



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA



# Obtención y caracterización de una sal de R-baclofeno con ácido málico”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN FARMACIA

PRESENTA:

QFB. Elva Nettzayeet Córdova Villanueva

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Herbert Höpfl

Cuernavaca, Morelos

2018



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA COORDINACIÓN DE POSGRADO

Av. Universidad 1001 Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62210  
Tel. (01 777) 329 7089 y 329 7000 Ext. 3365



Fecha: 12 de diciembre de 2017  
Asunto: Dictamen a solicitud.  
Medio de notificación: Impresa  
Folio: FF/D/SAc/CIP/MF/140/2017

**Q.F.B. ELVA NETZAYEET CÓRDOVA VILLANUEVA**  
**ESTUDIANTE AL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN FARMACIA**  
**P R E S E N T E**

Por este medio le informo que en sesión ordinaria del Consejo Interno de Posgrado celebrada el día 06 de diciembre de 2017, se analizó su solicitud de cambio de título y asignación de jurado. Una vez analizado el proyecto le informo que el CIP dictaminó ACEPTAR la solicitud antes mencionada y se asignó el siguiente jurado para evaluar la tesis **"Obtención y caracterización de una sal de R- baclofeno con ácido málico"**.  
Quedando integrado su comité de la siguiente manera:

**PRESIDENTE: Dra. Dea Herrera Ruiz.**

**SECRETARIO: Dr. Jesús Rivera Islas.**

**VOCAL 1: Dra. María Obdulia Sánchez Guadarrama.**

**VOCAL 2: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez**

**VOCAL 3. Dr. Víctor Barba López.**

Se le solicita entregar las tesis al jurado designado y dar fluidez a los trámites como se indica en el manual de procedimientos.

Esperando que esta resolución sea en beneficio de su desempeño académico, y sin otro particular por el momento reciba un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
**"POR UNA HUMANIDAD CULTA"**

  
**DR. JULIO CÉSAR RIVERA LEYVA**  
**JEFATURA DE POSGRADO**



C.c.p. Dra. Dea Herrera Ruiz, Dr. Jesús Rivera Islas, Dra. María Obdulia Sánchez Guadarrama, Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez, Dr. Víctor Manuel Barba López.

MITV

## **AGRADECIMIENTOS**

El desarrollo de esta tesis fue financiado a través del Programa de Becas para Estudios de Posgrado que otorga el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT.

Becario No. 741629 y a los proyectos INF-2015-251898, CB-2013-221455.

Este proyecto de tesis se realizó en colaboración entre miembros del Grupo Multidisciplinario de Investigación en Estado Sólido, Química Supramolecular y Biofarmacia. CIQ-FF, UAEM

# ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS .....	vii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS Y FÓRMULAS.....	xi
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 ANTECEDENTES .....	2
2.1 BACLOFENO .....	2
2.1.1 Mecanismo de acción (farmacodinamia) .....	2
2.1.2 Tratamiento y posología .....	2
2.1.3 Características del fármaco .....	3
2.1.4 Propiedades fisicoquímicas .....	4
2.1.5 Efectos adversos .....	4
2.1.6 Fases disponibles y estudiadas previamente .....	5
2.1.7 Métodos para mejorar la biodisponibilidad .....	5
2.2 RESOLUCIÓN QUIRAL .....	6
2.2.1 Métodos de resolución quiral.....	8
2.2.2 Uso de columna quiral en cromatografía.....	9
2.2.3 Síntesis asimétrica .....	9
2.2.4 Resolución enzimática.....	10
2.2.5 Resolución de cocrystalos/sales diastereoisoméricas por cristalización fraccionada.....	10
2.2.6 Caso de resolución del <i>R</i> -baclofeno.....	11
2.3 ESTADO SÓLIDO E INGENIERÍA DE CRISTALES .....	12
2.3.1 Interacciones intermoleculares.....	12
2.3.2 Estado sólido.....	14
2.3.3 Sales.....	15
2.3.4 Métodos de obtención de nuevas fases sólidas.....	15
2.4 SALES FARMACÉUTICAS Y PROPIEDADES .....	17
2.4.1 Efectos biológicos del uso de sales.....	17
2.5 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL .....	19
2.5.1 Espectroscopía de Infrarrojo (IR).....	19
2.5.2 Difracción de rayos-X.....	20

2.5.3	Análisis termogravimétrico (TGA) .....	22
2.5.4	Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	22
2.6	CARACTERIZACIÓN BIOFARMACÉUTICA DE FASES SÓLIDAS DE IFAs .....	22
2.6.1	Estabilidad de fase y estabilidad indicativa .....	22
2.6.2	Solubilidad y disolución .....	23
2.6.3	Coeficiente de partición .....	23
3	HIPÓTESIS .....	25
4	JUSTIFICACIÓN.....	25
5	OBJETIVOS .....	26
5.1	Objetivo General.....	26
5.2	Objetivos Específicos.....	26
6	MATERIALES .....	27
6.1	Reactivos .....	27
6.2	Materiales .....	27
6.3	Equipo .....	27
7	METODOLOGÍA.....	29
7.1	Árbol de decisión .....	29
7.2	Materias primas .....	30
7.3	Generación de Nuevas Fases Sólidas (NFS).....	30
7.3.1	Aislamiento de <i>R-Bac:L-MA</i> por cristalización por evaporación .....	30
7.4	Caracterización fisicoquímica y estructural de las nuevas fases sólidas .....	31
7.4.1	Espectroscopía de Infrarrojo (IR).....	31
7.4.2	Difracción de rayos-X de polvos (DRXP).....	31
7.4.3	Difracción de rayos-X de monocristal (DRX monocristal).....	32
7.4.4	Análisis termogravimétrico/Calorimetría diferencial de barrido (TGA/DSC) .	32
7.5	CARACTERIZACIÓN BIOFARMACÉUTICA .....	33
7.5.1	Determinación de la estabilidad de fase .....	33
7.5.2	Estabilidad indicativa.....	33
7.5.3	Método de cuantificación de baclofeno.....	33
7.5.4	Determinación del perfil de disolución intrínseca .....	34
7.5.5	Coeficiente de partición .....	35
8	RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	36

8.1	Caracterización de las materias primas para la obtención de una nueva fase de <i>R</i> -baclofeno .....	36
8.2	NFS de <i>R</i> -baclofeno con ácido málico.....	40
8.2.1	Generación de una NFS entre <i>R</i> -baclofeno y ácido málico.....	40
8.2.2	Condiciones para la obtención del monocristal de <i>R</i> -Bac: <i>L</i> -MA (1:1).....	42
8.2.3	Análisis comparativo de los datos de DRX de polvos y de monocristal .....	46
8.2.4	Análisis espectroscópico de la NFS por IR .....	48
8.2.5	Análisis termogravimétrico y calorimetría diferencial de barrido de las NFS 52	
8.3	CARACTERIZACIÓN BIOFARMACÉUTICA .....	53
8.3.1	Estudios de estabilidad de fase.....	53
8.3.2	Estabilidad indicativa bajo diferentes condiciones de almacenamiento .....	54
8.3.3	Método cuantitativo de baclofeno .....	55
8.3.4	Determinación del perfil de disolución.....	56
8.3.5	Coeficiente de partición .....	58
9	CONCLUSIÓN .....	59
10	PERSPECTIVAS .....	59
11	BIBLIOGRAFÍA .....	60
12	ANEXOS .....	67
12.1	Asistencia y participación a congresos .....	69

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del baclofeno.....	4
Tabla 2. Métodos de obtención de nuevas fases sólidas (NFS). .....	15
Tabla 3. Propiedades que se modifican al formar una nueva fase sólida cristalina. ....	16
Tabla 4. Ejemplos de factores que impactan la forma de la sal en el proceso de absorción .....	18
Tabla 5. Tipo de fenómeno energético en cada región del espectro electromagnético correspondiente .....	19
<b>Tabla 6.</b> Solubilidad cualitativa de los productos de molienda entre <i>RS-Bac</i> y el ácido <i>L-</i> <i>DL</i> -málico.....	43
Tabla 7. Datos cristalográficos de <i>R-Bac:L-MA</i> (1:1) .....	44
<b>Tabla 8.</b> Interacciones intermoleculares de corto contacto de la sal <i>R-Bac:L-MA</i> .....	47
<b>Tabla 9.</b> Datos de los espectros IR de <i>RS</i> -baclofeno polimorfo I y II, el clorhidrato del <i>R-</i> baclofeno, el ácido <i>L</i> -málico, la sal monosódica del ácido <i>L</i> -málico y la sal <i>R-Bac:L-MA</i> (1:1). .....	51
<b>Tabla 10.</b> Valores cuantitativos de baclofeno.....	56
Tabla 11. Perfil de disolución de <i>RS-Bac:DL-MA</i> en diferentes medios de disolución. ....	57
<b>Tabla 12.</b> Prueba <i>t</i> para dos muestras suponiendo varianzas iguales.....	58
<b>Tabla 13.</b> Coeficiente de partición Octanol/Agua. La fase acuosa fue HCl 0.1 N (pH ~1.2) y la fase orgánica n-octanol. ....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura de los enantiómeros que constituyen el RS-baclofeno. Siendo la figura de arriba R-baclofeno y de abajo S-baclofeno. ....	3
<b>Figura 2.</b> Estructura molecular del ácido láctico. El asterisco indica que el carbono es el centro estereogénico al tener sus cuatro sustituyentes diferentes, lo cual le proporciona la propiedad de quiralidad a este compuesto [25].....	6
<b>Figura 3.</b> Los enantiómeros del ácido láctico, los cuales son imágenes especulares [27].	7
<b>Figura 4.</b> La combinación de un enantiómero y un compuesto aquiral dan lugar a enantiómeros (R y S son moléculas enantioméricas, A es un compuesto aquiral). La combinación de un enantiómero y otro enantiómeropuro, ambos compuestos quirales dan lugar a diastereoisómeros (R y S son moléculas enantioméricas, y Q es un compuesto quiral enantiopuro). Es una imagen tomada de un libro [32].....	9
<b>Figura 6.</b> Diagrama de flujo para identificar el tipo de fuerza intermolecular [50]......	12
<b>Figura 7.</b> Puente de hidrógeno bifurcado [50].....	13
<b>Figura 8.</b> Diferentes formas de arreglo en estado sólido [57]. ....	14
<b>Figura 9.</b> Esquema de las principales etapas involucradas en la farmacocinética de los fármacos. ....	17
<b>Figura 10.</b> Vibración de tensión.....	20
<b>Figura 11.</b> Tensión simétrica.....	20
<b>Figura 12.</b> Tijereteo .....	20
<b>Figura 13.</b> Tensión asimétrica .....	20
<b>Figura 14.</b> Representación de la Ley de Bragg de la difracción de rayos-X [65]. ....	21
<b>Figura 15.</b> Árbol de decisión empleado en la investigación para la obtención de una nueva fase sólida de R-baclofeno .....	29
<b>Figura 16.</b> Patrones de DRXP de los diferentes lotes de baclofeno utilizados en el proyecto, comparado con el patrón reportado en la literatura [10], [13] Patrón de difracción de a) RS-baclofeno reportado, b) 1er lote de RS-baclofeno, c) 2do lote de RS-baclofeno y d) 3er lote de RS-baclofeno. Nota: Los datos para a) fueron obtenidos de la Base de Datos Cristalográficas de Cambridge (CSD)......	36
<b>Figura 17.</b> Patrón de difracción del formador de sal empleado, ácido D-, L- y DL-málico. El patrón de difracción a) patrón simulado del cristal reportado del ácido DL-málico, b) lote de ácido DL-málico, c) patrón simulado del cristal reportado del ácido L-málico, d) lote de ácido	



L-málico y e) lote de ácido D-málico [80]–[83]. Nota: Los datos para a) y c) fueron obtenidos de la Base de Datos Cristalográficas de Cambridge (CSD).....	36
<b>Figura 18.</b> Espectros de FT-IR de los reactivos que se utilizaron como materias primas en este trabajo; a) RS-baclofeno, b) ácido L-málico, c) ácido D-málico y d) ácido DL-málico. ....	¡Error! Marcador no definido.
<b>Figura 19.</b> Curva de TGA/DSC del <i>RS</i> -baclofeno .....	38
<b>Figura 20.</b> Curva de TG/DSC del ácido <i>L</i> -Málico.....	39
<b>Figura 21.</b> Curva de TGA/DSC del ácido DL-Málico.....	39
<b>Figura 22.</b> Patrones de difracción de rayos-X de polvos de los productos de molienda entre <i>RS</i> -baclofeno y los ácidos <i>L</i> -, <i>D</i> - o <i>DL</i> - málico en comparación con los patrones de las materias primas. Los picos marcados con asterisco corresponden a la fase <i>R</i> -Bac: <i>L</i> -MA que fue caracterizado por DRX de monocristal.....	41
<b>Figura 23.</b> Reacciones de molienda entre <i>RS</i> -Bac y <i>L</i> -MA bajo diferentes condiciones: a) producto de molienda sin disolvente, b) molienda asistida con agua, c) molienda asistida con metanol y d) molienda asistida con acetona. ....	42
<b>Figura 24.</b> Imagen de cristales de <i>R</i> -Bac: <i>L</i> -MA (1:1) obtenidos de una mezcla de sales diastereoisoméricas por cristalización fraccionada de acetato de etilo con agua. ....	44
<b>Figura 25.</b> Unidad asimétrica de <i>R</i> -Bac: <i>L</i> -MA (1:1).....	45
<b>Figura 26.</b> Representación de las interacciones intermoleculares del baclofeno con el ácido málico en la estructura cristalina en 2D y 3D.....	45
<b>Figura 27.</b> Espectros de IR de: a) el cristal <i>R</i> -Bac: <i>L</i> -MA, b) el producto de molienda <i>RS</i> -Bac: <i>DL</i> -MA, c) <i>RS</i> -baclofeno y d) ácido <i>L</i> -málico.....	49
<b>Figura 28.</b> Gráfica TGA/DSC del producto de molienda <i>RS</i> -Bac: <i>DL</i> -MA.....	52
<b>Figura 29.</b> Patrones de difracción de polvos de la prueba de estabilidad de fase (buffer de fosfatos a pH 4.5) de la mezcla de fases <i>RS</i> -BAC: <i>DL</i> -MA.....	53
<b>Figura 30.</b> Patrones de difracción de polvos de la prueba de estabilidad de fase (HCl a pH 1.2) de la mezcla de fases <i>RS</i> -BAC: <i>DL</i> -MA. ....	53
<b>Figura 31.</b> Prueba de estabilidad indicativa del ácido <i>RS</i> -baclofeno a diferentes condiciones; a) baclofeno, b) calor seco a 50°C y c) calor seco a 40°C y d) calor con humedad relativa de 75% a 40°C. ....	54
<b>Figura 32.</b> Prueba de estabilidad indicativa del ácido <i>DL</i> -málico a diferentes condiciones; a) calor seco a 50°C, b) calor con humedad relativa de 75% a 40°C, c) calor seco a 40°C y d) Ácido <i>DL</i> -málico.....	54

<b>Figura 33.</b> Prueba de estabilidad indicativa de la sal <i>RS-Bac:DL-MA</i> a diferentes condiciones; a) calor con humedad relativa de 75% a 40°C, b) calor seco a 50°C, c) calor seco a 40°C y d) sal <i>RS-Bac:DL-MA</i> .....	54
<b>Figura 34.</b> Espectro UV-visible <i>RS-baclofeno</i> .....	55
<b>Figura 35.</b> Espectro UV-visible de la sal <i>RS-Bac:DL-MA</i> .....	55
<b>Figura 36.</b> Cantidad acumulada de baclofeno en el experimento de velocidad de disolución en solución HCl a 0.1N utilizando el aparato de Wood. ....	57

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS Y FÓRMULAS

°C	Grado Celsius
AcOEt	acetato de etilo
BAC	Baclofeno
BCS	Sistema de clasificación biofarmacéutica
CH <sub>3</sub> CN	Acetonitrilo
CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	Acetona
Cl <sub>3</sub> CH	Cloroformo
<i>DL</i> -MA	Ácido <i>DL</i> -Málico
DRXP	Difracción de rayos-X de polvos
DXR monocristal	Difracción de rayos-X de monocristal
EtOH	Etanol
F	Flúor
FDA	Food and Drugs Administration
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
GABA	Ácido gama-Aminobutírico
HCl	ácido clorhídrico
HPLC	High-Performance Liquid Cromatography
Hz	Hertz
IFA	Ingrediente Farmacéutico Activo
IR	Infrarrojo
k <sub>d</sub>	Constante de velocidad de disolución
MeOH	Metanol
mg	miligramo
mL	mililitro
N	Nitrógeno
<i>N</i>	Normalidad
NaCl	Cloruro de sodio
NFS	Nueva fase sólida

O	Oxígeno
<i>P</i>	Coeficiente de partición
p/p	peso/peso
PhCH <sub>3</sub>	Tolueno
PZQ	Praziquantel
RS-Bac	RS-Baclofeno
L-MA	Ácido L-Málico
TGA/DSC	Análisis termogravimétrico/ Calorimetría diferencial de barrido
THF	Tetrahidrofurano
USP	<i>United States Pharmacopeia</i> : Farmacopea de los Estados Unidos de América
VDI	Velocidad de disolución intrínseca

## RESUMEN

La quiralidad de ingredientes farmacéuticos activos tiene relevancia en la indicación farmacéutica porque aproximadamente el 50% de fármacos en el mercado contienen un IFA quiral. El cambio de quiralidad en un fármaco, es decir la presencia del otro enantiómero, puede alterar significativamente las propiedades biológicas y farmacológicas. Cuando el efecto deseado de un fármaco quiral se asocia con uno solo enantiómero, lo ideal es administrar solo el enantiómero activo, reduciendo así los efectos secundarios y dosis terapéuticas. La separación de los enantiómeros de un racemato se denomina resolución quiral. La formación de sales diastereoisoméricas es una técnica para la resolución de mezclas racémicas frecuentemente utilizada. Para ello, un par de enantiómeros se transforma en un par de fases diastereoisoméricas que debido a las diferencias en sus propiedades fisicoquímicas se pueden separar por métodos convencionales como la cristalización fraccionada.

El baclofeno (Bac) es un fármaco agonista GABAérgico utilizado en el tratamiento de espasticidad y de daños en el tracto corticoespinal. Está demostrado que el enantiómero del baclofeno con la actividad terapéutica es el *R*-enantiómero; sin embargo, este fármaco se comercializa de manera racémica.

A través de este proyecto de tesis se ha desarrollado una nueva sal de *R*-baclofeno con el ácido *L*-málico que se obtuvo de forma pura por cristalización fraccionada. Esta nueva forma se identificó por difracción de rayos X de polvos (DRXP) y se caracterizó adicionalmente por espectroscopía infrarroja (IR), análisis termogravimétrico acoplado con calorimetría de barrido diferencial (TGA/DSC) y difracción de rayos-X de monocristal, con lo que se corroboró la formación de una sal al transferirse un protón desde el coformador al baclofeno. Al mismo tiempo se generó una mezcla de fases enantioméricas de la composición *R*-Bac:*L*-MA y *S*-Bac:*D*-MA que por cuestiones económicas fue utilizada para evaluar las propiedades farmacéuticamente relevantes tales como la estabilidad de fase, la velocidad de disolución y el coeficiente de partición. La sal mostró una velocidad de disolución ligeramente menor al *RS*-Bac, pero un coeficiente de partición mayor en comparación con el fármaco en su forma libre.

## ABSTRACT

The chirality of active pharmaceutical ingredients is of relevance because approximately 50% of the drugs on the market contain a chiral IFA. The change of chirality in a drug, that is the presence of the other enantiomer, can significantly alter the biological and pharmacological properties. If the desired effect of a chiral drug is associated with a single enantiomer, only the active enantiomer, should be administrated in order to reduce the side effects and the therapeutic doses. The separation of the enantiomers of a racemate is called chiral resolution. The formation of diastereomeric salts is a technique frequently used for the resolution of racemic mixtures. For this purpose, a pair of enantiomers is transformed into a pair of diastereoisomeric phases that due to the differences in their physicochemical properties can be separated by conventional methods such as fractional crystallization.

Baclofen (Bac) is a GABAergic agonist drug used in the treatment of spasticity and damage of the corticospinal tract. It is demonstrated that the enantiomer of baclofen having therapeutic activity is the *R*-enantiomer; however, this drug is commercialized in racemic form.

This thesis project has achieved the development of a new salt of *R*-Baclofen with *L*-malic acid that was obtained in pure form by fractional crystallization. This new form was identified by powder X-ray diffraction analysis (PXRD) and further characterized by infrared spectroscopy (IR), thermogravimetric analysis coupled with differential scanning calorimetry (TGA/DSC) and single-crystal X-ray diffraction analysis, which revealed the formation of salt via proton transfer from *L*-malic acid to *R*-Baclofen. At the same time, a mixture of enantiomeric phases of composition *R*-Bac:*L*-MA and *S*-Bac:*D*-MA was generated, which for economic reasons was used to evaluate the pharmaceutically relevant properties such as the phase stability, the velocity of dissolution and the partition coefficient. The salt showed a slightly smaller dissolution rate, but a higher partition coefficient when compared to the drug in its free form.

## 1 INTRODUCCIÓN

La industria farmacéutica ha utilizado la generación de diferentes formas cristalinas de un Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA) tales como sales, cocristales, solvatos, hidratos o polimorfos, como método para modificar propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas. Las propiedades que se han visto modificadas son: la estabilidad, temperatura de fusión, solubilidad, biodisponibilidad, entre otros; dichas propiedades son importantes para que un fármaco sea seguro y eficaz.

Las propiedades biofarmacéuticas y la forma de estado sólido del fármaco son de vital importancia, por lo que deben caracterizarse y controlarse; sin embargo, establecer la actividad biológica con efectos secundarios mínimos y alta eficacia es relevante también.

Un fármaco quiral posee diferentes enantiómeros que al ser absorbidos pueden poseer diferentes efectos biológicos entre sí. Los fármacos presentan efectos secundarios debido a múltiples razones, que frecuentemente se atribuyen a la presencia de un enantiómero no activo (diastómero). No obstante, la separación de los enantiómeros es costosa y/o compleja, por lo que las compañías farmacéuticas invierten para poder comercializar productos enantioméricamente puros.

El baclofeno es un fármaco quiral GABAérgico asociado a enfermedades de espasticidad; la baja permeabilidad de este fármaco ha sido una limitante al administrarlo por vía oral, ya que muestra baja absorción y múltiples efectos secundarios asociados a su diastómero, lo que repercute en su seguridad y eficacia.

## **2 ANTECEDENTES**

### **2.1 BACLOFENO**

#### **2.1.1 Mecanismo de acción (farmacodinamia)**

El baclofeno (Bac) es un fármaco agonista del ácido gama aminobutírico (GABA); siendo un relajante muscular que actúa en la recepción GABAérgica a nivel medular principalmente. Deprime el sistema nervioso central por medio de una disminución en la liberación de los neurotransmisores de glutamato y aspartato [1], [2].

Los receptores para GABA se clasifican en ionotrópicos (GABA A) y metabotrópicos (GABA B y GABA C). Los receptores de GABA B están en la membrana plasmática de la terminal presináptica y postsináptica. Este receptor no se emparenta con canales de cloruro (Cl<sup>-</sup>) como el receptor GABA A, sino modula canales de calcio y potasio por interacción de la proteína G y adenilciclasa (ADC). Al unirse un agonista con el receptor presináptico GABA B se disminuye la entrada de calcio dando menor liberación de glutamato y monoaminas. La unión del agonista con el receptor postsináptico GABA B aumenta la salida del potasio dando lugar al potencial inhibitorio [3].

El baclofeno actúa en los receptores GABA B en el sistema nervioso central para impedir la liberación de neurotransmisores excitatorios como el glutamato y el aspartato, al inhibir la absorción del calcio requerido para su liberación [3].

#### **2.1.2 Tratamiento y posología**

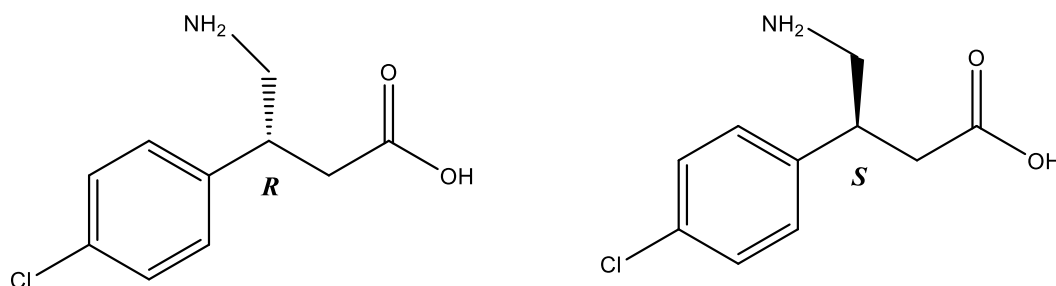
El baclofeno es principalmente utilizado en el tratamiento de espasticidad. La espasticidad se asocia con daños en el tracto corticoespinal y es una complicación común en enfermedades neurológicas. Algunas enfermedades, en las que la espasticidad puede ser un síntoma prominente son: parálisis cerebral, esclerosis múltiple, accidente cerebrovascular y lesiones de la cabeza y la médula espinal. El baclofeno también es utilizado en tratamientos para controlar el reflujo por esofagitis, alcoholismo, tabaquismo, adicción a narcóticos y como agente antiemético, antitusivo, y para el tratamiento del dolor neuropático como la neuralgia del trigémino, dolores musculoesqueléticos y radiculopatía [4], [5].

Baclofeno se administra por vía oral en tabletas con dosis de 20 y 30 mg; y por vía intratecal en soluciones de 0.5 y 2 mg/mL. Es comercializado principalmente por la empresa farmacéutica suiza Novartis bajo la marca *Lioresal*® [6].



### 2.1.3 Características del fármaco

La estructura química del baclofeno involucra a un carbono quiral, siendo el enantiómero activo el *R*-baclofeno; el *S*-Bac se comporta como antagonista en los sitios de unión del *R*-Bac; a pesar de esto, se ha propuesto como antagonista de los receptores GABA B, pero los estudios al respecto son escasos [7]. No obstante, en este momento baclofeno solo se comercializa como mezcla racémica, la cual contiene en una proporción 50:50 de sus enantiómeros (Figura. 1).



**Figura 1.** Estructura de los enantiómeros que constituyen el *RS*-baclofeno. Siendo la figura de arriba *R*-baclofeno y de abajo *S*-baclofeno.

El baclofeno posee una naturaleza zwitterionica, es decir, tiene una carga formal positiva y negativa sobre átomos distintos. Los grupos funcionales con estas cargas son el grupo amino (-NH<sub>2</sub>), que le confiere la carga positiva al protonarse, mientras que el grupo carboxilo (-COOH) adquiere la carga negativa al desprotonarse. Estos mismos grupos funcionales determinan los valores de p*K*<sub>a</sub> del compuesto; el grupo amonio tiene un p*K*<sub>a</sub> de 3.89 y el grupo carboxilato de 9.79 [7].

La principal vía de transporte del fármaco a través del tracto gastrointestinal y la barrera hematoencefálica es por transporte activo; al ser un zwitterion carece de las características fisicoquímicas que son ideales para el transporte pasivo a través de la membrana celular. El transporte del baclofeno emplea acarreadores como LAT (transportador de aminoácido grande) que son los responsables de transportar aminoácidos como fenilalanina y tirosina, que al ser muy parecidas en su estructura química con el baclofeno compiten por los acarreadores [8].

El baclofeno pertenece a la clase III del sistema de clasificación biofarmacéutico (BCS), es decir, posee alta solubilidad, pero baja permeabilidad. Esta clasificación considera a un fármaco muy soluble cuando su dosis más alta se disuelve en 250 mL de agua en un rango de pH de 1 a 7.5. Un fármaco es altamente permeable cuando el grado de absorción en seres humanos es mayor al 90% de la dosis administrada, basándose en

la comparación con una dosis intravenosa. La permeabilidad está directamente vinculada con la farmacocinética y biodisponibilidad del fármaco que a su vez están ligadas a la dosis necesaria para su formulación. Siendo el baclofeno un fármaco con baja permeabilidad, se enfrenta el problema de baja absorción a diferencia de los fármacos de la clase I y II que poseen alta permeabilidad [9].

#### 2.1.4 Propiedades fisicoquímicas

La siguiente tabla (Tabla 1) resume las principales propiedades fisicoquímicas que posee el baclofeno [6], [7].

**Tabla 1.** Propiedades fisicoquímicas del baclofeno.

<b>Fórmula general</b>	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> ClNO <sub>2</sub>
<b>Nombre químico</b>	Ácido β-(4-clorofenil)-γ-aminobutírico
<b>Peso molecular</b>	213.5 g/mol
<b>Características</b>	Polvo cristalino blanco a blanquecino, inodoro o prácticamente inodoro
<b>Solubilidad</b>	Es soluble en agua (0.712 mg/mL), muy poco soluble en metanol e insoluble en cloroformo.
<b>Punto de fusión</b>	206-208 °C
<b>Log P</b>	1.3
<b>pK<sub>a</sub>1</b>	3.89
<b>pK<sub>a</sub>2</b>	9.79

#### 2.1.5 Efectos adversos

Los efectos secundarios del baclofeno son considerados de moderados a leves y solo ocasionalmente los pacientes que presentan estos efectos requieren de terapia especial. Los síntomas reportados frecuentemente han sido cansancio, sensibilidad, náuseas y trastornos gastrointestinales. Los efectos adversos informados incluyen vértigo, hipotensión asintomática, vómito, confusión mental, euforia, depresión, diarrea, dolor de cabeza y reacciones alérgicas en la piel. Los pacientes de la tercera edad y aquellos con lesiones cerebrales tienden a experimentar efectos secundarios más a menudo que los pacientes más jóvenes o con lesiones espinales [5].

Cuando el baclofeno se administra por vía oral, la sedación es un efecto adverso, especialmente a dosis elevadas. La influencia de la función cognitiva, la confusión, la

pérdida de memoria, la dificultad para respirar, la debilidad, la ataxia y la hipotensión ortostática son otros efectos adversos comúnmente encontrados en el tratamiento con baclofeno [4].

### **2.1.6 Fases disponibles y estudiadas previamente**

Hasta la fecha, solo hay una patente registrada sobre la formación de cocristales con baclofeno, usando ácido ferúlico y otros coformadores con fines nutracéuticos; también incluyen cocristales de baclofeno con ácido benzoico y ácido *p*-toluico [10].

Debido a la utilidad de estos coformadores en productos farmacéuticos, suplementos nutricionales y productos alimenticios, estos cocristales podrán incluirse en formulaciones mejoradas de baclofeno [11]. Para el caso de sales con baclofeno, existe un mayor número de reportes incluyendo las siguientes fases multicomponente cristalinas de baclofeno: sales de *RS*-baclofeno con ácido oxálico, ácido maléico, ácido hidroxinaftoico y ácido *p*-toluensulfónico [10]; además, hay un reporte sobre un cocrystal donde el baclofeno es el coformador [12]. Todas las fases multicomponente mencionadas anteriormente no han sido analizadas desde un punto de vista farmacéutico y no se han analizado sus ventajas sobre la mezcla racémica *RS*-baclofeno o el *R*-baclofeno.

Adicionalmente, hay una serie de sales reportadas del *RS*-baclofeno, por ejemplo, con ácido maléico, ácido fumárico, ácido sulfoetano, ácido sulfometano, ácido sulfopropano, clorhidrato, fluorhidrato y bromhidrato, para las cuales se han analizado sus propiedades biofarmacéuticas con el fin de conocer si mejoran la lipofilicidad del baclofeno. Estas sales aumentan la permeabilidad comparado con la mezcla racémica de *RS*-baclofeno, logrando mejorar algunas de las deficiencias biofarmacéuticas *RS*-baclofeno siendo por ejemplo el sulfopropano de baclofeno 4 veces más lipófilico [13], [14].

### **2.1.7 Métodos para mejorar la biodisponibilidad**

El desarrollo de moléculas como ingredientes farmacéuticos activos (IFAs) sólidos requiere de un gran número de estudios previos antes de que pueda salir un medicamento al mercado; se analizan características fisicoquímicas como solubilidad y biodisponibilidad, además de beneficios, riesgos, ventajas y desventajas en cuestiones de seguridad y eficacia; sin embargo, existen en el mercado compuestos con características que no son deseables, por lo que se han empleado estrategias para la mejora de los IFAs [15].

La biodisponibilidad corresponde a la cantidad de fármaco que llega a la circulación sistémica. Uno de los objetivos principales del desarrollo de nuevas fases sólidas multicomponente para un IFA es justamente lograr una mejora de su biodisponibilidad. Para

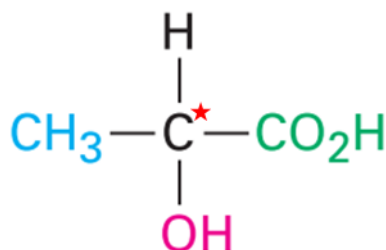
ello, se realizan diversas pruebas en las que se comparan las nuevas fases sólidas multicomponente con el fármaco en su forma libre [16].

Debido a la clasificación BCS III, se han realizado investigaciones que buscan aumentar la biodisponibilidad del baclofeno. La formación de profármacos es una estrategia empleada para este IFA. Los profármacos son moléculas con actividad terapéutica inactiva que al ser metabolizadas *in vivo* se transforman en un metabolito activo. Basándose en este principio y conociendo las propiedades fisicoquímicas y afinidades de los transportadores de la membrana se desarrollaron varios profármacos del baclofeno, por ejemplo, ésteres lipofílicos del baclofeno [17], o diseñando un derivado tipo estérico del enantiómero *R*-Bac con alta eficiencia [18].

También están reportados sistemas de liberación controlada de baclofeno, como estrategia de mejora de biodisponibilidad [19], [20]. Se ha reportado sistemas de liberación controlada del baclofeno y/o su enantiómero activo en base a formación de profármacos para optimizar su absorción [4], [21]–[24]. Uno de ellos consiste en la formación de nanoacarreadores lipídicos con una formulación de baclofeno en su interior [18].

## 2.2 RESOLUCIÓN QUIRAL

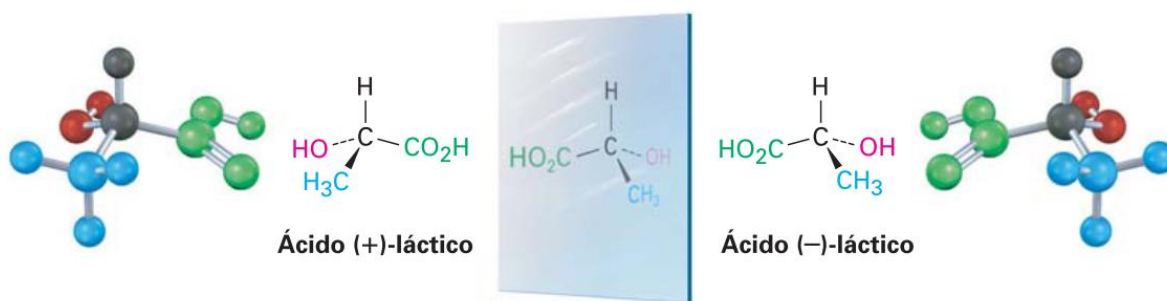
Generalmente la quiralidad en una molécula orgánica es la presencia de un átomo de carbono unido a cuatro grupos diferentes, por ejemplo, el átomo de carbono central en el ácido láctico (Figura 2); pero el átomo no tiene que ser necesariamente de carbono, también se encuentra esta propiedad en moléculas orgánicas de nitrógeno, fósforo y azufre, tal como metilpropilfenilfosfina. Estos átomos se llaman centros quirales, aunque también se emplean términos como estereocentro, centro asimétrico y centro estereogénico. La quiralidad es una propiedad de toda la molécula, mientras que el centro quiral es la causa de la quiralidad [25].



**Figura 2.** Estructura molecular del ácido láctico. El asterisco indica que el carbono es el centro estereogénico al tener sus cuatro sustituyentes diferentes, lo cual le proporciona la propiedad de quiralidad a este compuesto [25].

Los isómeros son compuestos con la misma fórmula química pero diferente constitución, por lo que pueden tener distintas propiedades fisicoquímicas. Los estereoisómeros tienen igual fórmula química, pero arreglos espaciales desiguales existiendo dos tipos: enantiómeros y diastereoisómeros. Los enantiómeros son imágenes especulares no superponibles, tienen las mismas propiedades fisicoquímicas y solo pueden distinguirse por la rotación en la que desvían la luz polarizada (rotación óptica) (Figura 3). Los diastereoisómeros son moléculas no especulares que presentan propiedades fisicoquímicas diferentes. Cuando los enantiómeros se encuentran en una mezcla de cantidades equimolares como fases sólidas separados, se le denomina mezcla racémica. Los enantiómeros se pueden clasificar dependiendo de su actividad biológica: el eutómero es el enantiómero que posee la actividad terapéutica, mientras que el diastómero es inactivo y presenta actividad antagonista o un efecto tóxico. Algunos ejemplos de lo anterior es el caso de la procaína, la cual su eutómero es el *R*-enantiómero, mientras que su diastómero es el *S*-enantiómero y produce metahemoglobinemia; otro ejemplo conocido es la talidomina, la cual se prescribía en mujeres embarazadas durante la década de los 60's en Europa; estudios posteriores demostraron que el enantiómero *S*- causa teratogenicidad y el enantiómero *R*- es el que posee la actividad terapéutica [26]–[28].

Existen diversos descriptores para los enantiómeros, sin embargo, este proyecto usará (*DL*-) para el ácido málico y (*RS*-) para el baclofeno. El descriptor *DL*- emplea la proyección de Fischer para representar centros quirales, mientras que el descriptor *RS*- consiste en numerar a los grupos o átomos unidos al centro asimétrico de acuerdo con su prioridad (el número uno es más mayor peso atómico y el último es el de menor peso atómico), se le asigna una letra, si en sentido de las manecillas del reloj es (*R*), pero si es en sentido contrario es (*S*) [29].



**Figura 3.** Los enantiómeros del ácido láctico, los cuales son imágenes especulares [27].

La quiralidad es muy importante en el área farmacéutica debido a que los enantiómeros de un mismo fármaco quiral pueden tener diferentes propiedades

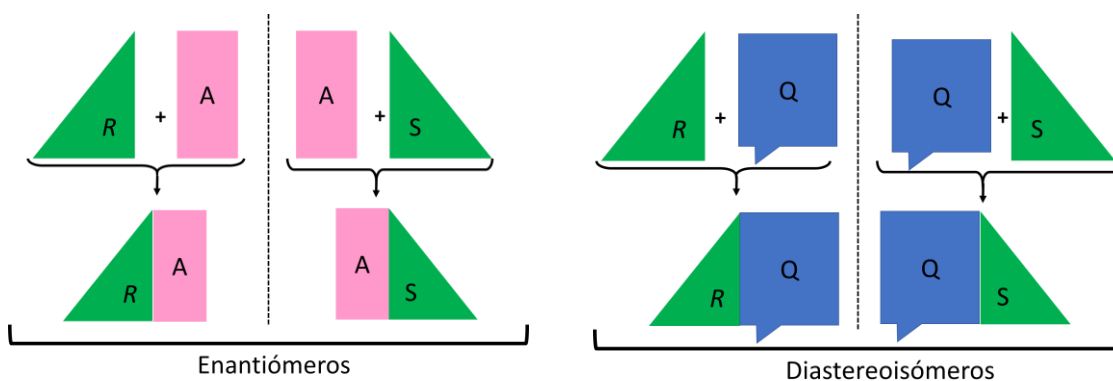
farmacodinámicas y/o farmacocinéticas. En este contexto, el reemplazo de mezclas racémicas por una forma enantiopura es altamente recomendado y ha dado como resultado un perfil mejorado de seguridad y/o eficacia. El uso de un único enantiómero puede conducir a perfiles farmacológicos más simples y selectivos, índices terapéuticos mejorados, una farmacocinética más simple debido a las diferentes tasas de metabolismo de los enantiómeros, y una disminución de las interacciones medicamentosas; es por ello que la industria farmacéutica utiliza cada vez más el cambio quiral como estrategia de mercado. Además, debido a una diferente actividad farmacológica, los enantiómeros de los fármacos quirales pueden diferir en toxicidad [30], [31].

## 2.2.1 Métodos de resolución quiral

### Principios de separación de diastereoisómeros y enantiómeros

Ya que los diastereoisómeros difieren en sus propiedades fisicoquímicas entre sí, su separación se puede llevar a cabo mediante métodos de purificación tradicionalmente empleados en la química, como cristalización, destilación y cromatografía, las cuales se basan en estas diferencias fisicoquímicas. Al contrario, los enantiómeros tienen propiedades químicas idénticas, por lo que se separan a través de métodos más elaborados. La separación de una mezcla racémica en sus enantiómeros constituyentes se conoce como resolución quiral.

Una de las técnicas más empleadas para la resolución quiral es el uso de otro compuesto, por ejemplo, un agente quiral tal como la *D*-fenilglicina derivada de la *R*-4-fenil-1,3-oxazolidin-2-diona que se emplea en la síntesis para análogos enantioméricamente puros del ácido gamma-aminobutírico [30]. Para ilustrar lo anterior, en la Figura 4 el rectángulo representa un compuesto aquiral que es superponible con su imagen especular al rotarlo por el eje perpendicular al plano de la hoja, mientras que el triángulo-rectángulo representa moléculas quirales que no pueden superponerse a su imagen especular por la misma rotación. Las figuras resultantes de la combinación de los triángulos (moléculas quirales) con un rectángulo representan también a enantiómeros ya que son imágenes especulares, y por ende no pueden separarse por métodos convencionales. Al combinar un triángulo (molécula quiral) con un trapecio (otra molécula quiral diferente) se forman figuras que no son espejos como los diastereoisómeros que si pueden separarse por métodos químicos convencionales. Una vez lograda la separación de los diastereoisómeros, éstos descomponen para liberar los enantiómeros y obtenerlos de forma pura [30].



**Figura 4.** La combinación de un enantiómero y un compuesto aquiral dan lugar a enantiómeros (*R* y *S* son moléculas enantioméricas, *A* es un compuesto aquiral). La combinación de un enantiómero y otro enantiómero puro, ambos compuestos quirales dan lugar a diastereoisómeros (*R* y *S* son moléculas enantioméricas, y *Q* es un compuesto quiral enantiopuro). Es una imagen tomada de un libro [32].

### 2.2.2 Uso de columna quiral en cromatografía

La cromatografía es una técnica que permite la identificación, la separación y la purificación de una mezcla para analizarla cuantitativa o cualitativamente con el uso de una columna cromatográfica. El principio de la separación se basa en disolver la muestra en una fase móvil (sea gas o un líquido), la cual se pasa a través de una fase estacionaria inmisible fija en una columna o superficie sólida. Se debe considerar como los componentes de la mezcla se distribuyen en estas fases para seleccionar las más adecuadas [33]–[38].

La separación puede llevarse a cabo utilizando disolventes en la fase móvil que favorezcan a un enantiómero, pero las aplicaciones son costosas, ya que consume grandes cantidades de disolventes especializados para los equipos cromatográficos; además de obtener la mitad del reactivo quiral de interés, lo que implica utilizar grandes cantidades de reactivos. También está el uso de la fase estacionaria quiral para la obtención enantiomérica, sin embargo, el precio de estas fases del mismo modo son costosas [30], [39].

### 2.2.3 Síntesis asimétrica

La síntesis asimétrica es también conocida como síntesis enantioselectiva; es un método que a través de una serie de reacciones de síntesis orgánica favorece la obtención de un enantiómero preferentemente sobre el otro, esto gracias a un auxiliar o catalizador

quiral que favorece dicha formación estequiométrica [31]. Los auxiliares quirales actúan uniéndose al sustrato e induciendo reacciones estereoselectivas, por lo que se obtiene el producto con la estereoquímica deseada. Al final del proceso, el auxiliar quiral debe removerse del compuesto.

La ventaja de la síntesis asimétrica es el escalamiento del compuesto quiral a pesar de las pequeñas cantidades de catalizador; no obstante, este método requiere múltiples pasos de reacción, además de que involucra diversos disolventes, auxiliares quirales e intermediarios para poder llegar al enantiómero deseado lo que eleva el costo de producción. En ocasiones, la síntesis asimétrica exige mucho tiempo al involucrar múltiples pasos en el proceso [40], [41].

#### **2.2.4 Resolución enzimática**

Otro método es la resolución enzimática utilizando generalmente microorganismos, los cuales poseen alguna enzima específica que realiza reacciones químicas (tal como hidrólisis, la transesterificación o la esterificación, entre otras) transformaciones de sustancias de forma asimétrica. Las enzimas son moléculas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas, en ocasiones requieren cofactores y se encuentran en organismos de los cuales se extraen [42].

Esta técnica presenta la desventaja de que puede interferir con alguna sustancia endógena, compuesto análogo u otros metabolitos del fármaco. Además, es un método tardado y/o costoso, ya que toma un tiempo considerable el análisis enzimático. Los rendimientos pueden ser buenos, no obstante, no siempre pueden ser escalables a cantidades significativas [42], [43].

#### **2.2.5 Resolución de cocrystalos/sales diastereoisoméricas por cristalización fraccionada**

Otra técnica de resolución quiral consiste en la formación de sales diastereoisoméricas obtenidas por la reacción con ácidos y bases Brønsted quirales, seguido por cristalización fraccionada o extracción con disolvente; en adición a estas formas sólidas multicomponentes se encuentran los cocrystalos, los cuales se conforman de un fármaco activo y un coformador, manteniéndose unidos en la misma red cristalina por enlaces no covalentes, principalmente puentes de hidrogeno. La resolución quiral a través de la formación de cocrystalos o sales diastereoisoméricas conlleva a incluir dos o más compuestos sólidos en un mismo cristal (fase multicomponente) [44]. Los cocrystalos farmacéuticos son materiales cristalinos homogéneos compuestos por un ingrediente



farmacéutico activo y un coformador neutro que en la estructura cristalina se unen principalmente a través de puentes de hidrógeno. Al contrario, una sal es un sistema multicomponente iónico, donde se transfirió un protón del ácido a la base [30].

La resolución de una mezcla racémica *RS* con un reactivo quiral para generar una sal o un cocrystal da como resultado un par de fases sólidas diastereoisoméricas; éstas, muestran propiedades fisicoquímicas diferentes (solubilidad, punto de fusión, punto de ebullición, adsorción, etc.) que permiten su separación. La formación de sales diastereoisoméricas implica considerar elementos como procesos de disociación (afectado por el pH) y protonación; además, para el proceso de resolución quiral se busca en primera instancia la precipitación de los cristales con el enantiómero de interés, dejando el otro en solución [4], [45]. El presente proyecto trabajó con este método y empleó estos principios para la resolución quiral del *RS*-baclofeno.

### **2.2.6 Caso de resolución del *R*-baclofeno**

El interés de emplear solo con *R*-baclofeno es debido a su alta efectividad y la reducción de efectos adversos comparado con la mezcla racémica; esto conllevaría a disminuir la dosis y minimizar las interacciones entre medicamentos indeseadas [34]–[37].

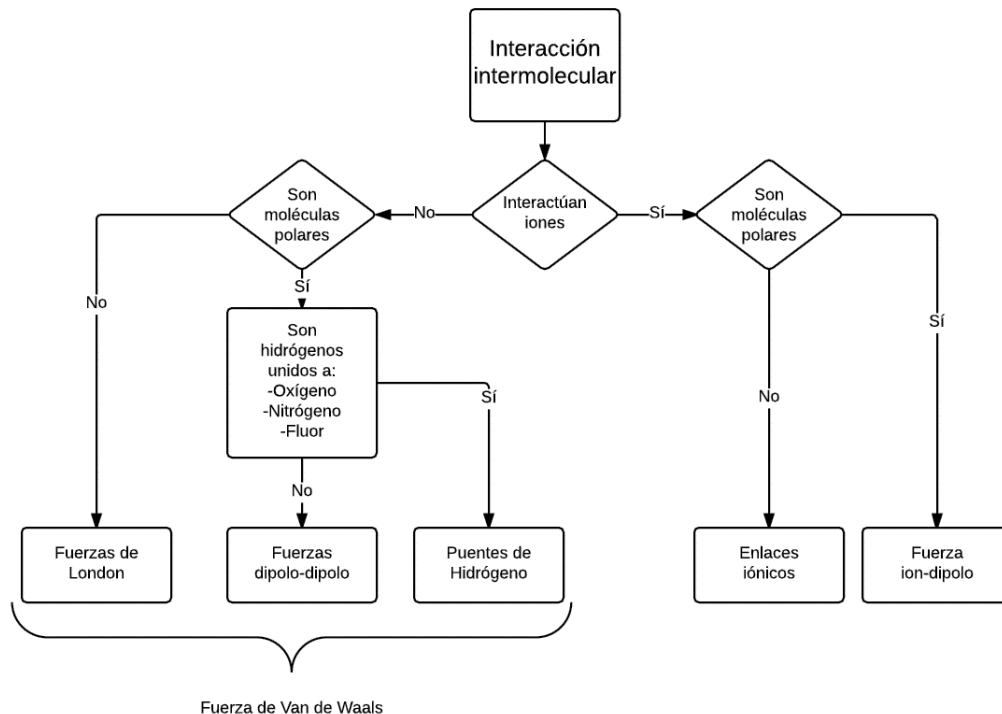
Existen reportados varios métodos de separación de los enantiómeros del baclofeno. Numerosos artículos se enfocan en la separación cromatográfica de la mezcla racémica ya sea empleando una columna quiral o formando compuestos diastereoisoméricos seguido de una columna convencional (sin ingrediente quiral) [46], [47]. Otro método de resolución reportado es la síntesis asimétrica para la obtención del *R*-isómero empleando un auxiliar quiral [48]. Existe una patente que representa la resolución quiral por metabolización de la mezcla racémica empleando microorganismos *Streptomyces*, los cuales tienen preferencia al enantiómero *R*- [49].

En la actualidad se busca generar *R*-Bac a través de un método que sea eficiente y sencillo. Encontrar una estrategia para resolver la mezcla racémica del baclofeno por la cristalización con un agente quiral farmacéuticamente aceptable (formación de una sal o un cocrystal) es un método que en varios aspectos es amigable con el ambiente y eventualmente más barato, ya que en comparación con síntesis asimétrica por ejemplo disminuye el uso de reactivos y disolventes.

## 2.3 ESTADO SÓLIDO E INGENIERÍA DE CRISTALES

### 2.3.1 Interacciones intermoleculares

Las fuerzas intermoleculares son fuerzas de atracción que existen entre las moléculas en fase líquida o sólida; particularmente en estado sólido mantienen unidos a los átomos de dos o más moléculas. Estas fuerzas estabilizan a las redes cristalinas de moléculas individuales, por lo que se deduce que son las responsables de las propiedades macroscópicas de la materia, tales como punto de ebullición y punto de fusión. Para la ebullición se debe suministrar suficiente energía para vencer las fuerzas de atracción entre las moléculas a fin de pasar a fase gaseosa, este mismo principio aplica para el punto de fusión de las sustancias solo que en este caso ocurre la transición a la fase líquida. Existen tres diferentes clases de fuerzas de atracción entre moléculas. Entre ellas las fuerzas dipolo-dipolo, de dispersión de London y puente de hidrógeno que también son denominadas fuerzas de *Van der Waals*. Otro tipo de atracción son los enlaces ión-ión que son relevantes en disoluciones [50]. Existen aún otro tipo de interacciones menos convencionales, como las interacciones  $\pi$ - $\pi$ , halógeno-halógeno, etc. (Figura 4)



**Figura 5.** Diagrama de flujo para identificar el tipo de fuerza intermolecular [50].

A continuación, se describen solo las interacciones que son de más relevancia para la discusión de los resultados de esta tesis.

## Interacciones ion-dipolo

Es la fuerza de interacción electrostática que resulta entre un ion y la carga parcial opuesta del dipolo de una molécula polar; las moléculas polares son dipolos con un extremo de carga parcial positiva y otro negativo. Los iones positivos atraen al polo negativo de un dipolo y viceversa. La fuerza de atracción incrementa conforme aumente la carga del ion o el momento dipolar y conforme se acorta la distancia entre las dos especies. Esta fuerza tiene relevancia en disoluciones de sustancias iónicas por disolventes polares tales como agua o alcoholes; por ejemplo, la disolución de NaCl en agua [50].

## Interacciones dipolo-dipolo

Moléculas neutras con momento dipolar se atraen cuando el extremo positivo de una está cerca del negativo de la otra esta interacción es denominada como un enlace dipolo-dipolo. Estas fuerzas suceden entre moléculas polares y suelen ser más débiles que las fuerzas ion-dipolo [50]–[52].

## Puentes de hidrógeno

Esta atracción intermolecular es una interacción dipolo-dipolo o dipolo-ion específica y se forma entre un átomo de hidrógeno en un enlace polar (principalmente enlaces H—F, H—O o H—N) y un par de electrones no compartido en un ion o un átomo electronegativo pequeño cercano (generalmente un átomo de flúor, oxígeno o nitrógeno de otra molécula). Ya que F, N y O son muy electronegativos, generalmente tienen carga parcial negativa, lo que genera la interacción con un hidrógeno de carga positiva parcial cercano.

El puente de hidrogeno está constituido por un grupo donador de hidrogeno X-H y un grupo aceptor A, con requerimientos de acercamiento mínimo entre ellos dado por las distancias de contacto de van der Waals de los átomos en contacto, que no es más que la distancia mínima a la cual se pueden acercar dos átomos no enlazados. En un puente de hidrogeno X-H...A, la distancia de X-H está afectada por la interacción H...A, de modo que

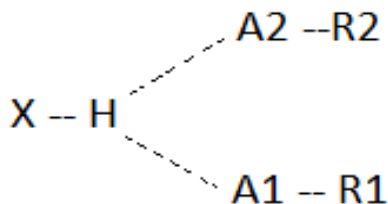


Figura 6. Puente de hidrógeno bifurcado [50]

la distancia depende considerablemente de la naturaleza de X y los sustituyentes en el

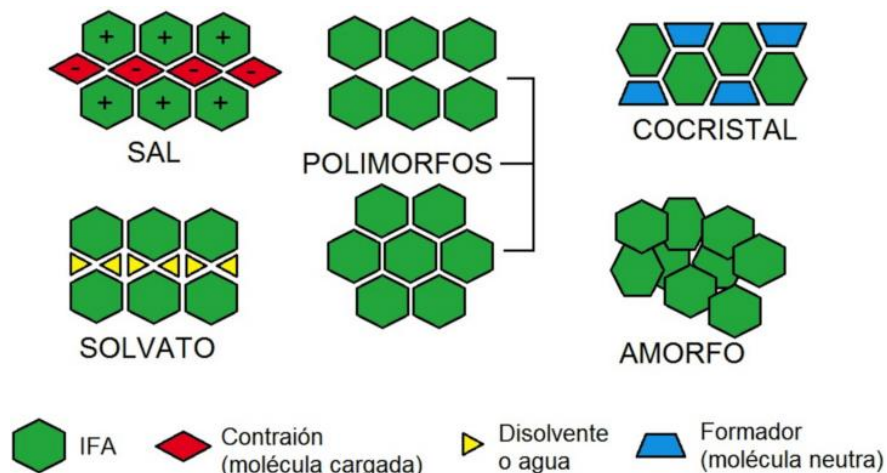
aceptor (R1 y R2). También se conocen puentes de hidrógeno bifurcados, que dependen de la interacción de un grupo de cuatro átomos, X, H, A1 y A2 como se observa en la figura 5 [50].

### Fuerzas de London

No existen fuerzas dipolo-dipolo entre moléculas no polares y a pesar de ello existe atracción. Ya que hay repulsión entre electrones, el movimiento de estos influye en el movimiento de otros electrones cercanos, lo que induce momentos dipolares temporales. El dipolo temporal de un átomo puede inducir un dipolo semejante en un átomo adyacente con dirección del dipolo opuesta, y provocar que los átomos se atraigan. La intensidad de las fuerzas de London aumenta al incrementarse el tamaño molecular y, por ende, el tamaño de la nube electrónica que puede ser polarizada [53].

### 2.3.2 Estado sólido

El estado sólido de un compuesto molecular puede tener diferentes arreglos moleculares, como se observa en la Figura 6. Si las partículas tienen un patrón regular y repetitivo, es un sólido cristalino; al contrario, el sólido es amorfo y carece de tal orden. Los sólidos cristalinos pueden ser de un solo ó de más componentes (sólido multicomponente). Los sólidos multicomponente pueden agruparse en cocrystal, que son sistemas multicomponente conectados por interacciones no covalentes, donde todos los componentes presentes son sólidos bajo condiciones ambientales,[54] sales, las cuales resultan de una reacción ácido-base que implica la transferencia de protones,[55] y solvatos/hidratos, que son sólidos que tienen una o más moléculas de disolvente en la celda unitaria de la red cristalina [56].



**Figura 7.** Diferentes formas de arreglo en estado sólido [57].

Un fenómeno común en sólidos cristalinos es el polimorfismo que se define como la capacidad de una sustancia a existir en dos o más fases cristalinas con diferentes arreglos moleculares en la red cristalina que pueden involucrar diferentes conformaciones moleculares [57].

### 2.3.3 Sales

Como ya se mencionó, la formación de sales se da por una reacción ácido-base, dando lugar a la transferencia de un protón o la neutralización [60]–[62]. La generación de sales de fármacos se estudia principalmente para la mejora de la solubilidad del IFA; además la sal puede ofrecer más beneficios sobre las formas libres en propiedades como el punto fusión, la estabilidad térmica, la cristalinidad, la higroscopicidad, la velocidad de disolución, la cristalinidad y la biodisponibilidad [63].

### 2.3.4 Métodos de obtención de nuevas fases sólidas

Existen numerosas técnicas para la preparación de fases sólidas multicomponente (Figura 6) que se resumen en la Tabla 2 [15].

**Tabla 2.** Métodos de obtención de nuevas fases sólidas (NFS).

	Fundamento	Ventaja	Limitante
<b>Evaporación de disolvente</b>	Las soluciones de los componentes se almacenan en condiciones ambientales y se dejan evaporar lentamente hasta que la solución sobresaturada cristalice.	Es un proceso reproducible.	La cantidad del solvente eliminado debe ser determinada para realizar escalamiento.
<b>Molienda</b>	Las materias primas de la fase multicomponente se mezclan y se muelen manual o mecánicamente. Las moliendas en seco y asistida con disolvente se realizan de la misma manera, donde en esta última se agrega un poco de disolvente al molino para catalizar la transformación de la fase deseada.	Uso mínimo de disolventes.	Proceso muy energético que puede llevar a la descomposición de uno de los compuestos.
<b>Cristalización fraccionada</b>	Partiendo de una solución de los componentes, el proceso de nucleación y cristalización es iniciado de forma selectiva para uno de los posibles productos, al alcanzar una reducción de la solubilidad del complejo molecular deseado.	Uso mínimo de disolventes. Escalamiento relativamente sencillo.	Es necesario generar condiciones de sobresaturación.

		Escalamiento de grandes cantidades.	
<b>Anti-solvente</b>	La sobresaturación se genera cambiando la solubilidad del sistema mediante la adición de un anti-solvente (un líquido miscible con el solvente que reduce la solubilidad del soluto en este nuevo disolvente mixto).	Factible a temperatura ambiente. Ideal para sustancias termolábiles. La mezcla de los disolventes puede favorecer algún polimorfo en particular.	Se requiere el uso de dos disolventes y ambos deben ser no tóxico.
<b>Slurry (formación de pasta)</b>	Los componentes se mezclan en cantidades estequiométricas fármaco-coformador con agitación mecánica; se adiciona disolvente hasta formar una pasta en un tiempo específico.	Permite escalar en grandes cantidades.	El tiempo de reacción es un factor importante

La generación de nuevas fases sólidas (NFS) ha demostrado que las propiedades fisicoquímicas de los componentes de éstas se modifican dependiendo de la naturaleza de las interacciones que existen entre ellos. Por esta razón, modificar las características de un IFA es una herramienta interesante y alternativa para la mejora continua de los medicamentos. En la tabla 3 se describen las propiedades que pueden modificarse al formar una fase multicomponente [58].

**Tabla 3.** Propiedades que se modifican al formar una nueva fase sólida cristalina.

<b>Termodinámicas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Temperatura de fusión</li> <li>▪ Temperatura de sublimación</li> <li>▪ <u>Solubilidad</u></li> <li>▪ Presión de vapor</li> </ul>
<b>Espectroscópicas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Vibración</li> <li>▪ Rotación</li> </ul>
<b>Cristalinas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <u>Higroscopicidad</u></li> <li>▪ Densidad</li> <li>▪ Índice de refracción</li> <li>▪ Conductividad</li> <li>▪ Volumen molar</li> </ul>
<b>De superficie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tensión interfacial</li> <li>▪ Hábito cristalino</li> </ul>
<b>Cinética</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <u>Velocidad de disolución</u></li> <li>▪ Velocidad de reacción en estado sólido</li> <li>▪ <u>Estabilidad</u></li> </ul>
<b>Tecnológicas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Dureza</li> <li>▪ Compactación</li> </ul>

## 2.4 SALES FARMACÉUTICAS Y PROPIEDADES

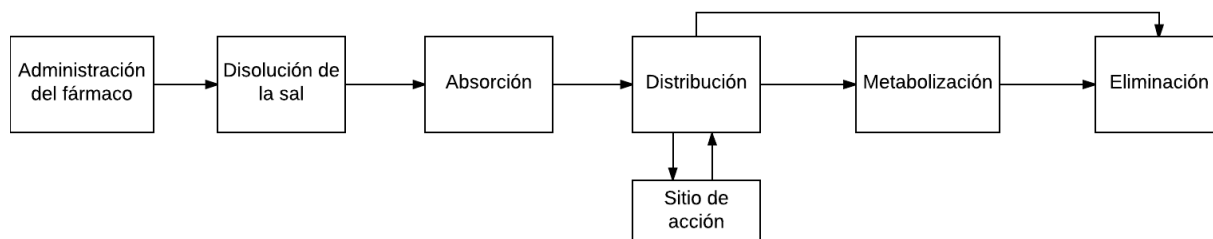
Una sal es un sistema multicomponente, en el cual hay una transferencia de protón del compuesto ácido al básico. La formación de sales se ve favorecida por la presencia de grupos funcionales nitrogenados y grupos carboxílicos en las moléculas. Se estima que más del 50% de fármacos son administrados como sales. Se sabe que la formación de sales a partir de IFAs puede mejorar la solubilidad acuosa y en algunas ocasiones, modificar las propiedades biofarmacéuticas [64].

Al elegir un formador de sal farmacéutica es importante conocer la toxicidad del compuesto. Los formadores de sal se clasifican en: formadores de primera clase; que son formadores de uso común, que no representan “peligro” fisiológico ni interfieren en las vías bioquímicas formando metabolitos; formadores de segunda clase; que usualmente son compuestos que no se encuentran en la naturaleza y deben ser sintetizados, y que generan baja toxicidad y en ocasiones tolerancia; y por último, los formadores de tercera clase; que son formadores sintetizados para un efecto específico como la formación de un par iónico [64]. También existe una lista de compuestos aceptados por la FDA, la lista GRAS, en la cual se incluyen excipientes que son seguros para usarlos en alimentos o medicamentos.

### 2.4.1 Efectos biológicos del uso de sales

#### *Influencia en la farmacocinética*

La farmacocinética describe los procesos a los que se somete el fármaco a través del organismo.[64] La figura 7 describe las principales etapas involucradas en los procesos biológicos relacionados con la administración de un fármaco, y donde puede ocurrir un cambio de la forma salina. Las fases donde hay una alta dependencia de las propiedades físicas de la forma sólida en la cual se encuentra el IFA, son disolución y la absorción [64].



**Figura 8.** Esquema de las principales etapas involucradas en la farmacocinética de los fármacos.

En la tabla 4 se enlistan varios factores que impactan en el proceso de la absorción de una sal, con un ejemplo reportado en cada caso para el cual se describe la afectación [65].

**Tabla 4.** Ejemplos de factores que impactan la forma de la sal en el proceso de absorción

Factor	Ejemplo
<b>Velocidad de disolución</b>	Una tableta del fármaco Imipramina cambia a lenta liberación usando la sal de pamoato en lugar del clorhidrato.
<b>Efecto del ion común</b>	La solubilidad del clorhidrato de la prazosina en agua es de 1.4 mg/mL, mientras que en solución 0.1 M HCl es de 0.037 mg/mL.
<b>Solvatación</b>	La forma anhidra de la ampicilina es soluble en agua, a diferencia de su forma trihidratada que es solo ligeramente soluble en agua.
<b>Solubilización</b>	La sal laurato de propanolol tiene una biodisponibilidad mayor al clorhidrato correspondiente.
<b>Par iónico</b>	La formación de pares iónicos con el carboxilato del ácido oleico o láurico incrementa el transporte catiónico del fármaco en la piel.
<b>Actividad de superficie</b>	La relación lineal entre la velocidad de absorción y la tensión superficial de los buffers difiere de los aniones observados.
<b>Estabilidad en el lumen fisiológico</b>	La sal entre penicilina y 8-cloroteofilina se reportó como soluble en agua, pero no en solución fisiológica.

La relevancia de estos factores varía en dependencia de la vía de administración del fármaco, ya sea oral, rectal, subcutánea, etc. Al seleccionar al agente formador de sal es importante considerar las condiciones fisiológicas y conocer las variables que impactan directamente a la molécula en las diferentes fases de los procesos biológicos involucrados.

*Influencia en las propiedades farmacodinámicas.*

La farmacodinámica describe el efecto del fármaco en el organismo. Dependiendo del uso terapéutico, generar una sal puede prolongar o acelerar la liberación del componente activo con el fin de eliminar propiedades indeseables u optimizar el índice terapéutico, ya sea reduciendo altas dosis o efectos adversos [65].



## 2.5 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL

En este proyecto la caracterización estructural de las nuevas fases sólidas se realiza utilizando técnicas como espectrofotometría de infrarrojo (IR), difracción de rayos X de monocristal y de polvos. Mientras que la caracterización física se utilizan técnicas de calorimetría diferencial de barrido DSC y análisis termogravimétrico (TGA).

**Tabla 5.** Tipo de fenómeno energético en cada región del espectro electromagnético correspondiente

Región del espectro	Fenómeno energético
Infrarrojo (IR)	Vibración de enlaces
Rayos-X	Difracción
Ultravioleta-visible (UV-vis)	Transición de electrones

### 2.5.1 Espectroscopía de Infrarrojo (IR)

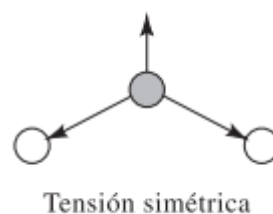
La mayoría de los compuestos que tengan enlaces covalentes, ya sean orgánicos o inorgánicos, absorben varias frecuencias de radiación electromagnética en la región infrarroja del espectro electromagnético. La muestra al ser expuesta a la radiación infrarroja absorbe una parte de la energía del haz que se convierte en energía vibracional. Esta absorción puede ser cuantificable, y el espectro vibracional aparece en forma de bandas y no de picos, ya que el cambio de las energías de vibración está acompañado por cambios de las energías de rotación. Las bandas de vibración-rotación suelen ocurrir dentro del intervalo de 4000 y 400  $\text{cm}^{-1}$  [65].

La energía de una vibración y la longitud de onda del correspondiente máximo de absorción, pueden ser afectadas por otros osciladores de la molécula o estar acoplados a ellos. La vibración simétrica no causa cambios en el momento dipolar, porque dos átomos se mueven en forma simultánea alejándose o acercándose del átomo de carbono central; entonces la vibración simétrica es inactiva en el infrarrojo. En la vibración asimétrica, un átomo se aleja del átomo central a la vez que éste se acerca al otro átomo lateral (Figura 8). Las dos vibraciones de flexión son los componentes resultantes, perpendiculares entre sí, de los movimientos de flexión en todos los planos posibles alrededor del eje del enlace (Figura 10). Debido a que el átomo central no está en línea con los otros dos, una vibración de estiramiento simétrico produce un cambio en el momento dipolar y, por consiguiente, es activo en el infrarrojo (Figura 9). El distinto comportamiento de las moléculas triatómicas lineales y no lineales con dos y tres bandas de absorción, respectivamente, ilustra cómo, a

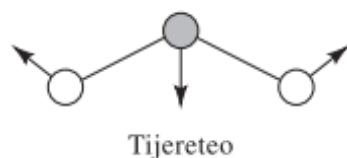
veces, puede usarse la espectroscopía de absorción en el infrarrojo para deducir la forma de una molécula (Figura 8-11) [66], [67].



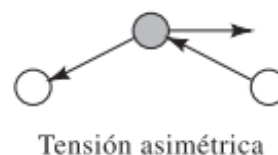
**Figura 9.** Vibración de tensión



**Figura 10.** Tensión simétrica



**Figura 11.** Tijereteo



**Figura 12.** Tensión asimétrica

La longitud de onda de absorción dependerá de la masa relativa de los átomos, la fuerza de los enlaces y la geometría de los átomos, la cual se relaciona a grupos funcionales y/o enlaces específicos. La intensidad de las bandas se puede expresar en transmitancia ( $T$ ) o absorbancia ( $Abs$ ). Transmitancia es la radiación que incidió la muestra sin ser absorbida; mientras que la absorbancia es el recíproco de la transmitancia. El equipo que permite medir el espectro de absorción se llama espectrófotometro de infrarrojo [65].

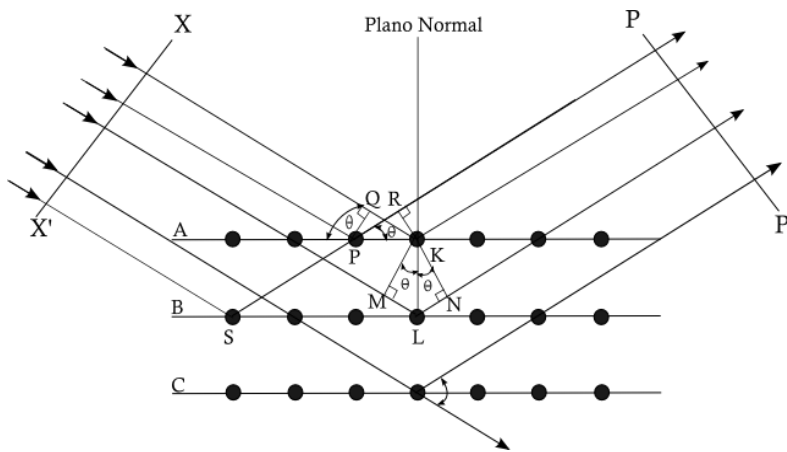
Es importante mencionar que el espectro de IR se utiliza en conjunto con otros datos de identificación para determinar la conectividad en estructuras moleculares, es una herramienta que frecuentemente no funciona de manera independiente y aislada.

### 2.5.2 Difracción de rayos-X

La difracción de rayos X de polvos (DRX) es una técnica no destructiva que sirve para analizar un amplio rango de materiales, tales como minerales, polímeros, compuestos farmacéuticos, entre otros. La DRX ha llegado a ser un método indispensable para la caracterización de los materiales. Por otro lado, la DRX de monocristal es una técnica de análisis no destructiva, la cual se emplea para determinar la disposición atómica en tres dimensiones dentro de la muestra. Es una herramienta de gran utilidad en el campo de la investigación tanto académica como a nivel industrial, ya que se aplica en todas las ramas

de la química (determinación de estructuras de moléculas pequeñas, materiales, biomoléculas y mediciones de densidades electrónicas) [65].

Cuando las ondas de luz atraviesan una ranura estrecha, éstas se dispersan y pareciese que 'se abren'; este fenómeno se conoce como difracción. Cuando la luz atraviesa varias ranuras angostas proporcionalmente espaciadas, las ondas dispersadas se relacionan formando una serie de picos que se conocen como patrón de difracción [68].



**Figura 13.** Representación de la Ley de Bragg de la difracción de rayos-X [65].

La figura 12 ilustra el fenómeno de la difracción de rayos-X. Cuando los rayos-X son dispersados en un entorno ordenado de un cristal, tienen lugar fenómenos de interferencia entre los rayos dispersados, ya que las distancias entre los centros de dispersión (átomos en moléculas) son del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de la radiación. Se genera difracción si el haz de rayos-X se hace pasar a través de una película fina de materia cristalina.

La ley de Bragg representa la ecuación física para poder analizar con este método. Cuando un haz de rayos X choca con la superficie de un cristal en un ángulo theta ( $\theta$ ), 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, de nuevo, una fracción es difundida, y la que queda pasa a la tercera capa, y así sucesivamente. El efecto acumulativo de esta 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 reflexión [68].

### **2.5.3 Análisis termogravimétrico (TGA)**

El análisis termogravimétrico registra de forma continua el cambio de peso de una muestra colocada en una atmosfera controlada, todo esto en función de la temperatura y el tiempo. Existen dos métodos para esta técnica: uno en el que la temperatura aumenta de manera lineal respecto al tiempo (experimento dinámico) y el otro, en el que la temperatura es constante (isoterma) durante todo el experimento [63].

### **2.5.4 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)**

La calorimetría es una técnica experimental, la cual mide la energía necesaria para establecer a un valor cercano a cero la diferencia de temperatura entre una muestra y una referencia, esto mientras ambas están sujetas a temperaturas idénticas.

Mientras la muestra se mantiene a la misma temperatura que un estándar de referencia a temperatura controlada, el cambio del flujo de energía de la muestra definirá si es un proceso exotérmico o endotérmico. Es una técnica que cuantifica el área bajo la curva del termograma que se relaciona con las entalpias de transición de fase en el caso de polimorfos o procesos energéticos que ocurren durante el aumento de temperatura, por ejemplo, fusión, sublimación, desolvatación, descomposición, etc [69].

## **2.6 CARACTERIZACIÓN BIOFARMACÉUTICA DE FASES SÓLIDAS DE IFAs**

Es de gran relevancia la evaluación de las propiedades fisicoquímicas al formar nuevas fases sólidas, ya que éstas pueden proporcionar cambios en las propiedades biofarmacéuticas de relevancia. Al predecir la biodisponibilidad *in vivo*, estas pruebas son de interés en el área farmacéutica.

### **2.6.1 Estabilidad de fase y estabilidad indicativa**

El análisis de estabilidad de fase permite determinar si una fase cristalina es estable o se transforma a otra al entrar en contacto con medios acuosos durante un periodo determinado de tiempo. Este estudio se realiza con una muestra usando agitación a temperatura constante en un medio acuoso durante diferentes tiempos. Se adiciona un exceso de la muestra para generar una solución sobresaturada. Al final del experimento se filtra el sólido y se analiza por DRXP.

En las pruebas de estabilidad indicativa se evalúa si una fase cristalina es estable al someterla a variaciones de temperatura y humedad. Las muestras se introducen en cámaras climáticas durante 1 mes con humedad y temperatura controladas a las siguientes

condiciones: 40°C en calor seco, 50°C en calor seco y 40°C en humedad relativa de 75%.[70] Estas condiciones de humedad y temperatura se eligen considerando los diferentes tipos de climas en las diferentes ubicaciones de la República Mexicana bajo la norma NOM-073-SSA1-2005 [71].

La estabilidad de una fase cristalina es un parámetro importante para evaluar y abarca estabilidad física y química. El estudio permite determinar si la fase cristalina se conserva o se transforma en otra al encontrarse en contacto con medios acuosos durante un tiempo determinado [64].

Las pruebas de estabilidad acelerada ante la temperatura y humedad se evalúan con el fin de identificar cual condición de almacenamiento es la más conveniente para un IFA.[53], [72] La humedad y la temperatura pueden transformar las especies cristalinas a fases amorfas polimorfos [29].

### **2.6.2 Solubilidad y disolución**

La velocidad de disolución (factor cinético) y la solubilidad (factor termodinámico) pueden desempeñar un papel importante con respecto a la biodisponibilidad de un compuesto (fármaco). La disolución se refiere al proceso general mediante el cual la fase sólida del fármaco se disuelve en un medio líquido (disolvente) a una temperatura determinada, mientras que la velocidad de disolución se refiere a la cinética de disolución. La velocidad de disolución intrínseca (VDI) se refiere a la velocidad de disolución del compuesto puro bajo la condición de superficie constante. La manipulación de estas propiedades fisicoquímicas para lograr la farmacocinética deseada es de suma importancia en la industria farmacéutica [17].

### **2.6.3 Coeficiente de partición**

Cuando una sustancia se agrega en una mezcla de disolventes inmiscibles, ésta se distribuye entre los dos disolventes dependiendo de la afinidad a la fase. Si el compuesto es polar, tendrá afinidad a la fase acuosa, pero si el compuesto es no polar se ubicará en la fase orgánica. La distribución de una sustancia en diferentes medios de disolventes se cuantifica por el coeficiente de partición y se expresa matemáticamente de la siguiente forma:

$$P = \frac{[ \text{orgánico} ]}{[ \text{acuoso} ]}$$

Donde  $P$  es el coeficiente de partición,  $[orgánico]$  la concentración de la sustancia en la fase orgánica empleada y  $[acuoso]$  la concentración de la sustancia en la fase acuosa [1].

La solubilidad acuosa y lipídica de un compuesto depende de la medida en que esté se ionice, que a su vez dependerá del  $pK_a$  de los grupos ácidos y básicos implicados en el compuesto y el pH del entorno. El coeficiente de partición es una prueba biofarmacéutica en la que una sustancia se añade a un par de disolventes inmiscibles; según su afinidad para cada fase, se distribuye entre los dos disolventes. Esta prueba es muy útil como modelo para explicar el grado de absorción del fármaco en el cuerpo [35].

### 3 HIPÓTESIS

La generación de una nueva fase diastereoisomérica cristalina de *R*-baclofeno con un coformador carboxílico quiral tal como el ácido *L*- o *D*-málico, el ácido *L*- o *D*-láctico, el ácido *L*- o *D*-tartárico o el ácido *L*- o *D*-cítrico que permitirá la resolución quiral del racemato *RS*-baclofeno.

Se espera una mejora de la biodisponibilidad del baclofeno, empleando la fase multicomponente formada con un coformador carboxílico.

### 4 JUSTIFICACIÓN

La espasticidad es un trastorno del sistema motor; se asocia con daño en el tracto corticoespinal y es una complicación común de las enfermedades neurológicas. Las enfermedades y síndromes en donde la espasticidad puede ser un síntoma prominente incluyen parálisis cerebral, esclerosis múltiple, apoplejía, lesiones en la cabeza y la médula espinal. El baclofeno es un fármaco empleado para el tratamiento contra espasticidad; el cual se comercializa como mezcla racémica [34]. Está demostrado que el enantiómero *R*-baclofeno posee la actividad terapéutica y su actividad es 100 veces superior al diastómero. Este fármaco se asocia con varios efectos adversos como sedación, somnolencia, debilidad y mareos que pueden deberse al enantiómero inactivo (*S*-Bac) [73].

Existen varios métodos de separación de los enantiómeros en un racemato. Una vía para lograr la resolución quiral es la cristalización de una mezcla racémica en presencia del coformador quiral que puede dar lugar a la inclusión de dos o más componentes en una misma estructura cristalina [74], [75].

Al suceder modificaciones en la estructura se permite y facilita la separación. Basándonos en la técnica que nuestro grupo de investigación estableció recientemente entorno a fases cristalinas diastereoisoméricas del racemato de Praziquantel (PZQ), este trabajo buscará la resolución de otro fármaco comercializado en forma de racemato en México vía la formación de un cocrystal o una sal diastereoisomérica con un coformador quiral inocuo para la salud [76].

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo General

Con base en los antecedentes, el objetivo general de este proyecto de tesis es lograr la resolución quiral de la mezcla racémica del *RS*-baclofeno por cristalización fraccionada utilizando un formador de cocrystal o sal quiral tal como el ácido *L*- o *D*-málico, el ácido *L*- o *D*-láctico, el ácido *L*- o *D*-tartárico o el ácido *L*- o *D*-cítrico.

Evaluar si la nueva fase diastereoisomérica del *R*-baclofeno presenta una mejora de la permeación del *R*-baclofeno.

### 5.2 Objetivos Específicos

- ✓ Sintetizar de una sal/cocrystal que solo contenga *R*-baclofeno empleando un coformador quiral tal como el ácido *L*- o *D*-málico, el ácido *L*- o *D*-láctico, el ácido *L*- o *D*-tartárico o el ácido *L*- o *D*-cítrico.
- ✓ Aislar de la fase sólida que contenga el enantiómero activo (*R*-baclofeno).
- ✓ Caracterizar de la(s) nueva(s) fase(s) sólida(s) obtenida(s).
- ✓ Evaluar de las propiedades biofarmacéuticas de la(s) nueva(s) fase(s) sólida(s) obtenida(s).



## 6 MATERIALES

### 6.1 Reactivos

<i>RS-baclofeno (Sigma Aldrich)</i>	<i>Metanol (High Purity)</i>
<i>Ácido L-málico (Sigma Aldrich)</i>	<i>Etanol (High Purity)</i>
<i>Ácido D-málico (Sigma Aldrich)</i>	<i>Acetato de etilo (J.T. Baker)</i>
<i>Ácido DL-málico (Sigma Aldrich)</i>	<i>Tetrahidrofurano (J.T. Baker)</i>
<i>Ácido clorhídrico al 36%</i>	<i>Cloroformo (J.T. Baker)</i>
<i>Agua desionizada Purelab</i>	<i>Tolueno (J.T. Baker)</i>
<i>Acetonitrilo (J.T. Baker)</i>	<i>Fosfato dihidrogenado de potasio</i>
<i>Acetona (J.T. Baker)</i>	<i>n-Octanol (J.T. Baker)</i>

### 6.2 Materiales

Viales de vidrio con taparosca *Pyrex*, vasos de precipitado *Kimax* de 10 mL, 50 mL, 100 mL, 250 mL, 500 mL, 1000 mL y 2000 mL, matraz quitazato *Pyrex* de 50 mL, matraces volumétricos *Pyrex* de 5 mL, 10 mL, 25 mL, 50 mL, 250 mL y 500 mL, pipeta graduada *Pyrex* de 10 mL, pipetas pasteur, probeta de plástico *Kimax* de 500 mL, tubos de ensayo de vidrio *Pyrex*, espátulas, agitadores magnéticos, perillas, filtros de celulosa *Whatman No. 3*, tamaño de poro 35  $\mu\text{m}$ , jeringas de plástico, celda de cuarzo para equipo UV *Varian*, tubos Eppendorf de 10 mL.

### 6.3 Equipo

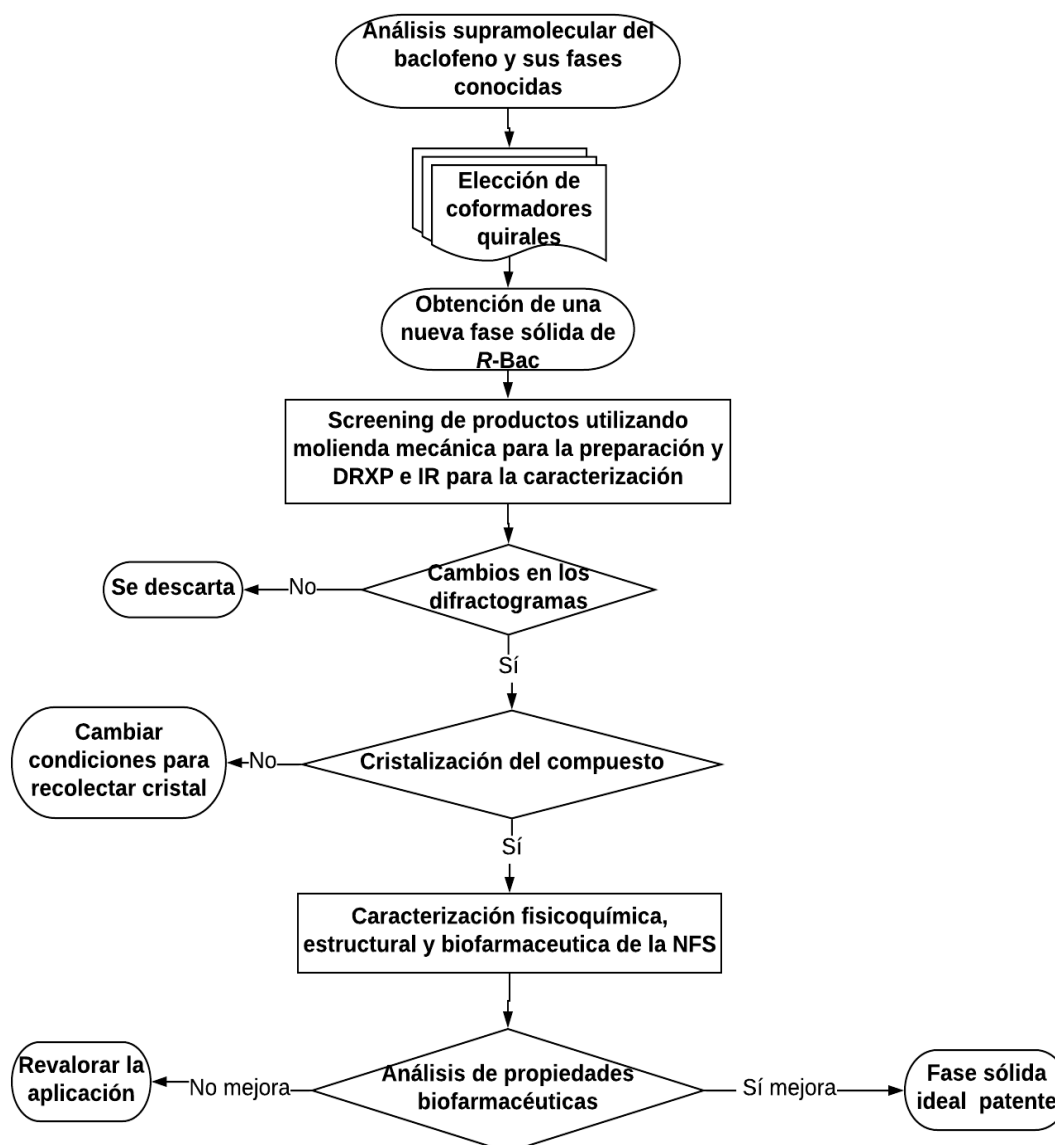
- Balanza analítica *OHAUS Adventurer*
- Potenciómetro *Thermofischer Scientific*
- Destilador de agua *Elga OptionR7BP*
- Espectrofotómetro UV-Vis *Varian® Cary 50*
- Molino mecánico de bolas *Retsch® MM400*
- Parrilla de agitación *CIMAREC*
- Equipo de difracción de rayos-X de polvos *Brucker AXS modelo D8 Advanced*
- Equipo de difracción de rayos-X de monocristal *Agilent Technologies SuperNova equipado con un detector de área CCD (EosS2)*
- Equipo de termogravimetría acoplado a calorimetría *TA Instruments modelo SDT Q600*

- Equipo de espectrofotometría infrarroja *ThermoScientific FT-IR NICOLET 6700*
- Agitador Vortex *Genie 2 Scientific Industries® Serie:377507 con 10 velocidades*
- Vortex Multitubos *Thomas Scientific modelo:02-215-450*
- Bomba de vacío *VACCUBRAND RZ 2.5*
- Prensa hidráulica *Perkin Elmer® Modelo: 15 Ton*
- Baño de agua Ultrasonido *ULTRASONIC No. Serie: 243-1990-012b*
- Disolutor *Varian® VK 7010*
- Centrífuga *G560 Scientific Industries*
- Equipo de destilación de agua *Elga® modelo classic*

## 7 METODOLOGÍA

### 7.1 Árbol de decisión

En la Fig. 14 se presenta un diagrama general de la metodología empleada para la obtención y caracterización de las nuevas fases sólidas. Primero se realizó un análisis supramolecular, y después de la selección de los formadores se procedió al rastreo sistemático para las posibles fases sólidas. En caso de observar cambios en los patrones de difracción de rayos-X de polvos en comparación con las materias primas, se procedió a la caracterización y evaluación biofarmacéutica, así como el aislamiento de monocristales.



**Figura 14.** Árbol de decisión empleado en la investigación para la obtención de una nueva fase sólida de *R*-baclofeno

## 7.2 Materias primas

El *RS*-baclofeno y los formadores de cocrystalales/sales utilizados en este proyecto como materias primas se caracterizaron para corroborar la identidad de cada uno, y así tener los datos de referencia para comparar con los datos correspondientes de las nuevas fases sólidas que se obtendrían posteriormente. La caracterización se realizó con las siguientes técnicas: espectroscopía de IR, difracción de rayos-X de polvos (DRXP) y análisis termogravimétrico/calorimetría diferencial de barrido (TGA/DSC).

Se cuenta con la licencia para el acceso a la base de datos de rayos-X de monocristal del *Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC)* en Cambridge, Inglaterra, la cual contiene los datos cristalográficos de compuestos orgánicos y organometálicos que han sido publicadas en revistas indexadas de circulación internacional. De esta base se descargaron todas las estructuras cristalinas relacionadas con baclofeno con el fin de analizar las estructuras supramoleculares. Esto permite conocer posibles sintones de interacción con un coformador y compararlas con las estructuras obtenidas en el presente trabajo. En el programa *Mercury versión 3.0* se visualizaron y analizaron los empaquetamientos cristalinos de la sal, tanto los obtenidos experimentalmente como los extraídos de la base de datos *CCDC*.

## 7.3 Generación de Nuevas Fases Sólidas (NFS)

Las nuevas fases sólidas de *R*-baclofeno se sintetizaron a partir del *RS*-baclofeno y coformadores quirales por molienda mecánica asistida con solvente (metanol), utilizando un molino mecánico de bolas *Retsch® MM400*. Las moliendas se llevaron a cabo por 30 minutos a 25 Hz.

### 7.3.1 Aislamiento de *R*-Bac:*L*-MA por cristalización por evaporación

La cristalización fraccionada de sólidos es una técnica para muy utilizada la purificación de sólidos; otras técnicas para purificar sólidos incluyen sublimación, extracción y cromatografía. En esta tesis se estudió en la cristalización fraccionada del producto de molienda *RS*-Bac:*L*-MA a partir de una solución en una gama de disolventes que se eligieron con base en su punto isoeléctrico. Los disolventes empleados fueron: agua, acetonitrilo ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ), metanol ( $\text{MeOH}$ ), etanol ( $\text{EtOH}$ ), acetona ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ), tetrahidrofurano (THF), acetato de etilo ( $\text{AcOEt}$ ), cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ), éter etílico ( $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$ ), tolueno ( $\text{PhCH}_3$ ) y hexano.

La elección del disolvente para el proceso de cristalización es importante; para seleccionar el disolvente adecuado se busca uno con propiedades de solubilidad diferente para el soluto deseado y el soluto no deseado, de tal forma que en la cristalización fraccionada se formen cristales únicamente de uno de los dos solutos. Además, el punto de ebullición del disolvente debe ser bajo para poder eliminarse fácilmente de los cristales; así mismo, el disolvente no debe reaccionar de manera química con la sustancia que se está purificando [77].

Las soluciones saturadas del compuesto se prepararon con un exceso del producto de molienda en un vial usando 4-7 mL del disolvente elegido bajo agitación y calor. Después de solubilizarlo, las muestras se filtraron para eliminar partículas y de la solución se dejó evaporar lentamente parte del disolvente a temperatura ambiente. Para una evaporación más lenta del disolvente, los viales se taparon con papel parafilm perforado.

#### **7.4 Caracterización fisicoquímica y estructural de las nuevas fases sólidas**

Las fases sólidas generadas en este proyecto se caracterizaron por las técnicas que se describen a continuación.

##### **7.4.1 Espectroscopía de Infrarrojo (IR)**

La caracterización por medio de esta técnica se realizó en un espectrofotómetro de Infrarrojo *ThermoScientific FT-IR NICOLET 6700*. Se realizaron barridos de 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$  y los espectros fueron analizados en el programa *OMNIC versión 8.1*, observando y comparando los desplazamientos de las bandas de los productos de molienda respecto a las materias primas.

##### **7.4.2 Difracción de rayos-X de polvos (DRXP)**

Se obtuvieron nuevas fases multicomponente sólidas; una mezcla de fases enantioméricas de las sales *R-Bac:L-MA* y *S-Bac:D-MA*, una mezcla de fases diastereoisoméricas de las sales *R-Bac:L-MA* y *S-Bac:L-MA* y la fase pura de *R-Bac:L-MA*.

Los productos de molienda entre *RS-Bac:L-MA* y *RS-Bac:DL-MA* se analizaron bajo las mismas condiciones que las materias primas correspondientes, usando el difractor *Brucker AXS modelo D8 Advanced*. Las muestras fueron analizadas durante 20 minutos variando el ángulo  $2\theta$  de 5 a 45 grados, y los patrones de difracción de las muestras se compararon entre sí para poder concluir si se obtuvo una nueva fase sólida.

Los datos obtenidos se procesaron en el programa *Origin 8.0*. Se compararon los patrones de difracción de las materias primas con los productos de las reacciones de molienda.

#### **7.4.3 Difracción de rayos-X de monocristal (DRX monocristal)**

La difracción de rayos-X de un monocristal de *R-Bac:L-MA* se realizó a una temperatura de 100 K con un difractómetro *Agilent Technologies SuperNova equipado con un detector de área CCD (EosS2)*, usando radiación de  $\text{Mo-K}\alpha$  ( $\lambda=0.71073 \text{ \AA}$ ) a partir de una fuente de rayos X con microfoco y un enfriador *Oxford Instruments Cryojet*.

#### **7.4.4 Análisis termogravimétrico/Calorimetría diferencial de barrido (TGA/DSC)**

El análisis termogravimétrico y calorimétrico de la sal y las materias primas se llevó a cabo en un equipo acoplado *TA Instruments modelo SDT Q600*. Para ello, en crisoles de aluminio se colocaron 3 mg de muestra y se analizaron en un rango de temperatura 25-400 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min y un flujo de 50 mL/min de nitrógeno gaseoso como purgante inerte.

## **7.5 CARACTERIZACIÓN BIOFARMACÉUTICA**

### **7.5.1 Determinación de la estabilidad de fase**

La evaluación de la estabilidad de fase determina si la fase bajo estudio se conserva o se transforma a otra al estar en contacto con medios acuosos. Para esta prueba, se colocaron 50 mg del producto de molienda de *RS-Bac:DL-MA* en 0.5 mL de buffer de fosfatos pH 4.5 a 37 °C en agitación; se tomaron alícuotas a diferentes tiempos (1, 10, 13, 17, 20, 30, 60 y 90 minutos) que se filtraron; el sólido fue analizado por DRXP. La prueba se realizó también en una solución de HCl (0.1 N pH 1.2) bajo el protocolo previamente descrito, pero tomando muestras a tiempos de 4, 6, 8, 10, 20 y 30 minutos.

### **7.5.2 Estabilidad indicativa**

Se pesaron muestras de 40 mg de sólido cristalino (*RS-Bac:DL-MA*, baclofeno y ácido málico) las cuales se introdujeron en cámaras climáticas con humedad y temperatura controlada durante 1 mes por triplicado a las siguientes condiciones:

- Temperatura de 40 °C, calor seco
- Temperatura de 50 °C, calor seco
- Temperatura de 40 °C, humedad relativa de 75%

Esta prueba se realizó en las cámaras climáticas de los Laboratorios Senosiain S.A. de C.V.

### **7.5.3 Método de cuantificación de baclofeno**

Como en los casos anteriores, el fin del estudio no solo es generar la resolución quiral de una mezcla racémica, si no también evaluar modificaciones de algunas propiedades biofarmacéuticas que pudieran ser de interés farmacéutico.

Para la cuantificación de las pruebas biofarmacéuticas, fue primero necesario generar la curva de calibración del *RS*-baclofeno. Esta curva se realizó por triplicado cumpliendo con las condiciones de variación según la NOM-177 [78]. No se realizaron curvas de calibración para el ácido *L*-málico ya que carece de cromóforos que absorben en la longitud de onda 220 nm usado en el análisis por espectrofotometría de UV-visible [76].

Para validar la curva se necesitan como mínimo 5 puntos de referencia, los cuales se prepararon a partir de un stock a una concentración de 0.4 mg/mL de baclofeno y el medio de solución HCl 0.1 N. La solución stock se generó en un matraz volumétrico de 50 mL, colocando 20 mg de *RS*-baclofeno y aforándolo con el medio previamente descrito a

una concentración de 0.4 mg/mL. Las concentraciones empleadas para la curva de calibración de *RS*-baclofeno fueron: 0.0052, 0.0078, 0.0104, 0.0208, 0.039 y 0.078 mg/mL. Se agitaron en un vortex para que estuviesen homogéneas y se leyeron con el equipo de espectrofotometría UV-Visible en una cubeta de cuarzo a una longitud de onda 220 nm [78].

Para una curva de calibración es necesario calcular el coeficiente de variación porcentual (%CV) y la regresión de la gráfica para corroborar su linealidad. Esto se realiza en triplicado a las diferentes concentraciones empleadas bajo los protocolos establecidos en la norma mexicana de validación [79].

#### **7.5.4 Determinación del perfil de disolución intrínseca**

La determinación del perfil de disolución intrínseca se realizó por triplicado empleando el aparato de Wood con un área constante expuesta al medio de 0.5 cm<sup>2</sup>. El disolutor utilizado fue un equipo *Varian*® *VK7010* conectado a un recirculador de agua *Varian*® *VK 750DK*.

Se pesaron 130 mg del sólido a examinarse que se comprimió a 80 bar por 30 segundos utilizando la prensa hidráulica *Perkin Elmer*® y un pistón de acero inoxidable. La tableta se colocó en el aparato de Wood que se acomodó en el disolutor bajo los protocolos establecidos en el laboratorio.

El vaso del disolutor requiere de un medio de relevancia farmacopéica y que pudiera ser cuantificado por el método de UV Visible, de modo tal que se utilizó una solución HCl 0.1 N [14]. El medio se preparó con agua desionizada y HCl (36%) y se desgasificó por sonicación durante 45 minutos.

Una vez el medio colocado en los vasos (500 mL), se comenzó la prueba de disolución con base en un procedimiento de operación normalizado estipulado por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) [63]. La velocidad de agitación fue 50 rpm con una temperatura constante de 37 °C. La duración de las pruebas fue de 18 minutos, muestreando en los minutos 3, 6, 9, 12, 15 y 18 y reponiendo el volumen extraído con medio fresco a 37°C para mantener el volumen constante.

El baclofeno disuelto en el medio en los diferentes tiempos, se cuantificó por medio de espectrofotometría UV-Vis usando un instrumento *Varian*® *Caray 50*. Las muestras se leyeron a una longitud de onda 220 nm en una celda de cuarzo con capacidad de 3 mL y la cantidad disuelta se estableció con base en los datos obtenidos de la curva calibración.



El coeficiente de disolución intrínseca se extrajo del perfil de disolución, graficando en el eje X tiempo (minutos) y en el eje Y la concentración disuelta acumulada en gramos sobre la superficie expuesta ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ). De la gráfica obtenida se calcularon los valores de regresión lineal, siendo la pendiente de la recta la velocidad de disolución intrínseca, mejor conocida como coeficiente de disolución intrínseca ( $\text{mg acumulados}/\text{cm}^2 \text{ min}$ ).

#### **7.5.5 Coeficiente de partición**

La prueba para determinar el coeficiente de partición se realizó por triplicado. Se utilizaron los equipos Vortex Multitubos *Thomas Scientific*, centrífuga G560 *Scientific Industries* y equipo de UV-Visible *Varian® Cary 50*.

Se emplearon soluciones stock de *RS*-baclofeno y de la sal *RS-Bac:DL-MA* a una concentración de  $100 \mu\text{g}/\text{mL}$  de baclofeno (para la sal se realizaron los cálculos correspondientes de manera tal que fueron equivalentes las cantidades del ion del ácido málico respecto al ion de cloruro del medio). El medio usado para la preparación de las soluciones stock y la fase acuosa de la prueba fue una solución HCl 0.1 N.

A un tubo Eppendorf de 10 mL se adicionaron 8 mL de la solución con una concentración de  $100 \mu\text{g}/\text{mL}$  de la alícuota de baclofeno o la sal, 4 mL del medio acuoso y 4 mL de *n*-octanol. Las mezclas se agitaron durante 3 horas en un multivortex y se dejaron en reposo durante 10 minutos; las fases se separaron centrifugando las muestras durante 1 hora a 4000 rpm. La concentración de baclofeno se determinó en la fase acuosa usando un espectrómetro UV-Vis a 220 nm en base a la curva de calibración establecida con anterioridad [80].

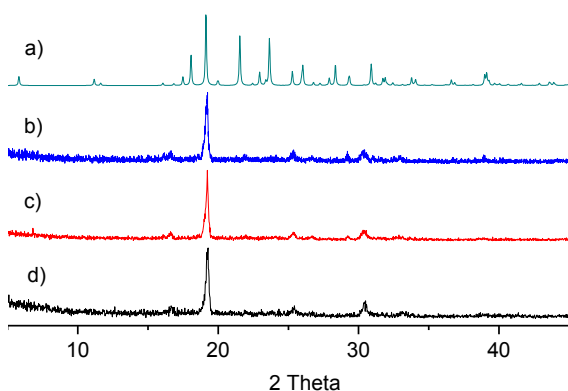
## 8 RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 8.1 Caracterización de las materias primas para la obtención de una nueva fase de *R*-baclofeno

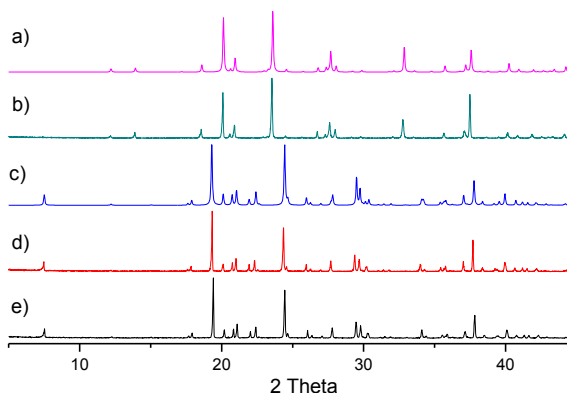
Se comenzó el screening empleando los ácidos málicos por su disponibilidad. Una vez obtenidas las NFS con ácido málico no se continuó analizando la lista de coformadores.

Las materias primas utilizadas para el screening en búsqueda de obtención de la fase multicomponente fueron *RS*-baclofeno y los ácidos *D*-, *L*- y *DL*-málico.

La identidad y pureza de las materias primas a utilizar en los ensayos de molienda y molienda asistida por disolvente se corroboró mediante DRXP, espectroscopía de IR y TGA-DSC; los datos se compararon con los correspondientes datos reportados previamente. Se emplearon 3 lotes diferentes de *RS*-baclofeno que fueron comparados entre sí para asegurarse que no hubiese variación, como se observa en la Figura 14. Los lotes que fueron proporcionados por *Sigma-Aldrich* tuvieron la misma fase; sin embargo, al comparar los patrones de difracción de rayos X de polvos obtenidos con el reportado (Fig. 14) se observó que los patrones no coinciden. De acuerdo a la literatura, existe un polimorfo del baclofeno no caracterizado aún, por lo deducimos que posiblemente se trabajó con dicho polimorfo [60].

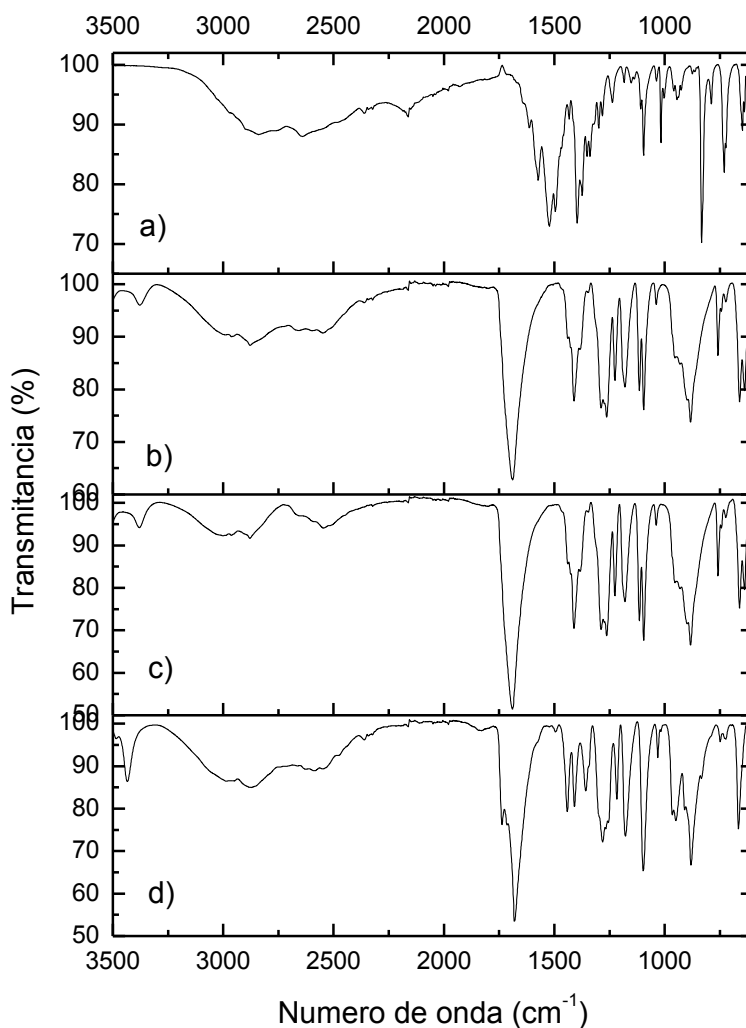


**Figura 15.** Patrones de DRXP de los diferentes lotes de baclofeno utilizados en el proyecto, comparado con el patrón reportado en la literatura [10], [13]. Patrón de difracción de a) *RS*-baclofeno reportado, b) 1er lote de *RS*-baclofeno, c) 2do lote de *RS*-baclofeno y d) 3er lote de *RS*-baclofeno. Nota: Los datos para a) fueron obtenidos de la Base de Datos Cristalográficas de Cambridge (CSD).



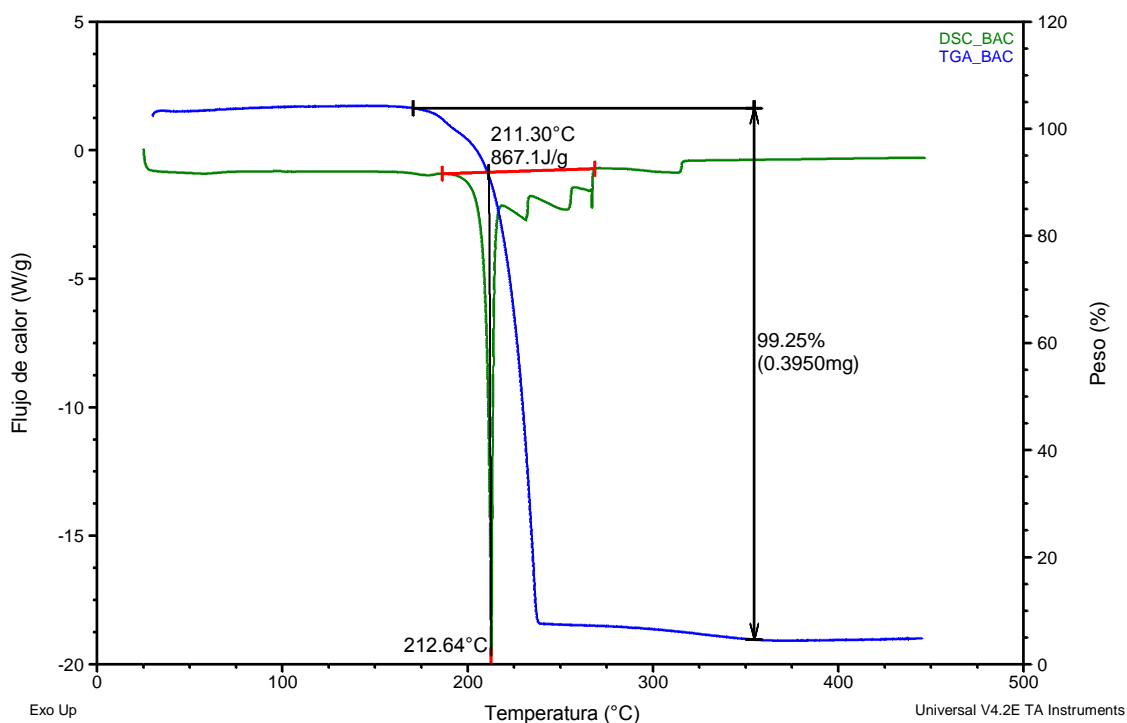
**Figura 16.** Patrón de difracción del formador de sal empleado, ácido *D*-, *L*- y *DL*-málico. El patrón de difracción a) patrón simulado del cristal reportado del ácido *DL*-málico, b) lote de ácido *DL*-málico, c) patrón simulado del cristal reportado del ácido *L*-málico, d) lote de ácido *L*-málico y e) lote de ácido *D*-málico [80]–[83]. Nota: Los datos para a) y c) fueron obtenidos de la Base de Datos Cristalográficas de Cambridge (CSD).

Se analizaron y compararon los patrones de difracción de rayos X del ácido málico racémico y de sus formas enantiopuras, tanto *L*- y *D*- como el *DL*-MA con lo reportado en la literatura. La figura 15 confirma la identidad de los ácidos málicos al coincidir los patrones de difracción reportados con los obtenidos de las materias primas. El método de difracción de rayos-X de polvos no permite diferenciar entre los enantiómeros debido a que poseen las mismas propiedades físicas; una de las formas de diferenciar un enantiómero es por rotación óptica. El patrón de DRXP de la mezcla racémica es diferente al de las fases enantiopuras pero corresponde al calculado del ácido *DL*-málico, lo que indica que la fase contiene ambos enantiómeros en una misma red cristalina. También se analizaron los espectros de FT-IR de las materias primas, donde se observan las bandas características de cada compuesto, que posteriormente permitieron analizar cambios en los espectros de las nuevas fases obtenidas (Fig. 16)



**Figura 17.** Espectros de FT-IR de los reactivos que se utilizaron como materias primas en este trabajo; a) *RS*-baclofeno, b) ácido *L*-málico, c) ácido *D*-málico y d) ácido *DL*-málico

El análisis por termogravimetría-calorimetría diferencial de barrido nos ayuda a monitorear la pérdida de masa y los eventos térmicos como el punto de fusión o la temperatura de descomposición que presenta una muestra frente a un cambio (aumento) de la temperatura. El *RS*-baclofeno (Fig. 17) empieza a fundir a una temperatura de aproximadamente 211 °C, el ácido *L*- y *D*-Málico a 103 °C y el ácido *DL*-málico a 130 °C. Posteriormente, el *RS*-baclofeno y los ácidos *L*- y *DL*-málico empiezan a evaporarse (Fig. 17,18 y 19).



**Figura 18.** Curva de TGA/DSC del *RS*-baclofeno

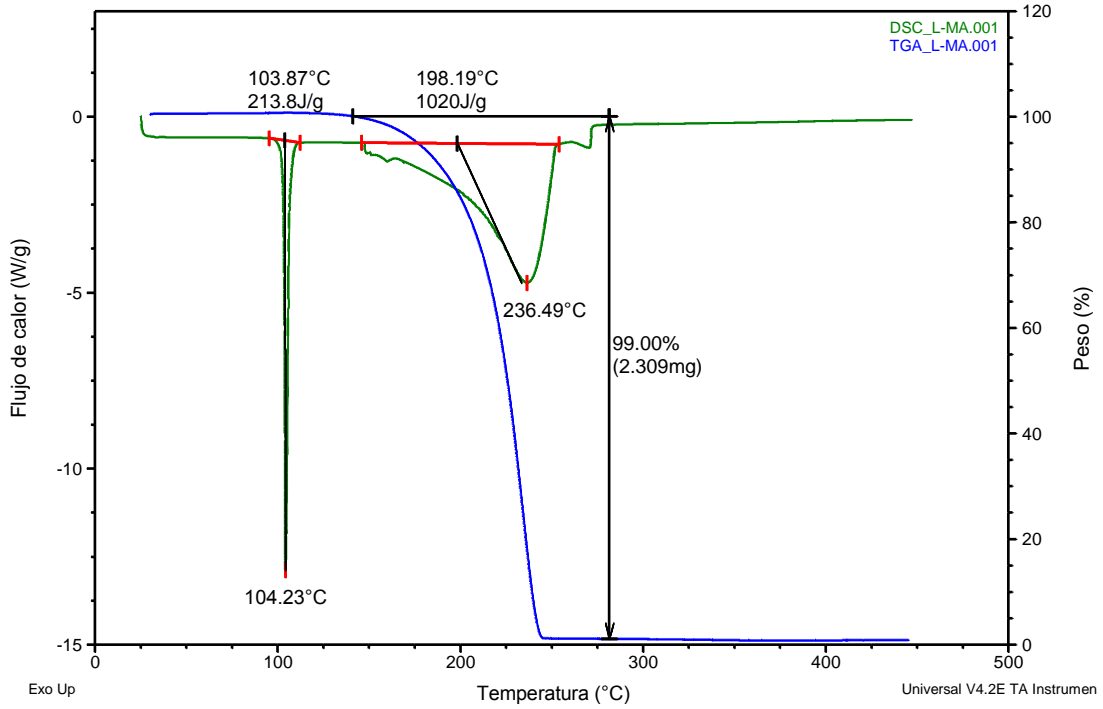


Figura 19. Curva de TG/DSC del ácido *L*-Málico.

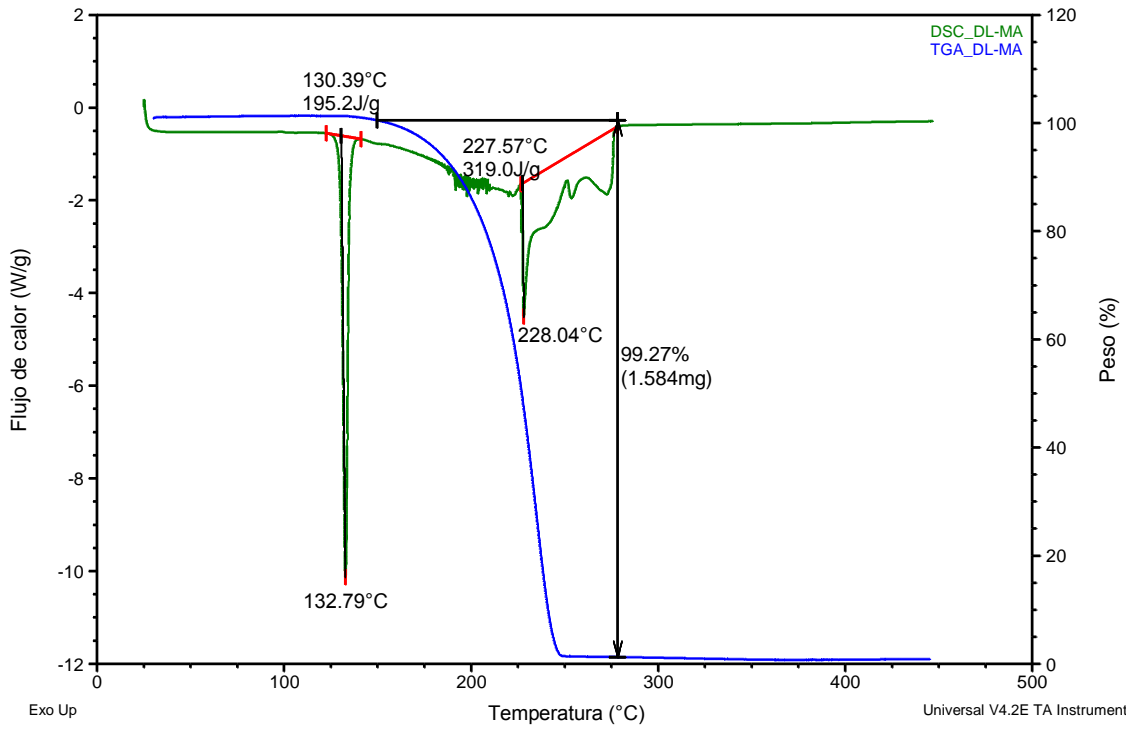


Figura 20. Curva de TG/DSC del ácido *DL*-Málico.

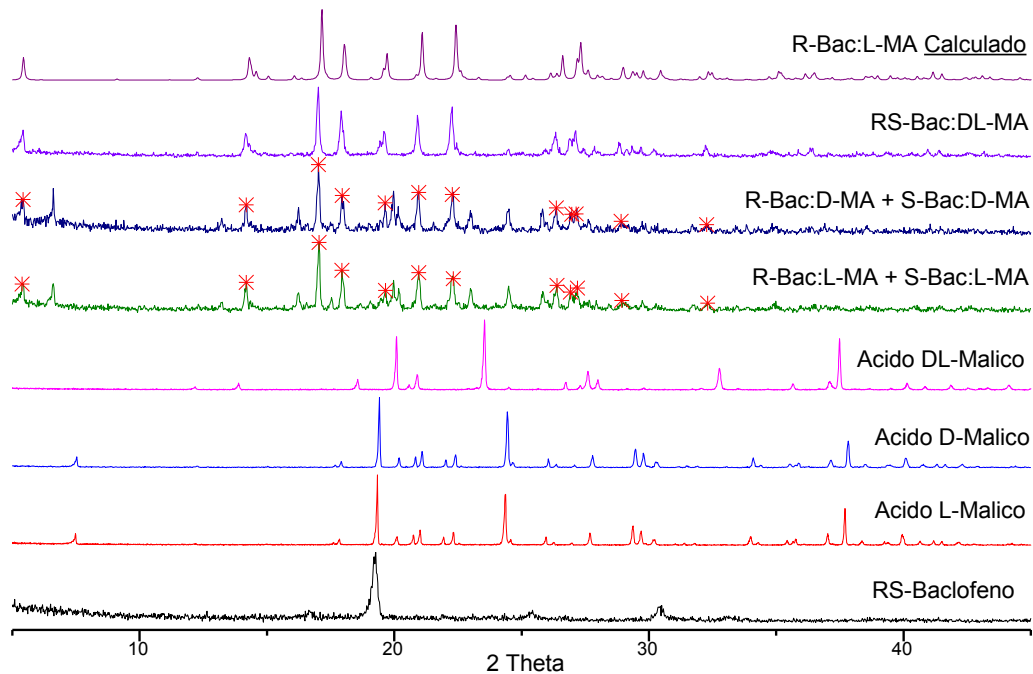
## 8.2 NFS de *R*-baclofeno con ácido málico

Para la búsqueda de nuevas fases sólidas de *R*-Bac se emplearon como cofomadores los ácidos málicos (*L*-, *D*- y *DL*-), debido a que los grupos funcionales COOH y OH favorecen la formación de interacciones con los grupos presentes en la molécula del baclofeno (-NH<sub>2</sub> y COOH). Además, existen reportados en la bibliografía sólidos multicomponentes con *RS*-Bac empleando como cofomadores a ácidos carboxílicos [76].

### 8.2.1 Generación de una NFS entre *R*-baclofeno y ácido málico

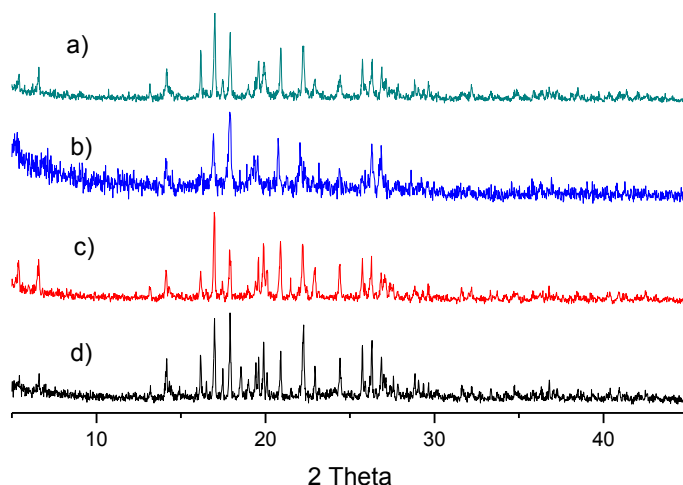
La obtención de las nuevas fases sólidas se logró primero a través de molienda sin disolvente utilizando una estequiometría 1:1 entre *R*-Bac y el cofomador. Los productos obtenidos en cada molienda se analizaron por DRXP y espectroscopía de IR. Los patrones de difracción obtenidos de los productos de molienda se compararon con los patrones de difracción de las materias primas. La aparición de nuevos picos indica la obtención de una nueva fase sólida de *R*-Bac y cuando hay ausencia de picos correspondientes a las materias primas, se deduce que la fase obtenida es pura.

Los 3 productos de reacción obtenidos mostraron la formación de una nueva fase (no se observan picos remanentes de materia prima). No obstante, las nuevas fases sólidas exhibían patrones de difracción de rayos X diferentes para las reacciones entre *RS*-baclofeno con el ácido *DL*-málico y los ácidos *D*- y *L*-málico (Fig. 20)



**Figura 21.** Patrones de difracción de rayos-X de polvos de los productos de molienda entre *RS*-baclofeno y los ácidos *L*-, *D*- o *DL*- málico en comparación con los patrones de las materias primas. Los picos marcados con asterisco corresponden a la fase *R*-Bac:*L*-MA que fue caracterizado por DRX de monocristal.

En la Figura 21 se ilustran los patrones de DRX del producto de molienda asistida por disolvente entre *RS*-baclofeno y el ácido *DL*-Málico empleando diferentes disolventes (agua, metanol y acetona) para analizar si también en estos casos se obtiene la misma fase. Se observa que el producto pierde cristalinidad utilizando agua, pero empleando metanol y acetona tiene buena cristalinidad, además de ser menos complejo de manipular y extraer de los contenedores.



**Figura 22.** Reacciones de molienda entre *RS-Bac* y *L-MA* bajo diferentes condiciones: a) producto de molienda sin disolvente, b) molienda asistida con agua, c) molienda asistida con metanol y d) molienda asistida con acetona.

### 8.2.2 Condiciones para la obtención del monocristal de *R-Bac:L-MA* (1:1)

Para poder aclarar los resultados obtenidos por los estudios de DRXP, se buscaron condiciones para cristalizar uno de los productos. Para ello se realizaron pruebas de solubilidad de la fase obtenida de la reacción *RS-Bac* + *DL-MA* que está también presente en el producto de reacción con los ácidos *D-* y *L-málico*.

La selección de disolventes para los procesos de cristalización se basó en que existiera una variedad de candidatos con puntos isoeléctricos y polaridades diferentes. Se emplearon metanol, etanol, tetrahidrofurano, cloroformo, acetato de etilo y agua.

Se realizó una prueba de solubilidad cualitativa de los productos de molienda de *RS-Bac* con *DL-MA* y *RS-Bac* con *L-MA* a fin de seleccionar el disolvente adecuado para el proceso de cristalización fraccionada. Se pesaron 30 mg de producto de molienda sólido y en un vial con disolvente y agitación se observó si solubiliza o no el sólido. La tabla 6 muestra que los productos de molienda tienen buena solubilidad en agua, notándose en metanol una mejor solubilidad a mayor temperatura. Además, en algunos disolventes (acetato de etilo, THF y etanol) hubo una variación en la solubilidad de los productos de molienda, lo que evidenciaba a estos disolventes como posibles candidatos para la cristalización fraccionada.



**Tabla 6.** Solubilidad cualitativa de los productos de molienda entre *RS-Bac* y el ácido *L-* y *DL-*málico.

	<i>RS-Bac:L-MA</i>		<i>RS-Bac:DL-MA</i>	
	Temperatura ambiente	Calor	Temperatura ambiente	Calor
Metanol	+	+++	+	+++
Etanol	+	+	+	--
THF	+	+	--	--
CHCl <sub>3</sub>	--	--	--	--
AcOEt	--	+	--	--
Acetona	--	+	--	--
CH <sub>3</sub> CN	--	--	--	--
H <sub>2</sub> O	+++	+++	+++	+++

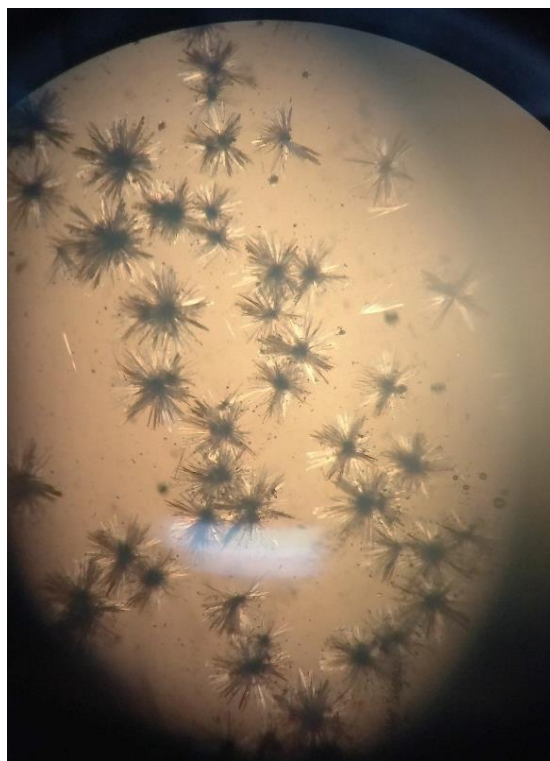
+++ Muy soluble    + Poco soluble    --No soluble

La obtención de cristales de la sal *R-Bac:L-MA* se exploró por la técnica de evaporación de disolvente. Para ello, 30 mg del producto de la molienda *RS-Bac:L-MA* se disolvieron en diferentes mezclas de disolventes con agitación y calor; después se sembró en la solución una pequeña cantidad del mismo producto de molienda. El vial se tapó parcialmente y se dejó a evaporar hasta observarse una fase sólida. Los cristales de *R-Bac:L-MA* que fueron útiles para el análisis por el DRX de monocristal fueron obtenidos de una mezcla de disolventes entre acetato de etilo y agua (14:1; v/v)

En la Figura 22 se muestra la morfología de la sal *R-Bac:L-MA* (1:1) donde se observan agujas alargadas y delgadas que se agrupan formando “erizos”. La tabla 7 muestra los datos cristalográficos de la sal obtenida, evidenciando que *R-Bac* y *L-MA* están en una relación estequiométrica de 1:1. De acuerdo con los datos cristalográficos de la Tabla 6, la sal cristalizó en un sistema monoclinico con los siguientes componentes en la unidad asimétrica: 2 cationes de *R-baclofeno* y 2 monoaniones derivados del ácido *L-Málico* (Fig. 23). La presencia del enantiómero *R-Bac* fue establecido por el refinamiento del parámetro Flack.

**Tabla 7.** Datos cristalográficos de *R*-Bac:*L*-MA (1:1)

<b>Fórmula</b>	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> ClNO <sub>7</sub>
<b>Grupo espacial</b>	P 2 <sub>1</sub>
<b>Sistema cristalino</b>	Monoclínico
<b>a/ Å</b>	14.8213(2)
<b>b/ Å</b>	6.69225(11)
<b>c/ Å</b>	16.7047(3)
<b>α</b>	90.000
<b>β</b>	103.596(2)
<b>γ</b>	90.000
<b>Volumen de celda/ Å<sup>3</sup></b>	1610.46(4)
<b>Z</b>	4
<b>Densidad calculada/ g/cm<sup>3</sup></b>	1.434
<b>R<sub>1</sub> [<math>I \geq 2\sigma(I)</math>]</b>	0.037
<b>wR<sub>2</sub> (all data)</b>	0.098
<b>Parámetro de Flack</b>	0.003(7)



**Figura 23.** Imagen de cristales de *R*-Bac:*L*-MA (1:1) obtenidos de una mezcla de sales diastereoisoméricas por cristalización fraccionada de acetato de etilo con agua.

En la unidad asimétrica se observa que el grupo carboxílico y la amina primaria del *R*-baclofeno están protonados. Además, se puede observar que el coformador (*L*-MA) es el donador del protón, con lo que se confirma que la fase cristalina es una sal con la composición *R*-Bac:*L*-MA (1:1). Entre el grupo amonio del baclofeno y los grupos COOH y OH del ácido *L*-Málico se forma un heterosintón que consiste en enlaces fuertes de puente de hidrógeno del tipo N<sup>+</sup>H...O (Fig 23 y tabla 8). Además, se observa otro heterosintón que se integra por 2 moléculas de baclofeno y una molécula del anión del ácido málico, que involucra a un grupo amonio, un grupo COOH y un grupo COO<sup>-</sup>. Así mismo, se observa un homosintón entre dos monoaniones del ácido *L*-MA con una interacción <sup>-</sup>COOH...<sup>-</sup>OOC (Fig. 24).

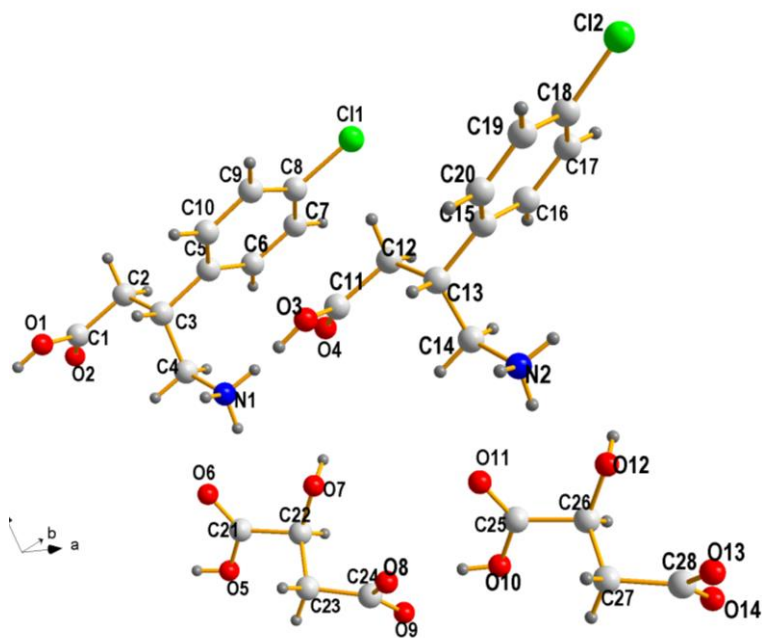


Figura 24. Unidad asimétrica de *R*-Bac:*L*-MA (1:1).

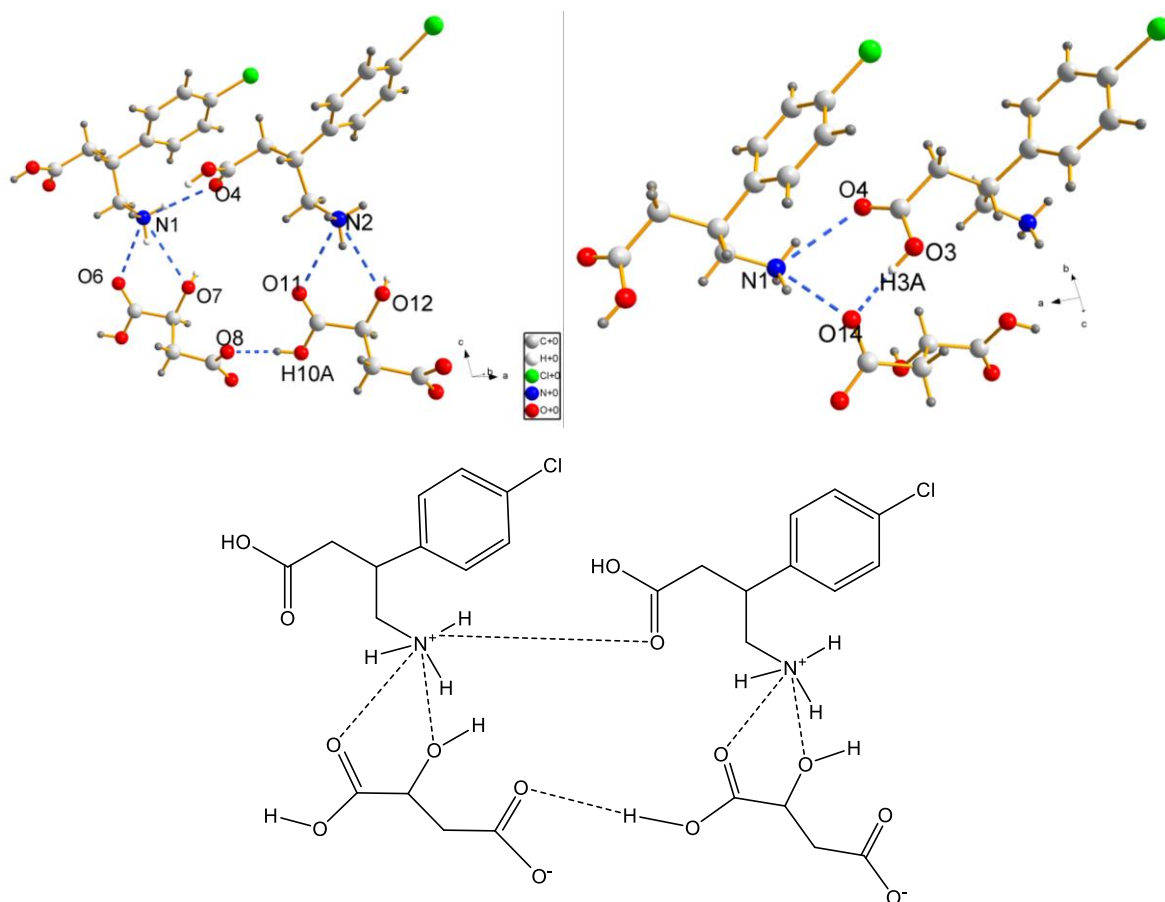


Figura 25. Representación de las interacciones intermoleculares del baclofeno con el ácido málico en la estructura cristalina en 2D y 3D.

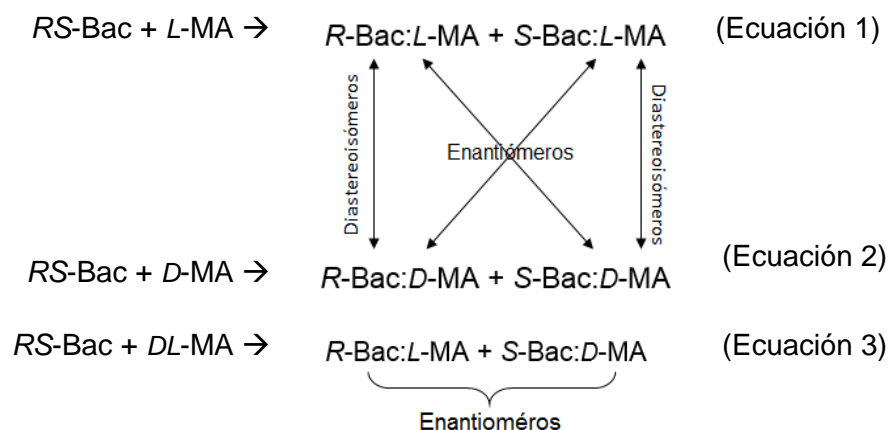
### 8.2.3 Análisis comparativo de los datos de DRX de polvos y de monocristal

Se observa en la Figura 20 que el patrón de difracción de rayos X de polvos de la sal *R*-Bac:*L*-MA (1:1), que fue simulado a partir de los datos de difracción de rayos X de monocristal, es idéntico al patrón de DRXP de la muestra cristalina aislada y el patrón del sólido resultante de la molienda entre *RS*-Bac y el ácido *DL*-málico. Se observa que los picos del patrón están también presentes en los patrones de los productos de molienda entre el *RS*-baclofeno y los ácidos *L*- y *D*- málico (picos marcados por asterisco en la Fig. 20), lo que permite concluir que los 4 sólidos contiene la fase *R*-Bac:*L*-MA o la fase enantiomérica *S*-Bac:*D*-MA. Los picos adicionales en los patrones de difracción de los productos de molienda entre *RS*-Bac y los ácidos *D*- y *L*- málico no coinciden con ninguna de las materias primas, por lo cual se considera que la segunda fase puede ser (i) *S*-baclofeno o *R*-baclofeno respectivamente, (ii) una segunda sal diastereomérica con *S*-baclofeno o (iii) algún polimorfo o pseudopolimorfo del ácido málico. Los picos del patrón de difracción de la muestra de molienda entre *RS*-baclofeno y *DL*-Málico coinciden completamente con el patrón calculado de la sal difractada, lo que permite concluir que se obtuvo la mezcla de sales enantioméricas de la composición *R*-Bac:*L*-MA y *S*-Bac:*D*-MA. Debido a la circunstancia que tanto *R*-Bac y *S*-Bac reaccionaron cada uno con un enantiómero de ácido málico en la reacción entre *RS*-Bac y *DL*-MA y por el hecho de que no se observan picos de los ácidos *D*- y *L*- málicos en los patrones de las reacciones, se concluye que la opción ii es la que aplica en este caso.

**Tabla 8.** Interacciones intermoleculares de corto contacto de la sal *R*-Bac:*L*-MA

Enlace -H	D--H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	∠DHA	Simetría op. 2
N <sub>1</sub> —H <sub>1C</sub> ...O <sub>4</sub>	0.89	2.116	2.944(3)	154.5	x, y, z
C <sub>4</sub> —H <sub>4A</sub> ...O <sub>6</sub>	0.969	2.646	3.012(4)	102.8	x, y, z
N <sub>1</sub> —H <sub>1A</sub> ...O <sub>6</sub>	0.89	2.104	2.822(3)	137.2	x, y, z
N <sub>1</sub> —H <sub>1A</sub> ...O <sub>7</sub>	0.89	2.251	3.024(3)	145.2	x, y, z
N <sub>1</sub> —H <sub>1C</sub> ...O <sub>13</sub>	0.89	2.718	3.116(4)	108.5	x, y, z
N <sub>1</sub> —H <sub>1B</sub> ...O <sub>14</sub>	0.89	2.008	2.752(3)	140.3	1-x, -1/2+y, 1-z
C <sub>14</sub> —H <sub>14B</sub> ...O <sub>8</sub>	0.97	2.712	3.360(4)	124.6	1-x, 1/2+y, 1-z
C <sub>14</sub> —H <sub>14A</sub> ...O <sub>11</sub>	0.97	2.509	3.066(4)	116.4	1-x, -1/2+y, 1-z
N <sub>2</sub> —H <sub>2C</sub> ...O <sub>11</sub>	0.89	2.256	2.924(3)	131.6	1-x, -1/2+y, 1-z
N <sub>2</sub> —H <sub>2C</sub> ...O <sub>12</sub>	0.89	2.091	2.895(3)	149.7	1-x, -1/2+y, 1-z
N <sub>2</sub> —H <sub>2D</sub> ...O <sub>9</sub>	0.89	2.112	2.799(3)	133.4	x, y, z
N <sub>2</sub> —H <sub>2D</sub> ...O <sub>10</sub>	0.89	2.468	3.127(4)	131.2	1-x, -1/2+y, 1-z
O <sub>3</sub> —H <sub>3A</sub> ...O <sub>14</sub>	0.821	1.738	2.557(3)	175.7	1-x, -1/2+y, 1-z
O <sub>7</sub> —H <sub>7A</sub> ...O <sub>13</sub>	0.82	1.889	2.685(4)	163.6	x, y, z
O <sub>10</sub> —H <sub>10A</sub> ...O <sub>8</sub>	0.82	1.718	2.536(3)	175.4	1-x, -1/2+y, 1-z
O <sub>12</sub> —H <sub>12</sub> ...O <sub>8</sub>	0.82	1.875	2.657(4)	159	1-x, -1/2+y, 1-z

En otras palabras, se propone que la reacción entre *RS*-Bac y el ácido *L*-MA produce las fases diastereoisomérica *R*-Bac:*L*-MA y *S*-Bac:*L*-MA (Ecuación 1). Así mismo, la reacción entre *RS*-Bac y el ácido *D*-MA genera las fases diastereoisoméricas *R*-Bac:*D*-MA y *S*-Bac:*D*-MA (Ecuación 2). De las 4 fases, *R*-Bac:*L*-MA y *S*-Bac:*D*-MA son fases enantioméricas y lo mismo aplica para *S*-Bac:*L*-MA y *R*-Bac:*D*-MA (Ecuación 3).

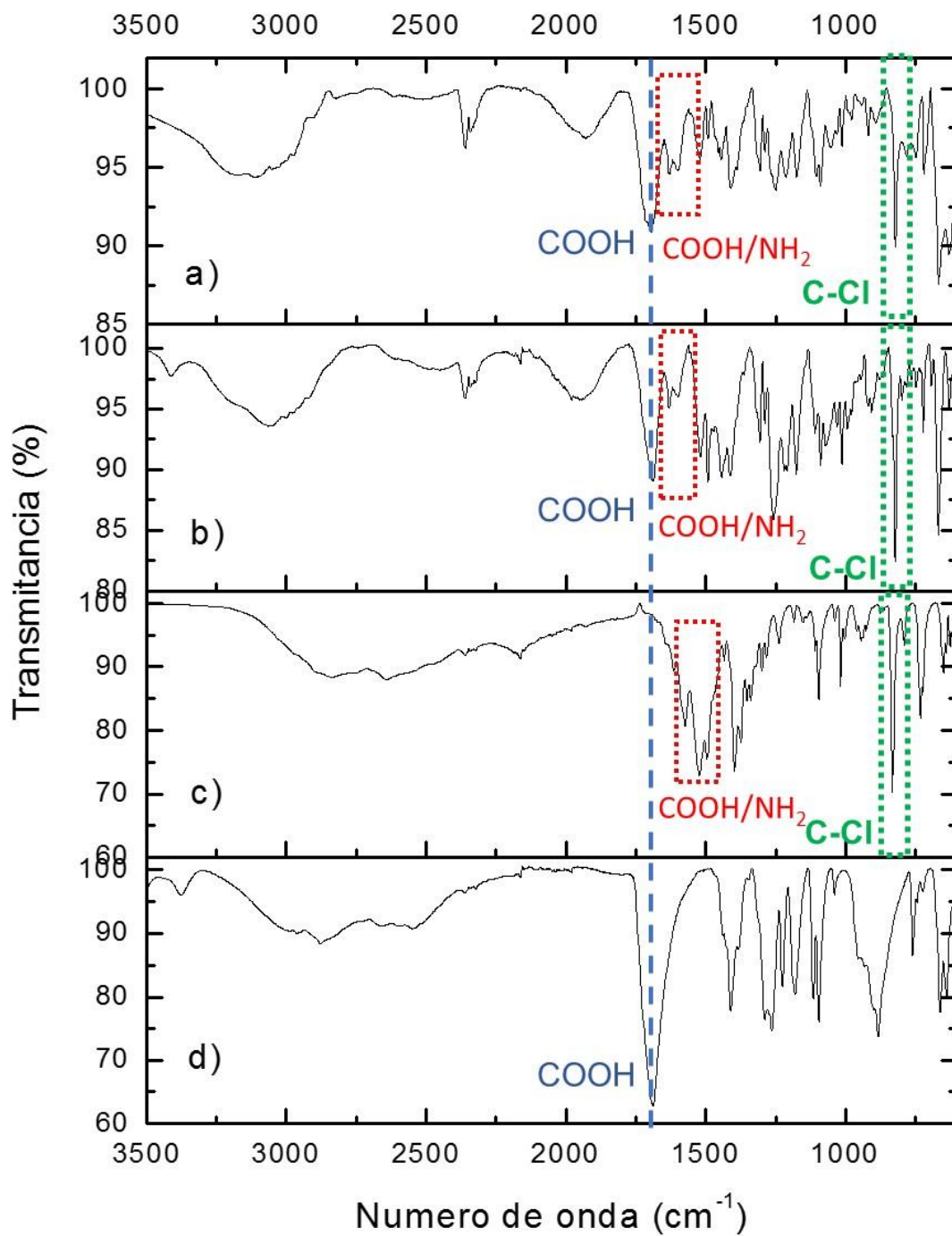


Los resultados de este análisis indican también que el par de fases enantioméricas de la fase diastereoisomérica *R*-Bac:*L*-MA/*S*-Bac:*D*-MA es probablemente más estable bajo las condiciones de reacción empleadas en la reacción entre *RS*-Bac y el ácido *DL*-MA que el par *S*-Bac:*L*-MA/*R*-Bac:*D*-MA, ya que este último no se obtiene en esta reacción.

#### **8.2.4 Análisis espectroscópico de la NFS por IR**

La comparación de los espectros de IR en la Figura 25 muestra que el cristal *R*-Bac:*L*-MA (1:1) y el producto de molienda entre *RS*-Bac:*DL*-MA exhiben espectros idénticos. Sin embargo, al comparar con las materias primas se observan desplazamientos de las bandas en el rango de 800-2000  $\text{cm}^{-1}$  y por tanto indican cambios en las interacciones intermoleculares.

El análisis gráfico de los espectros de IR del *RS*-baclofeno (Bac exp), el ácido *L*-málico (*L*-MA exp) y la sal *R*-Bac:*L*-MA muestra que cada una de las materias primas tiene bandas características que se observan también en el espectro de la sal (Fig. 25).



**Figura 26.** Espectros de IR de: a) el cristal *R*-Bac:*L*-MA, b) el producto de molienda *RS*-Bac:*DL*-MA, c) *RS*-baclofeno y d) ácido *L*-málico.

En la Tabla 9 se comparan las bandas vibracionales y las asignaciones tentativas reportadas de la sal monosódica del ácido málico (*MA-Na+*), el ácido *L*-málico (*L-MA ref*), clorhidrato del *R*-baclofeno (*BacHCl*), de *RS*-baclofeno (*Bac ref*) y las materias primas empleadas en el experimento [76].

Para el *RS*-baclofeno, las bandas características son aquellas que corresponden a la vibración del enlace C-Cl alrededor de  $800\text{ cm}^{-1}$  y los grupos funcionales COOH/NH<sub>2</sub> (COO<sup>-</sup>/NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) en las regiones de  $1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ . Para el ácido *L*-málico la banda más intensa corresponde a las vibraciones de estiramiento del grupo C=O alrededor de  $1700\text{ cm}^{-1}$ ; además, destaca un conjunto de bandas en la región  $1100\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a vibraciones del tipo HC-OH y H-C-H.

El hecho que las bandas para los grupos (COO<sup>-</sup>/NH<sub>3</sub><sup>+</sup> para *RS*-Bac y COOH/OH/COOH para *L*-MA) se observan también en el espectro de la sal *R*-Bac:*L*-MA indica que los grupos funcionales se mantienen en esencia en el producto. Sin embargo, la formación de la sal, a través de la deprotonación de uno de los grupos COOH del ácido *L*-MA en la sal *R*-Bac:*L*-MA, se refleja en una disminución de la intensidad de la banda del grupo C=O en  $1694\text{ cm}^{-1}$ . Esto es congruente con el análisis por DRX de monocristal, el cual mostró que únicamente hubo una transferencia de un protón de uno de los grupos COOH del *L*-MA al baclofeno, mientras que el otro grupo COOH se conservó.

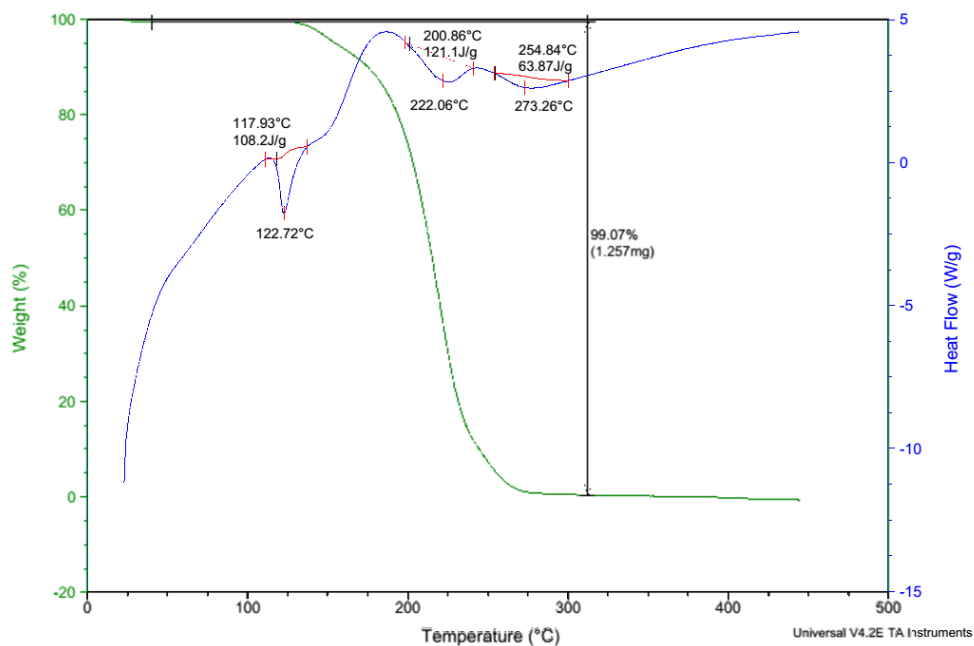
Como ya se mencionó, las bandas vibracionales entre  $1700\text{ y }1500\text{ cm}^{-1}$  que involucran grupos funcionales susceptibles a la formación de puentes de hidrógeno cambiaron ligeramente su desplazamiento (Tabla 9) indicando que la conectividad intramolecular cambió, lo que coincide con la formación de una red cristalina diferente a las materias primas.



**Tabla 9.** Datos de los espectros IR de *RS*-baclofeno polimorfo I y II, el clorhidrato del *R*-baclofeno, el ácido *L*-málico, la sal monosódica del ácido *L*-málico y la sal *R*-Bac:*L*-MA (1:1).

<i>RS</i> -Bac (exp)	<i>RS</i> - Bac (ref.) [75]	<i>R</i> -Bac HCl [78]	<i>L</i> -MA (exp)	<i>L</i> -MA (ref) [77]	Malato mono sódico (MA-Na <sup>+</sup> ) [76]	Sal <i>R</i> - Bac: <i>L</i> -Ma	Asignación de picos
-	-	-	3560	3390	3400	-	v(OH) del CHOH <i>L</i> -MA
2839	-	-	3377	3407	-	-	
-	-	-	-	-	2940	-	vs(OH) de COOH MA-Na <sup>+</sup>
2640	-	3000	2878	-	-	-	(NH <sub>3</sub> +, COOH) BacHCl
2184	-	-	-	-	-	1932	
-	-	-	1689	-	-	1694	v(C=O) <i>L</i> -MA
1612	1612	-	-	-	-	1628	N-H bending (Bac exp y ref)
-	1573	1580	-	-	-	1597	NH <sub>3</sub> BacHCl    NH <sub>3</sub> Bac
1522	1522	-	-	-	-	1520	COOH Bac II
1495	1496	1490	-	-	-	1491	
-	-	1410	1407	1414	1402	1408	d (CH <sub>2</sub> )scis <i>L</i> -MA ref
1374	1374	-	-	1385	-	1387	
1298	-	-	-	-	1315	1304	
1282	-	-	1287	1277	1275	1288	d (CH <sub>2</sub> ) twist, d(OH), v(C-O) <i>L</i> -MA ref
1234	-	-	-	1227	1230	1247	d (CH <sub>2</sub> )wag <i>L</i> -MA ref
-	-	1200	-	-	-	1211	
1183	-	1180	1177	-	-	1169	
1106	1108	-	-	-	-	1102	
1095	1095	-	1095	-	1093	1088	v(C-OH) MA-Na <sup>+</sup>
-	-	-	1040	-	1041	1052	v(C-OH) MA-Na <sup>+</sup>
1037	1037	-	-	1038	-	1029	(O-H) <i>L</i> -MA ref
1017	1017	1010	-	-	-	1011	
-	-	-	-	-	900	915	v(C-OH) MA-Na <sup>+</sup>
-	-	-	882	-	-	890	
833	834	825	-	-	-	820	
790	790	-	-	-	-	781	
-	-	-	758	760	-	746	O-C=O acoplado con OH <i>L</i> -MA ref
730	733	-	-	-	-	716	
-	-	-	661	662	-	664	d (OH), d (CH <sub>2</sub> ), v(C-C)
648	-	-	637	-	-	627	
-	-	-	-	602	-	-	Puente de hidrogeno <i>L</i> -MA ref

## 8.2.5 Análisis termogravimétrico y calorimetría diferencial de barrido de las NFS



**Figura 27.** Gráfica TGA/DSC del producto de molienda *RS-Bac:DL-MA*

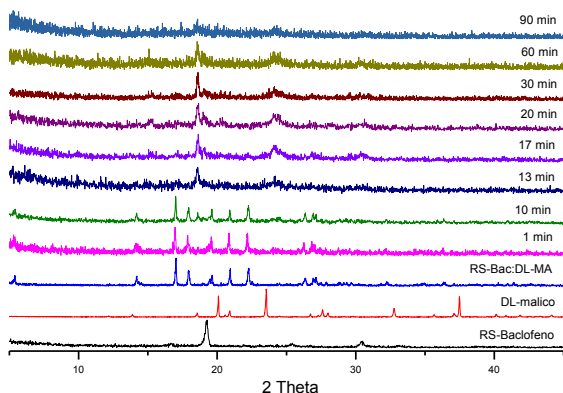
Las gráficas TGA/DSC de la fase *R-Bac:L-MA/S-Bac:D-MA* se muestran en la Figura 26; el DSC indica 3 eventos térmicos, el primero a 118°C asociado al punto de fusión del producto, el segundo a 201°C correspondiendo a la evaporación del producto de molienda; en cuanto al 3er evento a 254°C podría deberse a descomposición. Estos datos indican que el punto de fusión de estas fases es más bajo que el de los componentes que se usaron para reacción (*RS-Bac* 211°C; *DL-MA* 130°C).

### 8.3 CARACTERIZACIÓN BIOFARMACÉUTICA

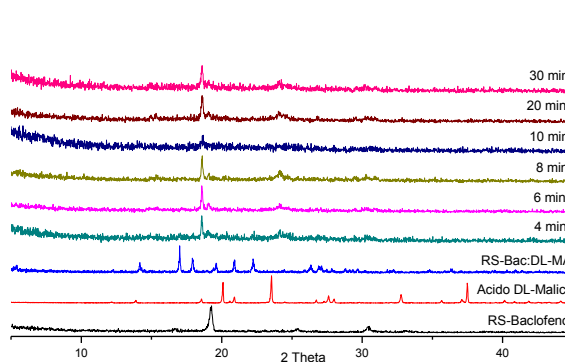
Una vez caracterizadas las fases *R*-Bac:*L*-MA y *RS*-Bac:*DL*-MA, se procedió a realizar pruebas biofarmacéuticas para poder determinar características como la velocidad de disolución intrínseca y la estabilidad de fase, y así, evaluar si existe una ventaja sobre el *RS*-baclofeno puro. Por cuestiones económicas se decidió realizar estas pruebas con la mezcla de fases enantioméricas *R*-Bac:*L*-MA/*S*-Bac:*D*-MA debido a su equivalencia en propiedades químicas con la fase *R*-Bac:*L*-MA.

#### 8.3.1 Estudios de estabilidad de fase

En la Figura 27 se observan los patrones de difracción de polvos de la prueba de estabilidad de la sal *RS*-Bac:*DL*-MA, en la cual se empleó un buffer de fosfatos pH 4.5 a 37°C en agitación. Se tomaron muestras en el rango del minuto 1 al 90; los patrones de DRXP indican que la fase salina se mantuvo estable dentro de los primeros 10 minutos, pero a partir del minuto 13 regresó a las fases de las materias primas.



**Figura 28.** Patrones de difracción de polvos de la prueba de estabilidad de fase (buffer de fosfatos a pH 4.5) de la mezcla de fases *RS*-BAC:*DL*-MA.



**Figura 29.** Patrones de difracción de polvos de la prueba de estabilidad de fase (HCl a pH 1.2) de la mezcla de fases *RS*-BAC:*DL*-MA.

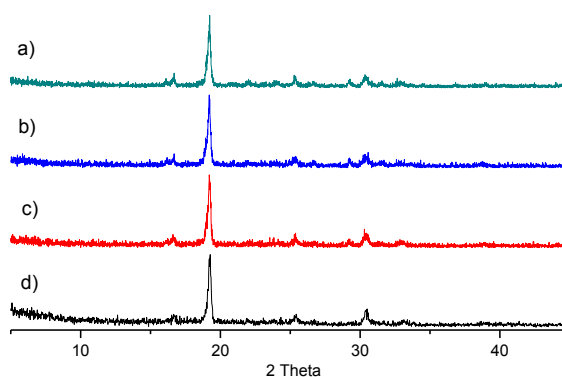
Los resultados para la sal *RS*-Bac:*DL*-MA en solución de HCl a 0.1 N (pH 1.2) con agitación se observan en la Fig. 28. Se evidencia a través de DRXP que la sal se disoció en las fases de las materias primas tras 4 minutos de exposición a dicho medio acuoso.

La circunstancia que la sal de baclofeno con ácido málico se descompone en presencia de medios acuosos puede atribuirse al hecho de la alta solubilidad del ácido *L*-málico en agua (558 g/L). Esta alta solubilidad propicia y el pH ácido del medio inducen la liberación del ácido a la fase líquida.

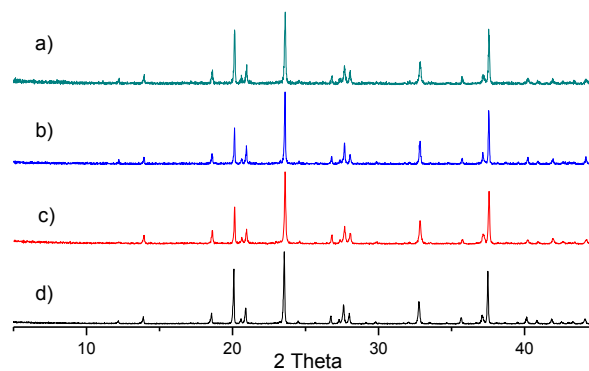
### 8.3.2 Estabilidad indicativa bajo diferentes condiciones de almacenamiento

La norma NOM-073-SSA1-2005 establece el tipo de estudios, periodos y condiciones en que se debe evaluar la estabilidad de un IFA. Se evaluó la estabilidad de fase bajo estas condiciones para la sal *RS-Bac:DL-MA* por el periodo de 1 mes para establecer si la fase salina se conservaba.

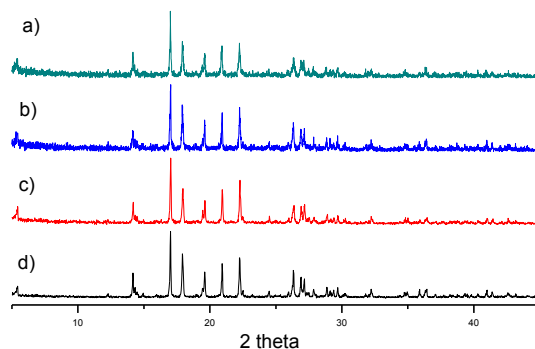
En las Figuras 29, 30 y 31 se muestran los resultados de las pruebas de estabilidad indicativa de las materias primas y la sal *RS-Bac:DL-MA* que fueron evaluadas bajo las siguientes condiciones: calor seco a 40 °C, calor seco a 50 °C y calor 40 °C con humedad relativa del 75%.



**Figura 30.** Prueba de estabilidad indicativa del ácido *RS-baclofeno* a diferentes condiciones; a) baclofeno, b) calor seco a 50°C y c) calor seco a 40°C y d) calor con humedad relativa de 75% a 40°C.



**Figura 31.** Prueba de estabilidad indicativa del ácido *DL-málico* a diferentes condiciones; a) calor seco a 50°C, b) calor con humedad relativa de 75% a 40°C, c) calor seco a 40°C y d) Ácido *DL-málico*.



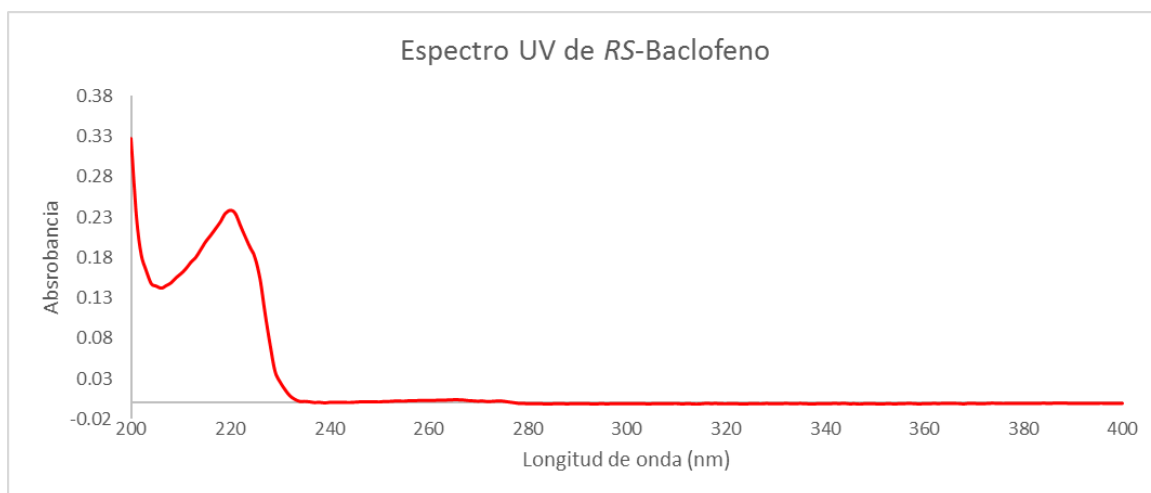
**Figura 32.** Prueba de estabilidad indicativa de la sal *RS-Bac:DL-MA* a diferentes condiciones; a) calor con humedad relativa de 75% a 40°C, b) calor seco a 50°C, c) calor seco a 40°C y d) sal *RS-Bac:DL-MA*.

De acuerdo a la comparación de los patrones de DRX de polvos de las materias primas y la sal *RS-Bac:DL-MA* se concluye que todas las fases examinadas fueron estables

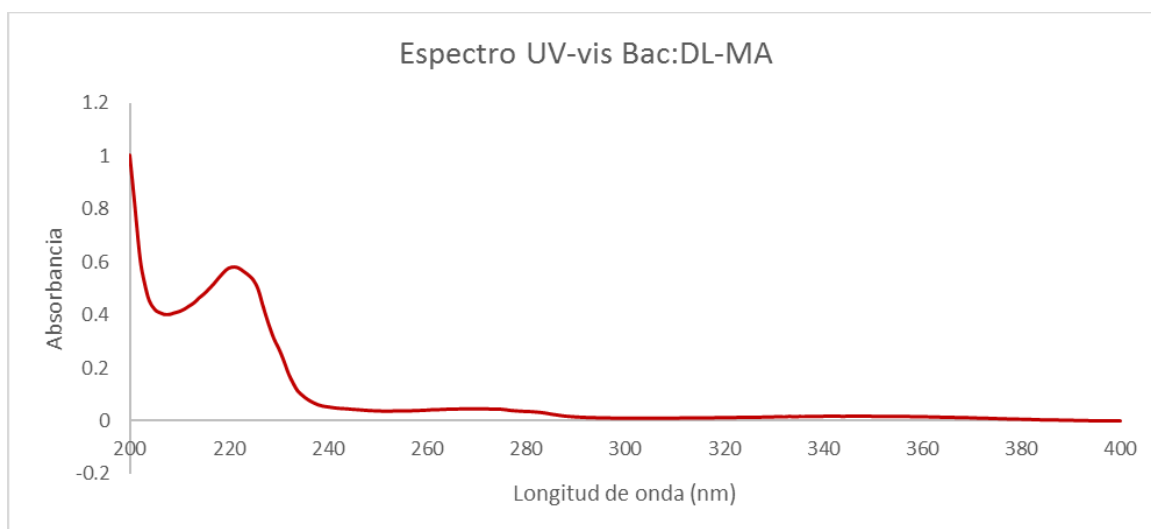
bajo estas condiciones por un periodo de 30 días. El aspecto físico de los compuestos no mostró cambios en el color, la textura ni el olor.

### 8.3.3 Método cuantitativo de baclofeno

Las Fig. 32 y 33 muestran los espectros de UV-visible del *RS*-baclofeno y la sal *RS*-Bac:*DL*-MA. Dichos espectros coinciden, esto evidencia que la presencia del ácido málico no genera interferencia de absorción al cuantificar el baclofeno. Se selecciono la longitud de onda 220 nm al ser un pico relevante en el espectro del baclofeno.



**Figura 33.** Espectro UV-visible *RS*-baclofeno.



**Figura 34.** Espectro UV-visible de la sal *RS*-Bac:*DL*-MA.

Con base a la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013 [27], indica los criterios y requisitos que debe cumplir una curva de calibración para el análisis del IFA, la curva de cuantificación realizada cumple con los parámetros de linealidad.

**Tabla 10.** Valores cuantitativos de baclofeno

Concentración (mg/mL)	Absorbancias		
	Curva 1	Curva 2	Promedio
0.0052	0.2388	0.2370	0.2379 ± 0.0013
0.0078	0.3488	0.3543	0.3515 ± 0.0039
0.0104	0.4581	0.4631	0.4606 ± 0.0035
0.0208	0.9300	0.9309	0.9304 ± 0.0006
0.078	2.57871	2.56245	2.5706 ± 0.0115
Pendiente (m)		31.642	
Intercepto (b)		0.1375	
$R^2$		0.9936	

#### 8.3.4 Determinación del perfil de disolución

La velocidad de disolución intrínseca se evaluó para saber si existe una modificación en la velocidad de disolución de la fase salina en comparación con el fármaco *RS*-baclofeno bajo condiciones establecidas. La prueba de velocidad de disolución intrínseca se hizo de forma comparativa entre la sal *RS*-Bac:*DL*-MA y el *RS*-baclofeno. Esta prueba se realizó de acuerdo con la USP (por sus siglas en inglés) en una solución de HCl 0.1 N a 37 °C, tomándose alícuotas en los siguientes tiempos: 3, 6, 9, 12, 15, 18 minutos.

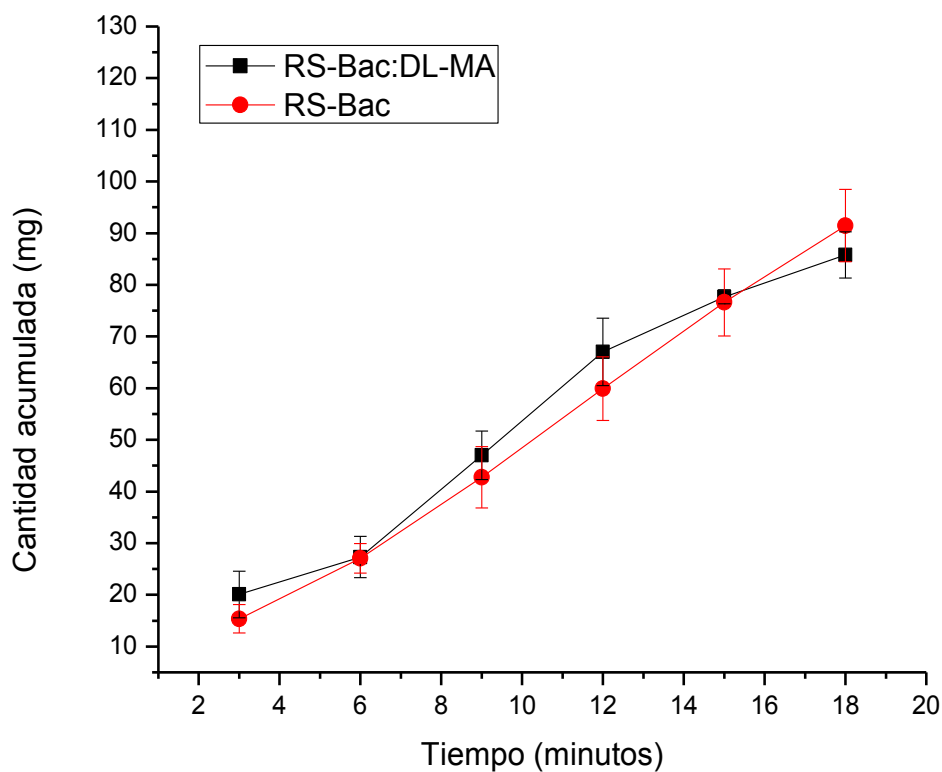
En la Figura 34 se puede ver de forma comparativa la curva de la velocidad de disolución de la sal *RS*-Bac:*DL*-MA y el *RS*-baclofeno; y los datos de la velocidad de disolución obtenidos para *RS*-baclofeno y la sal *RS*-Bac:*DL*-MA en el medio de disolución evaluado se muestran en la Tabla 11.

Se observa en la Fig. 34 que la velocidad de disolución del *RS*-baclofeno mantuvo un comportamiento lineal durante el tiempo evaluado. No obstante, la velocidad de la sal *RS*-Bac:*DL*-MA muestra un comportamiento no lineal, lo que con base en los estudios de estabilidad de fase se atribuye a la descomposición de la fase. Al comparar constante de VDI del *RS*-baclofeno y la sal obtenida en el presente trabajo con sus respectivas constantes de VDI, la sal exhibe una VDI estadísticamente igual al de *RS*-baclofeno (Tabla 11). Para demostrar que son estadísticamente iguales se realizó un análisis de prueba *t* para dos muestras suponiendo varianzas iguales; como hipótesis nula se tiene que la

varianza de la  $k_d$  del *RS*-baclofeno es igual a la  $k_d$  de la sal del *RS*-Bac:*DL*-MA, y como hipótesis alterna que las varianzas de  $k_d$  del *RS*-baclofeno y la sal *RS*-Bac:*DL*-MA es diferente. En la tabla 12 se evidencian los resultados estadísticos aceptando la hipótesis nula.

**Tabla 11.** Perfil de disolución de *RS*-Bac:*DL*-MA en diferentes medios de disolución.

Compuesto	$k_d$ mg min <sup>-1</sup> cm <sup>-2</sup>
<i>RS</i> -baclofeno	10.2 ± 4.9
<i>RS</i> -Bac: <i>DL</i> -MA	9.81 ± 2.7



**Figura 35.** Cantidad acumulada de baclofeno en el experimento de velocidad de disolución en solución HCl a 0.1N utilizando el aparato de Wood.

**Tabla 12.** Prueba *t* para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	<i>K<sub>d</sub></i> del RS- baclofeno	<i>K<sub>d</sub></i> de la sal RS- Bac:DL-MA
Media	10.223	9.81
Varianza	0.719	0.144
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0.432	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico <i>t</i>	0.771	
P(T<=t) una cola	0.242	
Valor crítico de <i>t</i> (una cola)	2.132	
P(T<=t) dos colas	0.484	
Valor crítico de <i>t</i> (dos colas)	2.776	

### 8.3.5 Coeficiente de partición

Con el fin de conocer las modificaciones biofarmacéuticas del parámetro de lipofilicidad, este trabajo determinó el coeficiente de partición de la sal RS-Bac:DL-MA en comparación con RS-Bac. La prueba se realizó en una muestra octanol/agua (50:50), donde la fase acuosa consistió en una solución HCl 0.1 N. Los valores del coeficiente de partición aparente y el log *P* del RS-baclofeno y la sal RS-Bac:DL-MA están indicados en la Tabla 11. Para el RS-baclofeno se encontró un valor de log *P* 0.7091 que es cercano a lo reportado en la literatura [84].

El coeficiente de partición de la sal RS-Bac:DL-MA a pH 1.2 con un valor de 0.9103 es mayor al del RS-baclofeno, indicando que en la fase multicomponente RS-Bac:DL-MA la lipofilicidad del fármaco aumenta. Se puede deducir que al aumentar la lipofilicidad de la sal tendrá un impacto positivo sobre la biodisponibilidad, esto ya que será favorecido para atravesar barreras membranales por transporte pasivo.

**Tabla 13.** Coeficiente de partición Octanol/Agua. La fase acuosa fue HCl 0.1 N (pH ~1.2) y la fase orgánica *n*-octanol.

Concentración (mg/mL)	RS-baclofeno	RS-Bac:DL-MA
HCl 0.1 N	0.1634 ± 0.02	0.1094 ± 0.003
OcOH	0.8366 ± 0.02	0.8905 ± 0.003
Coeficiente de partición aparente ( <i>P</i> )	5.1181 ± 0.9	8.1347 ± 0.16
log <i>P</i>	0.7091 ± 0.06	0.9103 ± 0.005



## 9 CONCLUSIÓN

La metodología utilizada (molienda asistida por metanol) para obtener una nueva fase cristalina de *R*-baclofeno fue exitosa al obtener una sal multicomponente de la composición *R*-Bac:*L*-MA. Esta fase fue aislada en pequeñas cantidades por cristalización fraccionada de una solución de *RS*-Bac con *L*-MA en una mezcla de disolventes entre acetato de etilo y agua. La misma fase está presente también en el producto que se obtuvo de la molienda entre *RS*-Bac y el ácido *DL*-málico junto con su fase enantiomérica *S*-Bac:*D*-MA.

En cuanto a las propiedades biofarmacéuticas, no se observó un cambio significativo de la velocidad de disolución de la sal *RS*-Bac:*DL*-MA con respecto a *RS*-baclofeno. Se observó también la modificación del coeficiente de partición que indica el aumento de la lipofilidad de la sal, la cual podría impactar en una mejora de biodisponibilidad del fármaco.

## 10 PERSPECTIVAS

- ✓ Desarrollar una estrategia para aislar la sal diastereoisomérica estudiada en esta tesis (*R*-Bac:*L*-MA) en mayor cantidad.
- ✓ Generar una metodología para aislar la segunda sal diastereoisomérica *S*-Bac:*D*-MA para evaluar y comparar su velocidad de disolución con la fase estudiada en esta tesis.
- ✓ Con el fin aumentar la lipofilidad del baclofeno, generar de forma similar fases sólidas multicomponente con un formador de sal quirál más hidrofóbico.
- ✓ Estudiar más a fondo los cambios de la permeación al formar una sal con *R*-Bac, empleando por ejemplo ensayos de permeabilidad en membrana artificial (PAMPA).
- ✓ Desarrollar nuevas formulaciones con solo *R*-Bac, aprovechando las ventajas de las nuevas fases.

## 11 BIBLIOGRAFÍA

- [1] A. L. Albright, "Baclofen in the Treatment of Cerebral Palsy," *J. Child Neurol.*, vol. 11, no. 2, pp. 77–83, 1996.
- [2] G. A. R. JOHNSTON, M. H. HAILSTONE, and C. G. FREEMAN, "Baclofen: stereoselective inhibition of excitant amino acid release," *J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 32, no. 1, pp. 230–231, 1980.
- [3] "CLASIFICACIÓN DE ANSIOLÍTICOS/SEDANTES/HIPNÓTICOS: Baclofeno." [Online]. Available: <http://www.psicofarmacos.info/?contenido=ansioliticos&farma=baclofeno>. [Accessed: 11-Dec-2017].
- [4] S. Sriksnda, K. C. Cuni, and M. Leung, "Sustained release particulate oral dosage forms of R-Baclofen and methods of treatment," US 2009/0197958 A1, 2009.
- [5] R. N. Brogden, T. M. Speight, and G. S. Avery, "Baclofen: A Preliminary Report of its Pharmacological Properties and Therapeutic Efficacy in Spasticity," *Int. J. Exp. Clin. Chemother.*, vol. 14, pp. 1–14, 1974.
- [6] "Baclofen - DB00181." [Online]. Available: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00181>. [Accessed: 16-Nov-2017].
- [7] S. Ahuja, "Baclofen," in *Analytical Profiles of Drug Substances*, vol. 14, American Pharmaceutical Association, 1985, pp. 528–549.
- [8] H. Zhang, M. Schmidt, D. J. Murry, and M. D. Donovan, "Permeation and Systemic Absorption of R- and S-baclofen Across the Nasal Mucosa," vol. 100, no. 7, pp. 2717–2723, 2011.
- [9] J. D. Petty, J. N. Huckins, and A. David, "Oral pharmaceutical formulation of BCS class III molecules," vol. 1, no. 19, 2002.
- [10] N. B. Báthori and O. E. Y. Kilinkissa, "Are gamma amino acids promising tools of crystal engineering? – Multicomponent crystals of baclofen," *CrystEngComm*, vol. 17, pp. 8264–8272, 2015.
- [11] M. Zaworotko *et al.*, "Nutraceutical co-crystal composition," WO2008153945A2, 2008.
- [12] M. Veverka *et al.*, "Cocrystals of quercetin: Synthesis, characterization, and screening of biological activity," *Monatshefte fur Chemie*, vol. 146, no. 1, pp. 99–109, 2015.
- [13] G. C. Mazzenga and B. Berner, "Transport The transdermal delivery of zwitterionic drugs I : the solubility of zwitterion salts," *J. Control. Release*, vol. 16, pp. 77–88, 1991.

- [14] G. C. Mazzenga, B. Berner, and F. Jordan, "The transdermal delivery of zwitterionic drugs II: the flux of zwitterion salts," *J. Control. Release*, vol. 20, no. 2, pp. 163–170, 1992.
- [15] B. Sarma, J. Chen, H. Hsi, and A. S. Myerson, "Solid forms of pharmaceuticals: Polymorphs, salts and cocrystals," *Korean J. Chem. Eng.*, vol. 28, no. 2, pp. 315–322, 2011.
- [16] K. Thakar, G. Joshi, and K. K. Sawant, "Bioavailability enhancement of baclofen by gastroretentive floating formulation: Statistical optimization, in vitro and in vivo pharmacokinetic studies," *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 39, no. 6, pp. 880–888, 2013.
- [17] C. Leisen, P. Langguth, B. Herbert, C. Dressler, A. Koggel, and H. Spahn-Langguth, "Lipophilicities of Baclofen ester prodrugs correlate with affinities to the ATP-dependent efflux pump P-glycoprotein: Relevance for their permeation across the blood-brain barrier?," *Pharm. Res.*, vol. 20, no. 5, pp. 772–778, 2003.
- [18] E. Ghasemian, A. Vatanara, N. Navidi, and M. R. Rouini, "Brain delivery of baclofen as a hydrophilic drug by nanolipid carriers: Characteristics and pharmacokinetics evaluation," *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 37, p. e7, 2017.
- [19] Shoba Krushnan et al, "Formulation and Evaluation of Orodispersible Tablets of Amlodipine Besylate," *Indian J. Res. Pharm. Biotechnol.*, vol. 1, no. 4, pp. 472–477, 2013.
- [20] H. Abdelkader, O. Y. Abdalla, and H. Salem, "Formulation of controlled-release baclofen matrix tablets: influence of some hydrophilic polymers on the release rate and in vitro evaluation.," *AAPS PharmSciTech*, vol. 8, no. 4, p. E100, 2007.
- [21] S. J. Stephen P. Raillard, Suresh K. Manthathi, "Anhydrous and Hemihydrate crystalline forms of an R-Baclofen prodrug, methods of synthesis and methods of use," US 2015/0313865 A1, 2015.
- [22] R. Lal et al., "Arbaclofen Placarbil, a Novel R-Baclofen Prodrug: Improved Absorption, Distribution, Metabolism, and Elimination Properties Compared with R-Baclofen," *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 330, no. 3, pp. 911–921, 2009.
- [23] B. S. Sekhon, "Exploiting the Power of Stereochemistry in Drugs: An Overview of Racemic and Enantiopure Drugs," *J. Mod. Med. Chem.*, vol. 1, pp. 10–36, 2013.
- [24] M. Nadav Navon, Julia Shvetz, Eytan Moor, David Kirmayer, Elena Kluev, Shuher Masri, Giora Carni, Zeev Weiss, "Baclofen and R-Baclofen gastroretentive drug delivery systems," US20110091542 A1, 2011.

- [25] J. McMurry, *Química orgánica*, 7a ed. Mexico, 1998.
- [26] C. A. de I. de Medicamentos, "Medicamentos esteroisómeros: el cuento del cambio quiral," *El Boletín Ter. Andaluz*, vol. 24, no. 5, pp. 17–20, 2008.
- [27] G. Sumithira and M. Sujatha, "Drug chirality & its clinical significance evident, future for the development/separation of single enantiomer drug from racemates- The chiral switch .," *Int. J. Adv. Pharm. Genuin. Res.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–19, 2013.
- [28] A. G. Mitchell, "Racemic drugs: racemic mixture, racemic compound, or pseudoracemate?," *J. Pharm. Pharm. Sci. a Publ. Can. Soc. Pharm. Sci. Société Can. des Sci. Pharm.*, vol. 1, no. 1, pp. 8–12, 1998.
- [29] D. Cairns, *Essentials of Pharmaceutical Chemistry*, 3rd ed. London: Pharmaceutical Press, 2000.
- [30] D. Kozma, *Handbook of Optical Resolutions via diastereomeric salt formation*, 1a ed. Boca Raton: CRC Press, 2002.
- [31] E. Tovar-Gudiño, R. Morales-Nava, and M. Fernández-Zertuche, "Diastereoselective conjugate addition of diethylaluminum cyanide to a conjugated N -enoyl system: an alternative synthesis of ( S )-pregabalin," *Can. J. Chem.*, vol. 92, no. 1, pp. 45–48, 2014.
- [32] O. Coskun, "Separation techniques: Chromatography," *North Clin Istanbul*, vol. 3, no. 2, pp. 156–160, 2016.
- [33] J.-H. J. W. Wong, "Method for preparing chiral Baclofen," US20120029230, 2012.
- [34] M. R. Caira, R. Clauss, L. R. Nassimbeni, L. Scott, and A. F. Wildervanck, "Optical resolution of baclofen via diastereomeric salt pair formation between 3-(p-chlorophenyl) glutaramic acid and (S)-(a) phenylethylamine," *J. Chem. Soc.*, vol. 2, pp. 763–768, 1997.
- [35] C. Vaccher, P. Berthelot, and M. Debaert, "Direct separation of 4-amino-3-(4-chlorophenyl) butyric acid and analogues, GABAB ligands, using a chiral crown ether stationary phase," *J. Chromatogr. A*, vol. 645, no. 1, pp. 95–99, 1993.
- [36] Z. Zhu and L. Neirinck, "Chiral separation and determination of R(-)- and S(+)-baclofen in human plasma by high-performance liquid chromatography," *J. Chromatogr. B-Analytical Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 785, no. 2, pp. 277–283, 2003.
- [37] K. Shimada and K. Mttamura, "Separation of the Diastereomers of Baclofen by High Performance Liquid Chromatography Using Cyclodextrin as A Mobile Phase

- Additive," *J. Liq. Chromatogr.*, vol. 16, no. 15, pp. 3311–3320, 1993.
- [38] E. Liquid and C. Separation, "Extreme Liquid Chromatographic Separation Effects in the Case of Diastereomeric Amides Containing Polar Substituents," *Angew. Chemie Int.*, vol. 18, no. 1, pp. 62–63, 1979.
- [39] Sigma-Aldrich, "Chiral column." [Online]. Available: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=chiral+column&interface=All&N=0&mode=match+partialmax&lang=es&region=MX&focus=product>. [Accessed: 18-Dec-2017].
- [40] W. H. Porter, "Resolution of chiral drugs," *Pure Appl. Chem*, vol. 63, no. 8, pp. 1119–1122, 1991.
- [41] M. C. Lozano, "Aminoácidos naturales como materiales de partida en la preparación de nuevos reactivos y catalizadores enantioselectivos," Universitat Jaume I de Castellón Departamento.
- [42] P. D. O. Carvalho, F. J. Contesini, and M. Ikegaki, "Enzymatic resolution of (R,S)-ibuprofen and (R,S)-ketoprofen by microbial lipases from native and commercial sources," *Brazilian J. Microbiol.*, vol. 37, no. 3, pp. 329–337, 2006.
- [43] P. Flores-Sánchez, J. Escalante, and E. Castillo, "Enzymatic resolution of N-protected- $\beta$ -amino methyl esters, using lipase B from *Candida antarctica*," *Tetrahedron Asymmetry*, vol. 16, no. 3, pp. 629–634, 2005.
- [44] S. L. Morissette *et al.*, "High-throughput crystallization: Polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 56, no. 3, pp. 275–300, 2004.
- [45] W. C. M. Glenn, "Method of administering R-Baclofen in an extended release dosage form," WO2016132218A1, 2016.
- [46] R. Bhushan and S. Dixit, "Microwave-assisted synthesis and reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of diastereomers of (R, S) Baclofen using ten chiral derivatizing reagents designed from trichloro-s-triazine," *J. Chromatogr. A*, vol. 1217, no. 41, pp. 6382–6387, 2010.
- [47] R. P. Weatherby, R. D. Allan, and G. A. R. Johnston, "Resolution of the stereoisomers of baclofen by high performance liquid chromatography," *J. Neurosci. Methods*, vol. 10, no. 1984, pp. 23–28, 2006.
- [48] F. W. Alexander and C. M. Rodolfo, "A process for the optical resolution of 3-(p-chlorophenyl)-glutaramide," WO 9722578, 2001.

- [49] R. L. Wayne Levadux, Denis Groleau, Michael Trani, "Streptomyces microorganism useful for the preparation of R-baclofen from the racemic mixture," US5843765A, 1998.
- [50] T. Brown., E. LeMay, and J. R. Burdge, "Fuerzas intermoleculares, líquidos y sólidos," in *Química- La ciencia central*, 9na ed., Pearson, Ed. Florida: The McGraw-Hill Companies, Inc., 2014, pp. 407–449.
- [51] N. Shan and M. J. Zaworotko, "The role of cocrystals in pharmaceutical science," *Drug Discov. Today*, vol. 13, no. 9–10, pp. 440–446, 2008.
- [52] T. Steiner, "The hydrogen bond in the solid state," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 41, no. 1, pp. 49–76, 2002.
- [53] R. Thakuria, A. Delori, W. Jones, M. P. Lipert, L. Roy, and N. Rodríguez-Hornedo, "Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs," *Int. J. Pharm.*, vol. 453, no. 1, pp. 101–125, 2013.
- [54] D. C. Monkhouse, S. M. Berge, and L. Bighley, "Pharmaceutical Salts," *J. Pharm. Sci.*, vol. 66, no. 1, pp. 1–19, 1977.
- [55] E. Grothe, H. Meekes, E. Vlieg, J. H. ter Horst, and R. de Gelder, "Solvates, salts and cocrystals: a proposal for a feasible classification system.," *Cryst. Growth Des.*, vol. 16, no. 1, p. 3237–3243, 2016.
- [56] N. Schultheiss and A. Newman, "Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties," *Cryst. GROWTH & DESIGN 2009*, vol. 9, no. 6, pp. 2950–2967, 2009.
- [57] G. Springuel, K. Robeyns, B. Norberg, J. Wouters, and T. Leyssens, "Cocrystal formation between chiral compounds: How cocrystals differ from salts," *Cryst. Growth Des.*, vol. 14, no. 8, pp. 3996–4004, 2014.
- [58] C. Saal and A. Becker, "Pharmaceutical salts: A summary on doses of salt formers from the Orange Book," *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 49, no. 4, pp. 614–623, 2013.
- [59] V. Kumar and S. V Malhotra, "Ionic Liquids as Pharmaceutical Salts: A Historical Perspective," in *Ionic Liquid Applications: Pharmaceuticals, Therapeutics, and Biotechnology*, 1st ed., Maryland: American Chemical Society, 2010, pp. 1–12.
- [60] Q. L. Johan, Wouters, *Pharmaceutical Salts and Co-crystals*, 1a ed. London: RSC Publisher, 2011.
- [61] R. Chadha and Y. Bhalla, "Cocrystallization in Nutraceuticals," in *Recrystallization in Materials Processing*, 1a ed., V. Glebovsky, Ed. InTech, 2015, pp. 35–50.

- [62] M. Giulietti and A. Bernardo, "Crystallization by Antisolvent Addition and Cooling," in *Crystallization - Science and Technology*, 1a ed., M. R. B. Andreetta, Ed. Brasil: InTech, 2012, pp. 381–396.
- [63] H. G. Brittain, *Polymorphism in pharmaceutical solids*, 1a ed. New York: Marcel Dekker Inc, 1999.
- [64] A. Serajuddin, M. Pudipeddi, and P. Stahl, *Handbook of pharmaceutical salts. Properties, selection and use*, 1a ed. Zurich: Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002.
- [65] D. A. Skoog and S. R. Crouch, *Principios de análisis instrumental*, 6th ed. D.F.: CENGAGE Learning, 2007.
- [66] UAEM-UNAM, "Difracción de Rayos X de Monocristal." [Online]. Available: [http://www.cciqs.uaemex.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=75&Itemid=77](http://www.cciqs.uaemex.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=75&Itemid=77). [Accessed: 01-Mar-2018].
- [67] UAEM-UNAM, "Difracción de Rayos X de Polvos." [Online]. Available: [http://www.cciqs.uaemex.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=76&Itemid=78](http://www.cciqs.uaemex.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=76&Itemid=78). [Accessed: 01-Mar-2018].
- [68] P. Mura, "Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 113, pp. 226–238, 2015.
- [69] S. de Salud, "NOM-073-SSA1-2005, Estabilidad de fármacos y medicamentos (modifica a la NOM-073-SSA1-1993, Estabilidad de medicamentos, publicada el 3 de agosto de 1996)." [Online]. Available: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/073ssa105.html>. [Accessed: 19-Dec-2017].
- [70] A. V. Trask, W. D. Samuel Motherwell, and W. Jones, "Pharmaceutical cocrystallization: Engineering a remedy for caffeine hydration," *Cryst. Growth Des.*, vol. 5, no. 3, pp. 1013–1021, 2005.
- [71] ICH Expert Working Group, "ICH Guideline Q1A(R2) Stability Testing of New Drug Substances and Products," *International Conference on Harmonization*. ICH, Geneva, pp. 1–24, 2003.
- [72] V. R. Babu, S. H. Areefulla, and V. Mallikarjun, "Solubility and dissolution enhancement: An overview," *J. Pharm. Res.*, vol. 3, no. 1, pp. 141–145, 2010.
- [73] O. Sánchez-Guadarrama *et al.*, "Chiral Resolution of RS-Praziquantel via Diastereomeric Co-Crystal Pair Formation with L-Malic Acid," *Cryst. Growth Des.*, vol. 16, no. 1, pp. 307–314, 2016.

- [74] T. Rager and R. Hilfiker, "Cocrystal formation from solvent mixtures," *Cryst. Growth Des.*, vol. 10, no. 7, pp. 3237–3241, 2010.
- [75] N. Shan, F. Toda, and W. Jones, "Mechanochemistry and co-crystal formation: effect of solvent on reaction kinetics.," *Chem. Commun. (Camb)*., no. 20, pp. 2372–2373, 2002.
- [76] S. de Salud, "Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998," 1998. [Online]. Available: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/177ssa18.html>. [Accessed: 05-Mar-2018].
- [77] Harry G. Brittain, "Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology. Vol 28," in *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, 1st ed., K. Florey, Ed. New Jersey: Academic Press, 2002, p. 177.
- [78] T. Islam, S. Ferdous, P. Jain, and H. M. Reza, "Method Development and Validation of Baclofen Mouth Dissolving Tablets by UV Spectroscopy," *Eur. J. Appl. Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 7–11, 2013.
- [79] *FEUM. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*, 9na ed. 2009.
- [80] W. Maniukiewicz, M. Oracz, and L. Sieroń, "Structural characterization and Hirshfeld surface analysis of racemic baclofen," *J. Mol. Struct.*, vol. 1123, pp. 271–275, 2016.
- [81] J. J. M. C. Chapados, "Infrared spectroscopy of carboxylic acids: Malic acid," *J. Phys. Chem. A*, vol. 106, no. 6452–6461, p. 6452, 2002.
- [82] H. Barańka, J. Kuduk-Jaworska, R. Szostak, and A. Romaniewska, "Vibrational spectra of racemic and enantiomeric malic acids," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 34, no. 1, pp. 68–76, 2003.
- [83] C. Herdeis and H. P. Hubmann, "Synthesis of homochiral R-Baclofen from S-glutamic acid.," *Tetrahedron: Asymmetry*, vol. 3, no. 9, pp. 1213–1221, 1992.
- [84] M. M. Saucedo-Balderas, O. Zuñiga-Lemus, D. Ortegón-Reyna, and J. S. González-González, "Los cocristales farmacéuticos: Conceptos generales," *An. la Real Acad. Nac. Farm.*, vol. 80, no. 2, pp. 265–273, 2014.



## 12 ANEXOS

**Tablas de velocidad de disolución**

min	Absorbancia			concentración mg/mL		
	A	B	C	A	B	C
3	0.9788	1.3053	1.0443	0.0266	0.0369	0.0287
6	1.7569	2.1242	1.9017	0.0512	0.0628	0.0558
9	0.7492	0.6811	0.5988	0.0193	0.0172	0.0146
12	0.9409	0.9343	0.8028	0.0254	0.0252	0.0210
15	1.1303	1.1663	1.0106	0.0314	0.0325	0.0276
18	1.2963	1.3736	1.1985	0.0366	0.0391	0.0335
21	1.4512	1.5335	1.4008	0.0415	0.0441	0.0399
24	1.6381	1.6483	1.5900	0.0474	0.0477	0.0459
27	1.7477	1.6510	1.7373	0.0509	0.0478	0.0506
30	1.8497	1.7328	1.8007	0.0541	0.0504	0.0526

min	Concentración mg/mL			Factor de disolución FD	mg acumulados			promedio Bac	% disuelto Bac
	A	B	C		A	B	C		
3	0.027	0.037	0.029	-	13.29	18.45	14.33	15.36	11.8
6	0.051	0.063	0.056	-	24.47	30.14	26.70	27.10	20.8
9	0.019	0.017	0.015	5	48.48	43.13	36.60	42.74	32.9
12	0.025	0.025	0.021	5	63.76	63.21	52.78	59.92	46.1
15	0.031	0.033	0.028	5	78.82	81.66	69.30	76.60	58.9
18	0.037	0.039	0.034	5	92.02	98.15	84.24	91.47	70.4
21	0.042	0.044	0.040	5	104.34	110.89	100.31	105.18	80.9
24	0.047	0.048	0.046	5	119.18	120.03	115.36	118.19	90.9
27	0.051	0.048	0.051	5	127.93	120.30	127.09	125.11	96.2
30	0.054	0.050	0.053	5	136.04	126.76	132.17	131.66	101.3

mg acumulados								Prom Bac mg acumulados/ min cm <sup>2</sup>
min	A	B	C	promedio Bac	mg acumulados/ min cm <sup>2</sup>	mg acumulados/ min cm <sup>2</sup>	mg acumulados/ min cm <sup>2</sup>	Baclofeno
3	13.29	18.45	14.33	15.36	26.6	36.9	28.7	30.7
6	24.47	30.14	26.70	27.10	48.9	60.3	53.4	54.2
9	48.48	43.13	36.60	42.74	97.0	86.3	73.2	85.5
12	63.76	63.21	52.78	59.92	127.5	126.4	105.6	119.8
15	78.82	81.66	69.30	76.60	157.6	163.3	138.6	153.2
18	92.02	98.15	84.24	91.47	184.0	196.3	168.5	182.9
21	104.34	110.89	100.31	105.18	208.7	221.8	200.6	210.4
24	119.18	120.03	115.36	118.19	238.4	240.1	230.7	236.4
27	127.93	120.30	127.09	125.11	255.9	240.6	254.2	250.2
30	136.04	126.76	132.17	131.66	272.1	253.5	264.3	263.3

### Coefficiente de partición

Longitud de onda	Absorción	Concentración (mg/mL)	Concentración* Factor de Dilución
<i>RS-Baclofeno 1</i>	2.4454	0.0729	0.1823
<i>RS-Baclofeno 2</i>	2.2991	0.0683	0.1708
<i>RS-Baclofeno 3</i>	1.8742	0.0549	0.1372
<i>RS-Bac:DL-MA 1</i>	1.5344	0.0441	0.1104
<i>RS-Bac:DL-MA 2</i>	1.5140	0.0435	0.1088
<i>RS-Bac:DL-MA 3</i>	1.5208	0.0437	0.1093

## 12.1 Asistencia y participación a congresos



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



La Universidad Autónoma del Estado de Morelos a través de la Facultad de Farmacia otorga la presente

# CONSTANCIA

a: *Elva Netzayeeet Córdova Villanueva*

Por su colaboración en la organización de las actividades de la

**Celebración con motivo del Día Mundial del Farmacéutico,**

y como parte de las actividades de logísticas durante el

**4to. Coloquio Internacional: Retos e Innovaciones en la Investigación Farmacéutica y**

**12° Encuentro de Estudiantes de Licenciatura y Posgrado en Farmacia,**

los días del 28 al 30 de Septiembre del 2016.



«Por una Humanidad Culta»

Dr. Efraín Hernández Baltazar  
Director de la Facultad de Farmacia

Cuernavaca, Morelos. México





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS  
A través de la Facultad de Farmacia



Facultad  
de Farmacia  
*Conocimiento al servicio de la salud*

*Hace constar que la:*

## *2.7.8. Elva Netzayeeet Cordova Villanueva*

*Participó en el ciclo de seminarios de la Facultad de Farmacia con la  
ponencia:*

**"Resolución quiral de ingredientes farmacéuticos activos racémicos a partir  
de cocrystalización".**

Cuernavaca, Morelos a 20 de febrero de 2017.

*Dr. Ejién Hernández Baltazar*

Director de la Facultad de Farmacia





Otorgan el presente

# Diploma

a

**Elva Netzayee Cordova Villanueva**

Por haber cumplido con los requisitos del taller:

**Buenas prácticas de  
Laboratorio.**

Impartido al personal del Laboratorio Nacional de  
Estructura de Macromoléculas

Con duración de 3 horas

En las instalaciones del CIQ de la Universidad Autónoma  
del Estado de Morelos

Cuernavaca, Mor. a 13 de septiembre de 2016

**Dra. Ma. Yolanda Ríos Gómez**  
Directora del CIQ

**Ing. Luis Félix González Aguirre**  
Director General AXIF

**Biol. Elísa Coca Aguilar**  
Instructora



La Asociación Farmacéutica Mexicana. A.C.  
otorga la presente

**CONSTANCIA a**  
**ELVA NETTZAYEET**  
**CÓRDOVA VILLANUEVA**

Por su asistencia al



*Congreso Nacional de*  
*Ciencias Farmacéuticas*  
*Tequila Jalisco*  
3 al 7 de Septiembre de 2017  
*"Una vuelta al medicamento de 50 años"*

Q.F.B. Victoria Patricia Ruiseco Nocetti  
Presidencia de la Asociación Farmacéutica Mexicana. A.C.

Dra. Elizabeth Sánchez González  
Dirección de Ciencia y Tecnología



La Asociación Farmacéutica Mexicana. A.C.  
otorga la presente

## CONSTANCIA a

Elva Netzayeeet Córdova Villanueva, Christian Rodríguez Ruiz, Herbert Höpfl Bachner, Dea  
Herrera Ruiz, Hugo Morales Rojas, María Obdulia Sánchez Guadarrama

Por la presentación del trabajo

*Obtención y caracterización de una nueva sal de baclofeno*



IX Congreso Nacional de  
*Ciencias Farmacéuticas*  
*Tequila, Jalisco*  
3 al 7 de Septiembre de 2017  
*"Una vuelta al medicamento de 50 años"*

Q.F.B. Victoria Patricia Ruiseco Nocetti  
Presidencia de la Asociación Farmacéutica Mexicana. A.C.

Dra. Elizabeth Sánchez González  
Dirección de Ciencia y Tecnología



## El Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C.

y la Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Otorgan la presente

### CONSTANCIA

a: QFB. Elva Netzayeeet Córdova-Villanueva, Dr. Herbert Höpfl, Dra. Dea Herrera-Ruiz, Dr. Hugo Morales-Rojas,  
Dra. María Obdulia Sánchez-Guadarrama, M.F. Christian Rodríguez-Ruiz.

Por su participación como PONENTES del trabajo titulado: « PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y  
EVALUACIÓN BIOFARMACÉUTICA DE NUEVAS FASES SÓLIDAS DEL INGREDIENTE FARMACÉUTICO ACTIVO  
BACLOFENO », en el XXVI Congreso Nacional de Educación Química Farmacéutica Biológica y XXII Reunión  
Nacional de Estudiantes de Farmacia.

Cuernavaca, Morelos, a 07, 08 y 09 de febrero de 2018.

DESS Rodolfo Cruz Rodriguez  
Presidente del Colegio Nacional de  
Químicos Farmacéuticos Biólogos  
México, A.C.

M. en C. Kenneth Rubio Carrasco  
Presidenta de la Comisión de Reunión  
Nacional de Estudiantes de Farmacia del  
CNOQFBM, A.C.

Dra. María Estela Meléndez Camargo  
Presidenta de la Comisión de Educación  
del CNOQFBM, A.C.

Dr. Efrén Hernández Baltazar  
Director de la Facultad de Farmacia de la  
Universidad Autónoma del Estado de Morelos



## El Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C.

y la Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Otorgan la presente

### CONSTANCIA

a: QFB Elva Netzayeeet Córdova Villanueva

Por su participación como ASISTENTE en el:  
"XXVI Congreso Nacional de Educación Química Farmacéutica Biológica  
y XXII Reunión Nacional de Estudiantes de Farmacia".

Duración: 23 horas.

Cuernavaca, Morelos, a 07, 08 y 09 de febrero de 2018.

DESS Rodolfo Cruz Rodriguez  
Presidente del Colegio Nacional de  
Químicos Farmacéuticos Biólogos  
México, A.C.

M. en C. Kenneth Rubio Carrasco  
Presidenta de la Comisión de Reunión  
Nacional de Estudiantes de Farmacia del  
CNOQFBM, A.C.

Dra. María Estela Meléndez Camargo  
Presidenta de la Comisión de Educación  
del CNOQFBM, A.C.

Dr. Efrén Hernández Baltazar  
Director de la Facultad de Farmacia de la  
Universidad Autónoma del Estado de Morelos