gaona Medina gracias por ofrecerme el amor y calidez de la familia la cual amo, por motivarme constantemente a alcanzar mis logros, por confiar en mí siempre y por todo su apoyo incondicional.

A mis hermanos Emiliano y Luis Fernando, gracias por apoyarme, por darme ánimo y siempre estar cuando más los necesito.

De manera muy especial más que mis amigas, mis hermanas: Magnolia, Vania y Jocelyn por siempre estar ahí, por escucharme, darme ánimos y siempre confiar en mí, por su desinteresada ayuda y por todos esos buenos y malos momentos que compartimos juntas.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
DEDICATORIA.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	V
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	2
2.1. Albendazol.....	2
2.1.1. Indicación terapéutica.....	3
2.1.2. Propiedades fisicoquímicas.....	3
2.1.3. Farmacocinética.....	5
2.1.4. Farmacodinamia.....	6
2.1.5. Posología.....	6
2.2. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.....	6
2.3. Estrategias para mejorar las propiedades de un fármaco en estado sólido.....	8
2.3.1. Sales.....	9
2.3.2. Solvatos/hidratos.....	9
2.3.3. Polimorfos.....	10
2.3.4. Cocristales.....	10
2.3.5. Amorfos.....	11
2.4. Técnicas para caracterizar nuevas fases sólidas en el área farmacéutica.....	11
2.4.1. Difracción de rayos-X de polvos.....	11
2.4.2. Espectroscopía infrarroja.....	12
2.4.3. Análisis térmico.....	13
2.5. Cocristales farmacéuticos.....	15
2.5.1. Diseño de cocristales.....	15
2.5.2. Propiedades fisicoquímicas.....	17
2.5.3. Propiedades biofarmacéuticas.....	17
2.6. Fases sólidas cristalinas de ABZ.....	20
3. JUSTIFICACIÓN.....	26
4. HIPÓTESIS.....	27
5. OBJETIVOS.....	28
Objetivo general.....	28
Objetivos específicos.....	28
6. MATERIALES Y EQUIPOS.....	29
6.1. Materiales.....	29
6.2. Reactivos y disolventes.....	29

6.3.	Instrumentación	29
6.4.	Preparación de soluciones	31
7.	METODOLOGÍA	32
7.1.	Síntesis de las NFS	32
7.1.1.	Síntesis de la fase sólida ABZ-25DHBA mediante formación de pasta (<i>slurry</i>)	32
7.1.2.	Síntesis de las fases sólidas de ABZ-26DHBA mediante molienda mecánica	32
7.1.3.	Escalamiento de la fase sólida ABZ-25DHBA mediante <i>slurry</i>	32
7.1.4.	Escalamiento de la fase sólida ABZ-26DHBA mediante molienda mecánica	33
7.2.	Caracterización física	33
7.2.1.	Difracción de rayos-X de polvos (DRXP)	33
7.2.2.	Espectroscopía infrarroja (IR)	33
7.2.3.	Análisis termogravimétrico (TGA)	33
7.2.4.	Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	34
7.2.5.	Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido (RMN ¹³ C)	34
7.3.	Evaluación biofarmacéutica	34
7.3.1.	Estabilidad indicativa	34
7.3.2.	Transformación de fase mediada por la solución	35
7.3.3.	Selección del excipiente polimérico	35
7.3.4.	Validación del método de cuantificación	36
7.3.5.	Disolución de polvos bajo condiciones no- <i>sink</i>	37
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
8.1.	Caracterización física	38
8.1.1.	Difracción de rayos-X de polvos	38
8.1.2.	Resonancia magnética nuclear en estado sólido	42
8.1.3.	Espectroscopía infrarroja	45
8.1.4.	Análisis termogravimétrico	49
8.1.5.	Calorimetría diferencial de barrido	52
8.2.	Evaluación biofarmacéutica	54
8.2.1.	Estabilidad indicativa	54
8.2.2.	Transformación de fase mediada por la solución	56
8.2.3.	Selección de un polímero inhibidor de la precipitación de ABZ	61
8.2.4.	Validación del método analítico para la cuantificación de ABZ	63
8.2.5.	Disolución de polvos bajo condiciones no- <i>sink</i>	67
9.	CONCLUSIONES	71
10.	PERSPECTIVAS	73
11.	BIBLIOGRAFÍA	74
12.	ANEXOS	VI
	ABREVIATURAS	XII
	ÍNDICE DE FIGURAS	XIV
	ÍNDICE DE TABLAS	XVI

RESUMEN

Debido a la baja solubilidad acuosa que presentan los fármacos de la clase II y IV del sistema de clasificación biofarmacéutico (SCB), hoy en día es necesario el uso de estrategias innovadoras para mejorar las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas de un ingrediente farmacéutico activo (IFA). La modificación del estado sólido de un IFA a través de la formación de sales y cocrystalos ha permitido mejorar la solubilidad, disolución y biodisponibilidad de IFAs con desventajas biofarmacéuticas. En el presente trabajo se aborda la obtención de nuevas fases sólidas cristalinas del albendazol (ABZ) usando como formadores de cocrystalos compuestos derivados de ácidos carboxílicos aromáticos como el ácido 2,5-dihidroxibenzoico (25DHBA) y ácido 2,6-dihidroxibenzoico (26DHBA). Las nuevas fases sólidas ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA en estequiometría 1:1 se obtuvieron por el método de formación de pasta (*slurry*) (ABZ-25DHBA) y molienda mecánica asistida con disolvente (ABZ-26DHBA), se caracterizaron mediante difracción de rayos-X de polvos (DRXP), espectroscopía infrarroja (IR), termogravimetría (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC). Para evaluar la estabilidad de fase en solución se usaron distintos medios farmacéuticamente relevantes donde se observó que las fases ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA experimentan el fenómeno de transformación de fase mediada por soluciones acuosas pH 4.5 y 6.8, es decir, la estabilidad física es pH dependiente debido a la capacidad de ionización de los componentes. En contraste, a pH 1.2 no se observó transformación en ambas fases sólidas. La preformulación de las fases sólidas de ABZ con el polímero metilcelulosa prolongó el estado supersaturado alcanzado hasta los 90 minutos y aumentó la solubilización de albendazol a partir de la fase sólida ABZ-25DHBA.

ABSTRACT

Nowadays it is necessary to use innovative strategies to enhance the physicochemical and biopharmaceutical properties of an active pharmaceutical ingredient (API), because according to the biopharmaceutical classification system, a great number of drugs are poorly water-soluble belonging to class II and IV. The change of the solid state of an API through the salts and cocrystals formation has made possible to improve the solubility, dissolution and bioavailability of APIs with biopharmaceutical disadvantages. This thesis aimed to further study new crystalline solid phases of albendazole (ABZ) using cocrystal formers derivatives of aromatic carboxylic acids like 2,5-dihydroxybenzoic acid (25DHBA) and 2,6-dihydroxybenzoic acid (26DHBA). Thus, two new solid phases (ABZ-25DHBA and ABZ-26DHBA in 1:1 stoichiometry) were obtained by the slurry method (ABZ-25DHBA) and solvent-assisted mechanical grinding (ABZ-26DHBA). These solids were characterized by powder X-ray diffraction (DRXP), infrared spectroscopy (IR), thermogravimetry (TGA) and Differential Scanning Calorimetry (DSC). To evaluate the phase stability in solution, different pharmaceutically relevant media were used where it was observed that the ABZ-25DHBA and ABZ-26DHBA phases experienced the phenomenon of phase transformation mediated by aqueous solutions pH 4.5 and 6.8, that is, the physical stability is pH dependent due to the ionization capacity of the components. Conversely, at pH 1.2, no transformation was observed in both solid phases. One of the solid phases (ABZ-25DHBA) was studied by *non-sink* powder dissolution experiments in absence and in presence of predissolved methylcellulose polymer solutions. Under these conditions, dissolution of ABZ-25DHBA generated transient supersaturated concentrations of ABZ. This supersaturated state was prolonged up to 90 minutes in the presence of the predissolved polymer. The transient solubilization of ABZ starting from the solid phase ABZ-25DHBA was increased by 343 and 2340 times in comparison to pristine ABZ.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente un porcentaje elevado de los fármacos comercializados presentan baja solubilidad colocándolos en la clase II del Sistema de Clasificación Biofarmacéutico, fármacos con baja solubilidad acuosa y alta permeabilidad intestinal limitan los procesos de absorción y biodisponibilidad. Es por ello que en los últimos años la industria farmacéutica se ha enfocado en desarrollar estrategias para mejorar dichas propiedades mediante la generación de nuevas fases sólidas cristalinas como los cocristales farmacéuticos que son sólidos cristalinos compuestos por un ingrediente farmacéutico activo y un formador de cocrystal.

El ABZ es un fármaco antiparasitario de amplio espectro indicado para parasitosis gastrointestinal causadas por helmintos. Es un fármaco que pertenece a la clase II del SCB, dado que presenta una baja solubilidad acuosa y alta permeabilidad intestinal. Debido a que su estructura química posee grupos ionizables y con capacidad de formar enlaces de hidrógeno permite explorar la formación de nuevas fases sólidas cristalinas como los cocristales usando coformadores derivados de ácidos carboxílicos aromáticos como el ácido 2,5-dihidroxibenzoico y ácido 2,6-dihidroxibenzoico. Sin embargo, a medida que un sólido cristalino se disuelve en el medio de disolución se forma una solución supersaturada en un periodo de tiempo corto y tiene lugar a la precipitación de la fase menos soluble. Este comportamiento en disolución representa un reto farmacéutico hoy en día y es necesaria la formulación con excipientes adecuados para aprovechar la ventaja de las fases sólidas de rápida disolución como es el caso de los cocristales farmacéuticos. Por consiguiente, en este trabajo de investigación se incluyó la obtención de nuevas fases sólidas de ABZ y su preformulación con excipientes poliméricos derivados de celulosa con el propósito de generar y mantener un estado supersaturado del ABZ en medio acuoso esperando promover una mayor absorción en el tracto gastrointestinal y mejorar su biodisponibilidad.

2. MARCO TEÓRICO

La helmintiasis es una de las infecciones parasitarias más comunes en todo el mundo, afectando aproximadamente a 2000 millones de personas en las comunidades más pobres. Alrededor de 1500 millones de personas están infectadas por helmintos, esto representa casi el 24 % de la población a nivel mundial. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), más de 267 millones de niños en edad preescolar y más de 568 millones en edad escolar viven en zonas con alta prevalencia de transmisión de parásitos.¹

México es uno de los países de América Latina con una menor incidencia de enfermedades parasitarias, a pesar de que México no tiene tanta incidencia, la falta de recursos económicos retrasa proyectos como la distribución de agua potable e instalación de redes de abastecimiento, lo cual impide crear campañas efectivas contra las parasitosis intestinales más importantes. La desnutrición es un problema de salud que facilita el desarrollo de algunas enfermedades parasitarias, este problema social afecta a países con desventajas económicas como es el caso en mayor parte de la población mexicana.²

Una de las alternativas para controlar la helmintiasis consiste en la ejecución de programas para el tratamiento antiparasitario que permite un acceso más amplio a medicamentos preventivos, como el albendazol y el mebendazol.¹

2.1. Albendazol

El ABZ (5-(propiltio)-1 H- bencimidazol-2-il) (**Figura 1**) es un agente antiparasitario de amplio espectro, se encuentra en la lista de medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud.³ ABZ fue el primer fármaco antiparasitario aprobado para uso en humanos en 1982,⁴ pertenece al grupo de los bencimidazoles y posee acción local y sistémica.⁵

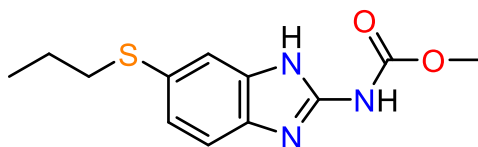


Figura 1. Estructura química de ABZ.

2.1.1. Indicación terapéutica

ABZ está indicado para infecciones parasitarias intestinales causadas por los siguientes parásitos:

Nemátodos: *Enterobius vermicularis*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichura*, *Ancylostoma duodenalis*, *Necator americanus*.⁶

Céstodos: *Hymenolepis nana*, *Taenia solium*, *Taenia saginata*.⁷

Protozoos: *Giardia lamblia*.⁸

2.1.2. Propiedades fisicoquímicas

El ABZ es un fármaco con baja solubilidad acuosa (0.01 mg/mL) y considerando los valores de permeabilidad reportados se incluye en la clase II/IV del sistema de clasificación biofarmacéutico (SCB), es decir, tiene una baja solubilidad y alta/baja permeabilidad (**Tabla 1**). Las moléculas de ABZ son de naturaleza anfotérica debido a que en su estructura se encuentra un grupo ácido y uno básico, es decir es un compuesto ionizable ya que presenta valores de pK_a de 2.80 y 10.26 (**Figura 2**, **Tabla 1**). El ABZ tiene un coeficiente de partición de 2.55, un punto de fusión de entre 208-210°C y un peso molecular de 265.33 g/mol (**Tabla 1**).⁹⁻¹⁰

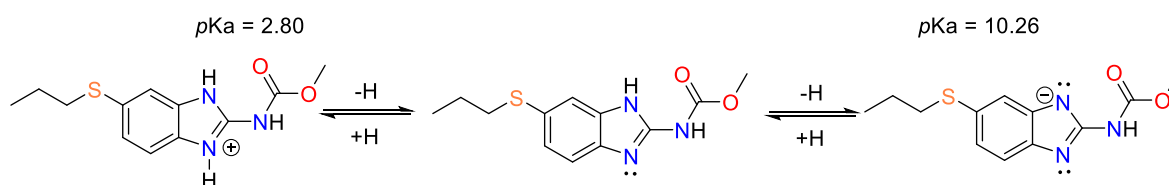


Figura 2. Especies iónicas de ABZ.

Tabla 1. Propiedades de ABZ.⁹⁻¹⁴

Fármaco	Albendazol
Formula	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₂ S
PM	265.33 g/mol
pK_a	2.80, 10.26
Log P	2.55

Continuación de tabla

Continuación de tabla

Solubilidad	0.01 mg/mL en H ₂ O
Permeabilidad	6.50 × 10 ⁻⁶ 79.71 × 10 ⁻⁶ 7.60 × 10 ⁻⁴ 0.40 × 10 ⁻⁴
Clasificación biofarmacéutica	II/ IV
Vía de administración	Oral
Forma farmacéutica	Suspensiones y tabletas
Dosis administrada	Adultos y niños mayores de 2 años 400 mg 10 mL de suspensión contienen: 400 mg de albendazol
Punto de fusión	208-210°C

Existen dos formas cristalinas reportadas del ABZ, una de ellas se denomina forma I que corresponde al sólido comercialmente disponible de ABZ y la forma II se obtiene mediante recristalización a partir de la forma I en metanol y dimetilformamida. En la **Figura 3a** se compara el patrón de rayos-X de polvos de estos dos sólidos. La unidad asimétrica de la estructura cristalina de la forma II muestra a un tautómero que presenta desorden en la cadena de tiopropilo (**Figura 3b**).¹⁵

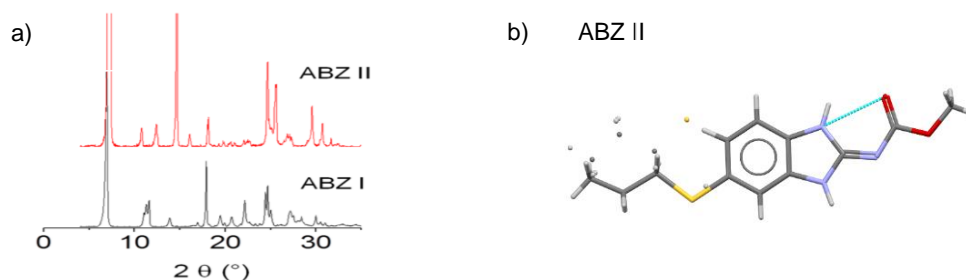


Figura 3. a) Patrón de difracción de RX de las formas I y II de ABZ y b) Unidad asimétrica de la forma II de ABZ.¹⁵⁻¹⁶

2.1.3. Farmacocinética

Cuando el ABZ se administra por vía oral en ratones y ratas, su absorción es del 20-30% y en bovinos 50% comparado aproximadamente con un 5% en humanos. La absorción del fármaco es más significativa (5 veces mayor en animales y humanos) con la co-administración de comida rica en grasas, este aumento se atribuye a una disolución del fármaco insoluble en agua en la matriz de lípidos, alimentos o etanol.⁴

Durante el metabolismo de primer paso, el ABZ es metabolizado rápidamente en el hígado. Los niveles plasmáticos de sus metabolitos que son oxidados como el sulfóxido y la sulfona (**Figura 4**) en todas las especies son mucho más altos que los del fármaco original.⁴ El sulfóxido de ABZ es el responsable de la actividad terapéutica y se distribuye ampliamente por todo el cuerpo y se une a un 70% a proteínas plasmáticas. Una porción del metabolito de ricobendazol sufre una oxidación y se forma el metabolito de sulfona. Las rutas oxidativas independientes afectan la cadena lateral del alquilo y el anillo aromático, el metabolismo depende de las oxidasas y el citocromo P450. Las rutas oxidativas independientes afectan la cadena lateral del alquilo y el anillo aromático, el metabolismo depende de las oxidasas y el citocromo P450.⁴



Figura 4. Estructura química de sulfóxido de ABZ (a), estructura química de sulfona de ABZ (b).

La eliminación del fármaco original es rápida en humanos y animales, el sulfóxido de ABZ presenta un $t_{1/2}$ de 8.5 h.¹⁷ La excreción ocurre en gran medida como metabolitos en bilis. Sólo los metabolitos de ABZ se excretan en animales y humanos ya que el metabolismo es muy extenso.⁴

2.1.4. Farmacodinamia

La forma terapéuticamente activa del ABZ es el sulfóxido de ABZ, que se produce por un extenso metabolismo de primer paso en el hígado y la pared intestinal tanto en animales como en humanos. La actividad vermícida, ovícida y larvícida de este fármaco se atribuye a que se une e inhibe la polimerización durante la formación de microtúbulos a partir de la tubulina lo cual disminuye el nivel energético de los parásitos quedando inmóviles e incapaces para sobrevivir.^{4, 16}

2.1.5. Posología

La cantidad de ABZ y la duración del tratamiento de la parasitosis varía de acuerdo con la clasificación de los helmintos. En la **Tabla 2** se muestra la dosis y el periodo de tiempo para ser administrado.

Tabla 2. Posología de ABZ para distintos helmintos.¹⁸

Clasificación	Tratamiento
Nematodos	
<i>Enterobius vermicularis</i>	
<i>Ascaris lumbricoides</i>	
<i>Trichuris trichura</i>	400 mg de ABZ 1 sola toma.
<i>Ancylostoma duodenalis</i>	
<i>Necator americanus</i>	
Céstodos	
<i>Hymenolepis nana</i>	
<i>Taenia solium</i>	400 mg de ABZ durante 3 días.
<i>Taenia saginata</i>	
Protozoos	
<i>Giardia lamblia</i>	400 mg de ABZ durante 5 días.

2.2. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico

El sistema de clasificación biofarmacéutico (SCB) fue propuesto por Amidon y colaboradores en 1995.¹⁹⁻²⁰ Es un marco científico para clasificar a los principios activos considerando la solubilidad acuosa y permeabilidad intestinal, estos son parámetros clave que controlan la magnitud y velocidad de absorción de un

fármaco. De esta manera los principios activos pueden dividirse en clases de acuerdo a su solubilidad y permeabilidad (alta/baja), la combinación de estos dos factores y dos niveles nos llevan a cuatro clases del SCB como se muestra en la **Figura 5.**¹⁹

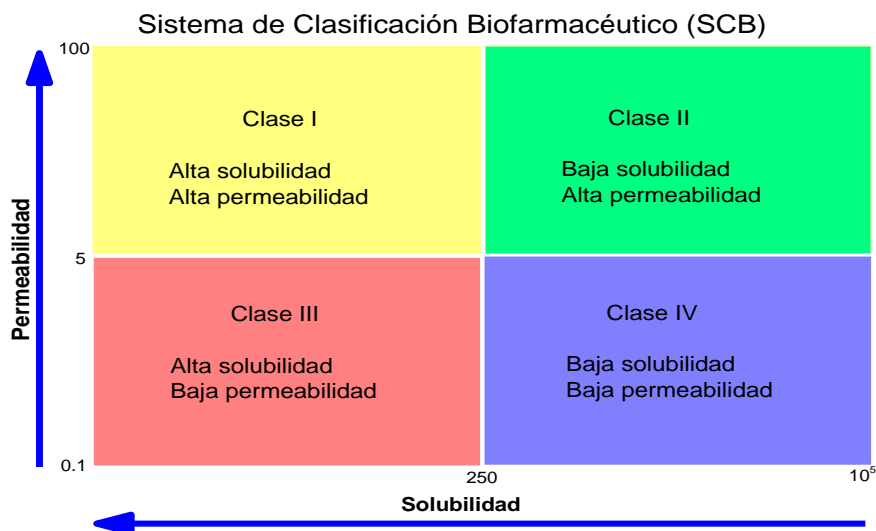


Figura 5. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico de los medicamentos.²¹

Clase I alta solubilidad, alta permeabilidad: el IFA se absorbe bien, aunque su biodisponibilidad puede ser baja debido al metabolismo de primer paso, y un paso limitante a la absorción sería la velocidad de disolución o el vaciado gástrico¹⁹.

Clase II baja solubilidad, alta permeabilidad: estos fármacos presentan valores de solubilidad bajos pero la permeabilidad es alta, estos valores están indirectamente relacionados con el tiempo de disolución que es elevado, la velocidad de disolución del fármaco *in vivo* es el factor limitativo de su absorción.¹⁹

Clase III alta solubilidad, baja permeabilidad: para esta clase, de fármacos la permeabilidad es el paso limitante para la absorción

Clase IV baja solubilidad, baja permeabilidad: esta clase de fármacos presenta problemas significativos para una liberación oral exitosa. El número de fármacos que se encuentra dentro de esta clase dependerá de los límites precisos que se empleen para la solubilidad y permeabilidad.¹⁹

Alrededor del 40% de los fármacos comercializados presentan una baja solubilidad (como ABZ) colocándolos en la clase II o IV del SCB y, un 60-70% de los fármacos en desarrollo presentan desventajas de solubilidad en agua.²² Es por ello que, en los últimos años la industria farmacéutica se ha enfocado en el desarrollo de formas sólidas innovadoras para mejorar las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas de un ingrediente farmacéutico activo.²³

2.3. Estrategias para mejorar las propiedades de un fármaco en estado sólido

Se sabe que más del 80% de los medicamentos que se encuentran en el mercado son comercializados en formas farmacéuticas en estado sólido, debido a la estabilidad de manipulación de los materiales desde el inicio del desarrollo de un medicamento hasta el almacenamiento de los materiales empleados para este proceso.²⁴ En la mayoría de los casos los sólidos farmacéuticos presentan altos puntos de fusión y muy baja solubilidad acuosa.²⁴ La formación de nuevas fases sólidas depende de la naturaleza química de la molécula de interés y de la propiedad física por desarrollar. Adicionalmente, se prefiere desarrollar una forma farmacéutica que contenga un IFA en estado cristalino, debido a que es la forma termodinámicamente más estable, en comparación con un fármaco en estado amorfo.²⁵ Uno de los retos en el campo de la industria farmacéutica es aprovechar la ventaja que ofrecen estas fases sólidas novedosas para mejorar el proceso de solubilización de fármacos pocos solubles reduciendo el grado de toxicidad, disminuyendo costos y aumentando la eficacia terapéutica.²⁴

Una de las estrategias para mejorar la solubilidad de un IFA es la modificación del estado sólido a través de la ingeniería de cristales. La ingeniería de cristales es considerada como el diseño y crecimiento de sólidos moleculares cristalinos con el objetivo de impactar en las propiedades del material y obtener información fundamental de las propiedades fisicoquímicas a partir de la disposición molecular dentro del sólido para alterar la colocación o las interacciones entre las moléculas y tener un impacto en las propiedades particulares del sólido tales como la formación de sales, polimorfos, hidratos, solvatos y cocristales (**Figura 6**).^{23, 25}

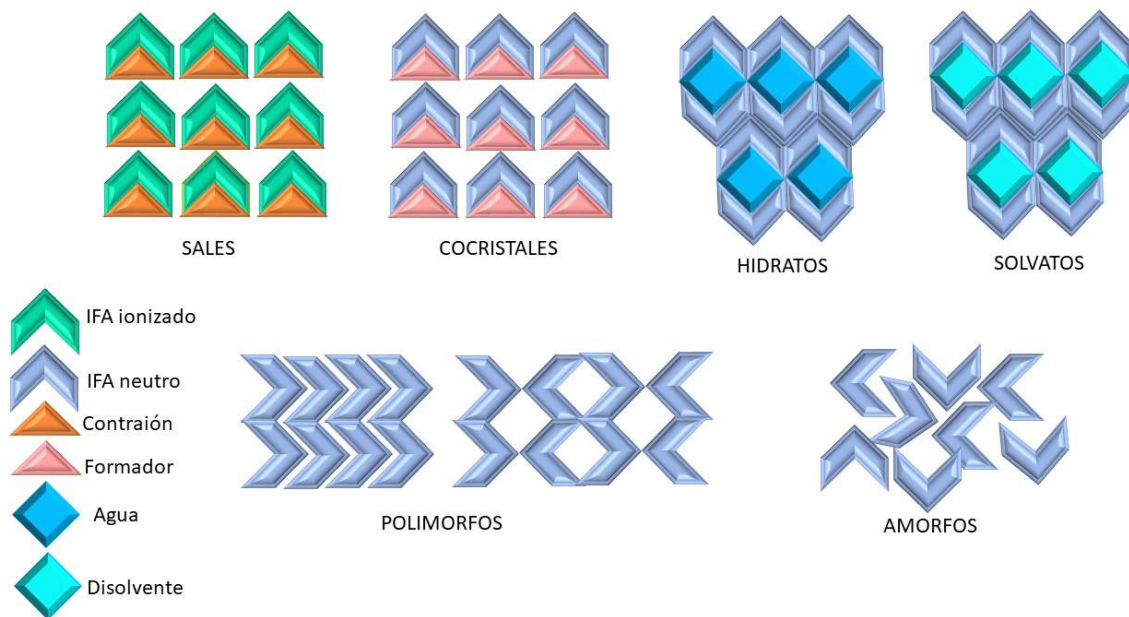


Figura 6. Formas sólidas de un ingrediente farmacéutico activo.

2.3.1. Sales

La obtención de sales es uno de los principales enfoques utilizados para modificar las propiedades de un ingrediente farmacéutico activo, como la solubilidad y por lo tanto la biodisponibilidad. Un requisito indispensable para la obtención de sales farmacéuticas es que los fármacos contengan grupos ionizables.²⁴

2.3.2. Solvatos/hidratos

Los hidratos y solvatos son sistemas cristalinos que contienen un IFA y una molécula de agua o disolvente en su red cristalina, regularmente este sistema se da con moléculas grandes irregulares para ordenar en su red cristalina debido a que las moléculas del disolvente rellenan los espacios del cristal formando una red estable. La formación de hidratos y solvatos puede presentar un problema en la estabilidad de la forma farmacéutica.²⁶⁻²⁷

El agua y otros disolventes forman enlaces de hidrógeno y se coordinan por enlaces no covalentes en una red cristalina con un IFA. La mayoría de los ingredientes farmacéuticos activos que tiene pesos moleculares pequeños pueden formar hidratos fácilmente debido a su tamaño molecular. Las moléculas de agua tienen

átomos donadores y aceptores de enlaces de hidrógeno que forman enlaces de hidrógeno intermoleculares con otras moléculas. La presencia de moléculas de agua se ve afectada a nivel de interacciones moleculares afectando el grado de cristalinidad y los parámetros termodinámicos como solubilidad, velocidad de disolución, estabilidad en estado sólido y la biodisponibilidad de los IFAs hidratados.²⁷

2.3.3. Polimorfos

El polimorfismo es la capacidad que presenta un compuesto para existir en diversos estados cristalinos, y aplica para moléculas o iones, en donde las especies presentes se encuentran en distintas conformaciones (llamados polimorfos conformacionales) o en un distinto arreglo cristalino (llamados polimorfos de empaquetamiento). Dos polimorfos de un ingrediente farmacéutico activo pueden presentar diferentes propiedades fisicoquímicas tales como su solubilidad, fluidez, higroscopicidad, compresibilidad. Cuando existen varios polimorfos de un mismo IFA es necesario monitorear los procesos de manufactura y distribución del fármaco para evitar que se convierta en la forma polimórfica menos estable. Una manera de denotar la forma polimórfica de más alto punto de fusión se utiliza como número romano I, generalmente la más estable y la menos soluble, las diferentes formas menos estables se escribirán en forma decreciente y se denominan con los números II, III etc.²⁸⁻²⁹

2.3.4. Cocristales

Los cocristales farmacéuticos son sólidos cristalinos, compuestos de un ingrediente farmacéutico activo molecular o iónico y uno o más formadores de cristales (llamado coformador). Los componentes del cocrystal deben ser sólidos a temperatura ambiente y el coformador una sustancia de grado alimenticio o farmacéutico considerado generalmente como seguro (*GRAS*, por sus siglas en inglés) y se encuentran unidos mediante interacciones no covalentes como es el caso de los enlaces por puente de hidrógeno en una estequiometría definida.^{23, 30-31}

2.3.5. Amorfos

Los sólidos amorfos son termodinámicamente inestables, esto es debido a que presentan un arreglo aleatorio de moléculas, estas fases sólidas contienen mayor energía libre comparado con otras formas cristalinas, sin embargo, los sólidos amorfos son metaestables y proporcionan una mayor solubilidad. Generalmente un sólido amorfo se disuelve más rápido que un sólido cristalino debido a que, en un cristal las fuerzas intermoleculares son más fuertes y existe un mayor grado de organización molecular.²⁹

A pesar de tener una gran ventaja de solubilidad y velocidad de disolución, los sólidos amorfos son limitados ya que cristalizan rápido, es por ello que se requiere otro enfoque para mejorar las propiedades del fármaco para fines farmacéuticos.²⁹

2.4. Técnicas para caracterizar nuevas fases sólidas en el área farmacéutica

Las técnicas para caracterizar nuevas fases sólidas son de suma importancia debido a que podemos extraer información fundamental a la hora de obtener estas nuevas fases. Se pueden obtener mediante difracción de rayos-X de polvos (DRXP), espectroscopía infrarroja (IR), calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y resonancia magnética nuclear (RMN).

2.4.1. Difracción de rayos-X de polvos

Es una de las técnicas más utilizadas para estudiar e identificar formas policristalinas de un IFA, además cada patrón de difracción es único y corresponde a un compuesto específico, es una técnica no destructiva.³² Los rayos X son una radiación electromagnética de longitud de onda corta que se produce cuando se desaceleran los electrones de alta energía o por transiciones de electrones que están en los orbitales internos de los átomos.³³ El patrón de DRXP es representado por un gráfico que muestra la intensidad de difracción, existen diversos patrones que corresponden a distintas estructuras cristalinas, se les puede considerar como “huellas dactilares”.³² Para estudiar la dirección en la que la difracción de rayos X

produce interferencias es mediante de Ley de Bragg ya que permite predecir ángulos en que los rayos X se difractan por materiales cristalinos.³⁴

Cuando los rayos X son infundidos por el entorno ordenado de un cristal, hay diferencias tanto constructivas como destructivas entre los rayos dispersados porque las distancias entre los centros de difusión son del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de radiación.³³

Ley de Bragg

Cuando un haz de luz choca con la superficie de un cristal (**Figura 7**) formando un ángulo, una porción del haz es difundida por la capa de átomos de la superficie. La porción no dispersada del haz, penetra la segunda capa de átomos donde una fracción es difundida y la que queda pasa a la tercera capa. El efecto acumulativo de está difusión producida por los centros con separaciones regulares del cristal es la difracción del haz, de la misma forma que la radiación visible se difracta en una red de difracción.³³

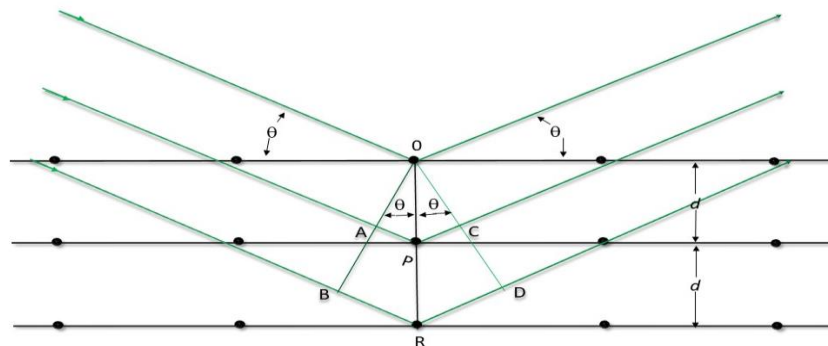


Figura 7. Difracción de rayos-X de un cristal mediante la Ley de Bragg.

2.4.2. Espectroscopía infrarroja

La espectroscopía infrarroja es una técnica analítica muy versátil y de mayor aplicación en el análisis cualitativo para la detección de grupos funcionales presentes en cualquier estado sólido. Esta técnica particularmente nos ayuda a determinar e identificar las bandas correspondientes a la formación nuevas fases sólidas como un cocrystal o una sal, esto es debido a que cuando se encuentra

presente una sal se encontrarán bandas características del grupo carboxilato (R-COOH⁻), cuando se trata de un cocrystal se observan bandas del grupo ácido carboxílico (R-COOH). La espectroscopía infrarroja es una herramienta útil para la investigación de los espectros vibracionales de los polimorfos y pocas veces se observan nuevas bandas o cambios de frecuencia vibracionales de los grupos que intervienen en las interacciones en un sólido que presenta polimorfismo.³⁵ Generalmente, se observa un ensanchamiento de las bandas de los grupos funcionales principales en el espectro IR de un fármaco en estado amorfo.³⁶ El espectro infrarrojo generalmente se refiere a la región del espectro electromagnético entre las regiones visibles y las regiones de microondas.³³ Existen tres regiones del espectro: infrarrojo cercano (14,000-4000 cm⁻¹), infrarrojo medio (4000-400 cm⁻¹), infrarrojo lejano (700-200 cm⁻¹).³³ La frecuencia o la longitud de onda de absorción depende de las masas relativas de los átomos, la constante frecuencia de los enlaces y la geometría de los átomos. Las posiciones de las bandas en el espectro infrarrojo son presentadas como número de onda, la cual esta unidad es reciproca al centímetro (cm⁻¹) y es proporcional a la energía de vibración.³³ La intensidad de las bandas se puede expresar como transmitancia (**T**), o absorbancia (**A**), la transmitancia es la relación de la potencia radiante que incide sobre la muestra, y la absorbancia es reciproco a la transmitancia.³³

2.4.3. Análisis térmico

En 1979, Mackenzie definió el análisis térmico como el grupo o conjunto de técnicas en las que se mide la propiedad física de la sustancia o de sus productos de reacción en función de la variación de la temperatura, mientras la sustancia es sometida a un programa de temperatura controlado. En 1991 la *international Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry (ICTAC)* establecieron una nomenclatura para definir las como un conjunto de técnicas en las cuales una propiedad de la muestra se monitorea frente a un tiempo o temperatura, mientras que la temperatura se programa en una atmósfera controlada.³⁷

Dentro del análisis térmico se encuentran técnicas que nos permiten clasificarlas en función de la propiedad física que se mide en cada caso. Algunas técnicas son

diferenciales, esto implica medir la diferencia existente entre una propiedad de la muestra y una sustancia de referencia como en un análisis térmico diferencial (DTA) miden la diferencia que existe entre la temperatura de la muestra y la sustancia de referencia, mientras que en calorimetría de barrido diferencial lo que se mide es la diferencia entre el calor aportado a la muestra y sustancia de referencia. Las técnicas que proporcionan información química básica sobre las muestras objeto del análisis son la termogravimetría, análisis térmico diferencial y calorimetría de barrido diferencial son las técnicas más utilizadas dentro del análisis térmico.³⁷

Análisis termogravimétrico

El análisis termogravimétrico pertenece a una técnica de análisis térmico, está se basa en los cambios de masa (peso/ ganancia o pérdida de masa) de una muestra que se mide en función de la temperatura o tiempo en una atmosfera controlada. Se utiliza principalmente para determinar la composición de los materiales y predecir su estabilidad térmica. Dentro de las técnicas de termogravimetría se conocen 3 tipos: TGA dinámica (se coloca la muestra aumentando continuamente la temperatura, está suele ser lineal con el tiempo), TGA isotérmica (la muestra se mantiene a una temperatura en un periodo de tiempo para finalmente medir el cambio en peso de la muestra) y TGA calidad (la muestra es calentada a un peso constante a medida que la temperatura va incrementando).³²

Calorimetría diferencial de barrido

La técnica de calorimetría diferencial de barrido es el método más usado por su rapidez, simplicidad y disponibilidad. Es útil para la detección de polimorfos, así como para estudiar su estabilidad a una temperatura dada por calentamiento y enfriamiento repetidos.³² Mide las diferencias en la cantidad de calor aportado a una muestra y una sustancia de referencia en función de la temperatura de la muestra estando en un programa de temperatura controlada. Las curvas típicas de DSC se muestran dos transiciones en forma de pico correspondientes a procesos exotérmicos de desprendimiento de calor y procesos endotérmicos de absorción de calor.³⁷

2.5. Cocristales farmacéuticos

Generalmente el descubrimiento y desarrollo de un fármaco es un proceso largo que consta de tres etapas distintas denominadas como: “moléculas, materiales y medicamentos”. La etapa de “moléculas” incluye la química medicinal para el descubrimiento de nuevas entidades químicas o biológicas que presenten actividad farmacológica. Estos compuestos si comprueban seguridad y eficacia serán los ingredientes farmacéuticos activos (IFA) en los medicamentos. Los “materiales” o excipientes son sustancias normalmente sólidas que son adecuadas para la formulación de un IFA, y que le confieren distintas propiedades a la fórmula para facilitar su manejo y producción como medicamento. En la etapa de “medicamentos” o formulación se combina la sustancia farmacológicamente activa (IFA) con los excipientes para obtener un medicamento en su forma final.²³ Es un proceso largo, costoso y arduo, se sabe que más del 1% de los ingredientes farmacéuticos activos se desarrollan con éxito apareciendo en el mercado. Uno de los desafíos de la industria farmacéutica para desarrollar con éxito un medicamento está centrado en la mejora de las propiedades fisicoquímicas de los IFAs como solubilidad, permeabilidad, biodisponibilidad, estabilidad y propiedades mecánicas.³⁸ Es por ello que surge el interés por desarrollar cocristales farmacéuticos debido a las diferencias entre las propiedades fisicoquímicas tanto de IFA en estado puro y el cocrystal teniendo la posibilidad de mejorarlas.³⁹

Los cocristales farmacéuticos han demostrado modificar las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas de un IFA, tales como el hábito cristalino, solubilidad, permeabilidad, densidad aparente, compresibilidad, friabilidad, punto de fusión, higroscopicidad y velocidad de disolución. La formación de un cocrystal ayuda a transformar un fármaco en un sólido cristalino que sea estable y fácil de manejar.⁴⁰

2.5.1. Diseño de cocristales

Para el diseño y síntesis de cocristales se emplea el uso de sintones moleculares, que son unidades estructurales formadas por interacciones intermoleculares cuya función es mantener las características estructurales de los sólidos del sistema

cristalino. Dentro de estas unidades estructurales se encuentran dos clasificaciones, homosintones que son unidades formadas mediante dos grupos funcionales idénticos como ácido carboxílico-ácido carboxílico, piridina-piridina, amida-amida, y los heterosintones compuestos por grupos funcionales distintos como ácido carboxílico-piridina, ácido carboxílico-amida, piridina-amida etc (**Figura 8**).⁴¹

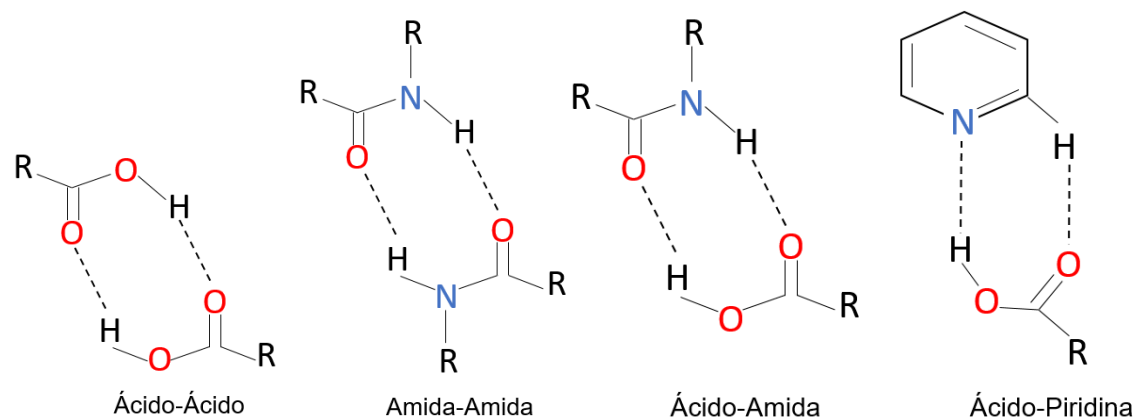


Figura 8. Sintones supramoleculares más comunes en la formación de cocristales.

Selección de coformadores

La selección del coformador es una parte vital para el proceso de diseño de un cocrystal farmacéutico. El centro de datos cristalográficos de Cambridge (CCDC por sus siglas en inglés) es el repositorio mundial de estructuras cristalinas orgánicas y metal-orgánicas, utilizada también para la detección de cocristales priorizando al o los coformadores que se pueden usar con el IFA de interés para observar la formación de sintones moleculares.⁴²⁻⁴³ A menudo los enlaces de hidrógeno son comúnmente utilizados para el diseño de cocristales debido a su fuerza, direccionalidad y la frecuencia para interactuar con otras moléculas orgánicas.⁴² En 1991, Etter propuso 3 reglas para formar enlaces de hidrógeno preferidos: todos los buenos donadores y aceptores de protón se utilizan en los enlaces de hidrógeno, los enlaces de hidrógeno intramoleculares en el anillo de seis miembros se forman con preferencia a los enlaces de hidrógeno intermoleculares y por último los mejores donadores y aceptores de protones que quedan después de la formación de enlaces de hidrógeno intramoleculares forman enlaces de hidrógeno intermoleculares entre sí.⁴⁴ Es la fuerza de los enlaces de hidrógeno entre los coformadores que

determinan la formación de sintones. Es posible predecir y clasificar la posibilidad de formación de sintones que ocurren entre los diferentes grupos funcionales mediante estas reglas.⁴²

2.5.2. Propiedades fisicoquímicas

Los cocristales se utilizan para mejorar las propiedades fisicoquímicas, particularmente la solubilidad. Un porcentaje elevado de nuevas entidades químicas presentan baja solubilidad.²² Los cocristales le dan un enfoque alternativo para mejorar dichas propiedades de los fármacos.⁴⁵

La solubilidad es definida como la concentración de la sustancia en la solución que se encuentra en equilibrio químico con el sólido no disuelto a una temperatura y presión específica.⁴⁵ La solubilidad es un parámetro importante para que el fármaco alcance la concentración en la circulación sistémica y lograr el efecto farmacológico, un ejemplo son los cocristales de curcumina donde se observó una mejora en la solubilidad con respecto al fármaco.⁴⁵

Otras propiedades como punto de fusión, cristalización, sublimación, descomposición y transición en el estado son propiedades físicas muy importantes que están asociadas con una mejora en la solubilidad además de proporcionar datos para establecer condiciones de fabricación y almacenamiento, y para descartar la formación de otras fases sólidas cristalinas como solvatos o hidratos.⁴⁶⁻⁴⁷

2.5.3. Propiedades biofarmacéuticas

La efectividad terapéutica de un medicamento depende de la forma farmacéutica para administrar el IFA y que llegue al sitio de acción en un tiempo y una cantidad necesaria para lograr el efecto farmacológico deseado.⁴⁸ La propiedad de una forma farmacéutica se considera como disponibilidad farmacológica, sin embargo, no es posible medir la concentración del fármaco en el sitio de acción, estas mediciones regularmente se realizan en la circulación sistémica sanguínea, es decir, la biodisponibilidad hace referencia a la velocidad y el grado en que el fármaco alcanza la circulación sistémica para llegar al sitio de acción y logra el efecto farmacológico deseado.⁴⁸ La mayoría de los medicamentos en formas farmacéuticas sólidas se

desintegran y disgregan de manera rápida, uno de los procesos más importantes que limita la absorción es la velocidad de disolución y la velocidad de penetrar el IFA a través de la membrana biológica.⁴⁸ La disolución es un factor determinante de la velocidad de los fármacos hidrófobos y poco solubles como ABZ.⁴⁸ Para fármacos hidrofílicos con alta solubilidad, la disolución es alta y el paso determinante de la velocidad en la absorción es la velocidad de permeación a través de la membrana biológica.⁴⁸ La inestabilidad de un fármaco durante la absorción puede afectar su biodisponibilidad.⁴⁸

Una vez que se obtiene un cocrystal farmacéutico con resultados prometedores en la etapa de pre-formulación, el siguiente paso es la evaluación biofarmacéutica del sólido cristalino mediante pruebas de disolución. Las pruebas de disolución a pequeña escala y utilizadas para observar el comportamiento diferente de los cocrystal con respecto al IFA, son pruebas importantes debido a que proporcionan información útil y relevante para observar la transformación de los cocrystal y la absorción del principio activo.⁴⁹ A medida que el IFA en el cocrystal se libera en el medio de disolución, se forma una solución sobresaturada con la concentración máxima posible del compuesto, si se mantiene constante, se espera que esta concentración mejorada del IFA conduzca a una mayor absorción oral.⁵⁰

La disolución de un fármaco contenido en un medicamento está influenciada no solo por sus propiedades fisicoquímicas, sino también por las propiedades de los excipientes o aditivos presentes en la formulación.⁵¹ Los excipientes presentes en la formulación pueden impactar en la biodisponibilidad del IFA mediante interacciones fisicoquímicas, estas pueden ser fármaco-excipiente o excipiente-excipiente. Es de suma importancia comprender estas interacciones para poder seleccionar excipientes adecuados para obtener éxito en la formulación.⁴⁸

El fenómeno de supersaturación se ilustra en la **Figura 9** con el efecto “*spring-parachute*” (resorte-paracaídas), se observa el efecto “resorte” cuando un sistema supersaturado se forma por una rápida disolución de una forma de alta energía del IFA, generando una concentración mayor que la del IFA puro.⁵²⁻⁵³ Hay varias opciones de formulación que pueden generar supersaturación, por ejemplo:

dispersiones sólidas, formulaciones a base de lípidos, también formas sólidas de alta energía que proporcionan una disolución acelerada como polimorfos, fases amorfas, sales y cocristales pueden generar supersaturación.⁵³

Los sistemas supersaturados son termodinámicamente inestables, una vez que se genera la supersaturación, las moléculas del fármaco que se encuentran disueltas tienden a precipitar (cristalizar) a su forma más estable, por lo tanto, la concentración del fármaco presente disminuiría rápidamente antes de alcanzar la concentración para lograr una mayor absorción.⁵³ Para lograr una mayor absorción se debe mantener el estado supersaturado por un tiempo o periodo suficiente, esto puede requerir una inhibición temporal de la precipitación mediante el uso de excipientes farmacéuticos u otros componentes que interfieren con la nucleación o con el crecimiento cristalino y estabilizan el estado supersaturado, a este efecto se denomina “paracaídas”.⁵³

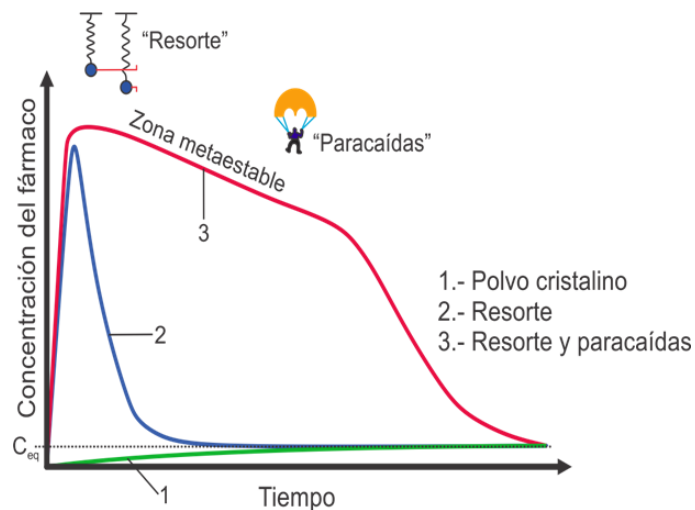


Figura 9. Efecto “resorte-paracaídas” para mejorar la solubilidad frente a fármacos con problemas de solubilidad.⁵⁴

Para evaluar el fenómeno de supersaturación en pruebas de disolución se debe llevar a cabo bajo condiciones *no-sink*, mediante estudios *in vitro*. La supersaturación requiere determinar las concentraciones del fármaco en el medio de disolución en función del tiempo, es crucial determinar el medio de disolución y las concentraciones aplicadas para exceder la solubilidad del fármaco en el medio y evaluar la supersaturación.⁵³ La principal diferencia comparada con la prueba de

disolución intrínseca en condiciones *sink* se basa en la liberación rápida del fármaco, lo cual representa un problema debido a que la disolución se alcanza en pocos minutos. Esta prueba mide la velocidad de disolución del IFA, pH y fuerza iónica del medio de disolución además permite una mejor correlación *in vivo*.^{53, 55-56}

Se han investigado diversas clases de excipientes como inhibidores de la precipitación para ser incluidos en los SDDS (sistemas de administración de fármacos supersaturados por sus siglas en inglés), para seleccionar a los posibles inhibidores de la precipitación se evalúa la precipitación en presencia y ausencia de los inhibidores candidatos. También se determina el tiempo de inducción para precipitar y se monitorea el perfil concentración-tiempo en generación de supersaturación, generalmente estos excipientes son polímeros inhibidores de la precipitación.⁵³ La potencia de los polímeros para estabilizar la supersaturación ha sido ampliamente estudiada.⁵³

2.6. Fases sólidas cristalinas de ABZ

En el año 2011, Yoval-Martínez y colaboradores obtuvieron y caracterizaron tres nuevas fases sólidas de ABZ utilizando ácido oxálico, ácido *L*-málico y ácido 2,5-dihidroxibenzoico como formadores de cocrystal (**Tabla 3**) por el método de molienda asistida usando acetona, acetonitrilo y agua como disolventes.⁵⁷

Tabla 3. Coformadores usados para la síntesis de nuevas fases sólidas cristalinas de ABZ.

COFORMADOR	ESTEQUIOMETRÍA ABZ:COFORMADOR
Ácido oxálico dihidratado	1:1
Ácido <i>L</i> -málico	1:1
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	1:1

La estabilidad física de las nuevas fases sólidas a pH 1.2, 4.5 y 6.8 mostró que las fases de ABZ-ácido oxálico y ABZ-ácido 2,5-dihidroxibenzoico sufren transformación física al contacto con las soluciones acuosas, sin embargo, para la fase ABZ-ácido *L*-málico se transforma rápidamente a las materias primas de partida.

El trabajo de investigación de Yoval-Martinez incluyó la evaluación de la disolución intrínseca (**Figura 10**), las tres fases sólidas aumentaron la velocidad de disolución intrínseca del ABZ.⁵⁷

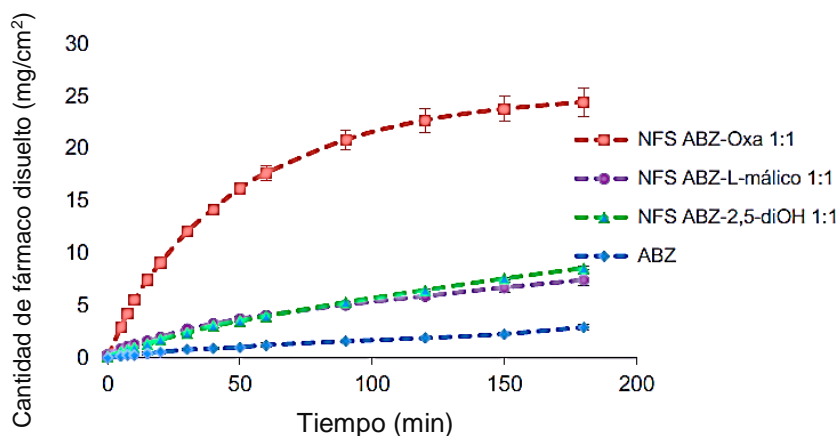


Figura 10. Perfil de disolución intrínseca de ABZ y las nuevas fases sólidas en una solución de HCl 0.1 N pH 1.2 a 100 rpm y 37°C.⁵⁷

Por otro lado, G. S. Paulekuhn y colaboradores obtuvieron cuatro sales de ABZ: clorhidrato de ABZ, mesilato de ABZ, sulfato de ABZ y tosilato de ABZ, utilizando ácido clorhídrico, ácido metanosulfónico, ácido sulfúrico y ácido para-toluenosulfónico. Las sales se caracterizaron mediante DRXP, DSC, DVS, TGA, FT-IR, RMN, cromatografía iónica, microscopía electrónica de barrido, distribución del tamaño de partícula, medición del área superficial mediante la técnica B.E.T (Brunauer, Emmett y Teller), valoración volumétrica de Karl Fischer y espectroscopía raman. Se determinaron sus propiedades biofarmacéuticas como los perfiles de disolución (**Figura 11**) en diferentes medios acuosos como agua, buffer de acetatos pH 4.5 y medio de ácido clorhídrico pH 1.2. Como se observa, el ABZ en su forma base presentó una velocidad y un grado de disolución más bajo comparado con las sales de ABZ ya que exhiben mejores propiedades de disolución. En agua y buffer acetatos que se asemejan las condiciones del sistema gastrointestinal (**Figuras 11 a y 11 b**), se observó un porcentaje disuelto muy bajo debido a la hidrólisis de las sales en el estudio, por lo tanto el uso de sales no podría ser suficiente para asegurar una buena disolución en el estómago.⁵³

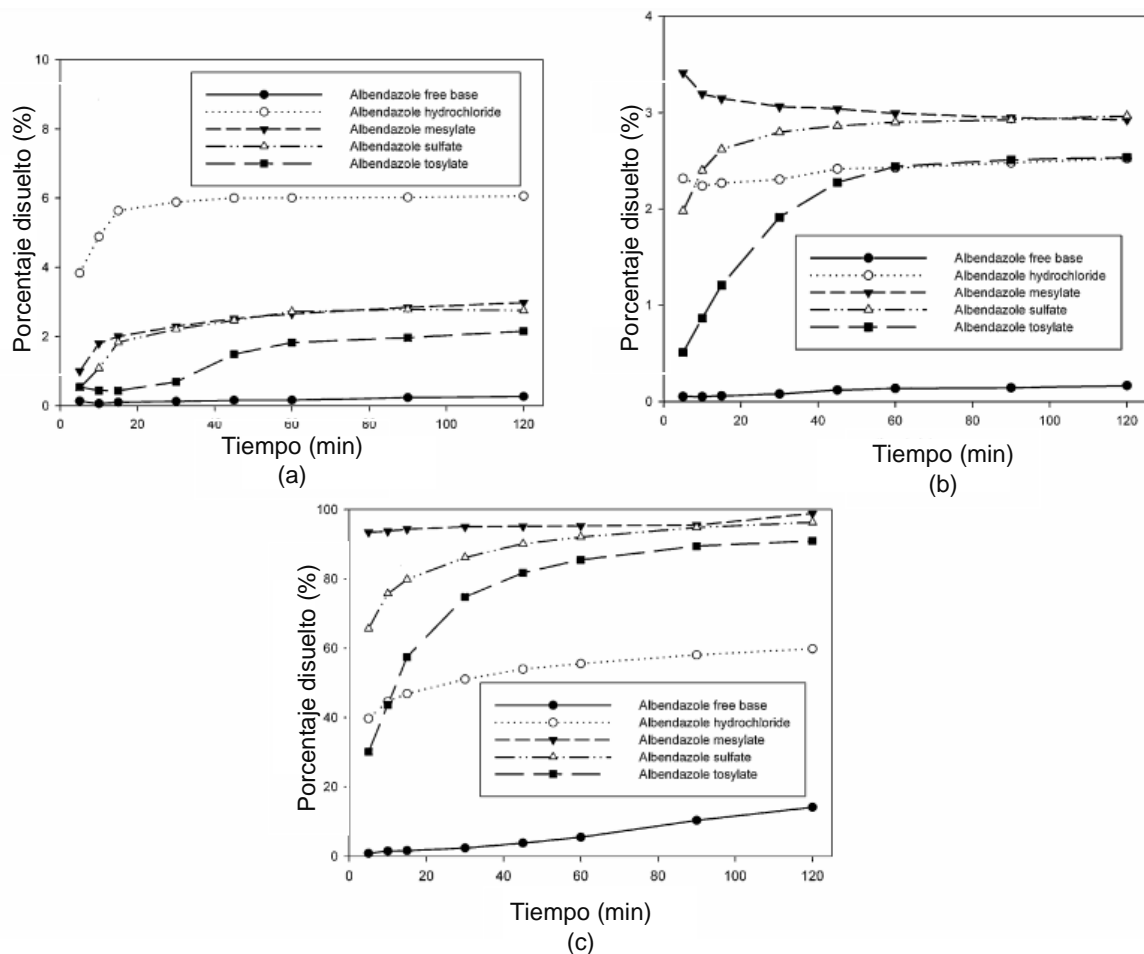


Figura 11. Perfiles de disolución de ABZ y las sales de ABZ en agua (a), buffer de acetatos pH 4.5 (b) y en medio ácido clorhídrico pH 1.2 (c).⁵³

Adicionalmente, en el grupo de investigación del Dr. Jesús Rivera Islas, la M.F. Luz Elena Viguera Dávila obtuvo una nueva fase sólida de ABZ con el coformador ácido 2,6-dihidroxibenzoico y se caracterizó por DRXP, IR, TGA y DSC. Sin embargo, no se determinaron sus propiedades biofarmacéuticas.

En el año 2016, el grupo de investigación de Kourentas Alexandors evaluó el impacto de los excipientes en una sal de ABZ (sulfato de ABZ) utilizando un sistema de transferencia gastrointestinal biorrelevante, este sistema demostró que el sulfato de ABZ en presencia de HPMC E5 presenta un aumento mínimo en las concentraciones de ABZ en presencia de HPMC E5 en el intestino delgado (**Figura 12**).⁵⁸

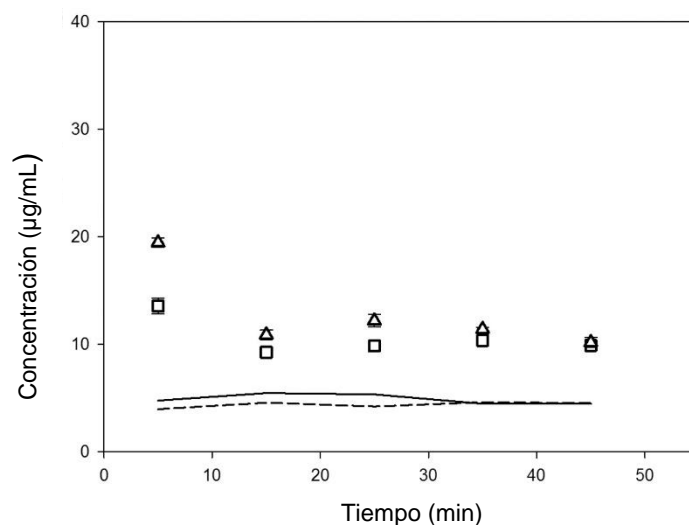


Figura 12. Valores para las concentraciones de ABZ en suspensión (cuadrados) y valores de solubilidad de equilibrio (línea), valores para las concentraciones de ABZ en una suspensión en presencia de HPMC (triángulos) y valores de solubilidad al equilibrio (línea punteada).⁵⁸

Recientemente, el grupo de investigación de A. Nangia informó la obtención de nuevas sales e hidratos de sal de ABZ (**Figura 13**) usando benceno y ácido *p*-toluenosulfónico, así como ácidos carboxílicos como ácido oxálico, ácido maleico, ácido *L*-tartárico, ácido 2,6-dihidroxibenzoico y ácido, 2,4,6-trihidroxibenzoico, estas nuevas fases se obtuvieron por el método de cristalización, fueron confirmadas por difracción de rayos X de monocristal y resonancia magnética nuclear de nitrógeno (^{15}N ss-NMR).⁵⁹

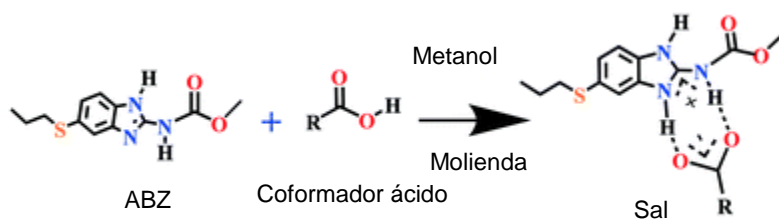


Figura 13. Ejemplificación de la formación de una sal.⁵⁹

En la **Figura 14** se observan las interacciones presentes en la formación de la sal de ABZ con ácido 2,6-dihidroxibenzoico, la cual se establece mediante los cationes de ABZ que se ensamblan con el carboxilato del ácido 2,6-dihidroxibenzoico por enlaces de hidrogeno $\text{N-H} \cdots \text{O}^-$.

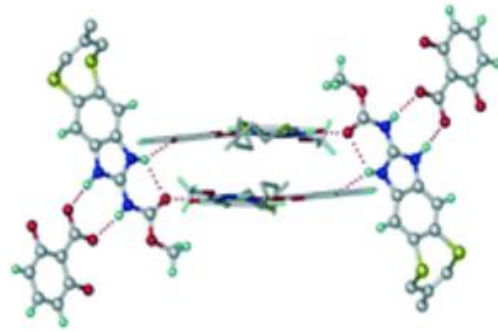


Figura 14. Unidad básica presente en la sal de ABZ-ácido 2,6-dihidroxi benzoico.⁵⁹

Otra investigación reciente sobre una sal farmacéutica soluble, el clorhidrato de ABZ demostró a través de estudios de solubilidad (**Figura 15**), que la sal es significativamente más soluble que el fármaco en su estado puro. El clorhidrato de ABZ en solución acuosa (pH 6.2, 37° C) mostró un aumento de 30 veces con respecto al ABZ en su forma comercial I y 15 veces para ABZ en su forma II. Los resultados también revelaron la mayor solubilidad del clorhidrato de ABZ en el fluido gástrico simulado a pH 1.2, 37° C (*SGF*, por sus siglas en inglés) debido al estado ionizado de la molécula, sin embargo, en el fluido intestinal simulado a pH 6.8, 37° C (*SIF* por sus siglas en inglés) se determinó una menor solubilidad de la sal.⁶⁰

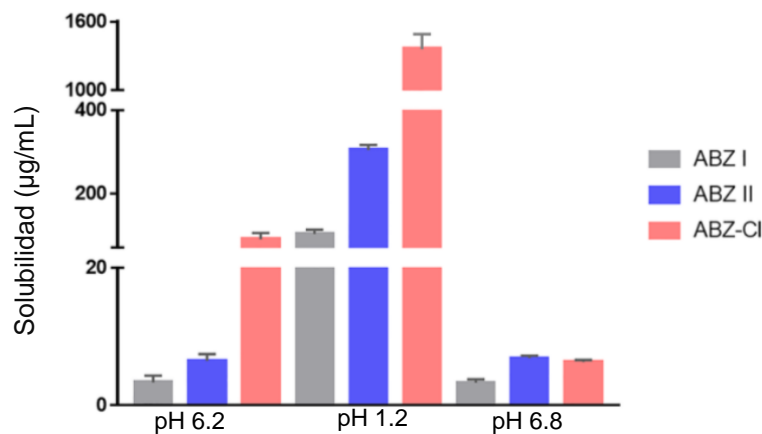


Figura 15. Solubilidad de ABZ forma I, ABZ forma II y clorhidrato de ABZ en medio acuoso (pH 6.2, 37° C), medio *SGF* (pH 1.2, 37° C) y medio *SIF* (pH 6.8, 37° C).⁶⁰

Además, el grupo de investigación de Chunhui Hu desarrolló una formulación de tabletas de clorhidrato de ABZ, la cual fue comparada con la formulación de tabletas

de ABZ comercial mostrando el efecto “resorte-paracaídas” (**Figura 16**) mediante una prueba de disolución en condiciones de pH gástrico (“resorte”) y la sobresaturación del fármaco a pH intestinal (“paracaídas”) con la ayuda de HPMC-AS.⁶¹

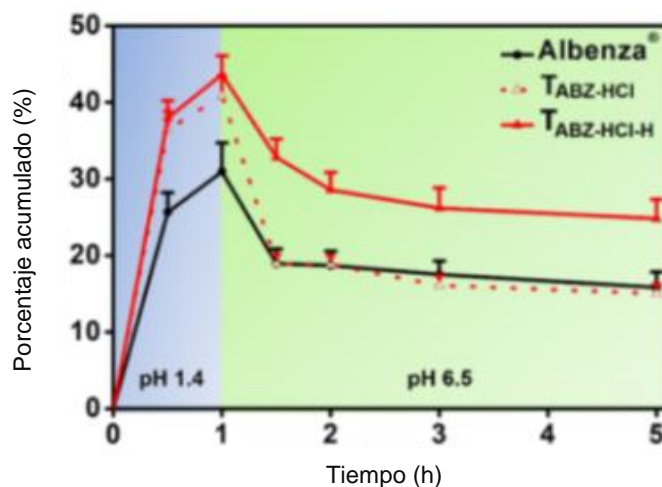


Figura 16. Disolución de las dos formulaciones de ABZ comercial (Albenza®) y clorhidrato de ABZ en pH 1.4 y 6.5.⁶¹

Finalmente, un trabajo informó el desarrollo de una formulación de ABZ y sales biliares con taurocolato de sodio (STC, por sus siglas en inglés) y glicolato de sodio (SGC) para una vía de administración pulmonar, ambas formulaciones se caracterizaron y se comparó el tamaño de partícula, tensión superficial, morfología, densidad de polvo, porosidad y propiedades aerodinámicas de ambas formulaciones y demostró así que ambas formulaciones son estrategias atractivas para tratar enfermedades parasitarias que afecten el sistema respiratorio verificando mediante pruebas de disolución in-vivo y relacionarlos con los estudios in-vitro.⁶²

Con base en estos antecedentes y debido a la baja solubilidad acuosa que presenta ABZ y que esta propiedad limita en gran medida su biodisponibilidad, este trabajo de investigación abordará el uso de nuevas fases sólidas de ABZ en combinación con excipientes poliméricos para mejorar las propiedades biofarmacéuticas de este fármaco.

3. JUSTIFICACIÓN

La baja absorción oral de los bencimidazoles antihelmínticos es una desventaja para el tratamiento eficaz de infecciones parasitarias y conlleva al uso de formas de dosificación con un alto contenido de fármaco. Se sabe que un porcentaje elevado de medicamentos en el mercado que se encuentran en la clase II y IV del SCB como ABZ y presentan limitaciones como una baja solubilidad acuosa provocando una baja biodisponibilidad. Las estrategias para mejorar las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas se basan en la formación de nuevas fases sólidas cristalinas como los cocristales farmacéuticos, y en el grupo de investigación se han desarrollado nuevas formas cristalinas de ABZ. En este trabajo de investigación se planteó continuar con la investigación realizando la evaluación biofarmacéutica de nuevas formas cristalinas de ABZ en combinación con el ácido 2,5-dihidroxibenzoico y ácido 2,6-dihidroxibenzoico. Adicionalmente, las sales y cocristales farmacéuticos pueden comportarse como fases de rápida disolución y este comportamiento puede promover la precipitación de la fase menos soluble del fármaco. Este fenómeno representa un reto en el campo farmacéutico, dado que, la ventaja de solubilización se ve afectada. Por consiguiente, este trabajo de investigación plantea el estudio de excipientes poliméricos de uso farmacéutico como potenciales inhibidores de la precipitación de albendazol a partir de la disolución de las nuevas fases sólidas propuestas aquí. En particular, se buscó optimizar las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas de ABZ para facilitar el proceso de formulación y eventualmente mejorar su biodisponibilidad.

4. HIPÓTESIS

El uso de polímeros farmacéuticos disueltos en el medio de disolución mejorará el proceso de disolución de las nuevas fases sólidas de albendazol y mantendrá un efecto supersaturado de este fármaco bajo condiciones de disolución *no-sink*.

5. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el desempeño a través de pruebas de disolución de preformulaciones de las nuevas fases sólidas de ABZ en medios farmacéuticamente relevantes conteniendo polímeros de uso farmacéutico.

Objetivos específicos

- Reproducir la síntesis de las fases sólidas cristalinas de ABZ en combinación con ácido 2,5-dihydroxibenzoico y ácido 2,6-dihydroxibenzoico por el método de formación de pasta y/o molienda asistida por disolvente.
- Caracterizar las fases sólidas por espectroscopía de infrarrojo, termogravimetría, calorimetría diferencial de barrido, difracción de rayos-X de polvos y resonancia magnética nuclear.
- Escalar hasta 1 gramo las fases sólidas de ABZ.
- Evaluar la estabilidad física de las materias primas y las fases sólidas cristalinas en condiciones de humedad y temperatura controlada.
- Seleccionar un polímero inhibidor de la precipitación de ABZ por el método de “*solvent shift*”.
- Validar un método de cuantificación para ABZ por cromatografía líquida de alta resolución.
- Realizar experimentos de disolución de polvos (bajo condiciones *no-sink*) para ABZ y las fases sólidas cristalinas en presencia y ausencia de un polímero inhibidor de la precipitación en medio acuoso.

6. MATERIALES Y EQUIPOS

6.1. Materiales

Para el desarrollo de esta investigación se usaron vasos de precipitado de diferentes volúmenes (10, 50, 250, 500 y 1000 mL), matraces volumétricos de 5 y 10 mL, micropipetas, probetas, jeringas de plástico, agitadores magnéticos, pipetas Pasteur, filtros Whatman No. 3, termómetro, swinnex de 3 cm, espátulas, matraz bola, celda de cuarzo para espectrofotómetro (45 mm x 12.5 mm), viales de vidrio con tapa de rosca, jeringas de plástico de 3 y 5 mL.

6.2. Reactivos y disolventes

El ingrediente farmacéutico activo albendazol y los reactivos utilizados para la formación de las NFS como el ácido 2,5-dihidroxibenzoico 98%, el ácido 2,6-dihidroxibenzoico 98% fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. Los reactivos usados en la preparación los medios de disolución como el fosfato dibásico de sodio, fosfato monobásico de potasio, fosfato monobásico de amonio y acetato de sodio anhidro fueron de grado analítico J.T.Baker®. Los polímeros para estudiar la supersaturación de ABZ, tales como, HPMC, Kolliphor® P188, Kolliphor® P407 y Kollidon® 25 se adquirieron de Sigma-Aldrich®. Methocel™ A15 MC fue donado por COLORCON®. Los disolventes grado HPLC como acetona y metanol se adquirieron de J.T.Baker®. El agua desionizada y destilada fueron obtenidas dentro del laboratorio de investigación usando un equipo destilador de agua ELGA PURELAB.

6.3. Instrumentación

Para la obtención de las NFS se utilizó una balanza analítica OHAUS modelo Adventurer™, una parrilla de agitación y el molino Retsch MM400. Los patrones de difracción de rayos-X de polvos se obtuvieron con los instrumentos Bruker D8-Advance (radiación Cu-K α $\lambda=1.5406$ Å) y Bruker D2 PHASER (radiación Cu-K α $\lambda=1.54184$ Å). Los datos se colectaron a temperatura ambiente en un rango de $2\theta=5-45^\circ$ (tamaño de paso = 0.0303°) y fueron analizados posteriormente en el software OriginPro®.

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron con el equipo Nicolet 6700 empleando la técnica de ATR (Attenuated Total Reflection por sus siglas en inglés). Los análisis por calorimetría se llevaron a cabo en los equipos TA Instruments Q-50 y SDT Q2000 (Facultad de Bioanálisis, Universidad Veracruzana) respectivamente, en un intervalo de temperatura de 25-450 °C en una atmósfera de N₂.

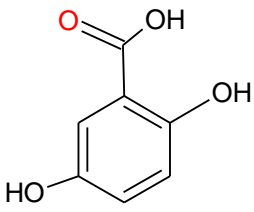
Los espectros de resonancia magnética nuclear de sólidos (SS-NMR) fueron colectados en un espectrométero Bruker AVANCE III HD 500MHz (11.74T, 125.758 MHz para núcleos de ¹³C). Para un espectro típico de CP-MAS se emplearon rotores de ZrO₂ de 4mm y una velocidad de rotación de muestra de máximo 10 kHz, usando como estándar externo los desplazamientos químicos del adamantano.

Los estudios de estabilidad indicativa se realizaron bajo las siguientes condiciones y equipos en las instalaciones de Laboratorios Senosiain S.A. de C.V.: a) 40 °C calor seco (0% HR) en cámara Revco Incubator Chamber RI-23-1060-ABA, b) 50 °C calor seco (0% HR) en cámara Rios Rocha Chamber E0-51, y c) 40 °C con 75% de humedad relativa en cámara Binder Climatic Chamber IP 20. Para evaluar la estabilidad de fase mediada por la solución se utilizó el recirculador de agua SD07R-20-AA1B POLYSCIENSE conectado a un baño de recirculación.

El espectro de absorción UV-vis del ABZ se adquirió usando un espectrofotómetro Uv-vis VARIAN Cary® 50 Scan. La validación del método analítico se realizó usando el instrumento HPLC Agilent 1260 Infinity II. La disolución de polvos se llevó a cabo en disolutor de polvos Reaction Station J-KEM® Scientific. Para la preparación de las soluciones empleadas en esta investigación se utilizó instrumentación como el potenciómetro Thermo Scientific, sonicador Branson 2800 y parrillas de calentamiento.

Ácido 2,5-dihidroxibenzoico

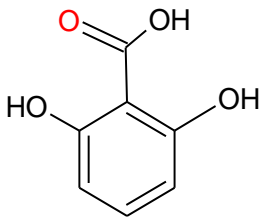
Fórmula	C ₇ H ₆ O ₄
Peso molecular	154.12 g/mol
Punto de fusión	199.5 °C
pKa	3.01



The chemical structure shows a benzene ring with a carboxylic acid group (-COOH) at the top position (C1). Hydroxyl groups (-OH) are attached to the ring at the 2 and 5 positions relative to the carboxyl group.

Ácido 2,6-dihidroxibenzoico

Fórmula	C ₇ H ₆ O ₄
Peso molecular	154.12 g/mol
Punto de fusión	165 °C
pKa	1.30



The chemical structure shows a benzene ring with a carboxylic acid group (-COOH) at the top position (C1). Hydroxyl groups (-OH) are attached to the ring at the 2 and 6 positions relative to the carboxyl group.

6.4. Preparación de soluciones

Hidróxido de sodio 5 M

99 g de NaOH en 500 mL de agua desionizada.

Buffer de fosfatos pH 6.8, 0.02 M

3.55 g de fosfato dibásico de sodio y 3.40 g de fosfato monobásico de potasio en 1000 mL de agua desionizada.

Buffer de fosfato de amonio pH 6.0, 0.02 M

0.5 g de fosfato monobásico de amonio disueltos en 1 L de agua desionizada.

Buffer de acetatos pH 4.5, 0.02 M

6.3 g de acetato de sodio anhidro en 1000 mL de agua desionizada.

Ácido clorhídrico pH 1.2, 0.1 M

8.3 mL de HCl al 37% disueltos en 1 L de agua desionizada.

7. METODOLOGÍA

7.1. Síntesis de las NFS

7.1.1. Síntesis de la fase sólida ABZ-25DHBA mediante formación de pasta (*slurry*)

La síntesis de la nueva fase sólida ABZ-25DHBA se realizó por el método de formación de pasta. En un vial se colocaron cantidades estequiométricas 1:1 de ABZ (63.29 mg) y 25DHBA (36.7 mg), seguido se adicionaron 100 μ L de acetona. El vial se colocó en agitación a 1500 rpm durante 2 horas. La formación de la nueva fase sólida se caracterizó por difracción de rayos-X de polvos.

7.1.2. Síntesis de las fases sólidas de ABZ-26DHBA mediante molienda mecánica

La nueva fase sólida ABZ-26DHBA se obtuvo usando el método de molienda asistida con disolvente. Se utilizó un molino Retsch MM400, se colocaron cantidades estequiométricas 1:1 de ABZ (63.29 mg) y 26DHBA (36.7 mg) en contenedores de acero inoxidable, se colocó un balón de acero inoxidable en los contenedores y se añadieron 100 μ L de acetona. La molienda se llevó a cabo usando una mezcla física en un tiempo de 30 min a 25 Hz. Las muestras obtenidas después de la molienda se analizaron por DRXP.

7.1.3. Escalamiento de la fase sólida ABZ-25DHBA mediante *slurry*

El escalamiento a 1 g de la nueva fase sólida ABZ-25DHBA se llevó a cabo adicionando cantidades estequiometrias de fármaco (632.9 mg) y formador de cocrystal (367.7 mg) estequiometría 1:1 en un matraz bola y posteriormente se agregaron 1000 μ L de acetona, se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente durante 2 horas, el sólido resultante se analizó por difracción de rayos-X de polvos.

7.1.4. Escalamiento de la fase sólida ABZ-26DHBA mediante molienda mecánica

El escalamiento de la nueva fase sólida ABZ-26DHBA se llevó a cabo en contenedores de acero inoxidable del molino Retsch® MM400, se colocaron cantidades estequiométricas de ABZ (632.9 mg) y el formador de cocrystal (367.7 mg) estequiometría 1:1. Posteriormente, se adicionaron 1000 µL de acetona establecido para cada contenedor y la molienda se mantuvo por 30 min a 25 Hz. La caracterización de la nueva fase sólida se llevó a cabo por difracción de rayos-X de polvos.

7.2. Caracterización física

7.2.1. Difracción de rayos-X de polvos (DRXP)

Las materias primas y las fases sólidas obtenidas se caracterizaron por la técnica de DRXP, se colocó una pequeña porción en el porta muestras y se analizó en el equipo Bruker AX3 D8-Advance con detector LynxEye operando a 40 Kv con radiación Cu-K α (1.5406 Å), donde el haz de luz se enfoca en la muestra y la imagen se captura. Los datos se colectaron a temperatura ambiente en un rango $2\theta=5-45^\circ$. También se hizo uso del equipo Bruker D2 PHASER operado a 30 Kv con radiación Cu-K α ($\lambda= 0.15418$ nm).

7.2.2. Espectroscopía infrarroja (IR)

El análisis se realizó en un espectrofotómetro con un espectro 4000-500 cm^{-1} en un equipo Nicolet 6700 con un accesorio de reflexión total atenuada (ATR por sus siglas en inglés) con sonda de diamante, se colocó una pequeña porción de la muestra sobre una base que está incluida en el equipo.

7.2.3. Análisis termogravimétrico (TGA)

Las mediciones se realizaron utilizando el instrumento TGA Q50 TA Instruments (Universidad Veracruzana, Facultad de Bioanálisis). Se colocaron muestras de aproximadamente 3 mg en microbalanza de platino y se analizaron en el 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.

7.2.4. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El análisis DSC se llevó a cabo utilizando el instrumento DSC Q2000 TA Instruments (Universidad Veracruzana, Facultad de Bioanálisis). Se colocaron muestras de aproximadamente 3 mg en recipientes de aluminio y se analizaron en el 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.

7.2.5. Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido (RMN ¹³C)

Se analizaron muestras sólidas en el equipo Bruker AVANCE III HD 500 MHz (11.74T) equipado con una sonda de sólidos multinuclear operada a 10 KHz. En cada experimento 200 mg del sólido se colocaron en un rotor de 4 mm de diámetro."Los experimentos de ¹³C se llevaron a cabo con la secuencia Cross-Polarization Magic Angle Spinnig (CPMAS, por sus siglas en inglés) y se adquirieron con 1200-3000 scans, con un tiempo de contacto de 1.5 ms y un tiempo de recobro 5 s a 100 MHz. Glicina se utilizó como estándar externo para la calibración de los desplazamientos químicos.

7.3. Evaluación biofarmacéutica

7.3.1. Estabilidad indicativa

Para esta prueba se usaron 30 mg de cada fase sólida (ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA) así como las materias primas (ABZ, 25DHBA y 26DHBA) correspondientes para ser expuestos durante 1 mes en diversas condiciones de almacenamiento, en una cámara con humedad controlada. Las condiciones fueron T=40°C/0% HR, T=50°C/0%HR y T=40°C/75% HR, este estudio se realizó en Laboratorio Senosiain S. A de C.V con los siguientes equipos y condiciones: a) 40 °C calor seco, en la cámara Revco Incubator Chamber RI-23-1060-ABA, b) 50 °C calor seco, en la cámara Rios Rocha Chamber E0-5 y c) 40 °C 75% HR, en la cámara Binder Climatic Chamber IP 20. Una vez terminado el tiempo de incubación,

las muestras fueron analizadas en los dos equipos de DRXP mencionados anteriormente, para monitorear cambios en los patrones de difracción con respecto a los patrones de referencia.

7.3.2. Transformación de fase mediada por la solución

Para conocer la estabilidad física de las nuevas fases sólidas y las materias primas en contacto con soluciones acuosas, se probaron distintos medios acuosos: ácido clorhídrico pH 1.2, buffer de acetatos pH 4.5, buffer de fosfatos pH 6.8. 200 mg de cada sólido se colocaron en viales de vidrio y seguido se adicionaron 3 mL de los distintos medios acuosos. Las muestras se mantuvieron en agitación y se tomaron muestras a los 2 ,5 ,10,15 ,20 ,30 ,45 min, 1 ,3 ,6 ,12 y 24 horas, las muestras fueron filtradas y secadas a temperatura ambiente para su análisis por DRXP. Los experimentos se realizaron por triplicado.

7.3.3. Selección del excipiente polimérico

Para seleccionar un polímero que inhiba la precipitación de ABZ en un medio acuoso, se usó el método de *solvent shift* propuesto por Childs⁶³ y adaptado en el grupo de investigación.⁶⁴ Cinco polímeros candidatos (METHOCEL™ A15, KOLLIPHOR® P407, KOLLIDON® 25, Kolliphor® P188 y HPMC) fueron probados como inhibidores de la precipitación de ABZ. Para esta prueba se siguió la estrategia experimental ilustrada en la **Figura 17**. Se adicionaron un total de 12 alícuotas de 10 µL de una solución stock de ABZ a 0.6 mg/mL en dimetilsulfóxido (DMSO) en 3 mL de buffer de fosfatos pH 6.8 en ausencia y presencia de polímero previamente disuelto en 0.5% p/v bajo agitación constante. La turbidez del medio provocado por la precipitación de partículas del fármaco se determinó por espectrofotometría UV-vis en intervalos de 5 min en un rango de 200 a 600 nm. Los experimentos se llevaron a cabo por triplicado.

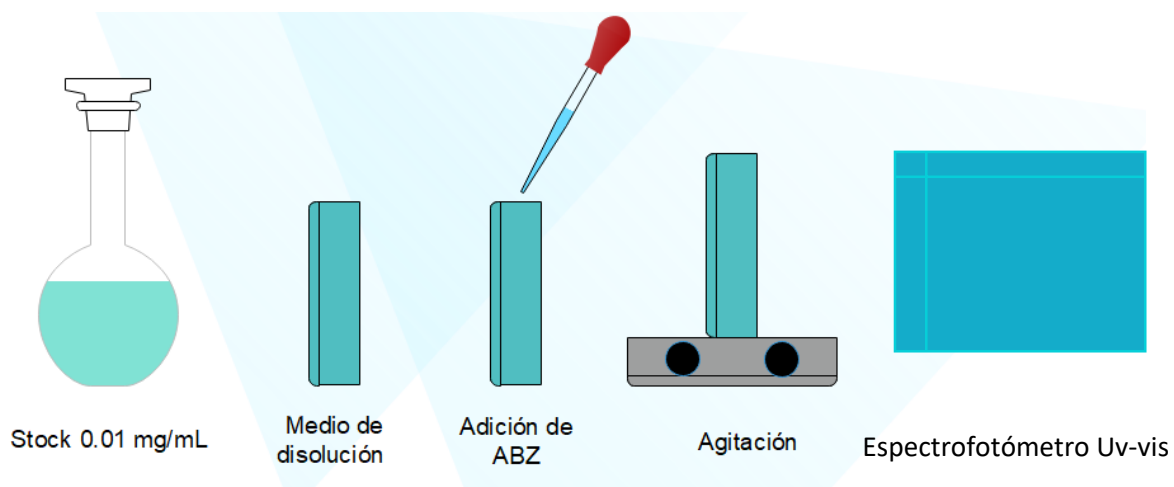


Figura 17. Representación de la metodología empleada para la selección del polímero por la técnica de *solvent shift*.

7.3.4. Validación del método de cuantificación

Para la cuantificación de ABZ se calificó un método lineal para la cuantificación de ABZ por cromatografía líquida, dado que, por espectrofotometría Uv-vis existe la interferencia por el coformador (25DHBA y 26DHBA) en la zona de cuantificación del ABZ (**Anexo 6**).

Se desarrolló un método adaptado a uno descrito a la literatura de la farmacopea argentina⁶⁵ para la cuantificación de ABZ mediante cromatografía líquida de alta resolución (*HPLC* por sus siglas en inglés), desarrollado en un cromatógrafo Agilent Technologies 1260 infinity II.

Preparación de la curva de calibración: se preparó una solución stock de la mezcla física ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA a 0.1 mg/mL en metanol-solución de ácido clorhídrico 0.1 M. Se prepararon las soluciones para la curva de cuantificación mediante diluciones para obtener concentraciones de 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10 y 15 µg/mL.

Equipo y condiciones cromatográficas: El sistema se integró por una bomba cuaternaria G7111B 1260 Quant Pump, N° Serie DEAEW01966, detector G71117A 1290 DAD FS, N° Serie DEBAV01408, Automuestrador G7129A 1260 Vialsampler,

N° Serie DEAEQ12457, horno G7116A 1260 MCT, N° Serie DEAED05103 y viales de vidrio de 3 mL con tapa y posta de plástico. La separación cromatográfica se efectuó en una columna C18 VSK120156. La fase móvil consistió en una mezcla de metanol-PBS pH 6.0 en una proporción 75:25 v/v para ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA. La velocidad de flujo fue de 1 mL/min, con un volumen de inyección de 20 µL y una temperatura de columna de 40°C. La cuantificación de ABZ fue a 292, nm.

7.3.5. Disolución de polvos bajo condiciones no-*sink*

Para el estudio de disolución de polvos de ABZ y las nuevas fases sólidas ABZ-25DHBA 1:1 y ABZ-26DHBA 1:1 bajo condiciones no-*sink*, se colocaron 200 mg de fármaco o las nuevas fases sólidas en tubos de vidrio de 50 mL, seguido se adicionaron 10 mL de medio de disolución previamente atemperado a 37 °C. Se tomaron muestras de 1 mL a diferentes tiempos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30, 45, 60 y 90 minutos) y se filtraron usando un filtro Whatman No. 3, y el volumen equivalente de la muestra tomada fue repuesto. En cada muestra filtrada se añadió metanol en distintos volúmenes para prevenir la precipitación del fármaco (**Tabla 4**). Las muestras se diluyeron para determinar las concentraciones del IFA por HPLC a 292 nm, considerando la curva de cuantificación previamente establecida. En este estudio se usó como medio de disolución una solución de buffer de fosfatos (pH 6.8) con y sin METHOCEL™ A15 predisolto en una concentración de 0.5% p/v, usando el disolutor de polvos J-KEM Reaction Station a 37 ±0.5 °C y una velocidad de agitación de 90 rpm. Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los datos fueron procesados en Microsoft Excel 2016.

Tabla 4. Volumen añadido de metanol a las muestras filtradas.

MUESTRA	VOLUMEN DE METANOL (µL)
ABZ	200
ABZ-25DHBA	500
ABZ-26DHBA	500

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Caracterización física

8.1.1. Difracción de rayos-X de polvos

Anteriormente en el grupo de investigación se obtuvieron nuevas fases sólidas de ABZ usando ácido 2,5-dihidroxibenzoico (ABZ-25DHBA) y ácido 2,6-dihidroxibenzoico (ABZ-26DHBA) como coformadores en una relación estequiométrica 1:1.⁵⁷ Con la finalidad de estudiar sus propiedades fisicoquímicas y desarrollar una pre-formulación que contenga las nuevas fases sólidas y un excipiente farmacéutico, se obtuvieron y caracterizaron estas NFS en cantidades estequiométricas fármaco-coformador 1:1 por el método de formación de pasta (*slurry*) para ABZ-25DHBA y molienda mecanoquímica para ABZ-26DHBA. A continuación, se detalla la caracterización del ABZ, los coformadores y las nuevas fases sólidas por DRXP.

Las muestras obtenidas por los métodos de síntesis fueron analizadas por DRXP y se corroboró la formación de las fases sólidas ABZ-25DHBA (**Figura 18**) y ABZ-26DHBA (**Figura 19**) en presencia de disolventes de diferente polaridad tales como: acetona, acetonitrilo, metanol y agua. Sin embargo, el disolvente seleccionado para el escalamiento de ambas fases sólidas fue acetona, debido que forma parte del grupo 3 del sistema de solventes residuales de la guía ICH Q3C (R6); es decir no es tóxico ni dañino para la salud y su uso está aprobado en el desarrollo de productos farmacéuticos.⁶⁶ Se descartó el uso de agua como disolvente debido a que se observan remanentes de las materias primas (**Figura 18**).

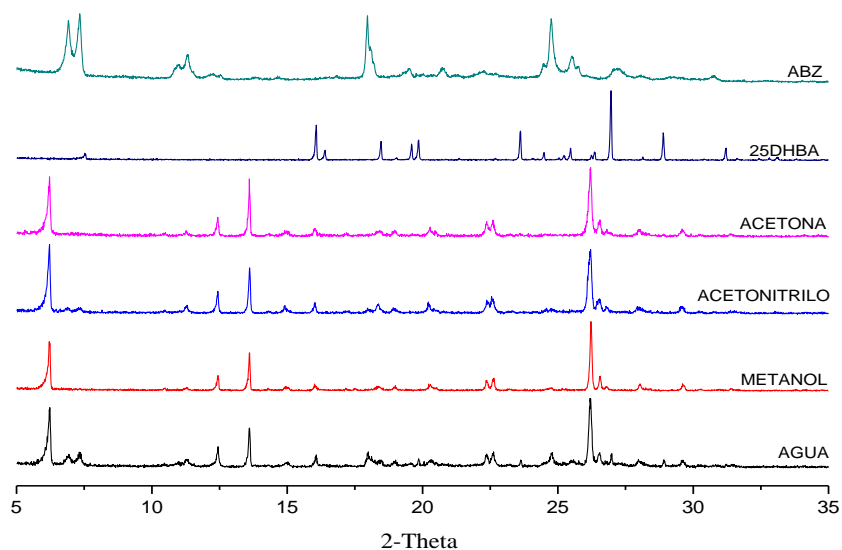


Figura 18. Patrón de DRXP de ABZ, 25DHBA y muestras obtenidas de la mezcla física ABZ-25DHBA 1:1 en presencia de acetona, acetonitrilo, metanol y agua por el método de formación de pasta.

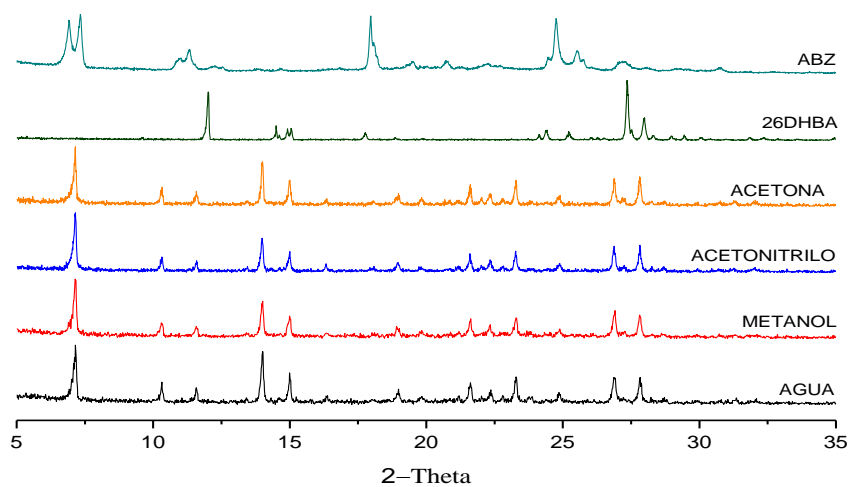


Figura 19. Patrón de DRXP de ABZ, 26DHBA y muestras obtenidas de la mezcla física ABZ-26DHBA 1:1 en presencia de acetona, acetonitrilo, metanol y agua por el método de molienda mecanoquímica.

Durante el desarrollo de este trabajo de investigación, Bolla y Nangia reportaron la obtención de una sal de ABZ usando como contraión el ácido 2,6-dihidroxibenzoico.⁵⁹ La **Figura 20** muestra la comparación del patrón de DRXP de la fase sólida ABZ-26DHBA obtenida por molienda en presencia de acetona y el

simulado a partir de los datos cristalográficos de la sal reportada. Donde se observa que solo coincide el pico de difracción presente a 7.1° (2-Theta) y la fase obtenida en este estudio presenta picos de difracción diferentes a la sal reportada, por consiguiente, es probable que se trate de un polimorfo del sólido reportado previamente. Sin embargo, es necesario corroborarlo a través de la elucidación de la estructura en el sólido cristalino.

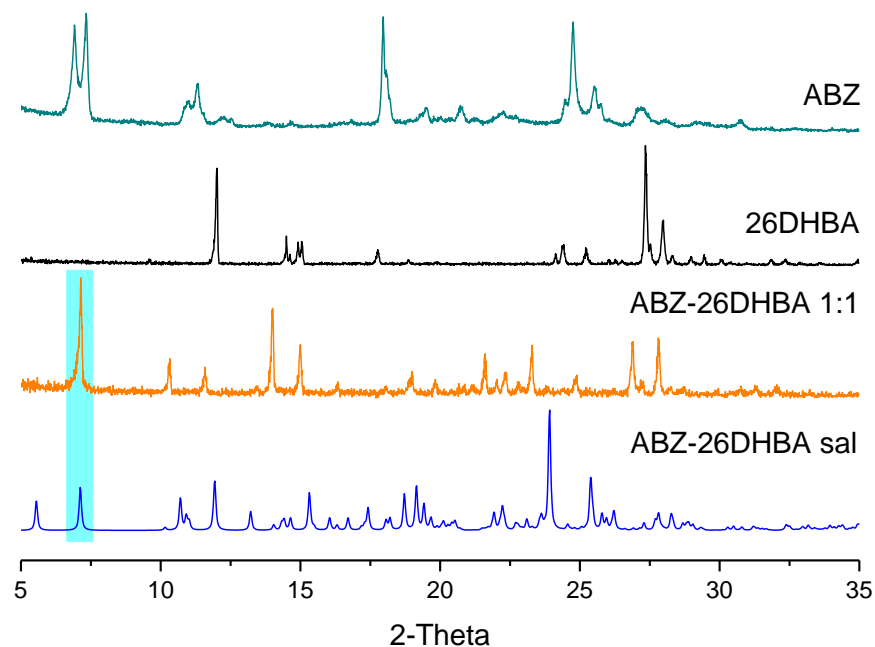


Figura 20. Patrón de DRXP de ABZ, 26DHBA, fase sólida ABZ-26DHBA y simulado de la sal ABZ-26DHBA a partir de los datos de difracción de rayos-X de monocristal.⁵⁹

Para aumentar la cantidad de ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA y llevar a cabo los estudios de pre-formulación, se llevó a cabo el escalamiento de ambas fases sólidas en un factor de 10. Como se muestra en las **Figuras 21 y 22** el patrón de DRXP de los sólidos obtenidos del escalamiento son similares a las fases en escala de 100 mg obtenidos previamente.

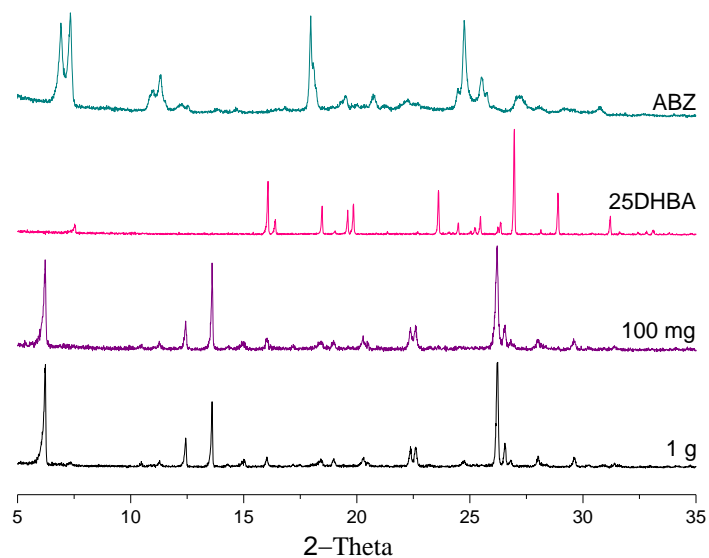


Figura 21. Comparación del patrón de DRXP de ABZ, 25DHBA y la fase sólida ABZ-25DHBA 1:1 en 100 mg y 1 g, obtenidos en presencia de acetona por el método de formación de pasta.

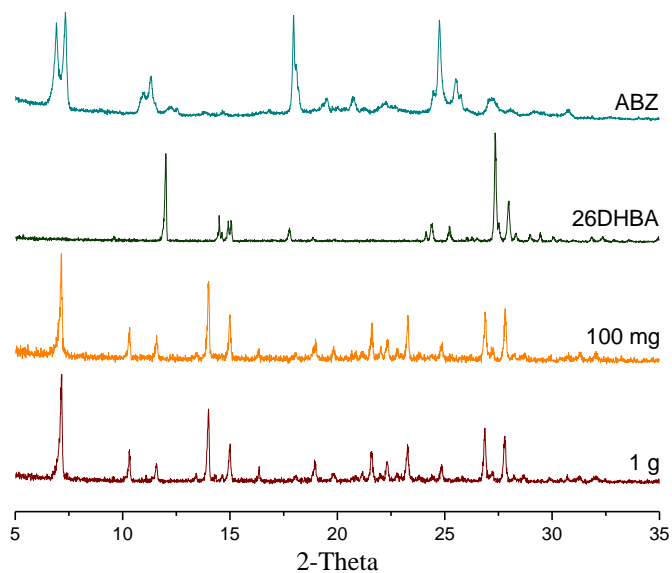


Figura 22. Comparación del patrón de DRXP de ABZ, 26DHBA y la fase sólida ABZ-26DHBA 1:1 a 100 mg y 1 g, obtenidos en presencia de acetona por el método de molienda mecanoquímica.

8.1.2. Resonancia magnética nuclear en estado sólido

Los estudios de resonancia magnética nuclear en estado sólido a menudo son utilizados para observar la identidad química, el grado de pureza, cristalinidad, la estequiometría, así como asignar el número y naturaleza de los carbonos que se encuentran presentes en una molécula.³³

La **Figura 23**, muestra el espectro de RMN ¹³C-CP/MAS de ABZ, el ácido 2,6-dihidroxibenzoico y la fase sólida ABZ-26DHBA. Adicionalmente, la **Tabla 5** presenta la asignación de las señales de cada espectro para los átomos de carbono del fármaco y coformador, así como también los cambios en el desplazamiento químico de las señales en el espectro de la nueva fase sólida.

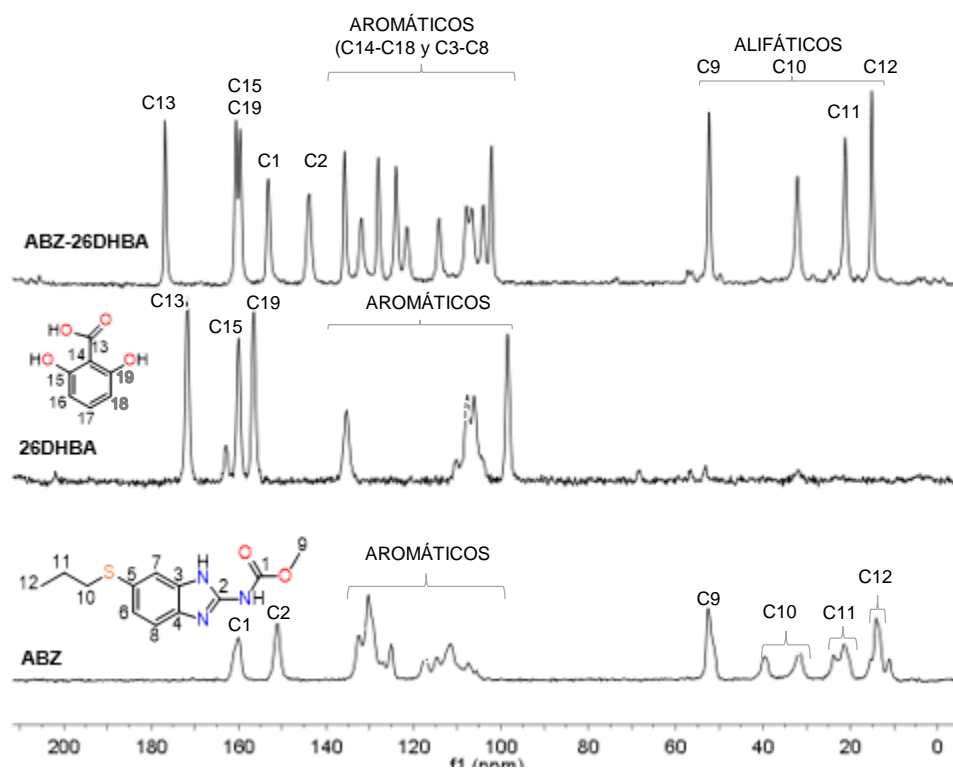


Figura 23. Espectros de RMN ¹³C CP/MAS de ABZ, 26DHBA y la nueva fase sólida ABZ-26DHBA.

Tabla 5. Asignación de las señales del espectro de RMN (^{13}C CP/MAS) de ABZ, 26DHBA y la fase ABZ-26DHBA a los átomos de carbono correspondientes.

Núcleo ^{13}C	ABZ ppm	ABZ-26DHBA	Núcleo ^{13}C	26DHBA ppm	ABZ-26DHBA ppm
1	160	152.3	13	172.0	178
2	151.8	141.0	14	-	-
3	-	-	15	160.0	161.0
4	-	-	16	-	-
5	-	-	17	-	-
6	-	-	18	-	-
7	-	-	19	157.0-	160.0
8	-	-	-	-	-
9	51.9	52.3	-	-	-
10	32.1 39.9	31.0	-	-	-
11	24.25 22.08	21.5	-	-	-
12	13.95 11.70	15.0	-	-	-

La asignación se realizó con ayuda del programa ChemBioDraw Ultra Versión 12.0, así como el espectro reportado para el ABZ en solución y en estado sólido. El espectro de ABZ presentó ocho señales en el intervalo entre 10-52 ppm que corresponden a los átomos de carbono alifáticos. Las señales del grupo propilo (C_{12} , C_{11} y C_{10}) y del metilo del éster carbamato (C_9) se encuentran duplicadas debido a la presencia de dos moléculas de ABZ en la unidad asimétrica del cristal. De esta forma se observan dos señales correspondientes al C_{12} en 11.70 y 13.95 ppm, para el C_{11} en 22.08 y 24.25 ppm y para C_{10} en 32.11 y 39.9 ppm (**Tabla 5**). La señal en 51.9 ppm es ancha debido a que corresponde al carbono del metilo del carbamato (C_9) ya que en este intervalo (50 y 100 ppm) están las señales de los carbonos alifáticos unidos a heteroátomos. Las señales entre 100 y 150 ppm generalmente corresponden a los carbonos aromáticos, y en este caso los carbonos C_3 al C_8 del anillo del bencimidazol aparecen como dos conjuntos de varias señales anchas que

no se pudieron asignar específicamente. El carbono cuaternario C₂ unido a los dos nitrógenos en el anillo aparece en 151.8 ppm y el C₁ del carbonilo se asignó a la señal de 160 ppm (**Figura 23**).^{33, 67}

En el caso del espectro de ¹³C del ácido 2,6-dihidroxibenzoico (**Figura 23**) se observa un conjunto de señales singulete en el intervalo de 100 a 170 ppm. Se destaca la señal del grupo carboxilo en el ácido que aparece a campo bajo en 172 ppm. Los carbonos C₁₅ y C₁₉ unidos a los grupos OH aparecen en 160.0 y 157.0 ppm, respectivamente. El resto de las señales del fenilo (C₁₄, C₁₆, C₁₇ y C₁₈) aparecen en el intervalo entre 100-140 ppm esperado para los carbonos aromáticos y no se asignaron de manera específica (**Tabla 5**).^{33, 67}

El espectro de ¹³C de la nueva fase sólida ABZ-26DHBA (**Figura 23**) no es una transposición de las señales de resonancia de las materias primas debido a que se aprecian diferencias en los desplazamientos químicos en el espectro seguramente como resultado de las interacciones presentes entre los componentes. Los átomos de ¹³C alifáticos del ABZ en la nueva fase muestran un grupo de cuatro señales singuletes bien definidas (C₁₂, C₁₁, C₁₀ y C₉), indicando que la unidad asimétrica contiene solamente una conformación de la molécula de ABZ. En la región aromática (100 a 150 ppm) y de los grupos carbonilo (160 a 175 ppm) se encuentran átomos de ¹³C tanto del ABZ como del 26DHBA. En este intervalo se observan un conjunto de quince señales en donde predominan las señales singulete bien definidas. Precisamente son quince núcleos de carbono (ocho del ABZ y siete del 26DHBA) los que se esperan observar si en la nueva fase hay una sola especie de cada componente en la unidad asimétrica. Las señales correspondientes a cada componente son difíciles de asignar en ausencia de otro tipo de experimentos de correlación ¹H-¹³C y ¹³C-¹³C, no obstante, es notable que los núcleos de los grupos funcionales que pueden interaccionar como aceptores y donadores por puente de hidrogeno (los carbonos C₁, C₁₃, C₁₅ y C₁₉ del carbonilo en el carbamato, del ácido carboxílico y de los hidroxilos en 26DHBA, respectivamente), sufren cambios en sus desplazamientos químicos debido a las interacciones intermoleculares en la red cristalina. El ejemplo más claro se observa en la señal del carbonilo del ácido

carboxílico localizada a campo bajo en 172 ppm en 26DHBA, la cual se desplazó hasta 178 ppm en la nueva fase sólida (**Tabla 5**).

8.1.3. Espectroscopía infrarroja

La espectroscopía infrarroja es una técnica de análisis que permite determinar desplazamientos de las bandas de los grupos funcionales presentes en un compuesto químico que son causados por interacciones, por ejemplo, entre fármaco-coformador a través de la formación de puentes de hidrógeno. Adicionalmente, es posible demostrar con esta técnica la formación de una sal o un cocrystal, ya que para la formación de una sal el ion carboxilato (COO^-) presenta bandas características en el espectro IR de estiramiento asimétrico fuerte entre 1650 y 1550 cm^{-1} , y una banda de estiramiento asimétrico más débil en 1400 cm^{-1} .³³

En la **Figura 24** se muestra una propuesta de las posibles interacciones intermoleculares entre ABZ y 25DHBA. Es probable la formación de un heterosintón (I) entre los grupos amino del imidazol y del carbamato de ABZ con los grupos 2'-alcohol y carbonilo del 25DHBA. Una interacción adicional se podría establecer a través de la formación del heterosintón (II) entre moléculas de ABZ a través del carbonilo del carbamato y el grupo amino donador del imidazol.

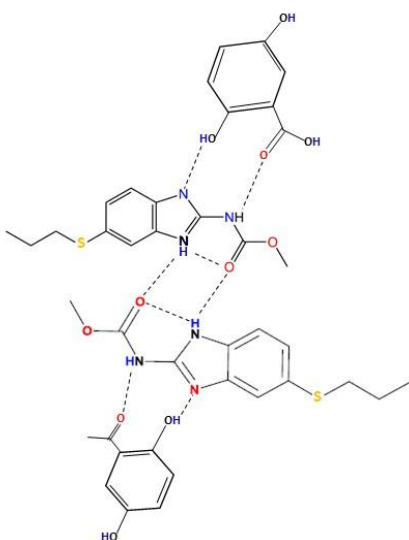


Figura 24. Posibles interacciones entre ABZ y 25DHBA.

Con el propósito de determinar qué grupos funcionales intervienen en el reconocimiento molecular entre el ABZ y los coformadores, se realizó un análisis del desplazamiento de las bandas de vibración en el espectro infrarrojo de las fases sólidas y sus respectivos componentes. Se muestran los espectros IR de ABZ, 25DHBA, 26DHBA y las fases sólidas ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA. Además, se indican las asignaciones de las bandas correspondientes a los grupos funcionales. El espectro IR de ABZ (**Figura 25, Tabla 6**) presenta una banda a 1713 cm^{-1} correspondiente a un estiramiento asimétrico del grupo carbonilo (C=O), a 3325 cm^{-1} se observa una banda de tipo estiramiento asimétrico asignada al grupo amino (N-H) y una banda en 1265 cm^{-1} que corresponde al grupo C-O. El ácido 2,5-dihidroxibenzoico (**Figura 25**) presenta una banda a 3400 cm^{-1} correspondiente al grupo OH del ácido carboxílico, una banda a 1182 cm^{-1} correspondiente al grupo hidroxilo (OH) y una banda a 1664 cm^{-1} asignada al grupo C=O (**Tabla 6**).

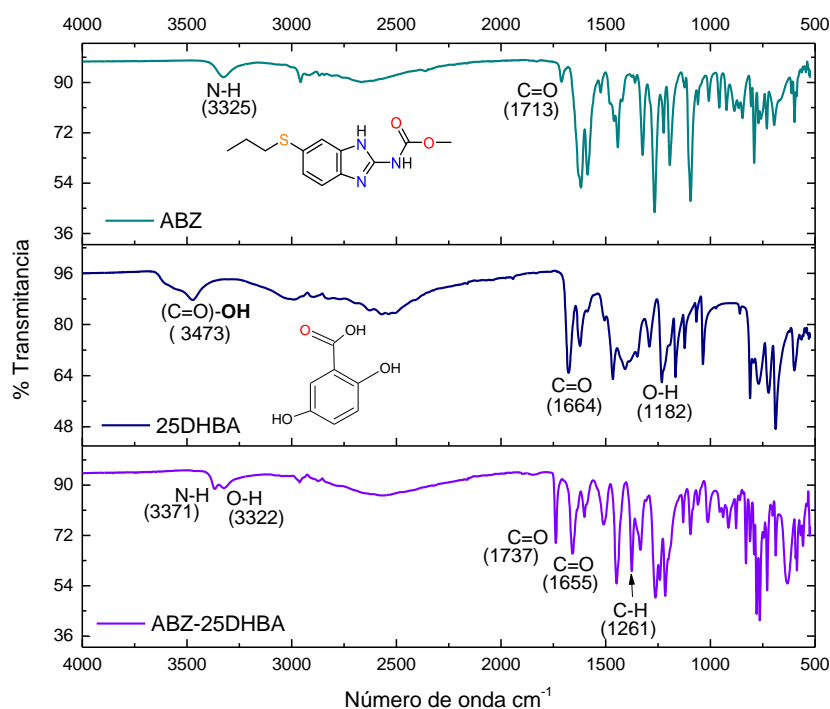


Figura 25. Comparación de los espectros IR de ABZ, 25DHBA y la fase sólida ABZ-25DHBA.

Tabla 6. Vibración de los grupos funcionales en el espectro IR de ABZ, ácido 2,5-dihidroxibenzoico y la fase sólida ABZ-25DHBA.

GRUPO FUNCIONAL	ABZ	25DHBA	ABZ-25DHBA
N-H asimétrico	3325		3371
C=O asimétrico (éster)	1713		1737
C-O simétrico(éster)	1265		1261
OH		3473	3322
C=O simétrico (ácido carboxílico)		1664	1655
COO-			
O-H Deformación en el plano		1182	1215

La **Figura 25** muestra el espectro IR de la nueva fase sólida ABZ-25DHBA, en donde se observa que hubo un desplazamiento de las bandas del grupo carbonilo del fármaco y coformador; por ejemplo, para ABZ la banda inicial en 1713 cm^{-1} que corresponde al grupo carbonilo, se desplazó a 1737 cm^{-1} en el espectro de la fase sólida ABZ-25DHBA. Los compuestos involucrados en la obtención de las fases sólidas estudiadas en este trabajo poseen grupos funcionales como ácidos carboxílicos o aminas que son capaces de formar un enlace iónico, por lo tanto, es probable la formación de una sal o tienen la capacidad de formar puentes de hidrógeno con los mismos grupos funcionales, pero en diferente arreglo conformacional y dar como resultado un cocrystal. Por ejemplo, el ácido 2,5-dihidroxibenzoico (coformador) presenta un grupo ácido carboxílico en su estructura y el espectro IR presentó una banda de vibración del grupo carbonilo (C=O) en 1664 cm^{-1} , en el espectro de la fase ABZ-25DHBA la banda se desplaza a una banda a 1655 cm^{-1} . Este desplazamiento podría atribuirse a la vibración de estiramiento del grupo carboxilato (COO⁻), sin embargo, el espectro IR de la fase ABZ-25DHBA (**Figura 25**) no muestra bandas intensas comparadas con las bandas del grupo carboxilato.^{33, 59, 68} Adicionalmente, es posible predecir la formación de una sal o un cocrystal por medio de la determinación del ΔpK_a , el cual se simplifica en esta regla;

$\Delta pK_a = pK_a$ [base protonada] – pK_a [ácido]. La diferencia de pK_a de los componentes de la fase ABZ-25DHBA arrojó un valor de $\Delta pK_a = 0.2$ (pK_a de ABZ 2.8 – pK_a de 25DHBA 3.01), este resultado indica que es probable la formación tanto de una sal o un cocrystal.^{33, 59, 68}

El espectro IR del ácido 2,6-dihidroxibenzoico (**Figura 26, Tabla 7**) muestra bandas correspondientes al grupo carbonilo a 1678 cm^{-1} y bandas del grupo hidroxilo fenólico a 1167 cm^{-1} . En el caso de la fase sólida ABZ-26DHBA se observan desplazamientos de las bandas del grupo funcional carbonilo tanto del fármaco y coformador. El grupo carbonilo de ABZ en 1713 cm^{-1} se desplazó a 1743 cm^{-1} en el espectro de la fase sólida ABZ-26DHBA, mientras que la banda del carbonilo del ácido 2,6-dihidroxibenzoico en 1678 cm^{-1} en el espectro de la NFS se desplazó a 1644 cm^{-1} . En el espectro IR de la sal de ABZ previamente reportada usando el ácido 2,6-hidroxibenzoico mostró un desplazamiento de la banda del grupo C=O del fármaco a 1745 cm^{-1} y del COO- del contraión a 1660 cm^{-1} , por lo tanto, el desplazamiento de la banda del grupo carbonilo del fármaco es similar y el grupo C=O correspondiente al 26DHBA difiere el menos en $\sim 16\text{ cm}^{-1}$, por lo que podría ser una fase sólida diferente a la reportada.

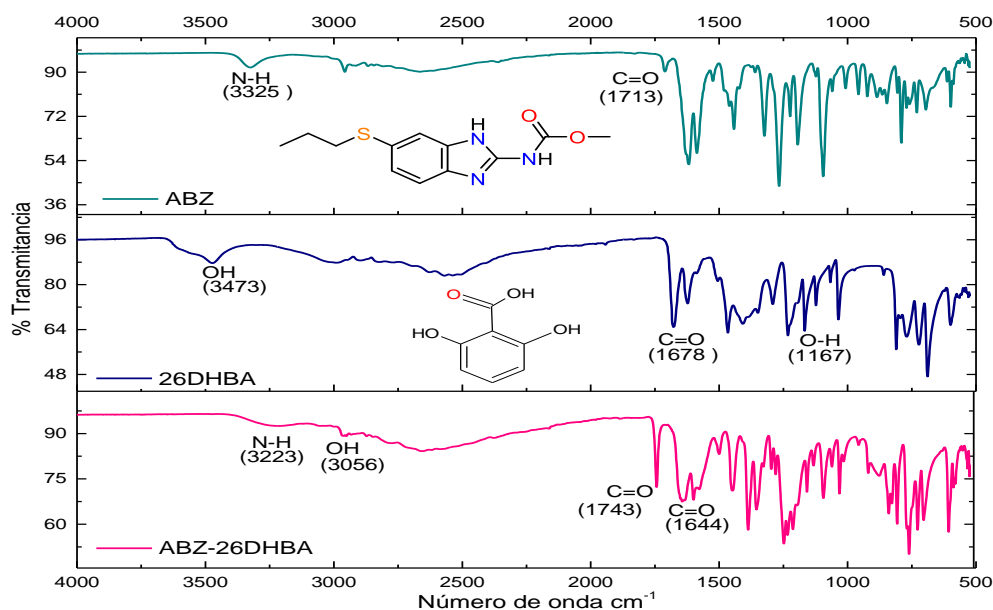


Figura 26. Comparación de los espectros IR de ABZ, 26DHBA, y la fase sólida ABZ-26DHBA.

Tabla 7. Vibración de los grupos funcionales en el espectro IR de ABZ, ácido 2,6-dihidroxibenzoico y la fase sólida ABZ-26HBA.

GRUPO FUNCIONAL	ABZ	26DHBA	ABZ-26DHBA
N-H asimétrico	3325		3223
C=O asimétrico (éster)	1711		1743
C-O asimétrico(éster)	1265		1280
OH		3473	3056
C=O asimétrico (ácido carboxílico)		1678	1644
O-H Deformación en el plano		1167	1213

Para conocer si es posible la formación de una sal se determinó el ΔpK_a . El $\Delta pK_a = pK_a[\text{base protonada}] - pK_a[\text{ácido}]$ arrojando un valor de $\Delta pK_a = 1.5$ (pK_a de ABZ 2.8, para 26DHBA 1.3), lo cual indica que se podría esperar tanto la formación de una sal como de un cocrystal, ya que en este intervalo de ΔpK_a no es posible asegurar que habrá una transferencia de un protón. Para asegurar que se trata de una sal o cocrystal, es necesario el análisis de difracción de rayos-X de monocristal.^{33, 59, 68}

8.1.4. Análisis termogravimétrico

A continuación, se muestran los termogramas de ABZ, 25DHBA, 26DHBA y las nuevas fases ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA. El ABZ (**Figura 27**) muestra una pérdida de masa a partir de 195°C, que es similar a la temperatura de degradación reportada para este IFA (200°C).⁶¹ El proceso de degradación ocurre en dos etapas y hasta los 450°C (límite superior del experimento) se encuentra un 8% del peso inicial de la muestra. La curva TG del ácido 2,5-dihidroxibenzoico presenta una pérdida de masa a 175°C en una sola etapa y termina a 238 °C con un porcentaje de pérdida del 98.5 % aproximadamente (**Figura 27, Tabla 8**).

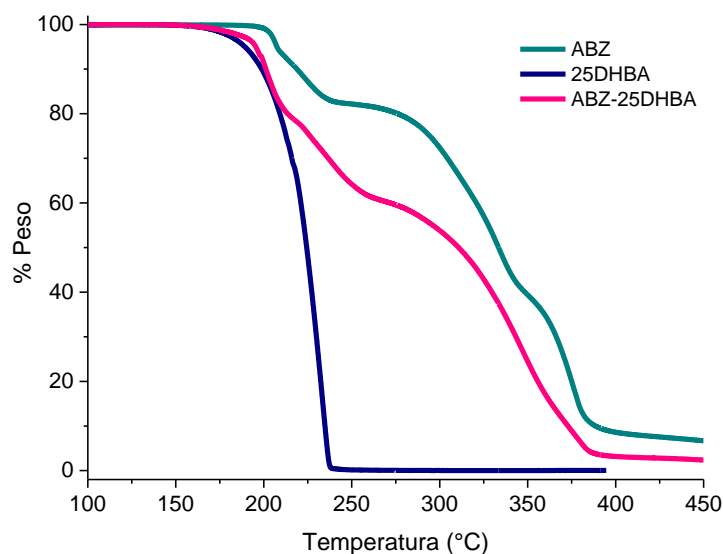


Figura 27. Curva TGA de ABZ, 25DHBA y la fase sólida ABZ-25DHBA.

Tabla 8. Análisis termogravimétrico de ABZ, 25DHBA y la fase sólida ABZ-25DHBA.

	T (°C)	% Peso	Evento
ABZ	195	13.9	Descomposición en dos eventos térmicos
	249	58.5	
25DHBA	175	98.5	Descomposición total
ABZ-25DHBA	162	Experimental: 36.70	Primera descomposición de 25 DHBA.
	258	Calculado: 36.74	Segunda descomposición de ABZ

En el caso de la fase sólida ABZ-25DHBA (**Figura 27, Tabla 8**), se observa un comportamiento térmico distinto a las materias primas. Dado que, este sólido inicia con una pérdida de masa a partir de 162°C en dos etapas, el primer evento térmico con un porcentaje de pérdida de 36.70% y se le atribuye la pérdida del 25DHBA. El segundo evento se asocia con la pérdida de ABZ con una disminución de peso gradual hasta alcanzar un remanente del 4.2% a 450 °C respecto al peso inicial.

Por otro lado, el ácido 2,6-dihidroxibenzoico inicia su descomposición a partir de 146°C en un evento térmico y cuando alcanza los 322°C ya no se muestran residuos de la materia prima (96.5%), solo se registra la línea base de la curva TG (**Figura 28, Tabla 9**). La curva TG de la fase ABZ-26DHBA, muestra una pérdida de masa en dos eventos térmicos; el primer evento en 185°C con una pérdida del 36.6% que se atribuye a la pérdida del 26DHBA, y un segundo evento térmico que se asocia a la pérdida del ABZ mostrando una disminución de su peso gradual hasta alcanzar un remanente del 5.7% a 450°C respecto a su peso inicial.

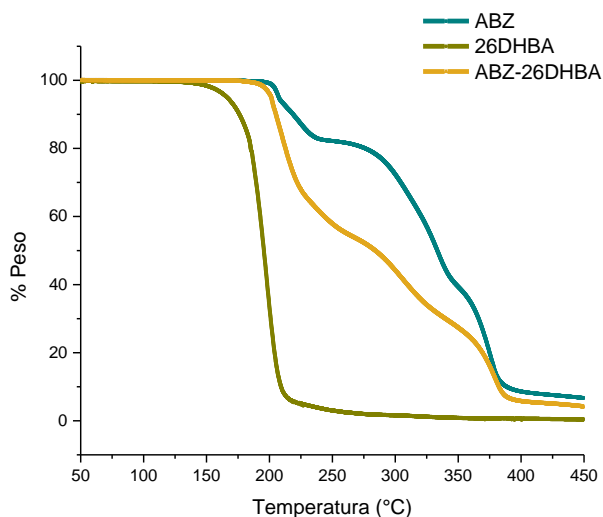


Figura 28. Curva TGA de ABZ, 26DHBA y la fase sólida ABZ-26DHBA.

Tabla 9. Análisis termogravimétrico de ABZ, 25DHBA y la fase sólida ABZ-26DHBA.

	T (°C)	% Peso	Evento
ABZ	195	13.77	Descomposición en dos eventos térmicos
	249	58.45	
26DHBA	146	96.52	Descomposición total
ABZ-26DHBA	185	Experimental: 36.64	Primera descomposición de 26 DHBA
	258	Calculado: 36.74	Segunda descomposición de ABZ

8.1.5. Calorimetría diferencial de barrido

El análisis por DSC se realizó para ABZ, ácido 2,5-dihydroxibenzoico, ácido 2,6-dihydroxibenzoico y las fases sólidas ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA. La curva DSC del ABZ presenta un pico endotérmico en 210°C que corresponde a un proceso de fusión/descomposición (**Figura 29, Tabla 10**). En caso del 25DHBA se observa una endoterma en 205°C, un comportamiento térmico similar se observó para el 26DHBA con un proceso endotérmico a 172°C, ambos procesos calorimétricos se asocian con un proceso de sublimación de los coformadores.

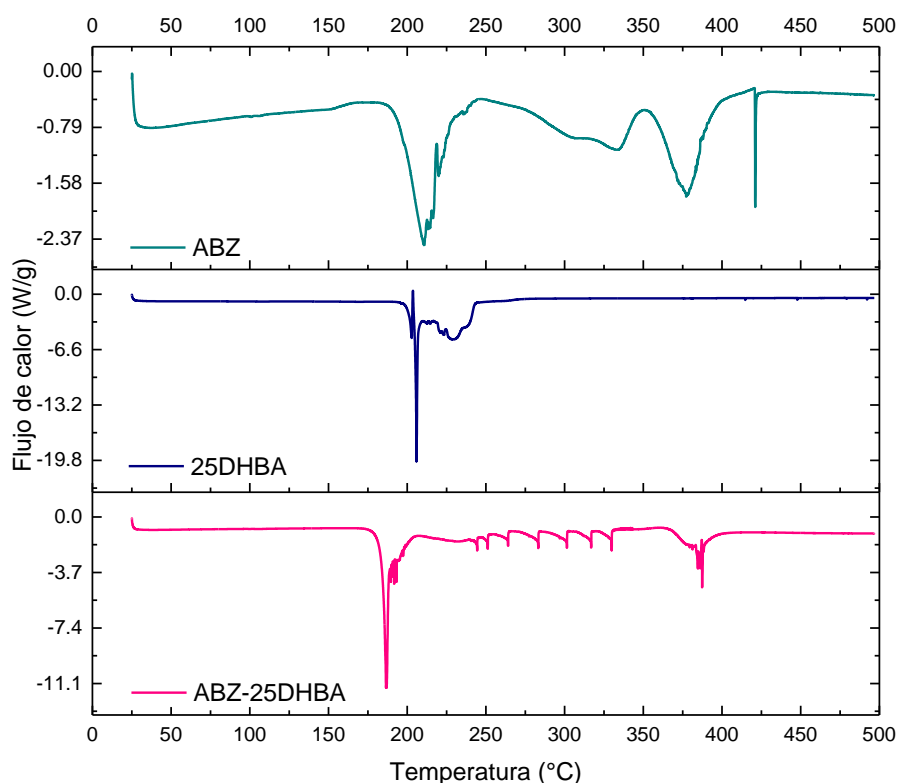


Figura 29. Curva DSC de ABZ, 25DHBA y la fase sólida ABZ-25DHBA.

Tabla 10. Análisis DSC de ABZ, 25DHBA y la fase sólida ABZ-25DHBA.

Compuesto	T (°C)	Evento
ABZ	210	Fusión-descomposición
25DHBA	205	Sublimación
ABZ-25DHBA	186	Fusión-descomposición

Con respecto a la nueva fase ABZ-25DHBA (**Figura 29, Tabla 10**) se observa un evento endotérmico en 186°C referente a la temperatura que inicio el evento térmico (Tonset) correspondiente al punto de fusión-descomposición del sólido y presenta un comportamiento distinto respecto a las materias primas de partida.

Finalmente, la curva DSC del 26DHBA (**Figura 30, Tabla 11**) mostró un pico endotérmico en 172°C (Tpeak), mientras que la fase sólida ABZ-26DHBA presentó una endoterma a 189°C que corresponde al punto de fusión del sólido seguido de un evento de descomposición.

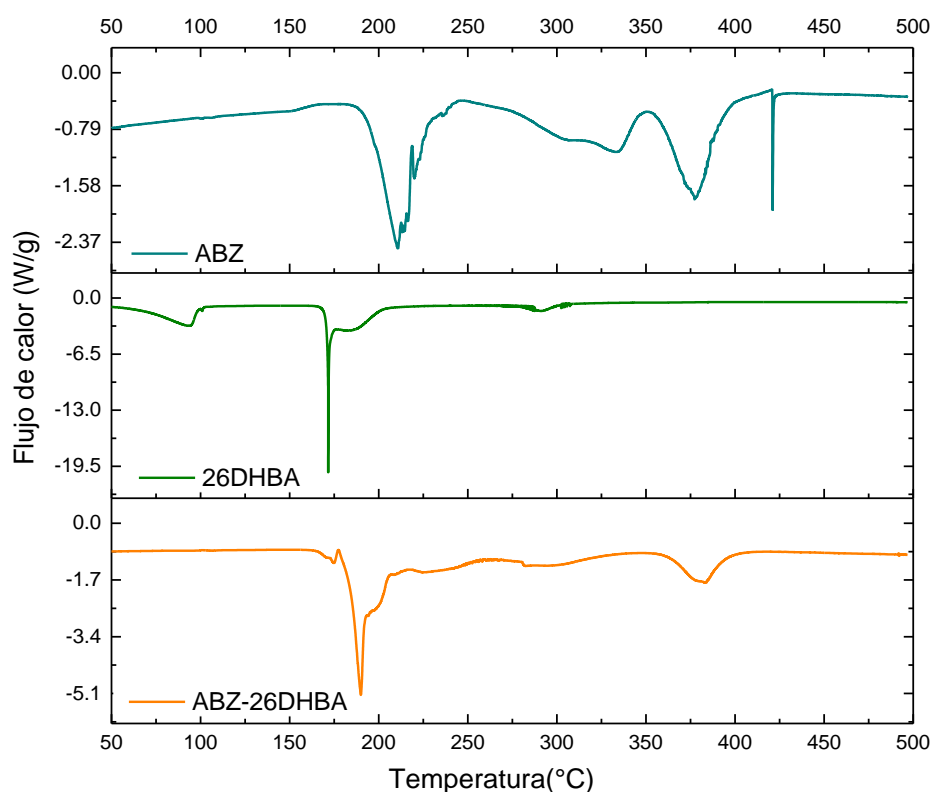


Figura 30. Curva DSC de ABZ, 26DHBA y la fase sólida ABZ-26DHBA.

Tabla 11. Análisis DSC de ABZ, 26DHBA y la fase sólida ABZ-26DHBA.

Compuesto	T (°C)	Evento
ABZ	210	Fusión-descomposición
26DHBA	172	Sublimación
ABZ-26DHBA	189	Fusión-descomposición

8.2. Evaluación biofarmacéutica

8.2.1. Estabilidad indicativa

Los estudios de estabilidad para medicamentos, remedios herbolarios y fármacos evidencian el periodo de vida útil, permitiendo confirmar periodos de caducidad, tiempos de permanencia a granel o productos almacenados durante el proceso, así como también, establecer condiciones en las que serán almacenados, transportados y para elegir el sistema en que serán distribuidos.⁶⁹

Conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2015, de estabilidad de fármacos, así como de remedios herbolarios en el punto 5 se establece que los estudios de estabilidad se deben llevar a cabo al menos en 3 lotes piloto del fármaco realizados por la misma ruta de síntesis, además deben llevarse a cabo en el mismo sistema contenedor-cierre.⁶⁹ Cabe destacar que para este trabajo de investigación se llevó a cabo en las condiciones de estabilidad acelerada durante 1 mes, para observar el comportamiento de las fases ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA.

Se evaluó la estabilidad física del ABZ, ácido 2,5-dihidroxibenzoico, ácido 2,6-dihidroxibenzoico y las fases sólidas ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA bajo condiciones de humedad relativa (HR) y temperatura controlada, tales como: 40°C 0% HR, 50°C 0% HR y 40°C 75% HR.

En los patrones de difracción de ABZ y el ácido 2,5-dihidroxibenzoico, mostraron un patrón de DRXP similar a los sólidos de partida bajo condiciones de humedad y temperatura controlada durante 1 mes de exposición, esto demuestra que no existe un cambio físico, por lo tanto, los sólidos son estables bajo estas condiciones (**ver Figuras A6 y A7**).

En el caso del ácido 2,6-dihidroxibenzoico (**Figura A8**) en las condiciones de 40 y 50 °C y 0% HR se muestra un patrón de DRXP con picos de difracción distintos al patrón de referencia, esto podría atribuirse a que el sólido inicial se encuentra como una fase hidratada y sufre un proceso de deshidratación bajo estas condiciones de almacenamiento, este comportamiento está soportado por el análisis previo por calorimetría (**Figura 30**) donde se observó un evento endotérmico en ~100°C

atribuido a un proceso de deshidratación. Adicionalmente, en la condición con un alto contenido de humedad (40°C, 75% HR) se mantuvo la integridad física del coformador debido a que el patrón de DRXP es similar el sólido inicial.

En la **Figura 31**, se observa el patrón de la fase ABZ-25DHBA, esta nueva fase mostró un patrón de DRXP similar a los sólidos de partida bajo condiciones de humedad y temperatura controlada durante 1 mes de exposición, demostrando que no hay un cambio físico, y, por lo tanto, los sólidos son estables bajo estas condiciones.

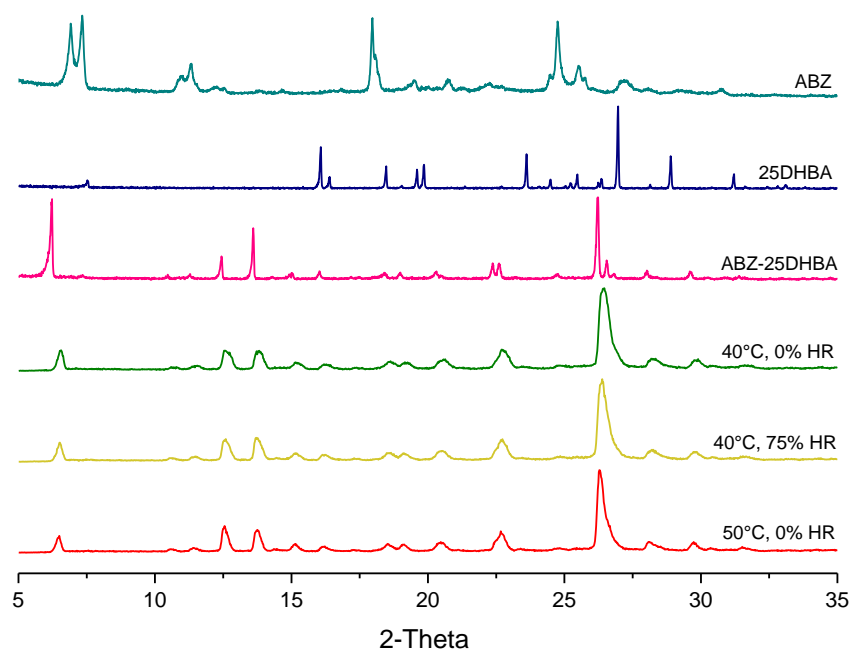


Figura 31. Patrón de DRXP de ABZ, 25DHBA, fase sólida ABZ-25DHBA y muestras de estabilidad indicativa de la fase ABZ-25DHBA a 40°C 0% HR calor seco, 40°C 75% HR calor húmedo y 50°C 0% HR calor seco.

El patrón de DRXP de la fase sólida ABZ-26DHBA (**Figura 32**) no muestran cambio en los picos de difracción característicos de esta fase sólida, comparado con el sólido sin someterse a la prueba de estabilidad. Este resultado demostró que la fase cristalina de ABZ (ABZ-26DHBA) mantiene su estado físico y no se convierte a una fase sólida diferente o un material de partida. Esto es de importancia farmacéutica debido a que se demuestra que las fases sólidas ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA

pueden ser tratadas bajo condiciones de estrés sin que existan alteraciones de las muestras.

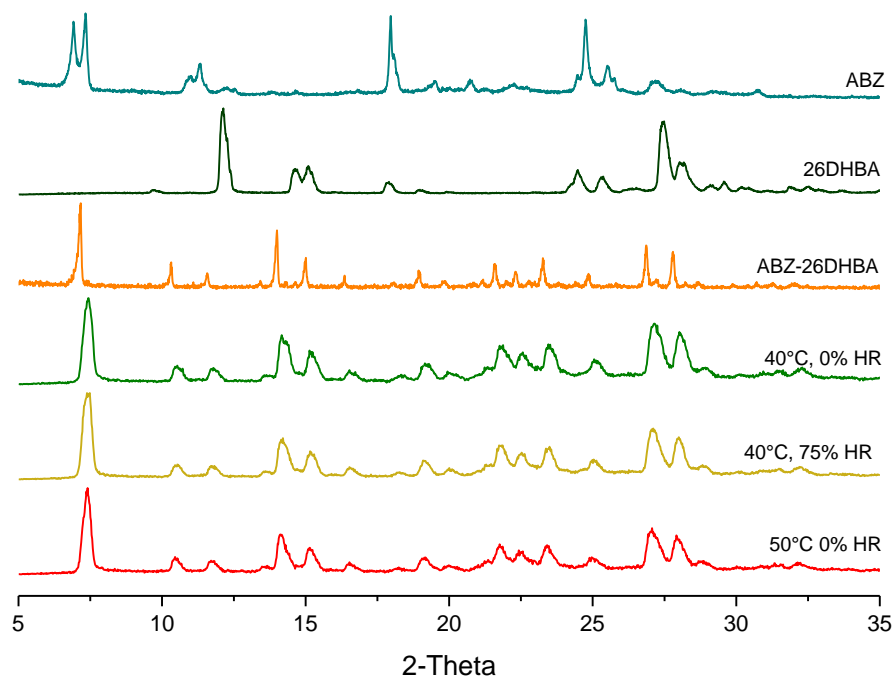


Figura 32. Patrón de DRXP de ABZ, 26DHBA, fase sólida ABZ-26DHBA y muestras de estabilidad indicativa de la fase ABZ-26DHBA a 40°C 0% HR calor seco, 40°C 75% HR calor húmedo y 50°C 0% HR calor seco.

8.2.2. Transformación de fase mediada por la solución

En este trabajo de investigación se exploró si las fases sólidas de ABZ estudiadas aquí presentan un cambio físico al estar en contacto con soluciones acuosas que simulen el pH del tracto gastrointestinal humano (pH 1.2, 4.5 y 6.8), dado que, generalmente las formas sólidas de un IFA que son de rápida disolución experimentan un fenómeno denominado transformación de fase mediada por la solución (TFMS) y como consecuencia se induce la formación de la fase termodinámicamente más estable y menos soluble.⁷⁰ En la **Figura 33** se presentan los patrones de DRXP de los sólidos residuales a diferentes tiempos de la fase sólida ABZ-25DHBA en contacto con una solución acuosa HCl pH 1.2, comparando con la fase sólida inicial y las materias primas que la conforman (ABZ y ácido 2,5-

dihidroxibenzoico). Hasta las 24 horas de estar en contacto con la solución acuosa, la fase sólida ABZ-25DHBA mostró un patrón de DRXP similar al sólido de partida (ABZ-25DHBA) por consiguiente, el fenómeno de transformación de fase no se observa en el medio acuoso HCl a pH 1.2.

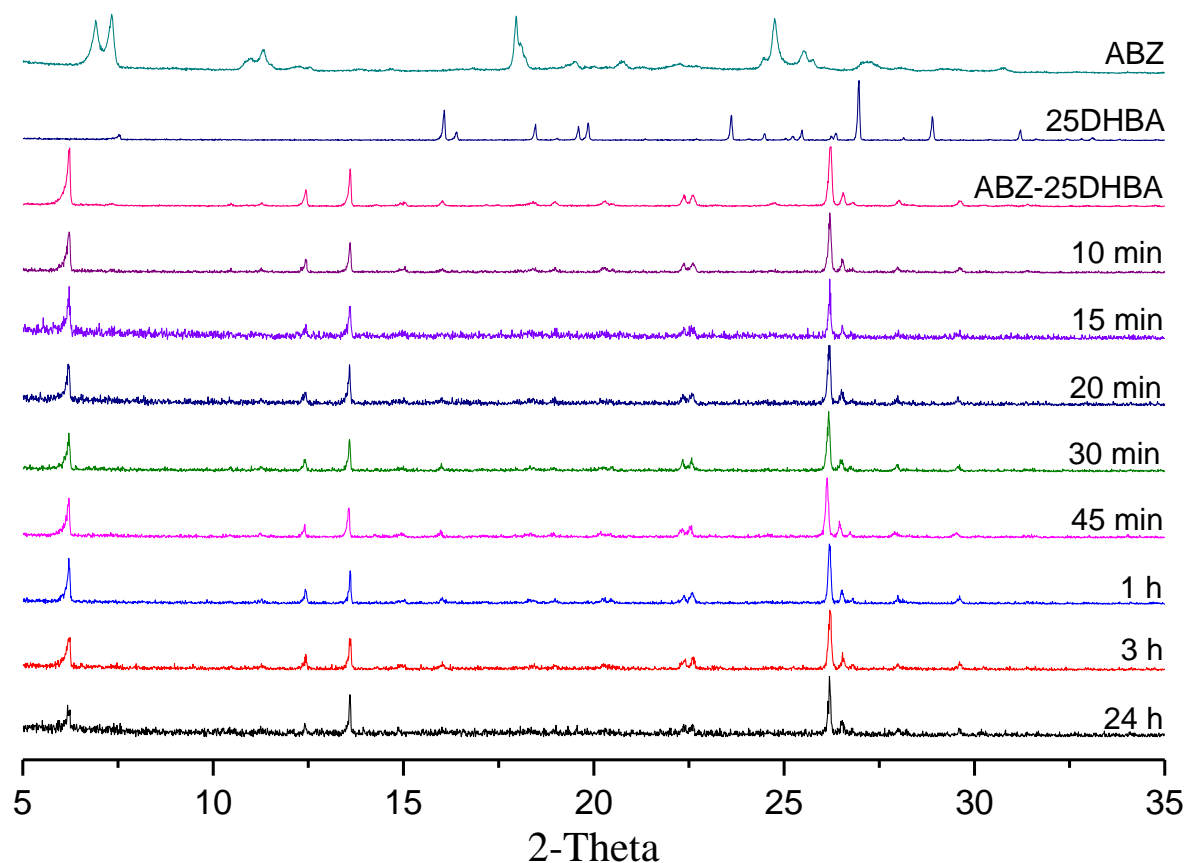


Figura 33. Patrón de DRXP de ABZ, 25DHBA, fase sólida ABZ-25DHBA y muestras de estabilidad de la fase ABZ-25DHBA en 10 min, 15 min, 20 min, 30 min, 45 min, 1 h, 3 h, 24 h en medio acuoso HCl pH 1.2.

Caso contrario a la solución pH 1.2, en una solución amortiguadora pH 4.5 la fase sólida ABZ-25DHBA presentó el fenómeno de TFMS, es decir, se observa un patrón de DRXP similar al ABZ a partir de los 10 minutos de estar en contacto con el medio acuoso (**Figura 34**). En todos los tiempos de muestreo se observa una transformación de fase al fármaco de partida, por lo tanto, la fase ABZ-25DHBA se disuelve rápidamente generando una supersaturación de ABZ en la solución, lo que induce su reprecipitación al ser un sólido poco soluble a pH 4.5.

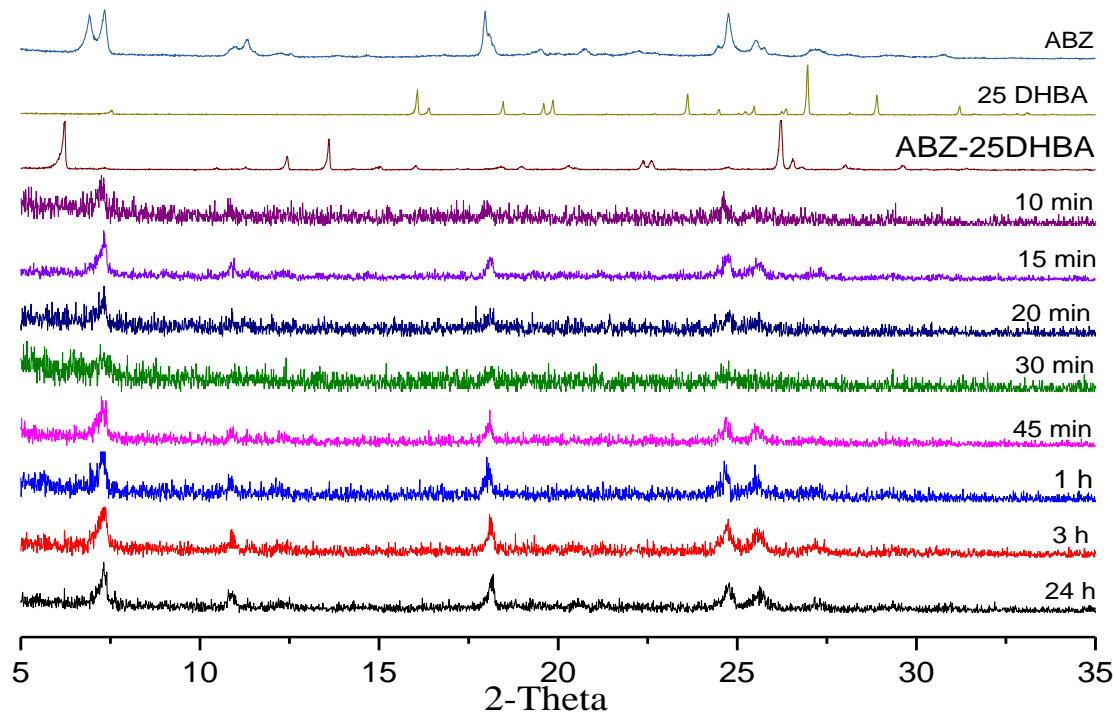


Figura 34. Patrón de DRXP de ABZ, 25DHBA, fase sólida ABZ-25DHBA y muestras de estabilidad de la fase ABZ-25DHBA en 10 min, 15 min, 20 min, 30 min, 45 min, 1 h, 3 h, 24 h en buffer acetatos pH 4.5.

Por otro lado, en el buffer de fosfatos pH 6.8 (**Figura 35**) se puede observar que a partir del minuto 10 el patrón de DRXP del sólido aislado de la solución acuosa muestra picos de difracción correspondientes a las fases ABZ-25DHBA y ABZ. Este resultado indica una transformación parcial de la fase sólida inicial, y este comportamiento se mantuvo hasta 1 hora después de iniciado el experimento. A partir de 3 horas se observó una transformación completa de la fase ABZ-25DHBA al ABZ. Ambas fases sólidas se mantuvieron en solución hasta 1 hora, lo cual muestra una transformación de fase mediada por la solución. Para la fase ABZ-25DHBA la transformación de fase es pH dependiente y se debe a la capacidad de ionización de los componentes.

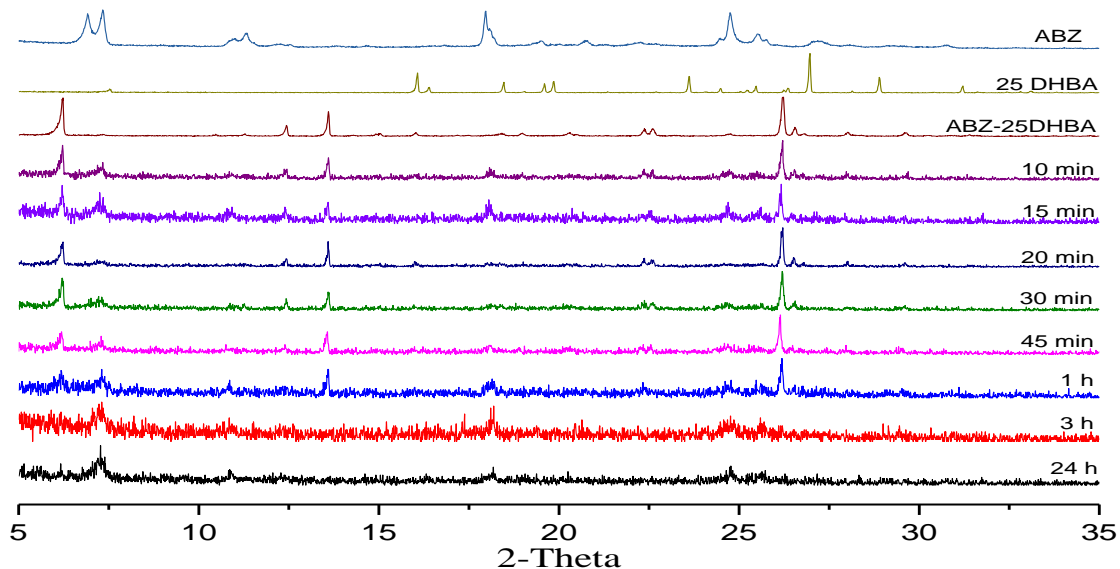


Figura 35. Patrón de DRXP de ABZ, 25DHBA, fase sólida ABZ-25DHBA y muestras de estabilidad de la fase ABZ-25DHBA en 10 min, 15 min, 20 min, 30 min, 45 min, 1 h, 3 h, 24 h en buffer de fosfatos pH 6.8.

La fase sólida de ABZ-26DHBA no experimentó ningún cambio al estar en contacto con la solución acuosa HCl pH 1.2 (**Figura 36**), dado que, se observa un patrón de DRXP similar a la fase sólida ABZ-26DHBA inicial hasta las 24 horas.

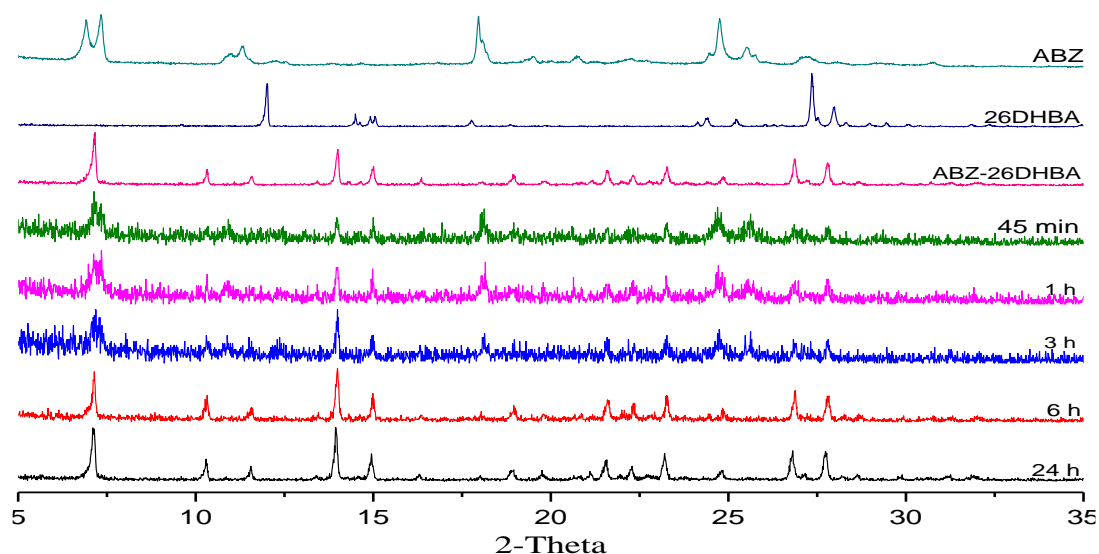


Figura 36. Patrón de DRXP de ABZ, 26DHBA, fase sólida ABZ-26DHBA y muestras de estabilidad de la fase ABZ-26DHBA en 45 min, 1h, 3 h, 6 h y 24 h en medio acuoso HCl pH 1.2.

En la solución buffer de acetatos pH 4.5 (**Figura 37**) se observa que al minuto 30 los sólidos aislados del medio acuoso presentan picos de difracción que corresponden al ABZ. Este resultado demostró que la fase sólida ABZ-26DHBA experimentó una transformación de fase mediada por solución hacia el fármaco de partida desde los 30 minutos.

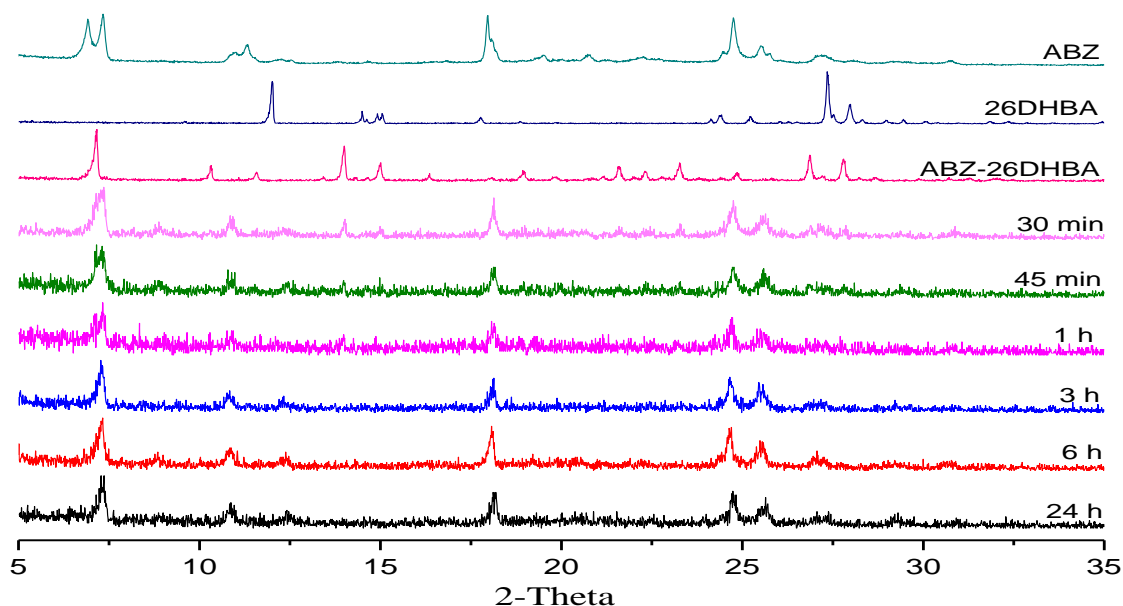


Figura 37. Patrón de DRXP de ABZ, 26DHBA, fase sólida ABZ-26DHBA y muestras de estabilidad de la fase ABZ-26DHBA en 30 min, 45 min, 1h, 3 h, 6 h y 24 h en medio buffer acetatos pH 4.5.

Un comportamiento similar ocurre con el buffer de fosfatos pH 6.8 (**Figura 38**), durante los primeros minutos se observan picos de difracción de ABZ y la fase ABZ-26DHBA en las muestras recuperadas del medio acuoso. Esto demostró que ocurre una transformación de fase parcial en las primeras horas, siendo completa para 24 horas.

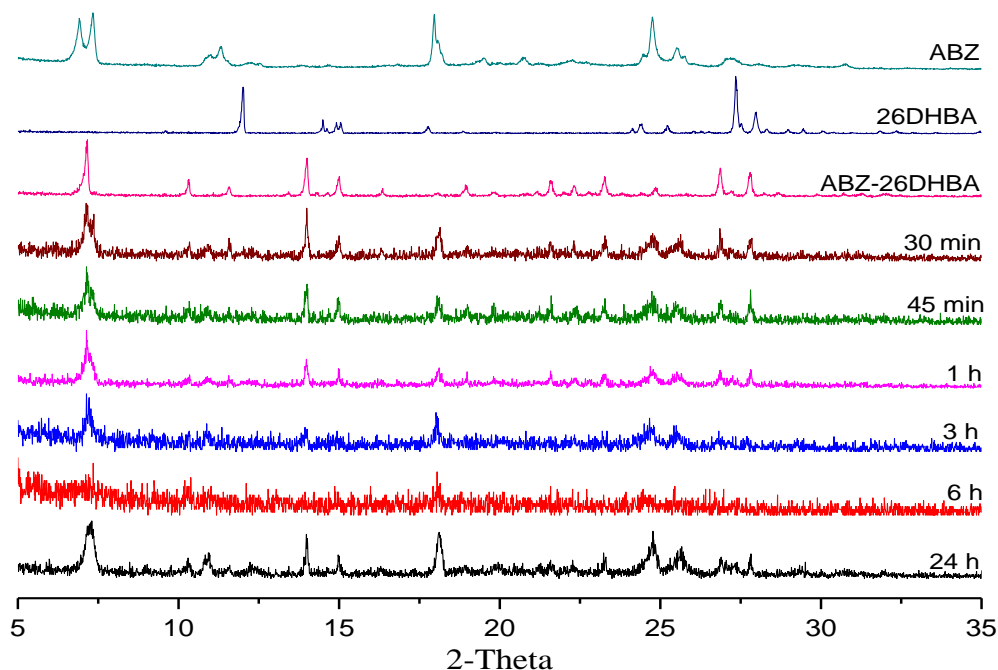


Figura 38. Patrón de DRXP de ABZ, 26DHBA, fase sólida ABZ-26DHBA y muestras de estabilidad de la fase ABZ-26DHBA en 30 min, 45 min, 1 h, 3 h, 6 h y 24 h en medio buffer de fosfatos pH 6.8.

8.2.3. Selección de un polímero inhibidor de la precipitación de ABZ

Con la finalidad de seleccionar un excipiente polimérico con capacidad de retardar la precipitación de ABZ en un medio acuoso bajo condiciones supersaturadas, se probaron tres familias de polímeros: derivados de celulosa como metilcelulosa (Methocel™ A15) e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), derivados de polietilenglicol (Kolliphor® P188 y Kolliphor® P407) y polivinilpirrolidona (Kollidon® 25) por el método *solvent shift*,⁶³ adaptado en el grupo de investigación.⁶⁴ Para inducir la supersaturación de ABZ se preparó una solución madre del fármaco en DMSO y se tomaron alícuotas de 10 μ L para adicionarlas en buffer de fosfatos pH 6.8.

Para determinar la precipitación de ABZ se usó la técnica de turbidimetría, que permite identificar la concentración del fármaco que genera turbidez en el medio acuoso que es causada por la formación de partículas de fármaco precipitado. Las partículas precipitadas son capaces de inducir una dispersión del haz de radiación en el UV-visible, esta dispersión de luz es posible monitorearla mediante el incremento de la línea base del espectro UV-vis del fármaco. Por consiguiente, a

una longitud de onda de 500 nm o mayor en la línea base se observará un incremento de la absorbancia cuando ocurra la precipitación y si es el caso, no aumentará la absorbancia si el polímero retrasa la formación de partículas precipitadas de ABZ.

En la **Figura 39** se observa que el ABZ precipita en la solución acuosa de fosfatos cuando alcanza concentraciones de 0.006 mg/mL, aproximadamente. Los polímeros derivados de polietilenglicol Kolliphor[®] P407 y Kolliphor[®] P188 no son capaces de retardar la precipitación de ABZ y conforme aumenta la concentración del fármaco el grado de precipitación aumenta en presencia de ambos polímeros en comparación con el medio acuoso sin polímero. Contrariamente, los polímeros celulósicos (Methocel[™] A15 y HPMC) y la polivinilpirrolidona (Kollidon[®] 25) mantuvieron en solución el fármaco sin precipitar hasta concentraciones de ~0.015 mg/mL.

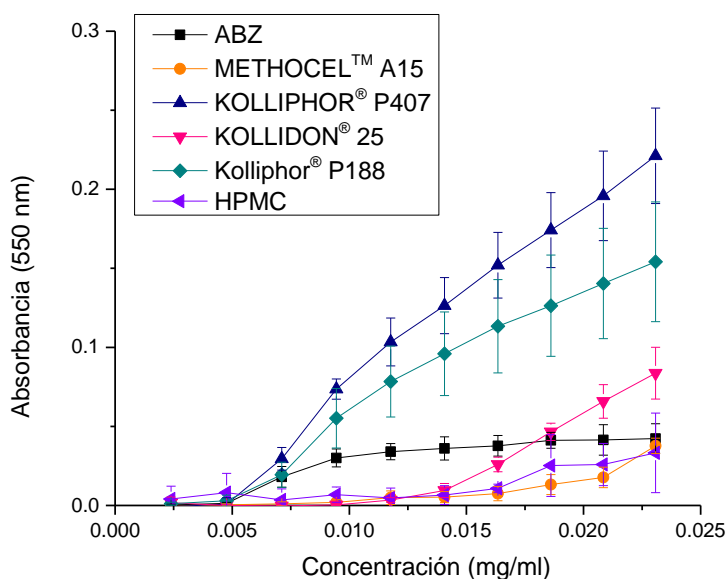


Figura 39. Efecto de polímeros pre-disueltos al 0.5% p/v en buffer de fosfatos pH 6.8 sobre la precipitación de ABZ. $n = 3 \pm D.E.$

La precipitación de fármacos a partir de soluciones supersaturadas es un fenómeno complejo que generalmente involucra procesos de nucleación y crecimiento cristalino. La inhibición de la precipitación es atribuida en gran medida a las interacciones entre las moléculas de fármaco y polímero. Por lo tanto, uno de los

factores que influyen en las interacciones fármaco-polímero es la disponibilidad de sitios para formar enlaces por puente de hidrógeno.⁷¹ Como se muestra en la **Figura 40**, el ABZ contiene grupos funcionales que funcionan como aceptores o donadores por puente de hidrógeno. Los polímeros con un mejor rendimiento en la inhibición o retraso de la precipitación son los derivados de celulosa (MethocelTM A15 y HPMC) en cuya estructura predominan grupos funcionales donadores para la formación de enlaces de hidrógeno (**Figura 40**). Por el contrario, los polímeros que contiene un menor número de grupos donadores de hidrógeno no lograron retardar la precipitación de ABZ (Kolliphor[®] P188 y Kolliphor[®] P407).

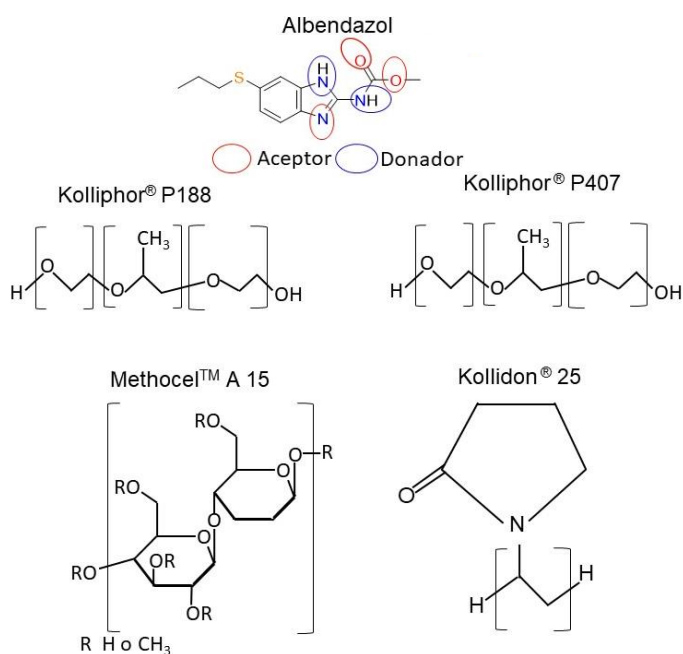


Figura 40. Estructura química de los polímeros Kolliphor[®] P188, Kolliphor[®] P407, MethocelTM A 15 y Kollidon[®] 25.

8.2.4. Validación del método analítico para la cuantificación de ABZ

Para cuantificar el ABZ a partir de muestras de experimentos de disolución del fármaco puro y de las fases sólidas ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA se utilizó un método por cromatografía líquida de alta resolución, debido a que no fue posible cuantificar el fármaco por espectrofotometría UV-Vis debido al traslape de la zona de cuantificación en el espectro de ABZ con los coformadores (**anexo 3**).

Los parámetros que se validaron fueron: adecuabilidad del sistema, linealidad, precisión, exactitud, repetibilidad, especificidad, límite de detección y límite de cuantificación considerando la Guía de Validación de Métodos Analíticos del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos. A.C.⁷²

Para la adecuabilidad ad del sistema cromatográfico se analizó una solución del fármaco con una concentración de 5 µg/mL por quintuplicado. El coeficiente de variación nos indica que debe ser menor al 3% para aceptarlo y el método es adecuado conforme a este criterio debido a que el CV de la adecuabilidad fue de 2% (**anexo 4**).

Para evaluar la linealidad, precisión y repetibilidad se evaluó mediante curvas de cuantificación realizadas por triplicado por 3 días, con seis concentraciones sin considerar el cero. Se calculó el coeficiente de determinación (r^2), el intercepto (β_0) y la pendiente (β_1) mediante el análisis de regresión para evaluar la linealidad. La precisión y repetibilidad se evaluó con el coeficiente de variación (C.V) del factor respuesta (FR) por triplicado en cada concentración.

El resultado correspondiente a la linealidad se muestra en la **Figura 41**, con un coeficiente de determinación de $r^2 \geq 0.999$, el método cumple con el criterio de aceptación para la cuantificación de ABZ.

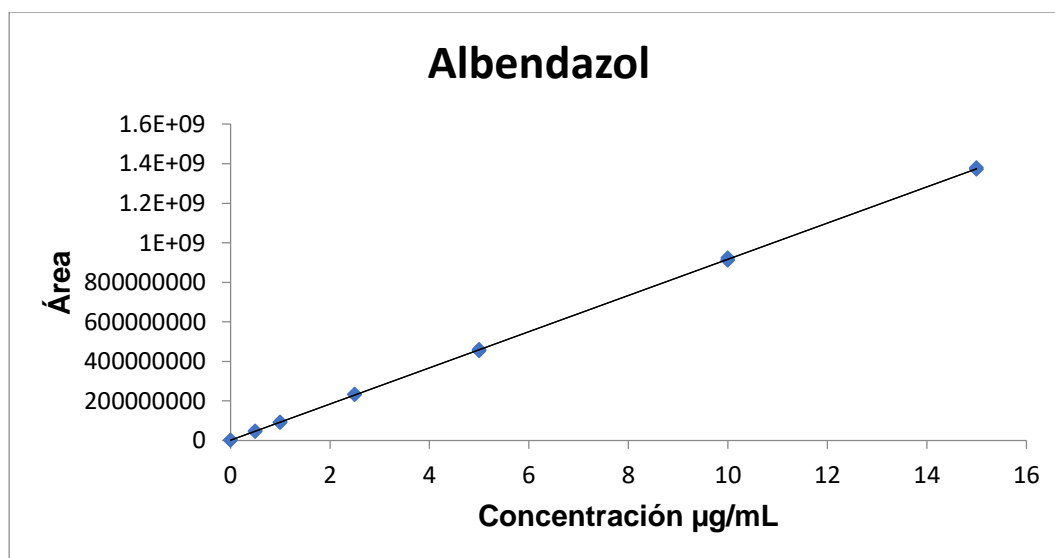


Figura 41. Curva de regresión ajustada para la cuantificación de ABZ.

Para validar la precisión se evaluó el coeficiente de variación para cada concentración de la curva de calibración aceptación. En la **Tabla 12** se presentan los resultados correspondientes. El criterio de aceptación acorde a la guía de validación indica que un método es preciso cuando se obtienen CV% menores al 2%, todas las concentraciones cumplen con el criterio, excepto la concentración más baja (0.5 µg/mL) con un CV de 2.1%. Sin embargo, se usaron los datos al justificar el resultado por ser la concentración más baja y que existe una mayor variación en la preparación de las muestras.

Tabla 12. Determinación de la precisión del método de cuantificación de ABZ.

[µg/mL]	Área	FR	CV%
0.5	47869974	95739948	2.1
0.5	45997042	91994084	
0.5	47390132	94780264	
1	93247149	93247149	1.1
1	91292560	91292560	
1	91910919	91910919	
2.5	231870831	92748332.4	0.6
2.5	234756199	93902479.6	
2.5	233565107	93426042.8	
5	461233311	92246662.2	0.9
5	456072496	91214499.2	
5	452779588	90555917.6	
10	911482696	91148269.6	0.7
10	914339438	91433943.8	
10	924230079	92423007.9	
15	1373090283	91539352.2	0.3
15	1371858147	91457209.8	
15	1380660762	92044050.8	
Promedio		92394705.11	
Desviación estándar		1365250.614	
C.V		1.5 %	

Para el calcular el límite de detección (LD) y cuantificación (LC) se determinaron a partir de la pendiente (β_1) y el intercepto (β_0) mediante el análisis de regresión lineal de la curva de cuantificación con las siguientes ecuaciones:

$$LD = 3.3\left(\frac{\text{INTERCEPTO}}{\text{PENDIENTE}}\right) \quad LC = 10\left(\frac{\text{INTERCEPTO}}{\text{PENDIENTE}}\right)$$

Se muestra en la **Tabla 13** el límite de detección y cuantificación para ABZ, el límite de detección determinado fue de 0.053 $\mu\text{g/mL}$, este valor muestra la concentración mínima del analito que puede ser detectada, pero no necesariamente puede ser cuantificada. El límite de cuantificación obtenido fue de 0.1 $\mu\text{g/mL}$ este parámetro evalúa la concentración mínima del analito que se puede determinar con precisión y exactitud aceptable.

Tabla 13. Límite de detección y cuantificación del método analítico para la cuantificación de ABZ.

	[$\mu\text{g/mL}$]	Área
	ABZ	ABZ
Límite de detección	0.053	6344570.941
Límite de cuantificación	0.16	16139723.51

La especificidad se evaluó al inyectar muestras de ABZ de manera individual para identificar si existen cambios al momento de analizar las muestras provenientes de la disolución de polvos de las nuevas fases sólidas. En la **Figura 42** se observan los tiempos de retención del fármaco (2.8 minutos) a partir de una muestra del ABZ libre y a partir de una muestra que contiene los formadores de cocrystal mostrando que el tiempo de retención no se modifica por la presencia del ácido 2,5-dihidroxibenzoico o el ácido 2,6-dihidroxibenzoico.

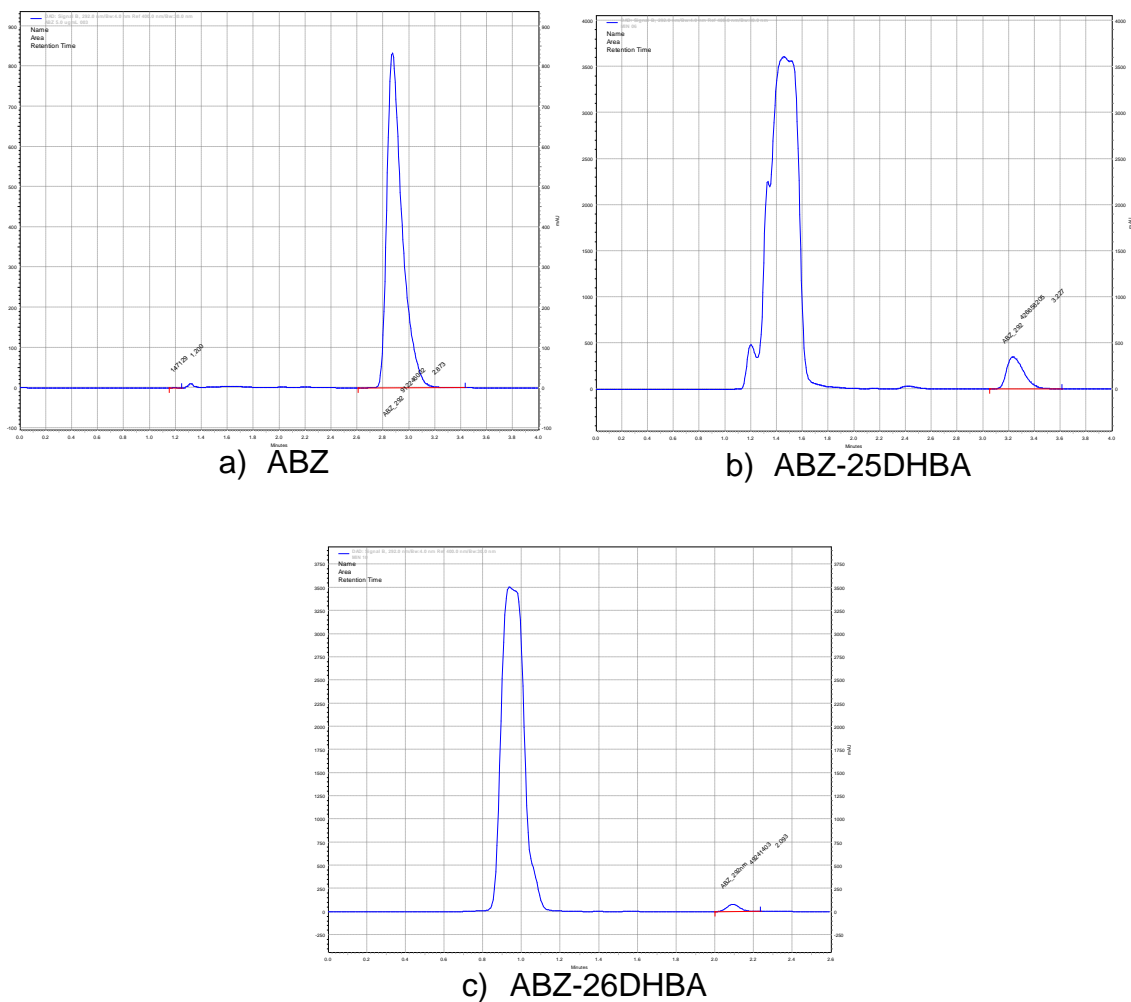


Figura 42. Cromatogramas a 292 nm de a) ABZ puro ABZ a partir de una muestra de la disolución de la fase sólida b) ABZ-25DHBA y c) ABZ-26DHBA en buffer de fosfatos pH 6.8.

8.2.5. Disolución de polvos bajo condiciones *no-sink*

Las formas sólidas de un ingrediente farmacéutico activo, tales como: fases amorfas, sales y cocrystalales pueden inducir un estado supersaturado del fármaco durante el proceso de disolución, promover una mayor absorción y mejorar la biodisponibilidad.⁷³ Considerando este contexto, se evaluó si la fase sólida ABZ-25DHBA es capaz de promover un estado supersaturado de ABZ. La **Figura 43** muestra el perfil de disolución de polvos del ABZ y la fase sólida ABZ-25DHBA en un medio acuoso pH 6.8. La fase sólida ABZ-25DHBA alcanzó una concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) de $3.43 \pm \mu\text{g/mL}$ que es 343 veces superior a la concentración

alcanzada por el ABZ puro ($C_{m\acute{a}x}$ $0.01 \pm \mu\text{g/mL}$). La alta concentración de ABZ inducida por la fase sólida ABZ-25DHBA disminuyó rápidamente (~ 15 min), este comportamiento se asemeja al efecto “resorte-paracaídas” descrito por Guzman y colaboradores en 2007.⁷⁴ El efecto resorte se mantuvo por un periodo corto de tiempo y puede atribuirse a la rápida solubilización de la fase ABZ-25DHBA y como consecuencia sufre una conversión de la fase sólida al fármaco mediado por la solución, esto se comprobó mediante el análisis por DRXP los sólidos remanentes de la disolución. La **Figura 44** mostró que los residuos sólidos presentan picos de difracción que corresponden al ABZ, con esto se demostró que durante el proceso de disolución precipitó la forma sólida menos soluble.

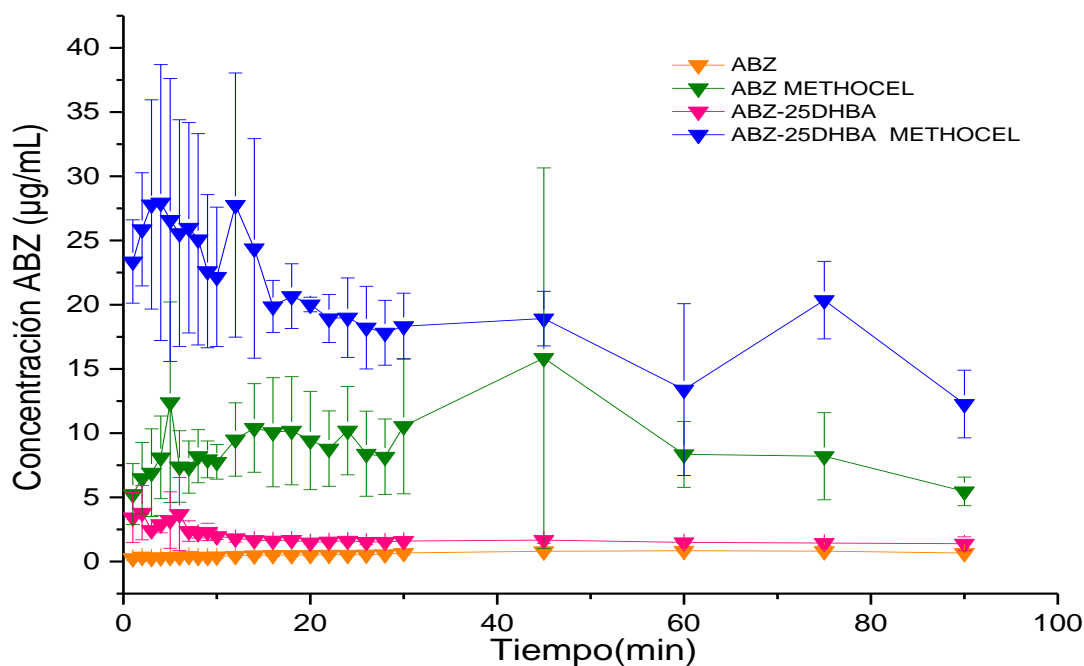


Figura 43. Perfiles de disolución de polvos bajo condiciones supersaturadas de ABZ y la fase sólida ABZ-25DHBA en ausencia y presencia de METHOCEL™ A15 pre-disuelto al 0.5% /v en buffer de fosfatos pH 6.8 a $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

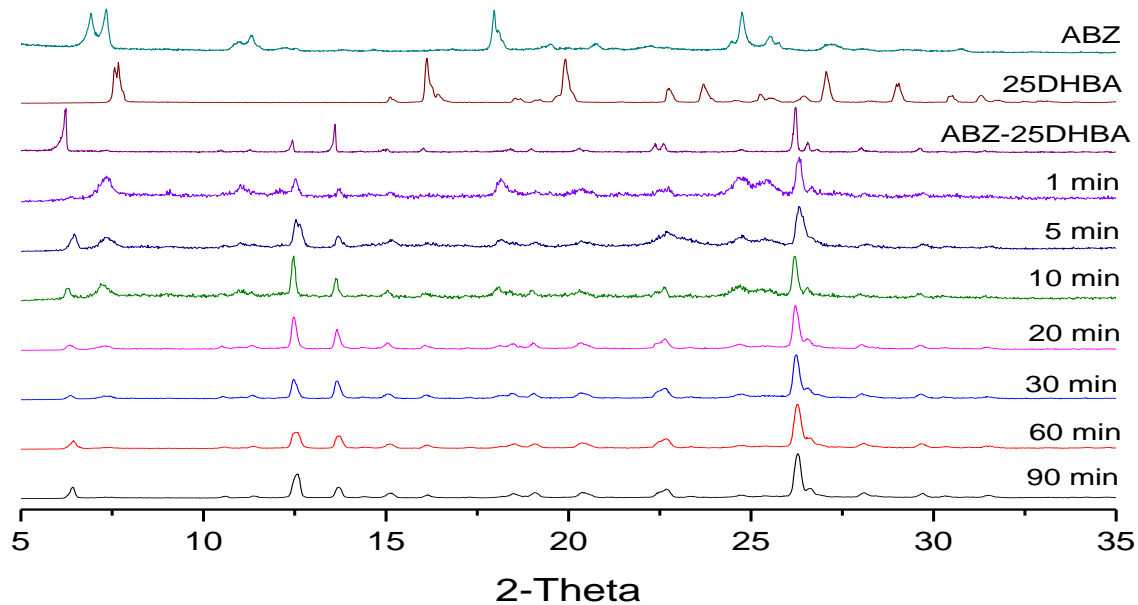


Figura 44. Patrón de DRXP de ABZ, 25DHBA, fase sólida ABZ-25DHBA y residuos sólidos de la disolución de la fase ABZ-25DHBA a 1 min, 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 60 min, 90 en buffer de fosfatos pH 6.8 en presencia de METHOCEL™ A15.

Una estrategia para retardar la precipitación de la fase menos soluble de un fármaco durante la disolución de formulaciones supersaturadas como es el caso de la fase ABZ-25DHBA, es el uso de excipientes farmacéuticos como tensoactivos, ciclodextrinas y polímeros.⁷⁵ El polímero METHOCEL™ A15 (metilcelulosa) fue seleccionado por el método de *solvent-shift* para evaluar su efecto en la precipitación de ABZ a partir de la disolución de las fases sólidas estudiadas en este trabajo. Como se observa en la **Figura 43**, la adición de METHOCEL™ A15 en el medio de disolución mantuvo el estado supersaturado alcanzado por la fase ABZ-25DHBA hasta 90 min. Curiosamente, la metilcelulosa también actuó como solubilizante promoviendo la solubilización de ABZ cristalino, sin embargo, el mejor efecto se observó a partir de la nueva fase sólida ABZ-25DHBA.

Los sólidos remanentes de la prueba de disolución fueron analizados por DRXP y se encontró que el polímero METHOCEL™ A15 retarda la conversión de la fase ABZ-25DHBA al fármaco libre hasta por 30 min (**Figura 44**). Este resultado sugiere que la metilcelulosa es capaz de inhibir la transformación de fase mediada por la solución y probablemente el polímero se adsorbe en la superficie de las partículas

de la fase sólida para prevenir la precipitación de la fase menos soluble y modifica su disolución, dada su capacidad para formar interacciones por puente de hidrógeno.⁷⁶

El resultado obtenido puede favorecer una mayor absorción del ABZ a nivel intestinal, dado que los experimentos de disolución *in vitro* se llevaron a cabo a pH 6.8 y con esto promover una mayor biodisponibilidad al combinar la nueva fase ABZ-25DHBA con el polímero metilcelulosa. Esto está soportado por informes previos acerca de la formulación de la sal ABZ-HCl con HPMC-AS y de fases sólidas de rápida disolución como es el caso de cocristales farmacéuticos con polímeros derivados de celulosa, donde se demostró un incremento en la biodisponibilidad de fármacos poco solubles como danazol y cilostazol.^{61, 63, 77}

9. CONCLUSIONES

En este trabajo de investigación se obtuvieron las fases sólidas de ABZ en combinación con el ácido 2,5-dihydroxibenzoico (ABZ-25DHBA) y el ácido 2,6-dihydroxibenzoico (ABZ-26DHBA), respectivamente mediante las técnicas de formación de pasta (*slurry*) y molienda asistida con disolvente. La formación de las nuevas fases sólidas se comprobó por el análisis de rayos-X de polvos. Ambas fases sólidas mostraron un comportamiento térmico distinto al ABZ puro y al formador de cocrystal. Mediante espectroscopía infrarroja se pudo demostrar que existen modificaciones en las bandas de vibración de los componentes en las nuevas fases sólidas en comparación con los reactivos de partida, sin embargo, no es posible asegurar si las nuevas fases corresponden a una sal o un cocrystal. Será necesario realizar la elucidación de las estructuras para confirmar la naturaleza de los componentes en estos sólidos.

En soluciones acuosas, las fases sólidas ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA conservan su estado físico a pH 1.2, mientras que a pH 4.5 y 6.8 existe una transformación de fase mediada por la solución al fármaco de partida (ABZ), lo que indica que la estabilidad de ambas fases sólidas es pH-dependiente.

La nueva fase sólida ABZ-25DHBA aumentó temporalmente la solubilización de ABZ hasta un máximo de 3.43 µg/mL en un medio acuoso pH 6.8. Esta concentración supersaturada del fármaco representa un aumento 343 veces más que la solubilidad aparente a partir del sólido cristalino de ABZ. La disolución de ABZ-25DHBA con metilcelulosa predisuelta en el medio de disolución alcanzó una supersaturación del fármaco de 23.40 µg/mL, la cual se prolongó hasta por 90 min, este aumento en la solubilización de ABZ a partir de la nueva fase sólida representa un aumento de 2340 veces más que la solubilidad a partir del sólido cristalino de ABZ. Se esperaría que exista una correlación de los experimentos de la disolución *in vitro* con la absorción *in vivo* del ABZ mejorando su biodisponibilidad. Este estudio mostró que la obtención de nuevas fases sólidas de fármacos pocos soluble en agua combinados con excipientes que retardan la precipitación es una estrategia eficaz

para la formulación de IFAs con desventajas de solubilidad y baja biodisponibilidad como es el caso del ABZ.

10. PERSPECTIVAS

- Realizar la prueba de disolución de polvos para ABZ-26DHBA bajo condiciones no-*sink*.
- Validar el método de cuantificación por cromatografía de líquidos de alta resolución para la cuantificación de los coformadores 25DHBA y 26DHBA.
- Caracterizar las fases sólidas ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA mediante difracción de rayos X de monocristal.
- Determinar la constante eutéctica de las fases sólidas ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Salud, O. M. d. I. Helminthiasis transmitida por el suelo <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>.
2. Mazzotti, L., Enfermedades parasitarias más comunes en México. *Salud Pública de México* **2014**, 2 (1), 119-121.
3. Salud, O. M. d. I. Model List of Essential Medicines. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325771/WHO-MVP-EMP-IAU-2019.06-eng.pdf>.
4. Dayan, A. D., Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics. *Acta Tropica* **2003**, 86 (2), 141-159.
5. Carlsson, G.; Patring, J.; Ullerås, E.; Oskarsson, A., Developmental toxicity of albendazole and its three main metabolites in zebrafish embryos. *Reproductive Toxicology* **2011**, 32 (1), 129-137.
6. Cowan, N.; Meier, C.; Neodo, A.; Keiser, J., Exposure of *Heligmosomoides polygyrus* and *Trichuris muris* to albendazole, albendazole sulfoxide, mebendazole and oxantel pamoate in vitro and in vivo to elucidate the pathway of drug entry into these gastrointestinal nematodes. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* **2017**, 7 (2), 159-173.
7. de Kaminsky, R. G., Albendazole treatment in human taeniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1991**, 85 (5), 648-650.
8. Reynoldson, J. A.; Behnke, J. M.; Gracey, M.; Horton, R. J.; Spargo, R.; Hopkins, R. M.; Constantine, C. C.; Gilbert, F.; Stead, C.; Hobbs, R. P.; Thompson, R. C. A., Efficacy of albendazole against *Giardia* and hookworm in a remote Aboriginal community in the north of Western Australia. *Acta Tropica* **1998**, 71 (1), 27-44.
9. Garcia, A.; Leonardi, D.; Salazar, M. O.; Lamas, M. C., Modified β -cyclodextrin inclusion complex to improve the physicochemical properties of albendazole. Complete in vitro evaluation and characterization. *PLoS one* **2014**, 9 (2), 1-9.
10. JUNG, H.; MEDINA, L.; GARCÍA, L.; FUENTES, I.; MORENO-ESPARZA, R., Biopharmaceutics: Absorption Studies of Albendazole and Some Physicochemical Properties of the Drug and Its Metabolite Albendazole Sulphoxide. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **1998**, 50 (1), 43-48.
11. Rivera, J. C.; Yépez-Mulia, L.; Hernández-Campos, A.; Moreno-Esparza, R.; Castillo, R.; Navarrete-Vázquez, G.; Fuentes-Noriega, I.; Jung-Cook, H., Biopharmaceutic evaluation of novel anthelmintic (1H-benzimidazol-5(6)-yl)carboxamide derivatives. *International Journal of Pharmaceutics* **2007**, 343 (1), 159-165.
12. Kataoka, M.; Takeyama, S.; Minami, K.; Higashino, H.; Kakimi, K.; Fujii, Y.; Takahashi, M.; Yamashita, S., In vitro Assessment of Supersaturation/Precipitation and Biological Membrane Permeation of Poorly Water-Soluble Drugs: A Case Study With Albendazole and Ketoconazole. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2019**, 108 (8), 2580-2587.
13. Escher, B. I.; Berger, C.; Bramaz, N.; Kwon, J. H.; Richter, M.; Tsinman, O.; Avdeef, A., Membrane-water partitioning, membrane permeability, and baseline toxicity of the parasiticides ivermectin, albendazole, and morantel. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* **2008**, 27 (4), 909-918.
14. Tanaka, Y.; Baba, T.; Tagawa, K.; Waki, R.; Nagata, S., Prediction of Oral Absorption of Low-Solubility Drugs by Using Rat Simulated Gastrointestinal Fluids: The Importance of Regional Differences in Membrane Permeability and Solubility. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* **2014**, 17 (1), 106-120.
15. Chattah, A. K.; Zhang, R.; Mroue, K. H.; Pfund, L. Y.; Longhi, M. R.; Ramamoorthy, A.; Garner, C., Investigating Albendazole Desmotropes by Solid-State NMR Spectroscopy. *Molecular Pharmaceutics* **2015**, 12 (3), 731-741.
16. Pranzo, M. B.; Cruickshank, D.; Coruzzi, M.; Caira, M. R.; Bettini, R., Enantiotropically Related Albendazole Polymorphs. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2010**, 99 (9), 3731-3742.

17. Organization, W. H. Report of the WHO Informal Consultation on the use of Praziquantel during Pregnancy/Lactation and Albendazole/Mebendazole in Children under 24 months. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/68041/WHO_CDS_CPE_PVC_2002.4.pdf.
18. Bouchaud, O.; Consigny, P. H.; Cot, M.; Le Loup, G.; Odermatt-Biays, S., 12 - Fiches maladies. In *Médecine des Voyages et Tropicale (Quatrième Édition)*, Bouchaud, O.; Consigny, P. H.; Cot, M.; Le Loup, G.; Odermatt-Biays, S., Eds. Elsevier Masson: Paris, 2019; pp 107-292.
19. Amidon, G. L.; Lennernäs, H.; Shah, V. P.; Crison, J. R., A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. *Pharmaceutical Research* **1995**, *12* (3), 413-420.
20. Cook, J.; Addicks, W.; Wu, Y. H., Application of the Biopharmaceutical Classification System in Clinical Drug Development—An Industrial View. *The AAPS Journal* **2008**, *10* (2), 306-310.
21. Amidon, G. L.; Lennernas, H.; Shah, V. P.; Crison, J. R., Theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: Correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.* **1995**, *12*, 413.
22. Perlovich, G. L.; Manin, A. N., Design of pharmaceutical cocrystals for drug solubility improvement. *Russian Journal of General Chemistry* **2014**, *84* (2), 407-414.
23. Duggirala, N. K.; Perry, M. L.; Almarsson, Ö.; Zaworotko, M. J., Pharmaceutical cocrystals: along the path to improved medicines. *Chemical Communications* **2016**, *52* (4), 640-655.
24. Couillaud, B. M.; Espeau, P.; Mignet, N.; Corvis, Y., State of the Art of Pharmaceutical Solid Forms: from Crystal Property Issues to Nanocrystals Formulation. *ChemMedChem* **2019**, *14* (1), 8-23.
25. Yadav, A. V.; Shete, A. S.; Dabke, A. P.; Kulkarni, P. V.; Sakhare, S. S., Co-crystals: a novel approach to modify physicochemical properties of active pharmaceutical ingredients. *Indian J Pharm Sci* **2009**, *71* (4), 359-370.
26. Klages, F., *TRATADO DE QUÍMICA ORGÁNICA*. REVERTÉ: Buenos Aires. **1969**, *2*, 484.
27. Healy, A. M.; Worku, Z. A.; Kumar, D.; Madi, A. M., Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2017**, *117*, 25-46.
28. Sánchez G, E.; Jung C, H.; Yépez M, L.; Hernández-Abad, V., Relevancia del polimorfismo en el área farmacéutica. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* **2007**, *38* (2), 57-76.
29. Couillaud, B.; Espeau, P.; Mignet, N.; Corvis, Y., State of the Art of Pharmaceutical Solid Forms from Crystal Property Issues to Nanocrystals Formulation. *ChemMedChem* **2018**, *14*.
30. Bolla, G.; Nangia, A., Pharmaceutical cocrystals: walking the talk. *Chemical Communications* **2016**, *52* (54), 8342-8360.
31. Bond, A. D., What is a co-crystal? *CrystEngComm* **2007**, *9* (9), 833-834.
32. Pindelska, E.; Sokal, A.; Kolodziejcki, W., Pharmaceutical cocrystals, salts and polymorphs: Advanced characterization techniques. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2017**, *117*, 111-146.
33. Silverstein, M., R.; Webster, X, F.; Kiemle, J, D., , *Spectrum Identification of Organic Compounds* 7ed.; United States of America 2005; p 550.
34. Wouters, J.; Quéré, L.; Royal Society of, C., Pharmaceutical salts and co-crystals. **2012**.
35. Donahue, M. S., B. E; Wells, D; Brown, W, C, Understanding Infrared and Raman Spectra of Pharmaceutical Polymorphs. *American Pharmaceutical Review* **2011**.
36. Wlodarski, K.; Sawicki, W.; Paluch, K. J.; Tajber, L.; Grembecka, M.; Hawelek, L.; Wojnarowska, Z.; Grzybowska, K.; Talik, E.; Paluch, M., The influence of amorphization methods on the apparent solubility and dissolution rate of tadalafil. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences* **2014**, *62*, 132-40.
37. Sierra, A. I. P., Q. D.; Gómez, R. S.; Morante, Z. S., *ANÁLISIS INSTRUMENTAL* netbiblo ed.; España, 2010; Vol. 1.

38. Dai, X.-L.; Chen, J.-M.; Lu, T.-B., Pharmaceutical cocrystallization: an effective approach to modulate the physicochemical properties of solid-state drugs. *CrystEngComm* **2018**, *20* (36), 5292-5316.
39. Shan, N.; Zaworotko, M. J., The role of cocrystals in pharmaceutical science. *Drug Discovery Today* **2008**, *13* (9), 440-446.
40. Steed, J. W., The role of co-crystals in pharmaceutical design. *Trends in Pharmacological Sciences* **2013**, *34* (3), 185-193.
41. Wang, L.; Xue, R.; Xu, L.; Lu, X.; Chen, R.; Tao, X., Hydrogen-bonding directed cocrystallization of flexible piperazine with hydroxybenzoic acid derivatives: Structural diversity and synthon prediction. *Science China Chemistry* **2012**, *55* (7), 1228-1235.
42. Ross, S. A.; Lamprou, D. A.; Douroumis, D., Engineering and manufacturing of pharmaceutical co-crystals: a review of solvent-free manufacturing technologies. *Chemical Communications* **2016**, *52* (57), 8772-8786.
43. La base de datos estructural de Cambridge (CSD). <https://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/csd-system/components/csd/>.
44. Etter, M. C., Encoding and decoding hydrogen-bond patterns of organic compounds. *Accounts of Chemical Research* **1990**, *23* (4), 120-126.
45. Sanphui, P.; Goud, N. R.; Khandavilli, U. B. R.; Nangia, A., Fast Dissolving Curcumin Cocrystals. *Crystal Growth & Design* **2011**, *11* (9), 4135-4145.
46. Cerreia Vioglio, P.; Chierotti, M. R.; Gobetto, R., Pharmaceutical aspects of salt and cocrystal forms of APIs and characterization challenges. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2017**, *117*, 86-110.
47. Alvarado L, K., Uso de cocristales para mejorar la solubilidad y velocidad de disolución de los fármacos. *Revista Pensamiento Actual* **2015**, *15* 207-215.
48. Panakanti, R.; Narang, A. S., Impact of Excipient Interactions on Drug Bioavailability from Solid Dosage Forms. *Pharmaceutical Research* **2012**, *29* (10), 2639-2659.
49. Box, K. J.; Comer, J.; Taylor, R.; Karki, S.; Ruiz, R.; Price, R.; Fotaki, N., Small-Scale Assays for Studying Dissolution of Pharmaceutical Cocrystals for Oral Administration. *AAPS PharmSciTech* **2016**, *17* (2), 245-251.
50. Avdeef, A., Cocrystal Solubility Product Prediction Using an in combo Model and Simulations to Improve Design of Experiments. *Pharmaceutical Research* **2018**, *35* (2), 40.
51. Koparkar, A. D.; Augsburger, L. L.; Shangraw, R. F., Intrinsic Dissolution Rates of Tablet Filler-Binders and Their Influence on the Dissolution of Drugs from Tablet Formulations. *Pharmaceutical Research* **1990**, *7* (1), 80-86.
52. Song, W. H.; Park, J. H.; Yeom, D. W.; Ahn, B. K.; Lee, K. M.; Lee, S. G.; Woo, H. S.; Choi, Y. W., Enhanced dissolution of celecoxib by supersaturating self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS) formulation. *Archives of Pharmacal Research* **2013**, *36* (1), 69-78.
53. Brouwers, J.; Brewster, M. E.; Augustijns, P., Supersaturating drug delivery systems: the answer to solubility-limited oral bioavailability? *J Pharm Sci* **2009**, *98* (8), 2549-72.
54. Bavishi, D. D.; Borkhataria, C. H., Spring and parachute: How cocrystals enhance solubility. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials* **2016**, *62* (3), 1-8.
55. Riekes, M. K.; Kuminek, G.; Rauber, G. S.; Cuffini, S. L.; Stulzer, H. K., Development and validation of an intrinsic dissolution method for nimodipine polymorphs. *Central European Journal of Chemistry* **2014**, *12* (5), 549-556.
56. Liu, P.; De Wulf, O.; Laru, J.; Heikkilä, T.; van Veen, B.; Kiesvaara, J.; Hirvonen, J.; Peltonen, L.; Laaksonen, T., Dissolution Studies of Poorly Soluble Drug Nanosuspensions in Non-sink Conditions. *AAPS PharmSciTech* **2013**, *14* (2), 748-756.
57. Yoal, S., *Síntesis y caracterización biofarmacéutica de cocristales de albendazol*, Tesis de Maestría. Facultad de Farmacia 2011.

58. Kourentas, A.; Vertzoni, M.; Khadra, I.; Symillides, M.; Clark, H.; Halbert, G.; Butler, J.; Reppas, C., Evaluation of the Impact of Excipients and an Albendazole Salt on Albendazole Concentrations in Upper Small Intestine Using an Biorelevant Gastrointestinal Transfer (BioGIT) System. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2016**, *105* (9), 2896-2903.
59. Bolla, G.; Nangia, A., Novel pharmaceutical salts of albendazole. *CrystEngComm* **2018**, *20* (41), 6394-6405.
60. Bongioanni, A.; Bueno, M. S.; Abraham-Miranda, J.; Chattah, A. K.; Ayala, A. P.; Longhi, M. R.; Garnero, C., Investigating a Soluble Pharmaceutical Salt: Albendazole Hydrochloride. *Crystal Growth & Design* **2019**, *19* (8), 4538-4545.
61. Hu, C.; Liu, Z.; Liu, C.; Li, J.; Wang, Z.; Xu, L.; Chen, C.; Fan, H.; Qian, F., Enhanced Oral Bioavailability and Anti-Echinococcosis Efficacy of Albendazole Achieved by Optimizing the "Spring" and "Parachute". *Molecular Pharmaceutics* **2019**, *16* (12), 4978-4986.
62. Natalini, P. M.; Razuc, M. F.; Sørli, J. B.; Bucalá, V.; Ramírez-Rigo, M. V., The influence of surfactant on the properties of albendazole-bile salts particles designed for lung delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* **2019**, *53*, 101162.
63. Childs, S. L.; Kandi, P.; Lingireddy, S. R., Formulation of a Danazol Cocrystal with Controlled Supersaturation Plays an Essential Role in Improving Bioavailability. *Molecular Pharmaceutics* **2013**, *10* (8), 3112-3127.
64. Salas-Zúñiga, R.; Rodríguez-Ruiz, C.; Höpfl, H.; Morales-Rojas, H.; Sánchez-Guadarrama, O.; Rodríguez-Cuamatzi, P.; Herrera-Ruiz, D., Dissolution Advantage of Nitazoxanide Cocrystals in the Presence of Cellulosic Polymers. *Pharmaceutics* **2019**, *12* (1), 23.
65. Nación, M. d. S. d. I., *Farmacopea Argentina* 7ed.; Buenos Aires, 2003; Vol. II.
66. AGENCY, E. M. ICH guideline Q3C (R6) on impurities: guideline for residual solvents https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en-33.pdf.
67. Ferreira, M. J. G.; García, A.; Leonardi, D.; Salomon, C. J.; Lamas, M. C.; Nunes, T. G., ¹³C and ¹⁵N solid-state NMR studies on albendazole and cyclodextrin albendazole complexes. *Carbohydrate Polymers* **2015**, *123*, 130-135.
68. Cruz-Cabeza, A. J., Acid-base crystalline complexes and the pKa rule. *CrystEngComm* **2012**, *14* (20), 6362-6365.
69. Federación, D. O. d. I. Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2015, Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios http://www.dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5440183.
70. Greco, K.; Bogner, R., Solution-Mediated Phase Transformation: Significance During Dissolution and Implications for Bioavailability. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2012**, *101* (9), 2996-3018.
71. Warren, D. B.; Benameur, H.; Porter, C. J. H.; Pouton, C. W., Using polymeric precipitation inhibitors to improve the absorption of poorly water-soluble drugs: A mechanistic basis for utility. *Journal of Drug Targeting* **2010**, *18* (10), 704-731.
72. Colegio nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A. C., Guía de validación de métodos analíticos. **2002**, 20-39.
73. Almeida e Sousa, L.; Reutzel-Edens, S. M.; Stephenson, G. A.; Taylor, L. S., Supersaturation Potential of Salt, Co-Crystal, and Amorphous Forms of a Model Weak Base. *Crystal Growth & Design* **2016**, *16* (2), 737-748.
74. Guzmán, H. R.; Tawa, M.; Zhang, Z.; Ratanabanangkoon, P.; Shaw, P.; Gardner, C. R.; Chen, H.; Moreau, J. P.; Almarsson, Ö.; Remenar, J. F., Combined Use of Crystalline Salt Forms and Precipitation Inhibitors to Improve Oral Absorption of Celecoxib from Solid Oral Formulations. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2007**, *96* (10), 2686-2702.

75. Xu, S.; Dai, W.-G., Drug precipitation inhibitors in supersaturable formulations. *International Journal of Pharmaceutics* **2013**, *453* (1), 36-43.
76. Kirubakaran, P.; Wang, K.; Rosbottom, I.; Cross, R. B. M.; Li, M., Understanding the Effects of a Polymer on the Surface Dissolution of Pharmaceutical Cocrystals Using Combined Experimental and Molecular Dynamics Simulation Approaches. *Molecular Pharmaceutics* **2020**, *17* (2), 517-529.
77. Yoshimura, M.; Miyake, M.; Kawato, T.; Bando, M.; Toda, M.; Kato, Y.; Fukami, T.; Ozeki, T., Impact of the Dissolution Profile of the Cilostazol Cocrystal with Supersaturation on the Oral Bioavailability. *Crystal Growth & Design* **2017**, *17* (2), 550-557.

12. ANEXOS

12.3. Análisis termogravimétrico

Anexo 1. Termogramas TGA de las materias primas analizadas por el software TA Universal Analysis.

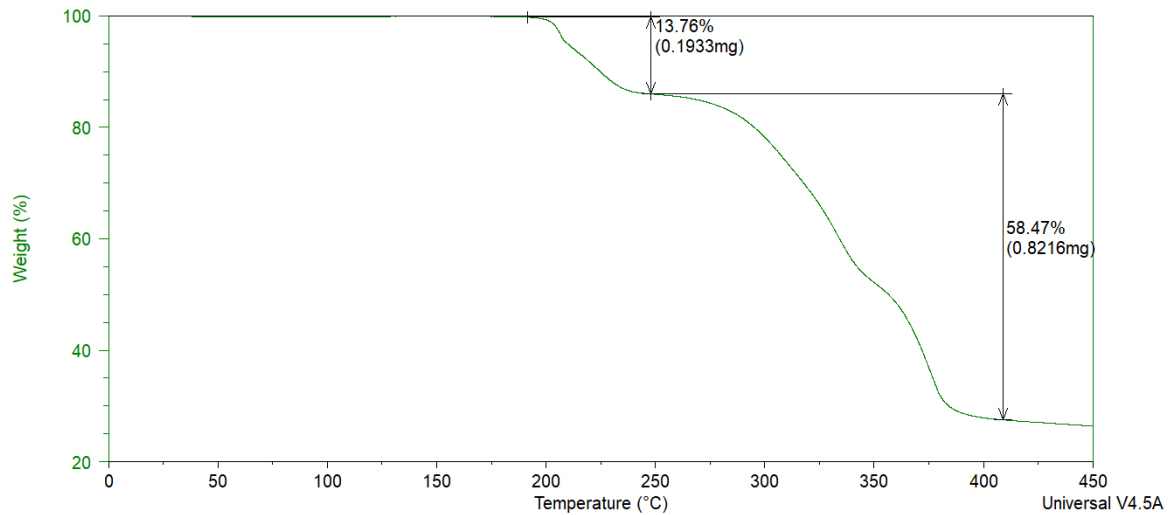


Figura A1. Termograma TG del ABZ.

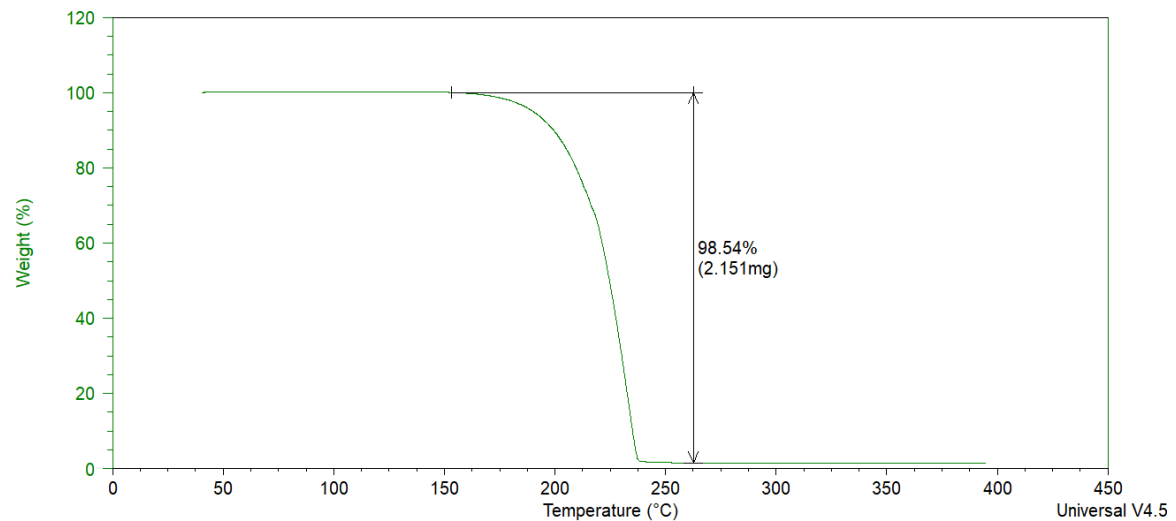


Figura A2. Termograma TG de 25DHBA.

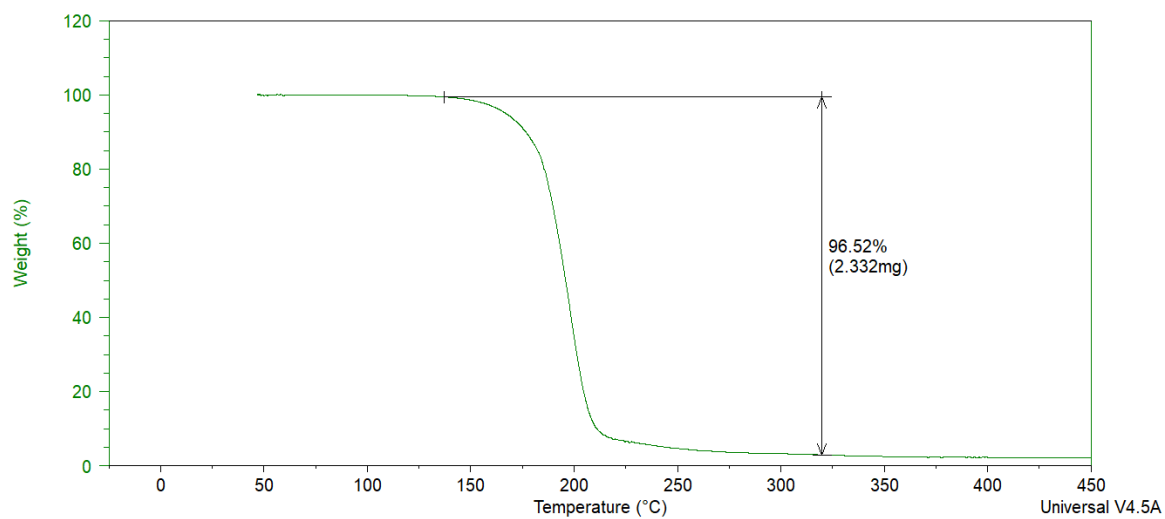


Figura A3. Termograma TG de 26DHBA.

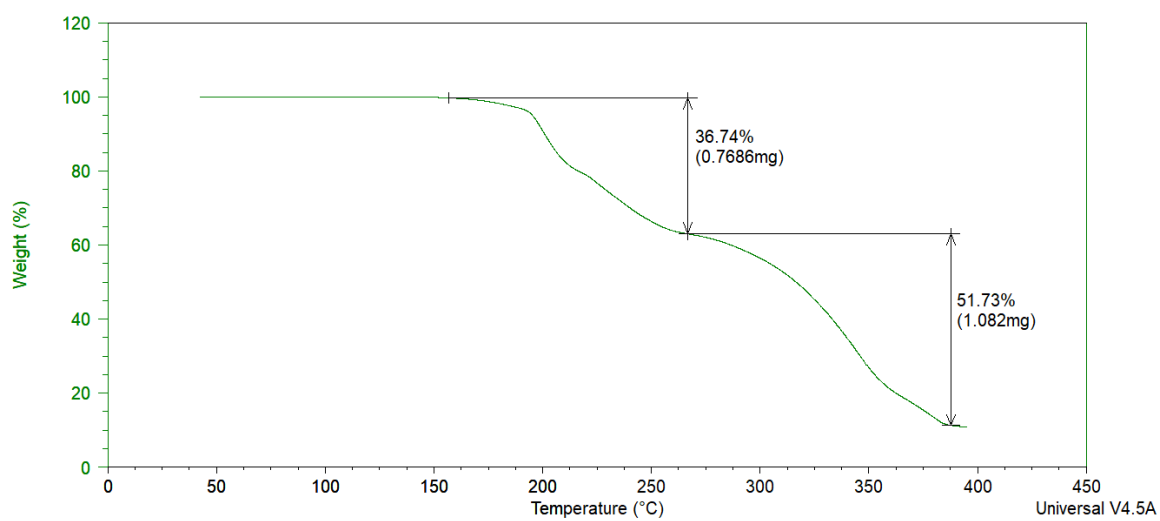


Figura A4. Termograma TG de la fase ABZ-2 5DHBA.

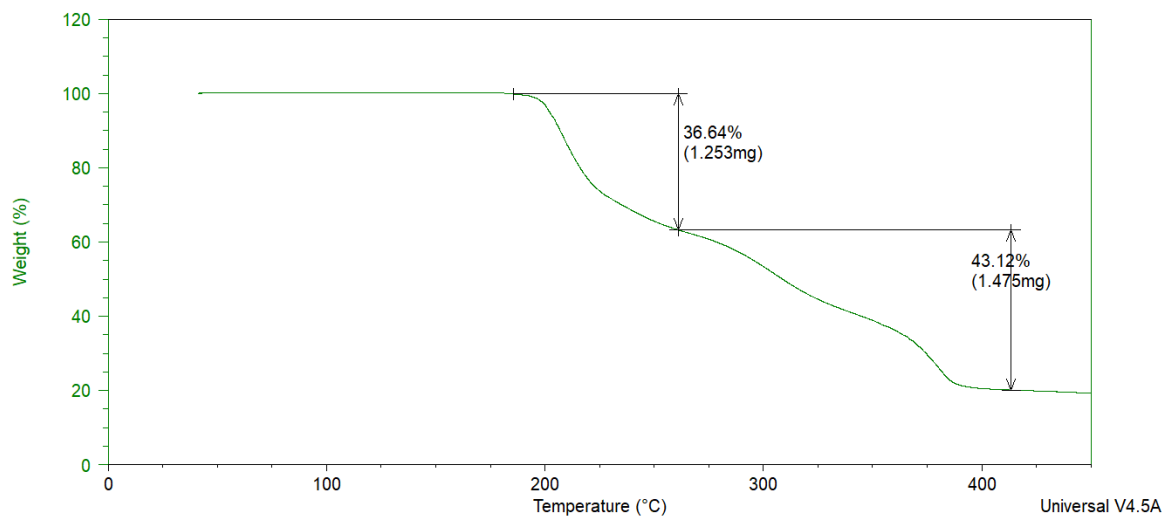


Figura A5. Termograma TG de la fase ABZ-2DHBA.

12.4. Difracción de rayos-X de polvos

Anexo 2. Patrón de DRXP de ABZ y los formadores de cocrystal provenientes de estabilidad indicativa.

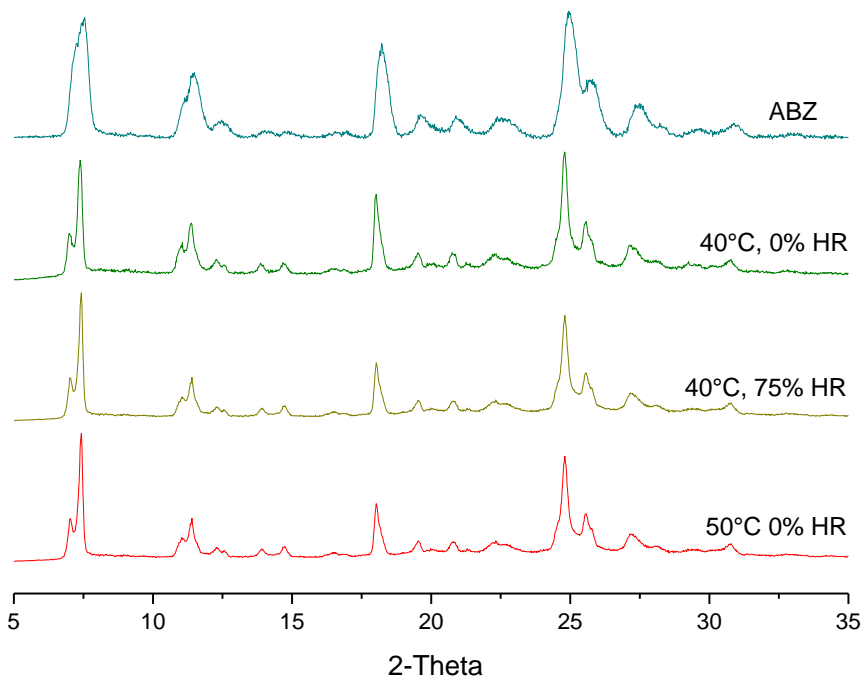


Figura A6. Patrón de DRXP de ABZ a 40°C 0% HR calor seco, 40°C 75% HR calor húmedo y 50°C 0% HR calor seco.

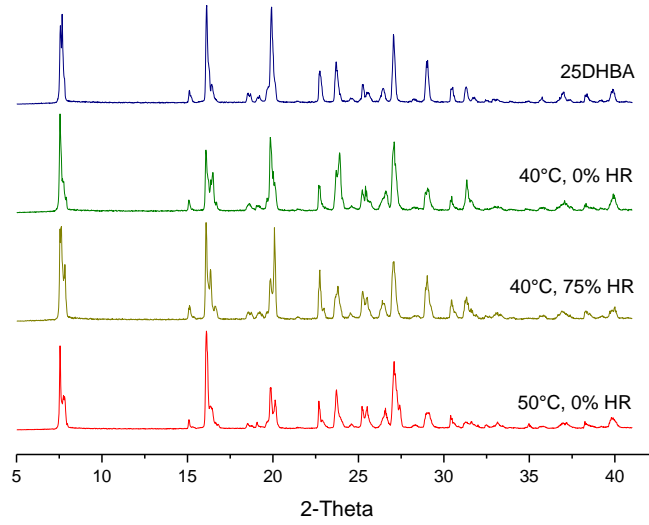


Figura A7. Patrón de DRXP de 25DHBA a 40°C 0% HR calor seco, 40°C 75% HR calor húmedo y 50°C 0% HR calor seco.

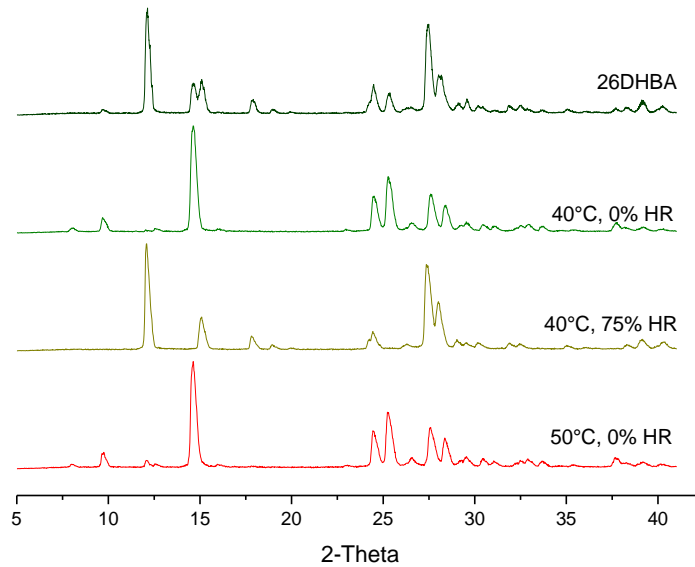
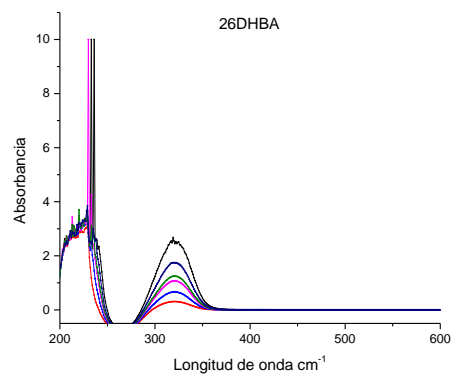
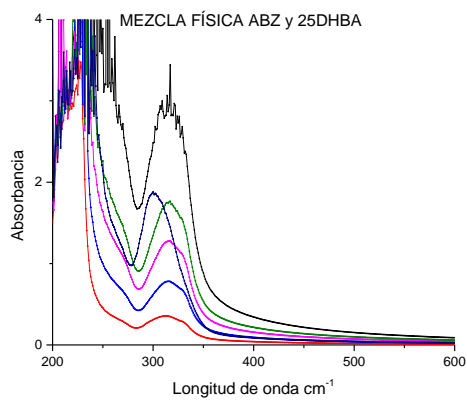
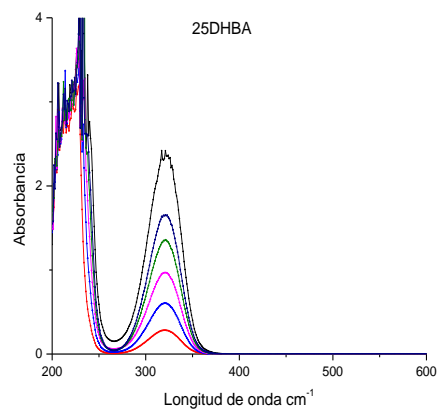
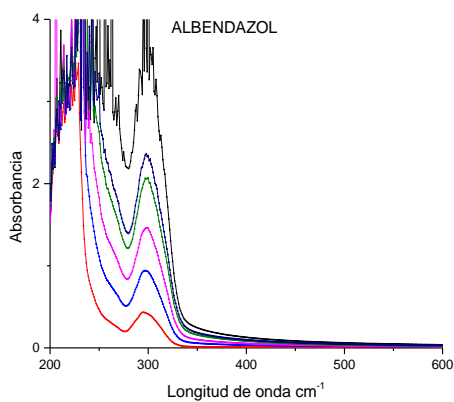


Figura A8. Patrón de DRXP de 26DHBA a 40°C 0% HR calor seco, 40°C 75% HR calor húmedo y 50°C 0% HR calor seco.

12.5. Espectroscopía Uv-visible

Anexo 3. Espectros Uv-vis de ABZ, 25DHBA, 26DHBA, y mezclas físicas de ABZ-25DHBA y ABZ-26DHBA diferentes concentraciones.



12.4. Adecuabilidad del método de cuantificación

Anexo 4. Adecuabilidad del sistema cromatográfico de ABZ

Sample ID
 ABZ 5.0
 ugmL 001
 ABZ 5.0
 ugmL 002
 ABZ 5.0
 ugmL 003
 ABZ 5.0
 ugmL 004
 ABZ 5.0
 ugmL 005

Data Filename
 ABZ 5.0 ugmL 001.dat
 ABZ 5.0 ugmL 002.dat
 ABZ 5.0 ugmL 003.dat
 ABZ 5.0 ugmL 004.dat
 ABZ 5.0 ugmL 005.dat

System is Suitable

DAD: Signal
 A, 230.0
 nm/Bw:4.0
 nm Ref 400.0
 nm/Bw:30.0
 nm

Compound **Parameter** **Min** **Max** **%RSD**

ABZ_230 Retention Time 2
 Area 2

Sample ID **Compound** **Parameter** **Average** **Low** **High** **%RSD** **Status**

ABZ 5.0 ABZ_230 Retention Time 2.867 2.860 2.873 0.164 Passed
 ugmL 001 2.867 Passed
 ABZ 5.0 2.873 Passed
 ugmL 002 2.860 Passed
 ABZ 5.0 2.867 Passed
 ugmL 003 Area 2136098488 2130781109 2143418362 0.231
 ABZ 5.0 2143418362 Passed
 ugmL 001 2138419500 Passed
 ABZ 5.0 2130781109 Passed
 ugmL 002 2133476021 Passed
 ABZ 5.0 2134397448 Passed
 ugmL 003 2134397448 Passed
 ABZ 5.0 2134397448 Passed
 ugmL 004 2134397448 Passed
 ugmL 005

ABZ_292 Retention Time 2
 Area 2

Sample ID **Compound** **Parameter** **Average** **Low** **High** **%RSD** **Status**

ABZ 5.0 ABZ_292 Retention Time 2.867 2.860 2.873 0.164 Passed
 ugmL 001 2.867 Passed
 ABZ 5.0 2.867 Passed
 ugmL 002 2.873 Passed
 ABZ 5.0 2.860 Passed
 ugmL 003 2.867 Passed
 ABZ 5.0 2.867 Passed
 ugmL 004 2.867 Passed
 ABZ 5.0 2.867 Passed
 ugmL 005

ABZ 5.0 Area 914596015 912246002 917186732 0.208 Passed
 ugmL 001 917186732 Passed
 ABZ 5.0 915733412 Passed
 ugmL 002 912246002 Passed
 ABZ 5.0 913787416 Passed
 ugmL 003 913787416 Passed
 ABZ 5.0 914026512 Passed
 ugmL 004 914026512 Passed
 ugmL 005

ABREVIATURAS

ABZ	Albendazol
25DHBA	Ácido 2,5 dihidroxibenzoico
26DHBA	Ácido 2,6 dihidroxibenzoico
ACT	Acetona
ACN	Acetonitrilo
MEOH	Metanol
DMSO	Dimetilsulfóxido
ABZ-25DHBA	Nueva fase sólida ABZ ácido 2,5 dihidroxibenzoico
ABZ-26DHBA	Nueva fase sólida ABZ ácido 2,6-dihidroxibenzoico
DRXP	Difracción de rayos-X de polvos
IR	Espectroscopía infrarroja
TGA	Termogravimetría
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
RMN ¹³C-	Resonancia magnética nuclear en estado sólido
CP/MAS	de ¹³ C
UV-VIS	Espectroscopía ultravioleta visible
IFA	Ingrediente farmacéutico activo
GRAS	Reconocido generalmente como seguro
HZ	Hertz
°C	Grados Celsius
MG	Miligramos
MHZ	Mega Hertz
HR	Humedad relativa
SCB	Sistema de clasificación biofarmacéutico
SDDS	Sistemas de administración de fármacos supersaturados
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
RPM	Revoluciones por minuto

PBS	Buffer de fosfatos
NM	Nanómetros
NAOH	Hidróxido de sodio
PM	Peso molecular
R²	Coefficiente de determinación
B0	Intercepto
B1	Pendiente
DMSO-D6	Dimetilsulfóxido deuterado
DVS	Sorción dinámica de vapor por sus siglas en inglés
HPMC E5	Hidroxipropilmetilcelulosa
¹⁵N SS-NMR	Resonancia magnética nuclear del estado sólido de ¹⁵ N
FT-IR	Espectroscopía infrarroja con transformada de fourier
SGF	Fluido gástrico simulado
SIF	Fluido intestinal simulado
HPMC-AS	Succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulosa
SCT	Taucolato de sodio
SGC	Glicolato de sodio
API	Active pharmaceutical Ingredient
CCDC	Centro de datos cristalográficos de Cambridge

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. ESTRUCTURA QUÍMICA DE ABZ.....	2
FIGURA 2. ESPECIES IÓNICAS DE ABZ.	3
FIGURA 3. A) PATRÓN DE DIFRACCIÓN DE RX DE LOS POLIMORFOS I Y II DE ABZ Y B) ESTRUCTURA OBSERVADA EN EL CRISTAL DEL POLIMORFO II DE ABZ.(CHATTAH ET AL., 2015)	4
FIGURA 4. ESTRUCTURA QUÍMICA DE SULFÓXIDO DE ABZ (A), ESTRUCTURA QUÍMICA DE SULFONA DE ABZ (B).	5
FIGURA 5. SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICO DE LOS MEDICAMENTOS. ADAPTADO DE AMIDON ET AL.(G. L. AMIDON, LENNERNAS, SHAH, & CRISON, 1995)	7
FIGURA 6. FORMAS SÓLIDAS DE UN INGREDIENTE FARMACÉUTICO ACTIVO.	9
FIGURA 7. DIFRACCIÓN DE RAYOS-X DE UN CRISTAL MEDIANTE LA LEY DE BRAGG.....	12
FIGURA 8. SINTONES SUPRAMOLECULARES MÁS COMUNES EN LA FORMACIÓN DE COCRISTALES.	16
FIGURA 9. EFECTO “RESORTE-PARACAÍDAS” PARA MEJORAR LA SOLUBILIDAD FRENTE A FÁRMACOS CON PROBLEMAS DE SOLUBILIDAD.(BAVISHI & BORKHATARIA, 2016).....	19
FIGURA 10. PERFIL DE DISOLUCIÓN INTRÍNSECA DE ABZ Y LAS NUEVAS FASES SÓLIDAS EN UNA SOLUCIÓN DE HCL 0.1 N PH 1.2 A 100 RPM Y 37°C. TOMADA DE YOVAL-MARTINEZ.(S, 2011)	21
FIGURA 11. PERFILES DE DISOLUCIÓN DE ABZ Y LAS SALES DE ABZ EN AGUA (A), BUFFER DE ACETATOS PH 4. 5 (B) Y EN MEDIO ÁCIDO CLORHÍDRICO PH 1.2 (C).(BROUWERS ET AL., 2009)	22
FIGURA 12. VALORES PARA LAS CONCENTRACIONES DE ABZ EN SUSPENSIÓN (CUADRADOS) Y VALORES DE SOLUBILIDAD DE EQUILIBRIO (LÍNEA), VALORES PARA LAS CONCENTRACIONES DE ABZ EN UNA SUSPENSIÓN EN PRESENCIA DE HPMC (TRIÁNGULOS) Y VALORES DE SOLUBILIDAD AL EQUILIBRIO (LÍNEA PUNTEADA). (KOURENTAS ET AL., 2016)	23
FIGURA 13. EJEMPLIFICACIÓN DE LA FORMACIÓN DE UNA SAL.(BOLLA & NANGIA, 2018)	23
FIGURA 14. UNIDAD BÁSICA PRESENTE EN LA SAL DE ABZ-ÁCIDO 2,6-DIHIPOXIBENZOICO.(BOLLA & NANGIA, 2018)	24
FIGURA 15. SOLUBILIDAD DE ABZ FORMA I, ABZ FORMA II Y CLORHIDRATO DE ABZ EN MEDIO ACUOSO (PH 6.2 37° C), MEDIO SGF (PH 1.2 37° C) Y MEDIO SIF(PH 6.8 37° C).(BONGIOANNI ET AL., 2019).....	24
FIGURA 16. DISOLUCIÓN DE LAS DOS FORMULACIONES DE ABZ COMERCIAL (ALBENZA®) Y CLORHIDRATO DE ABZ EN PH 1.4 Y 6.5.(HU ET AL., 2019)	25
FIGURA 17. REPRESENTACIÓN DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA PARA LA SELECCIÓN DEL POLÍMERO POR LA TÉCNICA DE SOLVENT SHIFT.	36
FIGURA 18. PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 25DHBA Y MUESTRAS OBTENIDAS DE LA MEZCLA FÍSICA ABZ-25DHBA 1:1 EN PRESENCIA DE ACETONA, ACETONITRILLO, METANOL Y AGUA POR EL MÉTODO DE FORMACIÓN DE PASTA.	39
FIGURA 19. PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 26DHBA Y MUESTRAS OBTENIDAS DE LA MEZCLA FÍSICA ABZ-26DHBA 1:1 EN PRESENCIA DE ACETONA, ACETONITRILLO, METANOL Y AGUA POR EL MÉTODO DE MOLIENDA MECANOQUÍMICA.....	39
FIGURA 20. PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 26DHBA, FASE SÓLIDA ABZ-26DHBA Y SIMULADO DE LA SAL ABZ-26DHBA A PARTIR DE LOS DATOS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS-X DE MONOCRISTAL.(BOLLA & NANGIA, 2018)	40
FIGURA 21. COMPARACIÓN DEL PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 25DHBA Y LA FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA 1:1 EN 100 MG Y 1 G, OBTENIDOS EN PRESENCIA DE ACETONA POR EL MÉTODO DE FORMACIÓN DE PASTA.	41
FIGURA 22. COMPARACIÓN DEL PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 26DHBA Y LA FASE SÓLIDA ABZ-26DHBA 1:1 A 100 MG Y 1 G, OBTENIDOS EN PRESENCIA DE ACETONA POR EL MÉTODO DE MOLIENDA MECANOQUÍMICA.....	41
FIGURA 23. ESPECTROS DE RMN ¹³ C CP/MAS DE ABZ, 26DHBA Y LA NUEVA FASE SÓLIDA ABZ-26DHBA.....	42
FIGURA 24. COMPARACIÓN DE LOS ESPECTROS IR DE ABZ, 25DHBA Y LA FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA.....	46
FIGURA 25. COMPARACIÓN DE LOS ESPECTROS IR DE ABZ, 26DHBA, Y LA FASE SÓLIDA ABZ-26DHBA.	48
FIGURA 26. CURVA TGA DE ABZ, 25DHBA Y LA FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA.	50
FIGURA 27. CURVA TGA DE ABZ, 26DHBA Y LA FASE SÓLIDA ABZ-26DHBA.	51
FIGURA 28. CURVA DSC DE ABZ, 25DHBA Y LA FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA.....	52
FIGURA 29. CURVA DSC DE ABZ, 26DHBA Y LA FASE SÓLIDA ABZ-26DHBA.....	53
FIGURA 30. PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 25DHBA, FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA Y MUESTRAS DE ESTABILIDAD INDICATIVA DE LA FASE ABZ-25DHBA A 40°C 0% HR CALOR SECO, 40°C 75% HR CALOR HÚMEDO Y 50°C 0% HR CALOR SECO.....	55
FIGURA 31. PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 26DHBA, FASE SÓLIDA ABZ-26DHBA Y MUESTRAS DE ESTABILIDAD INDICATIVA DE LA FASE ABZ-26DHBA A 40°C 0% HR CALOR SECO, 40°C 75% HR CALOR HÚMEDO Y 50°C 0% HR CALOR SECO.....	56

FIGURA 32. PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 25DHBA, FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA Y MUESTRAS DE ESTABILIDAD DE LA FASE ABZ-25DHBA EN 10 MIN, 15 MIN, 20 MIN, 30 MIN, 45 MIN, 1 H, 3 H, 24 H EN MEDIO ACUOSO HCL PH 1.2.	57
FIGURA 33. PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 25DHBA, FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA Y MUESTRAS DE ESTABILIDAD DE LA FASE ABZ-25DHBA EN 10 MIN, 15 MIN, 20 MIN, 30 MIN, 45 MIN, 1 H, 3 H, 24 H EN BUFFER ACETATOS PH 4.5.	58
FIGURA 34. PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 25DHBA, FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA Y MUESTRAS DE ESTABILIDAD DE LA FASE ABZ-25DHBA EN 10 MIN, 15 MIN, 20 MIN, 30 MIN, 45 MIN, 1 H, 3 H, 24 H EN BUFFER DE FOSFATOS PH 6.8.	59
FIGURA 35. PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 26DHBA, FASE SÓLIDA ABZ-26DHBA Y MUESTRAS DE ESTABILIDAD DE LA FASE ABZ-26DHBA EN 45 MIN, 1H, 3 H, 6 H Y 24 H EN MEDIO ACUOSO HCL PH 1.2.	59
FIGURA 36. PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 26DHBA, FASE SÓLIDA ABZ-26DHBA Y MUESTRAS DE ESTABILIDAD DE LA FASE ABZ-26DHBA EN 30 MIN, 45 MIN, 1H, 3 H, 6 H Y 24 H EN MEDIO BUFFER ACETATOS PH 4.5.....	60
FIGURA 37. PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 26DHBA, FASE SÓLIDA ABZ-26DHBA Y MUESTRAS DE ESTABILIDAD DE LA FASE ABZ-26DHBA EN 30 MIN, 45 MIN, 1H, 3 H, 6 H Y 24 H EN MEDIO BUFFER DE FOSFATOS PH 6.8.	61
FIGURA 38. EFECTO DE POLÍMEROS PRE-DISUELTOS AL 0.5% P/V EN BUFFER DE FOSFATOS PH 6.8 SOBRE LA PRECIPITACIÓN DE ABZ. N= 3 ± D.E.....	62
FIGURA 39. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS POLÍMEROS KOLLIPHOR® P188, KOLLIPHOR® P407, METHOCEL™ A 15 Y KOLLIDON® 25.	63
FIGURA 40. CURVA DE REGRESIÓN AJUSTADA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ABZ.	64
FIGURA 41. CROMATOGRAMAS A 292 NM DE A) ABZ PURO ABZ A PARTIR DE UNA MUESTRA DE LA DISOLUCIÓN DE LA FASE SÓLIDA B) ABZ-25DHBA Y C) ABZ-26DHBA EN BUFFER DE FOSFATOS PH 6.8.	67
FIGURA 42. PERFILES DE DISOLUCIÓN DE POLVOS BAJO CONDICIONES SUPERSATURADAS DE ABZ Y LA FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA EN AUSENCIA Y PRESENCIA DE METHOCEL™ A15 PRE-DISUELTO AL 0.5% /V EN BUFFER DE FOSFATOS PH 6.8 A 37 ± 0.5°C.....	68
FIGURA 43. PATRÓN DE DRXP DE ABZ, 25DHBA, FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA Y RESIDUOS SÓLIDOS DE LA DISOLUCIÓN DE LA FASE ABZ-25DHBA A 1 MIN, 5 MIN, 10 MIN, 20 MIN, 30 MIN, 60 MIN, 90 EN BUFFER DE FOSFATOS PH 6.8 EN PRESENCIA DE METHOCEL™ A15.	69

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. PROPIEDADES DE ABZ.(GARCIA ET AL., 2014; JUNG ET AL., 1998)	3
TABLA 2. POSOLOGÍA DE ABZ PARA DISTINTOS HELMINTOS.(BOUCHAUD, CONSIGNY, COT, LE LOUP, & ODERMATT-BIAYS, 2019)	6
TABLA 3. COFORMADORES USADOS PARA LA SÍNTESIS DE NUEVAS FASES SÓLIDAS CRISTALINAS DE ABZ.	20
TABLA 4. VOLUMEN AÑADIDO DE METANOL A LAS MUESTRAS FILTRADAS.	37
TABLA 5. ASIGNACIÓN DE LAS SEÑALES DEL ESPECTRO DE RMN (¹³ C CP/MAS) DE ABZ, 26DHBA Y LA FASE ABZ-26DHBA A LOS ÁTOMOS DE CARBONO CORRESPONDIENTES.	43
TABLA 6. VIBRACIÓN DE LOS GRUPOS FUNCIONALES EN EL ESPECTRO IR DE ABZ, ÁCIDO 2,5-DIHIODROXIBENZOICO Y LA FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA.	47
TABLA 7. VIBRACIÓN DE LOS GRUPOS FUNCIONALES EN EL ESPECTRO IR DE ABZ, ÁCIDO 2,6-DIHIODROXIBENZOICO Y LA FASE SÓLIDA ABZ-26HBA.	49
TABLA 8. ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO DE ABZ, 25DHBA Y LA FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA.	50
TABLA 9. ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO DE ABZ, 25DHBA Y LA FASE SÓLIDA ABZ-26DHBA.	51
TABLA 10. ANÁLISIS DSC DE ABZ, 25DHBA Y LA FASE SÓLIDA ABZ-25DHBA.	52
TABLA 11. ANÁLISIS DSC DE ABZ, 26DHBA Y LA FASE SÓLIDA ABZ-26DHBA.	53
TABLA 12. DETERMINACIÓN DE LA PRECISIÓN DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE ABZ.	65
TABLA 13. LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ABZ.	66