



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

**EFFECTO DE POLÍMEROS HIDROFÍLICOS EN LOS
PERFILES DE DISOLUCIÓN DE UN SISTEMA
COCRISTALINO DE PRAZIQUANTEL CON ÁCIDO L-
MÁLICO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN FARMACIA

PRESENTA:

QFB. ERIKA SÁNCHEZ LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. HERBERT HÖPFL

CUERNAVACA, MORELOS

MAYO 2018



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

Consejo Interno de Posgrado

MAESTRÍA EN FARMACIA

Fecha: 11 de abril de 2018

Asunto: jurado

Medio de notificación: Impresa/personal

Folio: FF/D/SAc/CIP/MF/072/2018

Q.F.B. ERIKA SÁNCHEZ LÓPEZ
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN FARMACIA
P R E S E N T E

Por este medio le informo que, con base en la propuesta hecha en su solicitud, el Consejo Interno de Posgrado le asigno el siguiente jurado para evaluar la tesis "Efecto de polímeros hidrofílicos en los perfiles de disolución de un sistema cocrystalino de Praziquantel con ácido L-Málico".

Quedando integrado su comité de la siguiente manera:

PRESIDENTE: Dra. Dea Herrera Ruiz
SECRETARIO: Dr. Sergio Alcalá Alcalá
VOCAL 1: Dr. Víctor Barba López
VOCAL 2: Dr. Jesús Rivera Islas
VOCAL 3: Dr. Hugo Morales Rojas

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
Una universidad de excelencia

Dr. Julio César Rivera Leyva.
Jefatura de Posgrado



ccp: archivo
mitv

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209, 1er. Piso Torre de Rectoría,
Tel. (777) 329 701 1, 329 70, 00, Ext. 3582 / administracion@uaem.mx

**UA
EM**

RECTORÍA
2017-2025

Una universidad de excelencia

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT por el financiamiento otorgado para la realización de este trabajo por medio de los proyectos INF-2015-251898 y CB-2013-01-221455, así también por la beca de Maestría con número 431633. El desarrollo del presente trabajo se realizó en los laboratorios 2 de la Facultad de Farmacia (FF) y 227 del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ, IICBA) en colaboración con los miembros del Grupo Multidisciplinario de Investigación Química del Estado Sólido, Química Supramolecular y Biofarmacia (CIQ-FF), pertenecientes a la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A Dios por darme la fortaleza y salud necesarias para culminar con esta importante etapa de mi vida.

A mi director de tesis el Dr. Herbert Höpfl, por abrirme las puertas de su laboratorio, por su apoyo y su confianza en mí para poder desarrollar este trabajo de investigación, es una persona a la cual admiro por su gran interés en crear trabajos de calidad.

A la Dra. Dea y al Dr. Efrén Hernández integrantes de mi comité tutorial por su aportación de ideas y críticas constructivas que permitieron enriquecer el proyecto y por ende mi conocimiento.

A mi jurado revisor: Dra. Dea Herrera, Dr. Sergio Alcalá, Dr. Víctor Barba, Dr. Jesús Rivera y al Dr. Hugo Morales personas a las cuales admiro y respeto, gracias por tomarse el tiempo de leer este escrito y hacer las observaciones pertinentes para obtener de él la mejor presentación.

Al personal académico y administrativo del Centro de Investigaciones Químicas y de la Facultad de Farmacia (Irais) sin ustedes este proyecto no se hubiese concluido.

A Melchor por su amistad desde la carrera en QFB además de haberme compartido la convocatoria de la Maestría, sin tu aviso no hubiese sabido de este Posgrado. A Vero y Rebe por su ayuda y buena voluntad durante los primeros días a mi llegada en Cuernavaca.

A Netzy mi “labmate” por su grata compañía durante mi estadía en la Maestría, “chula” te agradezco por tantas risas compartidas que me ayudaron a aligerar la carga de trabajo, sabes que cuentas conmigo para lo que sea.

A Pedro Mederos por brindarme su gran amistad que se fortaleció en estos dos años de la Maestría pues estuviste conmigo en las buenas y en las no tan buenas, gracias por tu ayuda para realizar mis trámites de titulación. Te aprecio mucho amigo.

A Katinka porque, aunque fue poco el tiempo que compartimos viviendo juntas te llegué a estimar bastante pues estuviste en momentos difíciles, y nunca dudaste en darme algún consejo para que yo me sintiera mejor. Gracias por tan bonita y sincera amistad.

A mis grandes amigos de Maestría que hicieron que mi estadía en Cuernavaca fuera más amena y divertida Yazmín, Susy, Fanny, Yoab, Jocelyn, Katiah, Leo y Laurita del laboratorio 12.

A Reynaldo y Christian por sus consejos para el desarrollo de este proyecto, así como también a todos mis compañeros del Lab. 2 de la Facultad de Farmacia: Maggie, Osvaldo, Pablo, Lupita Badillo y Luz. A mis compañeros del CIQ Eva, María, Irán, Fabiola y Obdulia.

A mis amigas de siempre y para siempre Lupita Ortíz, Marichu, Angelitos y Deyci que siempre estuvieron al pendiente de mi avance en esta etapa de mi vida y nunca dudaron de mi capacidad para realizar este proyecto.

A ti José Guadalupe, porque tu presencia en mi vida fue lo mejor que me pudo pasar en la Maestría, sólo tú sabes lo que pase para poder llegar a esto. Gracias por siempre estar disponible para mí, tu actitud siempre tan positiva cuando yo más lo necesité, te agradezco también por resolver mis miles dudas, tanto profesionales como personales. ¡Te amo!

A toda mi familia (papás, hermanas, sobrinos, cuñados) pues ustedes son el motor para poder sacar adelante este y cualquier proyecto que me proponga. Con tenerlos a ustedes en mi vida estoy más que bendecida.

DEDICATORIAS

A mis padres Juan Sánchez y Teresita López, no hay palabras que describan el inmenso agradecimiento, respeto y amor que les tengo, por ustedes soy lo que soy y el tenerlos siempre en mi mente me motivan a ser mejor persona cada día y nunca rendirme. ¡Los amo!

A mis hermanas Eliza, Maricela, Delia, Anabel, Silvia Diana, Pita y Norma pues cada una de ustedes contribuyo en gran medida la culminación de esta meta, esto no es sólo un logro mío es de todas ustedes.

A mi abuelita Rosa Maciel, pues su pérdida estando en Cuernavaca fue uno de los momentos más difíciles estando lejos de casa. ¡La extraño abue!

A mi novio José Guadalupe pieza fundamental en el desarrollo de esta tesis, así como en mi desarrollo profesional, gracias mi amor por ayudarme a creer en mí, sin ti simplemente no hubiese podido terminar con este proyecto.

RESUMEN

La esquistosomiasis es una de las enfermedades parasitarias más importantes en el mundo debido a su gran impacto, pues cerca de 200,000 personas al año mueren a causa de ella. Praziquantel (*RS-PZQ*) es el ingrediente farmacéutico activo (IFA) de elección para el tratamiento de esta enfermedad; sin embargo, presenta baja solubilidad acuosa (0.4 mg/mL) comprometiendo su eficacia terapéutica. Además, es comercializado como racemato, aun cuando se ha demostrado que es solo el enantiómero "*R*" con actividad antiparasitaria, por lo que se administra en altas dosis (600 mg). Estudios previos realizados dentro del grupo de investigación permitieron la resolución quiral de *RS-PZQ* mediante la formación de cocristales diastereoméricos con ácido *L*-Málico obteniendo *R-PZQ* hemihidratado. Asimismo, al evaluar la velocidad de disolución intrínseca (VDI) se observó una mejora en la solubilidad y disolución de *PZQ* proveniente del cocrystal *R-PZQ:L-Mál* con respecto a *RS-PZQ* y al hemihidrato de *R-PZQ*. Sin embargo el estado sobresaturado que se genera a partir del cocrystal *R-PZQ:L-Mál* se ve comprometido a los primeros minutos de la prueba de disolución de polvos en medio acuoso (HCl, pH 1.2), dada la precipitación *R-PZQ* que en consecuencia afectará la absorción del IFA. Por tal motivo, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de polímeros inhibidores de la precipitación (PIP) sobre los perfiles de disolución del cocrystal *R-PZQ:L-Mál* (estequiometría 1:1) tanto en condiciones saturadas (disolución de polvos) como no saturadas (aparato I USP) con la finalidad de observar si se puede generar un aumento en la concentración disuelta de *PZQ* proveniente del cocrystal *R-PZQ:L-Mál*. Para fines de comparación se incluyeron en estos estudios el *RS-PZQ* y el hemihidrato de *R-PZQ*. Se observó por medio de la técnica de disolución de polvos en condiciones saturadas que metilcelulosa (MC) e hidroxipropilcelulosa (HPC) predisueltos al 0.5 % peso/volumen ejercen un efecto positivo al aumentar y prolongar la sobresaturación generada por el cocrystal (1.9 y 1.5 veces más para MC y HPC, respetivamente, en comparación con *R-PZQ* sin polímero). Las pruebas de disolución en condiciones no saturadas, mostraron que los cocristales diastereoméricos *RS-PZQ:L-Mál* y el cocrystal *R-PZQ:L-Mál* aumentan significativamente la concentración disuelta de *PZQ* con respecto a los fármacos puros; sin embargo, al adicionar los polímeros, estos no ejercieron un efecto sobre los perfiles de disolución de dichos cocristales, pero sí sobre las fases de los fármacos puros. Se encontró que al formular el hemihidrato de *R-PZQ* con HPC por molienda mecánica en un molino de perlas (10 min, 10 Hz) a una proporción de 1:0.3 peso/peso (fármaco:polímero) hay un aumento significativo en la concentración de *R-PZQ* que excede al efecto observado a partir del cocrystal (16 veces mayor con respecto a *RS-PZQ*). Asimismo, la formulación por molienda del hemihidrato de *R-PZQ* con HPC 0.3 p/p exhibió un perfil de disolución muy parecido al obtenido por la formulación comercial de *RS-PZQ* (CITICID®), lo que sugiere desarrollar una formulación sólida basada en este componente para reducir la dosis comercial y con esto disminuir los efectos adversos asociados a *RS-PZQ*.

ABSTRACT

Schistosomiasis is one of the most important parasitic diseases in the world, since almost 200,000 people die from it. Praziquantel (*RS*-PZQ) is the active pharmaceutical ingredient (API) of choice for treatment of this disease; however, it has low aqueous solubility (0.4 mg/mL) that compromises the therapeutic efficacy. In addition, it is marketed as the racemate, even though it has been shown that only the "*R*" enantiomer has antiparasitic activity (eutomer); because of this, PZQ must be administered in high doses (600 mg). Previous studies of our research group enabled the chiral resolution of *RS*-PZQ through the formation of diastereomeric cocrystals with *L*-Malic acid to give *R*-PZQ hemihydrate. Evaluation of the intrinsic dissolution rate (IDR) showed an improvement for cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mal with respect to *RS*-PZQ and the hemihydrate of *R*-PZQ. However, the supersaturation state generated from co-crystal *R*-PZQ:*L*-Mal is lost already in the initial phase of the powder dissolution test, in aqueous medium (HCl, pH 1.2), due to the precipitation *R*-PZQ, which affects the absorption process. Because of this the objective of this study was to evaluate the effect of polymers as precipitation inhibitors (PPIs) on the dissolution profiles of co-crystal *R*-PZQ:*L*-Mal (1:1 stoichiometry) in both saturated (shake flask) and unsaturated conditions (apparatus I USP) to observe if an increase in the dissolved concentration of *R*-PZQ can be achieved. For comparison, the profiles of *RS*-PZQ and *R*-PZQ hemihydrate were also included in the study. The powder dissolution tests in saturated conditions showed that methylcellulose (MC) and hydroxypropylcellulose (HPC) which were pre-dissolved at 0.5% weight/volume, increased and prolonged the supersaturation state generated by the co-crystal (1.9 and 1.5-fold for MC and HPC, respectively, in comparison to *R*-PZQ without polymer). The dissolution tests under unsaturated conditions, showed that the diastereomeric co-crystals *RS*-PZQ:*L*-Mál and co-crystal *R*-PZQ:*L*-Mál significantly increase the percentage dissolved of PZQ with respect to the pure drugs; however, when polymers were added to cocrystals, an effect on the dissolution profiles was not observed. Nevertheless, the dissolution profiles of the pure phases of PZQ increased significantly in the presence of polymers. It was found that *R*-PZQ hemihydrate formulated with HPC by mechanical grinding in a bead mill (10 min, 10 Hz) at a ratio of 1:0.3 w/w (drug: polymer) exhibits a significant increase in the concentration of *R*-PZQ that exceeds the effect observed from the co-crystal (16 times greater in contrast to *RS*-PZQ). Likewise, it was found that the grinding formulation of *R*-PZQ hemihydrate with HPC 0.3 w/w exhibited a dissolution profile very similar to that obtained by the commercial formulation of *RS*-PZQ (CITICID®). This suggests developing a solid formulation based on these components to reduce the commercial dose and with to decrease the adverse effects associated with *RS*-PZQ.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS	iii
RESUMEN	iv
ÍNDICE.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
LISTA DE ABREVIATURAS	xvi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Esquistosomiasis	2
2.2 Praziquantel.....	2
2.2.1 Características y propiedades fisicoquímicas.....	2
2.2.2 Farmacocinética.....	4
2.2.3 Farmacodinámica.....	4
2.2.4 Efectos adversos y toxicidad.....	5
2.3 Fármacos quirales.....	5
2.4 Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.....	7
2.5 Solubilidad	8
2.6 Disolución	9
2.7 Estrategias para mejorar la baja solubilidad acuosa de los IFA clase II (SCB).	10
2.7.1 Modificaciones Químicas	10
2.7.2 Modificaciones Físicas	11
2.7.3 Cocristales Farmacéuticos	16
2.7.4 Métodos de preparación de Cocristales	17
2.7.5 Caracterización de Cocristales.....	19
2.8 Sobresaturación	21
2.8.1 Cocristales de Praziquantel.....	24
2.9 Evaluación Biofarmacéutica de cocristales de PZQ.....	25
3. JUSTIFICACIÓN	28
4. HIPÓTESIS.....	29

5.	OBJETIVOS	30
5.1	Objetivo General	30
5.2	Objetivos específicos	30
6.	MATERIALES Y MÉTODOS	31
6.1	Reactivos	31
6.1.1	Coformador	31
6.1.2	Polímeros.....	32
6.2	Instrumentos	33
6.3	Material	33
6.4	Metodología	34
6.4.1	Diagrama general para el desarrollo experimental de esta tesis.	34
6.4.2	Síntesis de materias primas	34
6.4.3	Caracterización física de fases sólidas.....	36
6.4.4	Evaluación Biofarmacéutica	36
6.4.5	Análisis Estadístico para los perfiles de disolución.....	42
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
7.1	Caracterización de materias primas	43
7.1.1	Optimización y escalamiento de los cocrisales RS-PZQ:L-Mál (mezcla diastereomérica) por molienda asistida con acetona	46
7.1.2	Estudios de disolución de polvos	48
7.1.3	Pruebas de disolución en condiciones saturadas (no sink)	51
7.1.4	Estabilidad de fase.....	53
7.1.5	Formulaciones sólidas.....	58
7.1.6	Pruebas de disolución de las formulaciones sólidas en condiciones no saturadas (sink) 62	
8.	CONCLUSIONES.....	72
9.	PERSPECTIVAS.....	74
10.	REFERENCIAS	75
11.	ANEXOS.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura molecular de los dos enantiómeros de Praziquantel, a la derecha S-Praziquantel que es el enantiómero inactivo (distómero) y a la izquierda enantiómero activo R-Praziquantel (eutómero), átomo de carbono asimétrico es identificado como 11b.....	3
Figura 2. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.(21)	8
Figura 3. Comparación de porcentajes de IFAs comercializados (gráfico derecho) e IFAs en fase de investigación y desarrollo (gráfico izquierdo) de acuerdo con el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica.(26)	9
Figura 4. Representación esquemática de las diferentes formas del estado sólido de un IFA que se pueden utilizar en diferentes formulaciones.(49).....	13
Figura 5. Principales sintones supramoleculares que se generan durante la formación de cocristales.(63)	17
Figura 6. Rayos X difractados por un cristal según la ley de Bragg.(30).....	20
Figura 7. Esquema de los perfiles de disolución de un IFA cristalino con baja solubilidad acuosa, 1) Una forma cocrystalina genera un efecto resorte y 2) el fármaco con excipiente estabilizante en solución que prolonga el estado de sobresaturación (efecto resorte-paracaídas).(76)	22
Figura 8. Representación esquemática de la resolución quiral de RS-PZQ en presencia del coformador quiral ácido L-Málico.(19)	24
Figura 9. Perfiles de disolución en condiciones saturadas de cocristales del racemato RS-PZQ a) RS-PZQ:ÁcSuc y b) RS-PZQ:ÁcGlu con y sin polímeros MC y HPC predisueitos en HCl pH 1.2 al 0.5 % p/v.(56)	26
Figura 10. Perfiles de disolución en condiciones saturadas de cocristales del enantiómero activo R-PZQ a) R-PZQ:ÁcSuc y b) R-PZQ:ÁcGlu con y sin polímeros (MC o HPC) predisueitos al 0.5 % p/v.(83).....	27
Figura 11. Estructura molecular del ácido L-Málico, coformador utilizado para la síntesis del cocrystal utilizado en esta tesis.	31
Figura 12. Estructura molecular de polímeros utilizados en esta investigación a) metilcelulosa 60 HG y b) hidroxipropilcelulosa 80 000.	32
Figura 13. Esquema general de la prueba de disolución de polvos en condiciones saturadas (no sink).	38
Figura 14. Aparato I (canastillas) USP utilizado para las pruebas de disolución de las formulaciones realizadas en condiciones no saturadas (sink).	42

Figura 15. Difractogramas de a) RS-Praziquantel, b) ácido L-Málico, c) cocrystal R-PZQ:L-Mál experimental y d) cocrystal R-PZQ:L-Mál calculado. La línea punteada (rosa) identifica los picos correspondientes al cocrystal R-PZQ:L-Mál calculado.....	43
Figura 16. Difractogramas de a) R-PZQ:L-Mál (material de partida), b) hemihidrato de R-PZQ experimental y c) hemihidrato de R-PZQ calculado. La línea punteada de color azul identifica los picos correspondientes al hemihidrato de R-PZQ calculado.....	44
Figura 17. Difractogramas de a) RS-PZQ, b) ácido L-Málico, c) Mezcla de cocrystal diastereoméricos R-PZQ:L-Mál + S-PZQ:L-Mál experimental y d) Mezcla de cocrystal diastereoméricos R-PZQ:L-Mál + S-PZQ:L-Mál calculado. La línea punteada de color verde identifica los picos correspondientes a los cocrystal diastereoméricos de RS-PZQ calculados.	45
Figura 18. Difractogramas para los sólidos obtenidos de la reacción RS-PZQ + L:Mál (1:1) modificando a) el tiempo de la reacción manteniendo la frecuencia en 25 Hz y b) modificando la frecuencia y mantenido el tiempo en 10 min. Para fines de comparación, también se incluyen los patrones de las materias primas y el calculado para mezcla de cocrystal diastereoméricos (RS-PZQ:L-Mál).....	47
Figura 19. Difractogramas calculados y experimentales de los cocrystal diastereoméricos RS-PZQ:L-Mál obtenidos por molienda asistida con acetona (10 min, 25 Hz) a) calculado b) obtenido a 50 mg y c) escalamiento a 500 g. Líneas punteadas de color verde identifican picos característicos del difractograma calculado para los cocrystal diastereoméricos.	48
Figura 20. Representación gráfica de la linealidad del sistema a partir de las curvas de cuantificación de R-PZQ en HCl pH 1.2	50
Figura 21. Representación gráfica de la linealidad del sistema a partir de las curvas de cuantificación de RS-PZQ en HCl pH 1.2	50
Figura 22. Perfiles de disolución del hemihidrato de R-PZQ y su fase cocrystalina R-PZQ:L-Mál en medio de HCl pH 1.2 en condiciones sobresaturadas (promedio $n=3 \pm DE$).	51
Figura 23. Perfiles de disolución en condiciones sobresaturadas del hemihidrato de R-PZQ y el cocrystal R-PZQ:L-Mál en medio de HCl pH 1.2 con polímero a) HPC predisuelto al 0.5% p/v y b) MC predisuelto al 0.5% p/v (promedio $n=3 \pm DE$).	52
Figura 24. Áreas bajo la curva (ABC) de los perfiles de disolución de polvos del hemihidrato de R-PZQ y cocrystal R-PZQ:L-Mál con y sin polímero (MC o HPC) predisueltos al 0.5% p/v en HCl pH 1.2 (promedio $n=3, \pm DE$).	53
Figura 25. Patrones de difracción de rayos X para determinar la estabilidad de fase del cocrystal R-PZQ:L-Mál en HCl pH 1.2. Líneas punteadas de color negro identifican picos característicos	

del hemihidrato y líneas punteadas de color naranja denotan los picos identificados para el cocrystal R-PZQ:L-Mál.	54
Figura 26. Patrones de difracción de rayos X para analizar la estabilidad de fase del hemihidrato de R-PZQ en medio acuoso HCl pH 1.2. Líneas punteadas de color naranja, identifican los picos característicos del hemihidrato.	54
Figura 27. Patrones de difracción de rayos X para analizar la estabilidad de fase del hemihidrato de R-PZQ en medio acuoso HCl pH 1.2 con polímero HPC predisoluto al 0.5 % p/v. Líneas punteadas de color naranja identifican los picos característicos del hemihidrato de R-PZQ.	55
Figura 28. Patrones de difracción de rayos X de la estabilidad de fase del cocrystal R-PZQ:L-Mál en medio acuoso HCl pH 1.2 con polímero HPC predisoluto al 0.5 % p/v. Líneas punteadas de color naranja identifican los picos característicos del hemihidrato, y líneas punteadas de color azul denotan los picos característicos del cocrystal.	56
Figura 29. Patrones de difracción de rayos X del análisis de la estabilidad de fase del hemihidrato de R-PZQ en medio acuoso HCl pH 1.2 con polímero MC predisoluto al 0.5 % p/v. Líneas punteadas de color naranja identifican los picos característicos del hemihidrato.	57
Figura 30. Patrones de difracción de rayos X de la estabilidad de fase de R-PZQ:L-Mál en medio acuoso HCl pH 1.2 con polímero MC predisoluto al 0.5 % p/v. Líneas punteadas de color naranja identifican los picos del cocrystal R:PZQ:L-Mál. Líneas punteadas de color negro denotan picos característicos del hemihidrato de R-PZQ.	57
Figura 31. Fotografías de los productos de molienda de cocrystal R-PZQ:L-Mál con los siguientes parámetros a) 10 min, 10 Hz b) 30 min, 10 Hz y c) 10 min, 25 Hz obtenidas en microscopio óptico a 10x.	58
Figura 32. Patrones de difracción de rayos X de polvos de los productos de las siguientes reacciones a) Molienda de RS-PZQ:L-Mál con MC (10 min, 10 Hz) en presencia de polímero 0.5 y 0.3 p/p F7 y F9 respectivamente. Mezcla en vórtex entre los mismos componentes en proporción 0.3 (F11). b) Molienda de RS-PZQ:L-Mál con HPC (10 min, 10 Hz) en presencia de polímero 0.5 y 0.3 p/p F8 y F10 respectivamente. Mezcla en vórtex entre los mismos componentes en proporción 0.3 (F12). Para comparar se incluyen los patrones de DRXP de los cocristales identificados con las líneas punteadas color naranja.	59
Figura 33. Patrones de difracción de rayos X de polvos de los productos de las siguientes reacciones a) Molienda (10 min, 10 Hz) de RS-PZQ con MC 0.3 p/p (F4). Mezcla en vórtex entre los mismos componentes en proporción 0.3 p/p (F2). b) Molienda (10 min, 10 Hz) de RS-PZQ con HPC 0.3 p/p (F5). Mezcla en vórtex entre los mismos componentes en proporción 0.3 p/p (F3). Para comparar se incluyen los patrones de DRXP de los cocristales sin formular y del	

polímero. Para comparar se incluyen los patrones de DRXP del fármaco RS-PZQ sin formular y del polímero.	60
Figura 34. Patrones de difracción de rayos X de polvos de las siguientes reacciones por molienda (10 min, 10 Hz) a) el hemihidrato de R-PZQ con polímero HPC 0.3 p/p (F14) y b) el cocrystal R-PZQ:L-Mál con polímero HPC proporción 0.3 p/p (F16) (10 min, 10 Hz). Para comparar se incluyen los patrones de DRXP del hemihidrato de R-PZQ, el cocrystal R-PZQ:L-Mál sin formular y del polímero.....	61
Figura 35. Patrones de difracción de rayos X de la forma comercial de RS-PZQ CISTICID® y el RS-PZQ que fue usado como materia prima en este proyecto.	61
Figura 36. Perfiles de disolución en (condiciones no saturadas) de RS-PZQ (F1) y RS-PZQ:L-Mál (F6) en medio acuoso de HCl pH 1.2 (promedio n=3, ±DE).....	62
Figura 37. Perfiles de disolución en medio acuoso de HCl pH 1.2 de las siguientes formulaciones preparadas por molienda a) Mezcla de cocrystal diastereoméricos con MC en proporción 0.3 p/p (F9) y 0.5 p/p (F7) y b) Mezcla de cocrystal diastereoméricos con HPC en proporción 0.3 p/p (F10) y 0.5 p/p (F8) (promedio n=3 ± DE). Para comparar se incluye el perfil de disolución de la mezcla de cocrystal diastereoméricos (RS-PZQ:L-Mál) (F6).....	63
Figura 38. Perfiles de disolución en medio acuoso (HCl, pH 1.2) de las siguientes formulaciones a) Mezcla de cocrystal diastereoméricos con MC por molienda (F9) y en vórtex (F11) y b) Mezcla de cocrystal diastereoméricos con HPC por molienda (F10) y vórtex (F12) en medio acuoso de HCl pH 1.2 (promedio n=3 ± DE). Para comparar se incluye el perfil de disolución de la mezcla de cocrystal diastereoméricos (RS-PZQ:L-Mál) (F6).....	65
Figura 39. Perfiles de disolución en medio acuoso (HCl, pH 1.2) de las siguientes formulaciones a) RS-PZQ con MC 0.3 p/p por molienda (F4) y vórtex (F2) b) RS-PZQ con HPC 0.3 p/p por molienda (F5) y vórtex (F3) (promedio n=3 ± DE). Para comparar se incluye el perfil de disolución del fármaco RS-PZQ (F1).....	66
Figura 40. Perfiles de disolución en condiciones no saturadas en medio acuoso de HCl pH 1.2 del hemihidrato de R-PZQ (F13) y la fase cocrystalina R-PZQ:L-Mál (F15) (promedio n=3, ±DE)....	67
Figura 41. Perfiles de disolución en medio acuoso de HCl pH 1.2 de las siguientes formulaciones por molienda (10 min, 10 Hz) a) Mezcla del hemihidrato de R-PZQ con HPC 0.3 p/p (F14) y b) Mezcla del cocrystal R-PZQ:L-Mál con HPC 0.3 p/p (F16) (promedio n=3 ± DE). Para comparar se incluye el perfil de disolución del hemihidrato del R-PZQ (F13) y del cocrystal R-PZQ:L-Mál (F15).	68
Figura 42. Perfiles de disolución en medio acuoso de HCl pH 1.2 del cocrystal R-PZQ:L-Mál (F15) y la forma comercial de RS-PZQ CISTICID® (promedio, n=3 ± DE).....	69

Figura 43. Perfiles de disolución en medio acuoso de HCl pH 1.2 de CISTICID® y la formulación del hemihidrato de R-PZQ con HPC 0.3 p/p por molienda (10 min, 10 Hz) (promedio n=3, ±DE).
.....70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especies de parásitos y distribución geográfica de la esquistosomiasis.(3).....	2
Tabla 2. Fármacos comercializados de forma enantiopura, que fueron obtenidos por formación de diastereómeros (sales).(15).....	7
Tabla 3. Modificaciones físicas utilizadas para mejorar la solubilidad acuosa de RS-PZQ.	12
Tabla 4. Propiedades físicas que pueden diferir entre las formas cristalinas de un IFA.(59)	16
Tabla 5. Mecanismos de inhibición de la precipitación de los PIP. (77,80,81).....	23
Tabla 6. Coformadores utilizados para la síntesis de cocristales de RS-PZQ.(82)	24
Tabla 7. Coformadores utilizados para la síntesis de cocristales del enantiómero activo de praziquantel (R)-PZQ.(83)	25
Tabla 8. Reactivos utilizados en este proyecto con nombre de fabricante y pureza (si está determinada)	31
Tabla 9. Variaciones del (a) tiempo (min) y (b) frecuencia (Hz) para la obtención de los cocristales diastereoméricos R-PZQ:L-Mál y S-PZQ:L-Mál por molienda asistida con acetona.	36
Tabla 10. Concentraciones de la curva de cuantificación para RS-PZQ y R-PZQ en HCl pH 1.2	37
Tabla 11. Condiciones de molienda realizadas para el cocrystal R-PZQ:L-Mál	39
Tabla 12. Mezclas realizadas para evaluar los perfiles de disolución en el aparato I USP (canastillas) para RS-PZQ y la mezcla de cocristales diastereoméricos RS-PZQ:L-Mál.....	40
Tabla 13. Mezclas realizadas para evaluar los perfiles de disolución en el aparato I USP (canastillas) para R-PZQ y su fase cocrystalina con ácido L-Málico.....	41
Tabla 14. Picos característicos identificados en los patrones de DRXP a) cocrystal R-PZQ:L-Mál, b) (R)-PZQ hemihidrato y c) mezcla de cocristales diastereoméricos R-PZQ:L-Mál + S-PZQ:L-Mál.	46
Tabla 15. Parámetros de validación evaluados en la curva de cuantificación para R-PZQ y RS-PZQ.....	49
Tabla 16. Valores de las áreas bajo la curva (ABC) del minuto 0-120 y porcentaje disuelto acumulado (% DA) a los 120 min del estudio de las pruebas de disolución las formulaciones de F1 y F6.....	63
Tabla 17. Valores de las áreas bajo la curva (ABC) del minuto 0-120 y porcentaje disuelto acumulado (% DA) a los 120 min del estudio de las pruebas de disolución de formulaciones F7-F10.....	64

Tabla 18. Valores de las áreas bajo la curva (ABC) del minuto 0-120 y porcentaje disuelto acumulado (% DA) a los 120 min del estudio de las pruebas de disolución de formulaciones F11 y F12..... 65

Tabla 19. Valores de área bajo la curva (ABC) del minuto 0-120 de las pruebas de disolución de F2-F5, y porcentaje disuelto acumulado (% DA) a los 120 min del estudio..... 66

Tabla 20. Valores de área bajo la curva (ABC) del minuto 0-120, y porcentaje disuelto acumulado (% DA) a los 120 min del estudio de las pruebas de disolución de las formulaciones F13 y F15. 67

Tabla 21. Valores de área bajo la curva (ABC) del minuto 0-120, y porcentaje disuelto acumulado (% DA) a los 120 min del estudio de las pruebas de disolución de F14, F15 y CISTICID. 68

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Comparación de la linealidad del sistema de las curvas de cuantificación para R-PZQ y RS-PZQ en HCl pH 1.2 en dos días diferentes.....	82
Anexo 2. Análisis de varianza de una vía de las ABC de los perfiles de disolución de polvos en condiciones sobresaturadas del cocrystal R-PZQ:L-Mál y el hemihidrato de R-PZQ con y sin polímero predisuelto (0.5 % p/v).....	82
Anexo 3. Pruebas de múltiples rangos (Tukey, $p < 0.05$) para ABC de los perfiles de disolución de polvos en condiciones sobresaturadas del cocrystal R-PZQ:L-Mál y el hemihidrato de R-PZQ con y sin polímero predisuelto (0.5 % p/v).....	83
Anexo 4. Análisis de varianza de una vía de las ABC de los perfiles de disolución en condiciones no saturadas de las formulaciones F1-F16 y CISTICID®.	83
Anexo 5. Prueba de múltiples rangos (Tukey, $p < 0.05$) para las ABC de perfiles de disolución de las formulaciones realizadas (F1- F16) y CISTICID® en condiciones no saturadas.	83
Anexo 6. $ABC_{0-120min}$ de los perfiles de disolución en condiciones no saturadas de las formulaciones realizadas con los cocrystal diastereoméricos con los polímeros HPC y MC. ...	84
Anexo 7. $ABC_{0-120min}$ de los perfiles de disolución en condiciones no saturadas de las formulaciones realizadas para el cocrystal R-PZQ:L-Mál con y sin polímero HPC (0.3 p/p) por molienda (10 min, 10 Hz) y para CISTICID®.....	84
Anexo 8. Datos obtenidos de la curva de cuantificación del día 1 para R-PZQ en medio de HCl pH 1.2.	85
Anexo 9. Datos obtenidos de la curva de cuantificación del día 2 para R-PZQ en medio de HCl pH 1.2.	86
Anexo 10. Datos obtenidos de la curva de cuantificación del día 1 para RS-PZQ en medio de HCl pH 1.2.	87
Anexo 11. Datos obtenidos de la curva de cuantificación del día 2 para RS-PZQ en medio de HCl pH 1.2.	88
Anexo 12. Factor de similitud f_2 y factor de diferencia f_1 calculados para comparar los perfiles de disolución (condiciones no saturadas) entre la forma comercial de RS-PZQ CISTICID® y el cocrystal de R-PZQ:L-Mál (F15).....	89
Anexo 13. Factor de similitud f_2 y factor de diferencia f_1 calculados para comparar los perfiles de disolución (condiciones no saturadas) entre la forma comercial de RS-PZQ CISTICID® y el hemihidrato de R-PZQ formulado con HPC 0.3 por molienda (F14).	89

d

LISTA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
°C	grados Celsius
Å	Angstrom
ABC	Área Bajo la Curva
AcOEt	Acetato de Etilo
Ca ²⁺	Calcio divalente
CD	Ciclodextrina
CLAR	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
CSD	The Cambridge Structural Database (Base de datos Cristalográfica de Cambridge)
DA	Disuelto Acumulado
DRXMC	Difracción de Rayos X de Monocristal
DRXP	Difracción de rayos X de polvos
DS	Dispersiones Sólida
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
GRAS	Generally Recognized as Safe (Generalmente Reconocido como Seguro)
HCl	ácido clorhídrico
HPC	Hidroxipropilcelulosa 80000
Hz	Hertz
I & D	Investigación y Desarrollo
IFA	Ingrediente Farmacéutico Activo
L	Litro
MC	Metilcelulosa (Methocel® 60 HG)
MeCN	acetoniitrilo
mg	miligramo
N	Normal
NFS	Nueva Fase Sólida
PIP	Polímero Inhibidor de la Precipitación
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
rpm	revoluciones por minuto
<i>R</i> -PZQ: <i>L</i> -Mál	cocristal de <i>R</i> -Praziquantel con ácido <i>L</i> -Málico
<i>R</i> -PZQ·0.5H ₂ O	hemihidrato de <i>R</i> -Praziquantel
<i>RS</i> -PZQ	racemato de Praziquantel
SCB	Sistema de Clasificación Biofarmacéutica
TA	Temperatura Ambiente
TGA-DSC	Thermogravimetric Analysis-Differential Scanning Calorimetry (Análisis Termogravimétrico acoplado a Calorimetría Diferencial de Barrido)
USP	United States Pharmacopeia (Farmacopea de los Estados Unidos)
UV-Vis	Ultravioleta Visible
VDI	Velocidad de Disolución Intrínseca
λ	longitud de onda
μm	micrómetro

1. INTRODUCCIÓN

Cerca del 60% de los fármacos en fase de investigación y desarrollo (I&D) se encuentran dentro de la clase II del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB); estos son fármacos con alta permeabilidad intestinal, pero baja solubilidad acuosa, parámetros importantes que afectan directamente en su absorción y biodisponibilidad. Sin embargo, sólo el 30% de estos fármacos clase II son comercializados, lo que indica que una gran cantidad de ellos son abandonados en fase de investigación debido al problema de solubilidad que presentan. Es por ello por lo que la mejora de esta propiedad es un gran desafío para los científicos farmacéuticos, de tal manera que se han desarrollado una serie de estrategias que permiten mejorar la solubilidad acuosa, como lo es la síntesis de profármacos, la disminución del tamaño de partícula, el uso ciclodextrinas, surfactantes y lípidos.

La modificación del estado sólido, a través del desarrollo de cocristales ha generado gran interés para los científicos farmacéuticos ya que es una estrategia innovadora que permite modificar propiedades físicas como la solubilidad y velocidad de disolución de un IFA sin necesidad de formar o romper enlaces covalentes manteniendo el efecto terapéutico.

Praziquantel es un fármaco antiparasitario clase II (SCB), dada su baja solubilidad acuosa y es ampliamente utilizado para el tratamiento de infecciones causadas por cestodos y trematodos. Gracias a su estructura química ha conllevado a la síntesis de cocristales con diferentes coformadores; sin embargo, hasta el momento existen pocos antecedentes en relación al desarrollo de una formulación con excipientes que permitan mantener la mejora de solubilidad acuosa que demuestran los cocristales farmacéuticos es de especial interés en este proyecto el desarrollo y estudio biofarmacéutico de una formulación entre cocristales de Praziquantel y polímeros hidrofílicos.

2. ANTECEDENTES

2.1 ESQUISTOSOMIASIS

La esquistosomiasis es una enfermedad parasitaria aguda y crónica causada por trematodos del género *Schistosoma*, que afecta a más de 200 millones de personas en todo el mundo de un total de 783 millones en riesgo (en 74 países en desarrollo). La principal población afectada incluye 24 millones de niños en edad preescolar y 65 millones de niños en edad escolar. Es la segunda enfermedad parasitaria de mayor prevalencia en niños africanos (después de la Malaria).(1) Las estimaciones más recientes sobre la carga mundial de morbilidad revelan que de 1980 a 2016, hubo un aproximado de 10 000 muertes por año relacionadas con esta enfermedad.(2) Existen dos formas principales de esquistosomiasis (intestinal y urogenital), causadas por las cinco grandes especies enlistadas en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Especies de parásitos y distribución geográfica de la esquistosomiasis.(3)

Esquistosoma	Especies	Distribución geográfica
Intestinal	<i>S. mansoni</i>	África, Medio Oriente, Caribe, Brasil, Surinam, Venezuela
	<i>S. japonicum</i>	China, Filipinas, Indonesia
	<i>S. mekongi</i>	Varios distritos de Camboya y la República Democrática Popular Lao
	<i>S. intercalatum</i> y su congénere <i>S. guineensis</i>	Bosque tropical de África central
Urogenital	<i>S. haematobium</i>	África, Medio Oriente, Córcega (Francia)

El tratamiento de esquistosomiasis consiste en administración del fármaco Praziquantel a una dosis de 20 mg/kg tres veces al día en intervalos de 4-6 h o como una dosis única de 40 mg/kg (dependiendo del parásito). Praziquantel es el fármaco más eficaz para erradicar todas las especies de *Schistosoma*.(1)

2.2 PRAZIQUANTEL

2.2.1 Características y propiedades fisicoquímicas

Praziquantel (RS-PZQ) es un derivado pirazino-isoquinolínico con actividad antiparasitaria, que inicialmente se probó para uso veterinario (perros, gatos y caballos) y posteriormente para uso

en humanos. Es eficaz frente a helmintos tremátodos *i.e.* *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis viverrini*, *Paragonimus westermani*, *P. hetrotremus*, *P. africanus*, *P. uterobilateralis*, *Fasciolopsis buski*, *Heterophyes heterophyes*, *Metagonimus yokogawai* y todas las especies de *Schistosoma* y cestodos, *i.e.* *Taenia Solium*, *T. Saginata*, *Diphyllobothrium latum*, *Hymenolepis nana*, así como en la cisticercosis y neurocisticercosis causada por la migración de *T. solium*.(4) Además de su actividad antihelmíntica, se ha observado en investigaciones preclínicas que PZQ podría potenciar en gran medida el efecto inhibitor del paclitaxel (anticancerígeno) en el crecimiento de diversas células tumorales, incluso las resistentes a paclitaxel.(5)

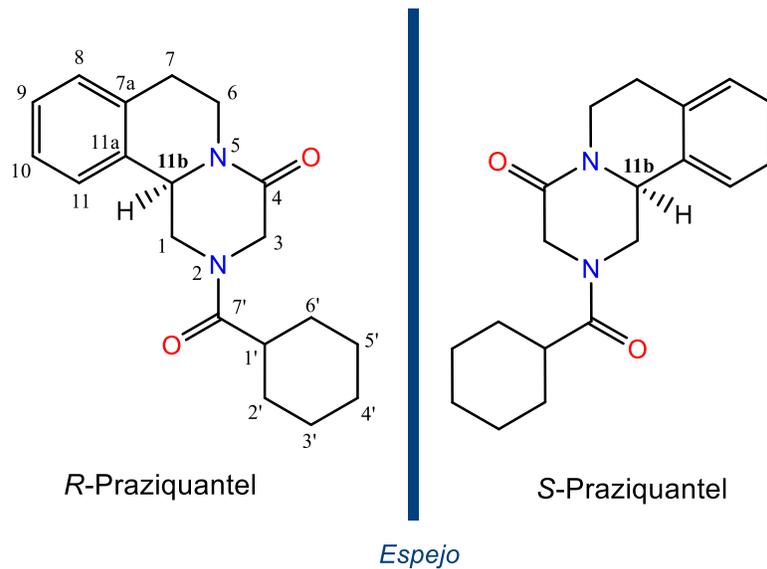


Figura 1. Estructura molecular de los dos enantiómeros de Praziquantel, a la derecha S-Praziquantel que es el enantiómero inactivo (distómero) y a la izquierda enantiómero activo R-Praziquantel (eutómero), átomo de carbono asimétrico es identificado como 11b.

La etimología del nombre del fármaco de acuerdo con sus componentes químicos es: **p(i)razi(na) + qu(inolina) + ant(h)el(míntico)**. Ya que contiene un centro quiral en la posición 11b (**Figura 1**), la preparación y comercialización actual de este IFA es una mezcla de partes iguales de enantiómeros “R” y “S”, aun cuando estudios previos han demostrado que ambos enantiómeros presentan la misma toxicidad es sólo el enantiómero “R” quien tiene la actividad antihelmíntica (eutómero), mientras que al enantiómero “S” se le atribuyen los efectos adversos (distómero) y, además, es quien le proporciona el sabor amargo característico de PZQ. Es por ello que prácticamente la mitad de la tableta actualmente comercializada resulta ser innecesaria.(6) El grupo oxo en la posición 4 del PZQ es esencial para la actividad antihelmíntica y cualquier modificación en el esqueleto del anillo suprime su actividad.

PZQ tiene como fórmula química $C_{19}H_{24}N_2O_2$, el peso molecular es de 312.41 g/mol y se han calculado experimentalmente dos valores de $\log P$, uno de 2.42 y otro de 2.74, determinados por los programas de los software ALOGPs y Molinspiration, respectivamente; dado que no tiene grupos ionizables no tiene asociado ningún pK_a .(7)

El PZQ es un polvo cristalino blanco o casi blanco de sabor amargo, higroscópico, hidrófobo, estable en condiciones normales y funde con descomposición a 136-140°C. Es fácilmente soluble en cloroformo y dimetilsulfóxido, muy soluble en etanol y muy poco soluble en agua (0.4 mg/mL, 25°C).(8)

2.2.2 Farmacocinética

RS-PZQ es rápidamente absorbido por vía oral (75-100%). Su presencia en sangre es detectable a los 15 minutos posteriores a la administración, y el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima plasmática es de 1-2 h. La administración concomitante de cloroquina y la preadministración de carbamazepina y fenitoína pueden reducir la biodisponibilidad de PZQ. Caso contrario ocurre, cuando es coadministrado con cimetidina y alimentos ricos en carbohidratos ya que estos pueden aumentar la biodisponibilidad de PZQ. Praziquantel cruza la barrera hematoencefálica (10-20%) y alcanza en líquido cefalorraquídeo el 25% de la concentración plasmática, porcentaje similar al encontrado en leche materna. Es metabolizado por el hígado y sus metabolitos mono y dihidroxilados (inactivos) se excretan en la orina (80%) y las heces. Se ha demostrado que PZQ experimenta un metabolismo extenso de primer paso por el citocromo P450; por lo tanto, la biodisponibilidad sistémica de PZQ es baja y variable a pesar de que su absorción gastrointestinal es casi completa. La vida media plasmática generalmente oscila entre 1 y 3 h. La eliminación de más del 80% del fármaco se completa después de 24 h. Se excreta predominantemente en forma de metabolitos inactivos y como fármaco puro.(6,9)

2.2.3 Farmacodinámica

El mecanismo preciso de acción de *RS-PZQ* aún no se conoce bien; sin embargo, se ha visto que destaca su especificidad por actuar contra los parásitos, aumentando la permeabilidad de membranas de las células helmínticas permitiendo el paso de iones monovalentes y divalentes, principalmente Ca^{2+} . A concentraciones pequeñas aumenta la actividad muscular, que termina en contracción y parálisis espástica; con ello, el parásito pierde su capacidad de sostenerse en las paredes del intestino o los vasos sanguíneos. A concentraciones mayores, el *RS-PZQ* provoca modificaciones en los tegumentos del parásito, en forma de vacuolización y vesiculación, que terminan por permitir la fagocitosis del mismo.(4,9)

2.2.4 Efectos adversos y toxicidad

Son diversos los factores que influyen para que los efectos adversos de *RS-PZQ* se hagan presentes, como pueden ser la dosis, la duración del tratamiento, la especie de parásito, el grado de infestación, y la ubicación del parásito dentro del cuerpo. No obstante, estos pueden ser más frecuentes y aumentados en pacientes con infestación severa. Los efectos adversos más frecuentes incluyen malestar general, dolor de cabeza, mareo, dolor abdominal (con o sin náuseas), diarrea, fiebre y urticaria. Sin embargo, estos desaparecen eventualmente al momento de abandonar el tratamiento con *RS-PZQ*. Es bien tolerado en humanos y aparentemente no presenta toxicidad a largo plazo.(10,11)

2.3 FÁRMACOS QUIRALES

Actualmente, más del 56% de los medicamentos que se encuentran en el mercado son ingredientes farmacéuticos activos (IFAs) quirales y cerca del 88% de estos se comercializan como racemato; es decir son una mezcla 1:1 de los enantiómeros. Aunque enantiómeros tienen la misma estructura química, es frecuente encontrar marcadas diferencias en las actividades biológicas, principalmente farmacológicas, toxicológicas, farmacocinéticas y metabólicas.(12) Es por ello que gran parte de la investigación químico-farmacéutica se enfoca en realizar la separación de enantiómeros, de manera tal que se pueda tener el enantiómero que presente la actividad farmacológica en forma pura.

La mayoría de las reacciones de síntesis orgánica de fármacos dan como resultado la formación de compuestos racémicos. Dado que los enantiómeros presentes en dichos compuestos tienen propiedades físicas y químicas idénticas (como punto de fusión, punto de ebullición, índice de refracción, reactividad y solubilidad, etc.), excepto por la dirección de la rotación de la luz polarizada, rara vez se pueden separar por métodos físicos simples, como la cristalización fraccionada o destilación.(13)

Son diversas las metodologías utilizadas para la resolución quiral de mezclas racémicas, dentro de los principales métodos que se utilizan son los siguientes:

Síntesis Asimétrica

La síntesis asimétrica también se denomina síntesis estereoselectiva; este término se emplea cuando se forma exclusivamente uno de los enantiómeros. La síntesis asimétrica de compuestos

enantiopuros a partir de sustratos proquirales puede efectuarse utilizando auxiliares quirales enantiopuros (o enantioenriquecidos) en cantidades equimolares.(14)(15) Esta metodología ha sido utilizada por Roszkowski *et al.* para obtener el enantiómero activo de PZQ, utilizando feniletilamina, anhídrido ftálico y glicina, obteniendo una imina como sustrato proquiral que posteriormente permitió obtener *R*-PZQ con un rendimiento del 56%.(16)

Resolución por Cromatografía

En la cromatografía hay básicamente dos enfoques para la separación de enantiómeros: el enfoque directo e indirecto. En el enfoque directo, los enantiómeros se combinan con una fase móvil quiral (en cromatografía líquida) o interaccionan con una fase estacionaria quiral mediante enlaces no covalentes (principalmente puentes de hidrógeno). Esto da como resultado diastereómeros transitorios. La diferencia en la estabilidad termodinámica de los complejos diastereoméricos conduce a una diferencia en el tiempo de retención durante el proceso cromatográfico lo que permite la separación de los enantiómeros. En el enfoque indirecto, se forman compuestos diastereoméricos antes del procedimiento de separación. En estos compuestos, los enantiómeros se unen de forma continua a un reactivo quiral. Los diastereómeros de los dos enantiómeros tendrán diferentes propiedades físicas y químicas y, por lo tanto, generalmente se pueden separar por cromatografía utilizando una fase estacionaria no quiral de rutina.(17)

Un ejemplo de la utilización de esta metodología con enfoque directo para la resolución de *RS*-PZQ es la descrita por Ching *et al* quienes utilizaron una columna quiral (fase estacionaria) de triacetato de celulosa microcristalina y metanol como eluyente (fase móvil) obteniendo *R*-PZQ en un pureza óptica de 93.68%.(18)

Resolución Química (cristalización vía diastereómeros)

La resolución química consiste en la separación de los enantiómeros de la mezcla racémica mediante su conversión en una mezcla de diastereoisómeros (sales o cocristales). Estos tienen al menos dos centros asimétricos. Para ello, la mezcla de enantiómeros (racemato) se hace reaccionar con un compuesto quiral que recibe el nombre de *agente de resolución*. Los diastereoisómeros no son imágenes especulares como en el caso de los enantiómeros; por ello tienen propiedades físicas diferentes y pueden separarse mediante destilación, cristalización o cromatografía. Una vez separados los diastereómeros por cromatografía cualquiera de las técnicas de separación (destilación, cristalización o cromatografía), se procede a la eliminación del agente de resolución para obtener cada uno de los enantiómeros puros.(15) Algunos de los

IFAs comercializados en forma enantiopura, que son obtenidos por formación de diastereómeros son se enlistan en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Fármacos comercializados de forma enantiopura, que fueron obtenidos por formación de diastereómeros (sales).(15)

Fármaco	Uso	Agente de resolución
Clopidogrel	Evita accidentes cardiovasculares	ácido (-)-canforsulfónico
Paroxetina	Tratamiento de depresión y ansiedad	ácido (-)-di- <i>p</i> -toluolil-L-tartárico
Sertralina	Tratamiento de depresión	ácido (<i>R</i>)-(-)-mandélico

Aunque la formación de sales diastereoméricas es el método de resolución quiral preferido a nivel industrial, este se limita a los fármacos que no son ionizables o no se ionizan fácilmente ya que se lleva a cabo una reacción de tipo ácido-base (quirales) con transferencia de protones. En este sentido, la formación de cocristales diastereoméricos adquiere interés químico-farmacéutico; por ejemplo Sánchez-Guadarrama *et al.* llevaron a cabo la resolución quiral del racemato *RS*-PZQ usando ácido *L*-Málico como agente de resolución (estequiometría 1:1) formando los cocristales diastereoméricos *R*-PZQ:*L*-Mál y *S*-PZQ:*L*-Mál (*RS*-PZQ:*L*-Mál). Estos cocristales poseen diferentes puntos de fusión (153.6 °C y 126.8 °C, respectivamente) lo que permitió separarlos mediante cristalización simple en acetato de etilo donde cristalizó rápidamente el cocrystal menos soluble (*R*-PZQ:*L*-Mál). Una vez obtenido el cocrystal del enantiómero activo se eliminó el ácido *L*-Málico a través de tratamiento con agua, obteniendo el hemihidrato de *R*-PZQ con un exceso enantiomérico del 99.3%.(19)

2.4 SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICO

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB), publicado por Gordon Amidon *et al.* en 1995, acogido y adaptado inicialmente por la FDA, es difundido actualmente en todo el mundo. Se define como un marco científico que permite clasificar un fármaco considerando su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal (**Figura 2**), factores estrechamente relacionados con el proceso de absorción cuando este es administrado por vía oral. El SCB plantea como objetivo la posibilidad de establecer correlaciones *in vitro-in vivo* que permitan sustituir los ensayos realizados en humanos por ensayos de disolución *in vitro*, de acuerdo con la clasificación obtenida para el fármaco.(20)

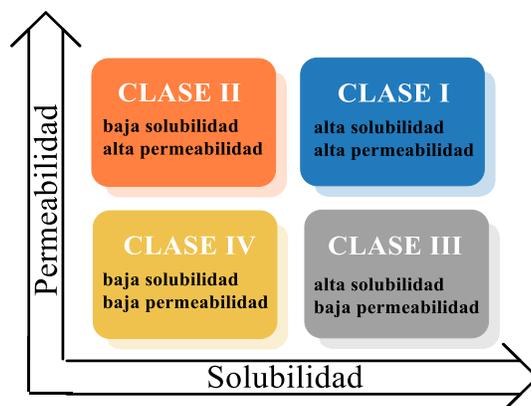


Figura 2. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.(21)

Un IFA se considera altamente soluble cuando la mayor concentración a la que se administra es soluble en 250 mL o menos de medio acuoso dentro del rango de pH de 1.0-6.8 a 37 ± 0.5 °C. Una sustancia farmacológica se considera altamente permeable cuando se determina que la biodisponibilidad sistémica o el grado de absorción en humanos es de mayor o igual al 85 por ciento de una dosis administrada en base a una determinación del balance de masa o en comparación con una dosis de referencia intravenosa.(22)

2.5 SOLUBILIDAD

La solubilidad acuosa es un parámetro de suma importancia para lograr la concentración deseada de un IFA en circulación sistémica y tener la respuesta farmacológica esperada. La solubilidad termodinámica de un fármaco en un disolvente es la cantidad máxima de la forma cristalina más estable (sólido) que permanece en disolución en un volumen dado del disolvente a una temperatura y presión determinada que al llegar a la saturación genera un equilibrio dinámico entre el soluto disuelto y el soluto sólido. Bajo ciertas condiciones, la solubilidad en equilibrio puede excederse para dar una solución sobresaturada, que es considerada como metaestable.(23,24)

La baja solubilidad en agua es el principal problema en el desarrollo de nuevos fármacos ya que cerca del 70% (**Figura 3**) de ellos se encuentran en fase de I & D y se consideran como prácticamente insolubles en agua; es por ello, que más de la mitad tienen que ser abandonados en esta fase debido a la baja solubilidad acuosa que estos presentan.

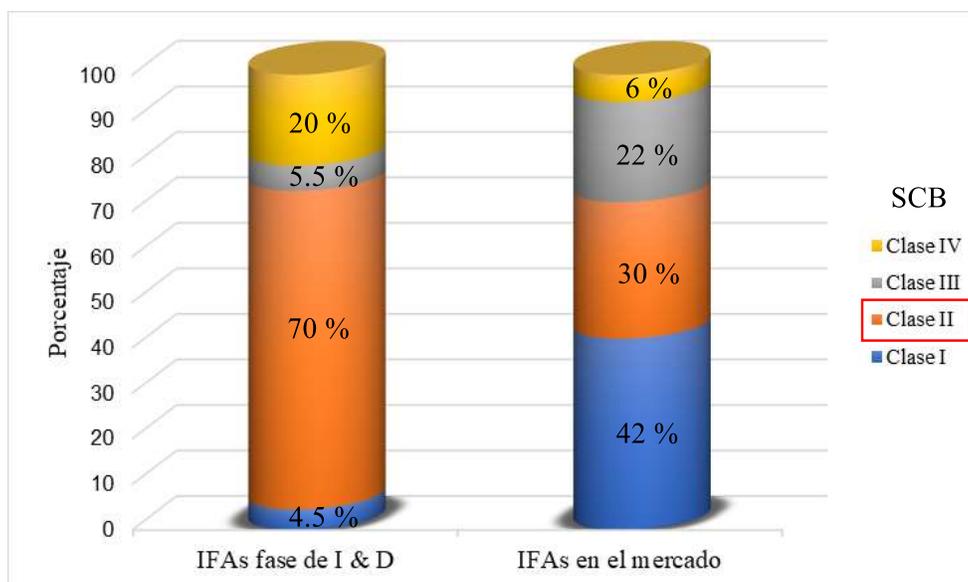


Figura 3. Comparación de porcentajes de IFAs comercializados (gráfico derecho) e IFAs en fase de investigación y desarrollo (gráfico izquierdo) de acuerdo con el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica.(25)

Parámetros que afectan la solubilización de fármacos.(24)

- Soluto: naturaleza (sal, polimorfo, cocrystal, etc.) forma, tamaño, área superficial, punto de fusión, pK_a , etc.
- Disolvente: polaridad, pH del medio y volumen de disolvente empleado.
- La naturaleza y la fuerza de las atracciones que se dan entre el soluto-disolvente (interacciones intermoleculares).
- Temperatura y presión del entorno.

2.6 DISOLUCIÓN

La disolución de un IFA es un paso importante para que se lleve a cabo la absorción del mismo en el tracto gastrointestinal, por lo que la comprensión del comportamiento de disolución y absorción de IFAs con baja solubilidad acuosa es muy importante para formularlos de manera adecuada y efectiva en productos farmacéuticos biodisponibles. La disolución se define como un proceso de dispersión/disociación de un soluto en un disolvente, formando una dispersión a nivel molecular, químicamente y físicamente homogénea, llamada disolución. En contraste con la solubilidad, cuando se habla de disolución, se entiende que la velocidad a la que se lleva este

proceso es una consideración importante. Por lo tanto, la solubilidad es un punto final mientras que la disolución es un proceso.(26,27)

El objetivo principal de la prueba de disolución se dirige hacia el control de calidad y el desarrollo de un producto, con el fin de obtener y utilizar la información sobre la composición y las variables de manufactura (ejemplo fuerza de compresión, selección de excipientes y efecto del mezclado). La caracterización de la disolución de los diferentes IFAs en estado sólido es una función que no depende únicamente de las dimensiones de las partículas (tamaño, forma, área superficial) sino también de propiedades micrométricas, tales como la distribución de tamaño de partícula, y adicionalmente de factores como el ángulo de contacto, la humectabilidad y las propiedades fisicoquímicas que afectan el desempeño de la disolución de los polvos.(28,29)

La capacidad de disolver la dosis terapéutica de un fármaco y seleccionar las técnicas de solubilización son fundamentales para el desarrollo de un producto (preformulación). Uno de los principales factores que influye en el proceso de absorción del fármaco es la solubilidad del IFA. Mejoras en la solubilidad dan como resultado una mayor biodisponibilidad de los IFAs después de la administración por vía oral.(30) Es por ello que la evaluación biofarmacéutica tanto del fármaco como de un nuevo producto (medicamento) es fundamental para poder comparar si existe una mejora en la solubilidad del mismo dentro de una formulación.

2.7 ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA BAJA SOLUBILIDAD ACUOSA DE LOS IFA CLASE II (SCB).

Existen diferentes estrategias farmacéuticas que permiten mejorar la solubilidad acuosa de IFAs pertenecientes a la CLASE II dentro del SCB (fármacos poco solubles en agua, con alta permeabilidad intestinal). Según la naturaleza de la modificación, pueden ser clasificadas como químicas (ajuste de pH, diseño de un profármaco) o físicas.(31) También se pueden aplicar conjuntamente (modificación del estado sólido, disminución del tamaño de partícula, ciclodextrinas).

2.7.1 Modificaciones Químicas

Ajuste del pH. La absorción de un IFA depende en gran medida de la difusión, que varía con el pH de las regiones individuales del tracto gastrointestinal, el pK_a del fármaco y la permeabilidad. Los IFAs poco solubles en agua que son ionizables (protonadas o desprotonadas) pueden

potencialmente disolverse en agua aplicando un cambio de pH. Hay excipientes que ayudan a la solubilización de un fármaco débilmente ácido aumentando el pH dentro de una forma de dosificación (tableta o cápsula) y hay excipientes que actúan como agentes acidificantes para aumentar la solubilidad de fármacos débilmente básicos.(32)

Diseño de un profármaco. Un profármaco presenta una modificación química de la estructura del fármaco original y se puede definir como un medicamento inactivo o menos activo, de tal modo que exhibe una mejora en las propiedades fisicoquímicas. Este debe tener la capacidad de generar el fármaco original activo a través de una rápida biotransformación.(33)

2.7.2 Modificaciones Físicas

Disminución en el tamaño de partícula. La solubilidad de los fármacos está íntimamente relacionada con el tamaño de partícula de los mismos, una reducción en el tamaño de partícula a escala micro- o nanométrica es, por lo tanto, uno de los métodos más comunes para mejorar la biodisponibilidad de fármacos en la industria farmacéutica. Las partículas de fármaco micronizado, que son $<10 \mu\text{m}$, se pueden lograr mediante molienda convencional.(34) Mientras que, las partículas nanocristalinas, que son menores a $1 \mu\text{m}$, se pueden producir por precipitación química o por desintegración utilizando homogenización a alta presión. La reducción del tamaño de partícula puede dar como resultado un aumento en el área de superficie y una disminución en el espesor de la capa de difusión, que puede mejorar la velocidad de disolución de un fármaco. (35)

Complejos con ciclodextrinas. Las ciclodextrinas (CD) son una familia de oligosacáridos cíclicos que presentan una superficie hidrofílica y una cavidad central hidrofóbica que de acuerdo con el número de monómeros de sacáridos se clasifican en α , β o γ . Las ciclodextrinas pueden interactuar con las moléculas de fármaco del tamaño adecuado para producir un complejo de inclusión con enlaces no covalentes, ofreciendo ventajas sobre el fármaco puro. Las CD se usan principalmente para mejorar la solubilidad acuosa, la estabilidad fisicoquímica y la biodisponibilidad de fármacos clase II y IV del SCB.(36)

Tensoactivos y lípidos. Los lípidos son excipientes importantes en las formulaciones autoemulsionantes, porque puede solubilizar cantidades significativas de fármaco con baja solubilidad acuosa dependiendo de la naturaleza del triglicérido. Las propiedades autoemulsionantes de una formulación requieren la incorporación de cantidades elevadas de tensioactivo, además del vehículo oleoso portador de fármaco. Los tensioactivos pueden mejorar la afinidad entre los lípidos y la membrana intestinal o aumentar la permeabilidad de dicha

membrana alternado la organización estructural de la bicapa lipídica lo que conlleva a una mejora de la penetración y, por lo tanto, la velocidad de disolución del fármaco aumenta. Varios compuestos que tienen propiedades tensioactivas pueden emplearse para el diseño de sistemas autoemulsionantes, siendo los más ampliamente recomendados los tensoactivos no iónicos con valores relativamente altos de balance hidrófilo-lipófilo.(37)

Dispersiones sólidas. La dispersión sólida (DS) se refiere a un grupo de mezclas sólidas de al menos dos componentes diferentes, generalmente una matriz hidrofílica (cristalina o amorfa) principalmente de origen polimérico y un fármaco con baja solubilidad acuosa.(38) Con la formación de DS se puede llevar a cabo una reducción del tamaño de partícula del fármaco, una mayor humectación o un cambio en el estado físico del fármaco, mismo que puede estar disperso molecularmente, o estar presente en forma de partículas amorfas o cristalinas, dependiendo en gran medida de las interacciones fármaco-matriz, así como del método de preparación.(39)

Algunas de las modificaciones físicas aplicadas para la mejora de la solubilidad de *RS-PZQ* se enlistan en **Tabla 3** siendo la formación de DS la estrategia más utilizada. Cabe señalar que ninguna ha sido aplicada para el enantiómero activo *R-PZQ*.

Tabla 3. Modificaciones físicas utilizadas para mejorar la solubilidad acuosa de *RS-PZQ*.

Estrategia	Excipiente(s)	% Disuelto	Referencia
Dispersiones solidas	Gelucire (1:1)	Q _{120min} = 58	(40)
	PEG 6000 (1:2)	Q _{720min} = 82	(41)
	PEG 4000:P188 (1:3.75:1.25)	Q _{45min} = 98	(42)
	PVP (1:9)	Q _{600min} = 99	(43)
Complejos con ciclodextrinas	β-Ciclodextrina	Q _{240min} = 88	(44)
Nanopartículas lipídicas	Compritol 888 ATO y acetato de butilo	Q _{4320min} = 85	(45)

Es importante destacar que para todas estas estrategias se utilizó el racemato *RS-PZQ*.

Modificación del estado sólido. Al modificar el estado sólido de un IFA se influye en la fuerza de las interacciones fármaco-fármaco, determinando su solubilidad y velocidad de disolución. Usualmente un alto desorden estructural en el sólido conlleva a una disminución en las interacciones fármaco-fármaco y, por lo tanto, hay una mejora en la solubilidad. Esto ocurre en la formación de los sólidos amorfos.(31,46)

La ingeniería de cristales ofrece una serie de rutas para realizar diferentes modificaciones de IFAs incluyendo la formación de polimorfos, sales, hidratos/solvatos y cocristales que, a diferencia de los sólidos amorfos, presentan un ordenamiento periódico de sus moléculas en el espacio (Figura 4).

Estas modificaciones se pueden llevar a cabo teniendo un amplio conocimiento tanto de los procesos de cristalización como de las propiedades fisicoquímicas de los IFAs. La ingeniería de cristales se encarga de aplicar los conceptos de la química supramolecular al estado sólido, resaltando la idea de que los sólidos cristalinos son manifestaciones de autoensambles de moléculas.(47,48)

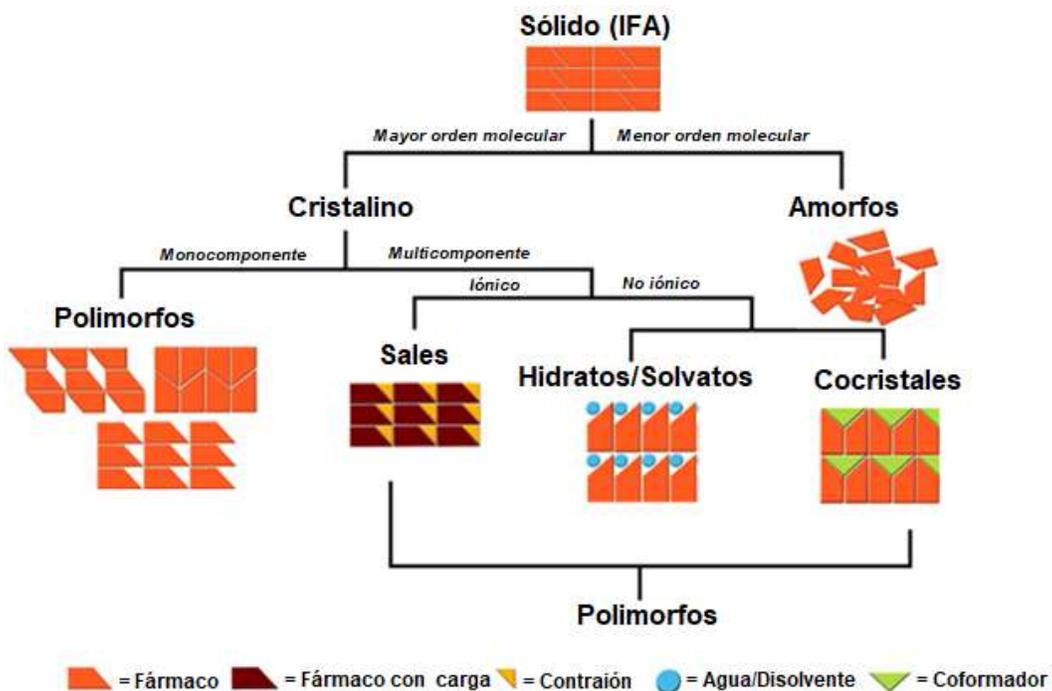


Figura 4. Representación esquemática de las diferentes formas del estado sólido de un IFA que se pueden utilizar en diferentes formulaciones.(49)

- a) *Amorfos*. Las formas amorfas se definen como materiales no cristalinos que poseen un alto desorden de las moléculas, átomos o iones en el sólido. Estos son materiales interesantes ya que pueden generar concentraciones de fármaco mucho mayores que sus formas cristalinas (polimórficas). Los amorfos en general se obtienen evitando la formación de una estructura cristalina o alterando un cristal ya existente.(46)
- b) *Polimorfos*. El término polimorfismo refiere aquellos sistemas cristalinos monocomponentes, en los cuales un IFA puede presentar arreglos estructurales

diferentes. Sin embargo, cada uno de los arreglos consiste exactamente en la misma composición elemental del IFA. Esto puede incluir productos de solvatación o hidratación (también conocidos como pseudopolimorfos). Dentro de las propiedades fisicoquímicas, que se pueden modificar con la formación de polimorfos destacan: la solubilidad, la velocidad de disolución, el punto de fusión y la estabilidad. La mayoría de los fármacos exhiben polimorfismo estructural y es preferible desarrollar el polimorfo termodinámicamente más estable del fármaco para garantizar una biodisponibilidad reproducible del producto durante su vida útil en una variedad de condiciones de almacenamiento. El polimorfismo debe controlarse estrictamente y someterse a procedimientos reguladores, ya que la forma cristalina puede tener un gran impacto en la biodisponibilidad de un IFA y, en última instancia, en su rendimiento terapéutico.(47,50) Aunque hasta hace poco no se habían encontrado polimorfos de *RS-PZQ*, un estudio realizado en 2018 reportó la formación de un nuevo polimorfo de *RS-PZQ* por molienda mecánica sin disolvente (20Hz, 4h) descrito como Forma B, el cual mostró una mejora en la VDI (37 °C, $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\text{ min}^{-1}$) siendo dos veces mayor para la Forma B, en comparación con *RS-PZQ* puro.(51)

- c) *Sales*. Las sales son cristales moleculares multicomponente que se distinguen por la transferencia de un protón entre un fármaco ionizable (ácido o básico) y un contraión. La formación de sal es el método más común para aumentar la solubilidad acuosa y la velocidad de disolución de fármacos ionizables y, por lo tanto, para aumentar la biodisponibilidad. En general, si la diferencia de pK_a entre ambas especies es mayor que 2, se puede formar un enlace iónico estable. Se estima que cerca del 50% de los fármacos en el mercado son comercializados como sales, principalmente en forma de clorhidratos, sulfatos, acetatos, etc.(52–54) Al ser aplicable esta técnica únicamente para fármacos ionizables, para *PZQ* no hay reportes sobre la formación de sales al carecer de grupos ionizables.
- d) *Hidratos o solvatos*. El enfoque de la ingeniería cristalina también aplica para la formación de hidratos o solvatos que también pueden mejorar la solubilidad y la velocidad de disolución de IFAs clase II. Durante el proceso de cristalización es posible que moléculas del disolvente queden incluidas dentro de la red cristalina, dado que la molécula del disolvente tiene átomos donadores y aceptores de enlaces de hidrógeno que permite formar enlaces intermoleculares con las moléculas del IFA. Si la molécula atrapada es agua, el cristal resultante es un hidrato; si es incluido otro disolvente, se denomina solvato. Es posible que los hidratos tengan una velocidad de disolución más rápida o más

lenta que la forma anhidra. En general, no es deseable usar solvatos para la administración de fármacos y productos farmacéuticos ya que la presencia de residuos de disolventes orgánicos generar toxicidad. Además, hay límites específicos para disolventes residuales en formulaciones. Por lo tanto, los hidratos son el tipo más común de compuestos orgánicos solvatados.(47,55) Aun cuando se ha descrito que el racemato de PZQ cristaliza en forma anhidra, en la tesis de Maestría de Delgado-Díaz, 2016 se pudo obtener el racemato en forma hemihidratada a partir de la disolución de cocristales de *RS-PZQ* con los ácidos succínico, glutárico y malónico en agua. Este hemihidrato presentó una mejoría en la VDI que fue aproximadamente dos veces mayor que la de *RS-PZQ* anhidro.(56,57)

- e) *Cocristales*. Un cocrystal es un concepto de la química supramolecular que está ganando gran interés entre los investigadores de las ciencias químico-farmacéuticas y de materiales, así como de las agencias reguladoras de medicamentos, debido a su capacidad para modificar las propiedades fisicoquímicas de los ingredientes farmacéuticos activos. Los cocristales se definen como sólidos cristalinos homogéneos que contienen cantidades estequiométricas de dos o más especies moleculares neutras que son sólidas en condiciones ambientales unidas por enlaces no covalentes, es decir enlaces por puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, interacciones π - π , etc.(27,58)

La alteración en el acomodo y/o las interacciones intra e intermoleculares en el estado sólido de los materiales cristalinos impacta directamente en las propiedades físicas de los mismos (**Tabla 4**).

Tabla 4. Propiedades físicas que pueden diferir entre las formas cristalinas de un IFA.(59)

De empacamiento	Volumen molar y densidad, índice de refracción, conductividad eléctrica y térmica, higroscopicidad y color.
Termodinámicas	Temperatura de fusión y sublimación, energía interna o estructural, entalpía, entropía, energía libre y potencial químico, capacidad calorífica, actividad termodinámica, presión de vapor y solubilidad.
Químicas	Reactividad fotoquímica y química.
Espectroscópicas	Transiciones del estado electrónico (UV-Vis), vibracional (IR y Raman) y del <i>spin</i> nuclear (RMN).
Cinéticas	Velocidad de flujo y de reacción en estado sólido, estabilidad.
De superficie	Tensión interfacial y hábito cristalino.
Mecánicas	Dureza, fuerza de tensión, compactabilidad, flujo, mezclado y manipulación.

2.7.3 Cocristales Farmacéuticos

Los cocristales farmacéuticos pertenecen a una subclase de cocristales que surgen como una alternativa para mejorar las características fisicoquímicas de un IFA, incluida la solubilidad, disolución, biodisponibilidad y estabilidad de los compuestos farmacéuticos mientras se mantiene su actividad terapéutica. Los cocristales farmacéuticos están constituidos por al menos de un IFA y un agente cocrystalizante denominado coformador que usualmente es una molécula pequeña, los cuales comparten la misma red cristalina en cantidades estequiométricas. Dentro de las ventajas que presentan los cocristales destacan: su forma cristalina estable (en comparación con los amorfos), no requiere crear o romper enlaces (en comparación con los profármacos), y la existencia de numerosas moléculas que pueden servir como coformadores (aditivos alimentarios, conservadores, excipientes farmacéuticos e incluso IFAs), dando como resultado decenas incluso cientos de cocristales con diferentes propiedades fisicoquímicas. Además, pueden obtenerse utilizando tecnología verde con síntesis de alto rendimiento, sin disolventes o subproductos tóxicos.(60,61) Para los cocristales farmacéuticos los coformadores no deben ser tóxicos.

Para el diseño de un cocrystal es fundamental un profundo conocimiento de los grupos funcionales presentes en el IFA que se desea cocrystalizar, de manera tal que se pueda seleccionar a los candidatos a coformadores más idóneos. En este diseño tiene un papel muy importante y fundamental el concepto de *sintón supramolecular*, que se define como una unidad estructural

entre supermoléculas que se pueden formar y/o ensamblar por el reconocimiento de interacciones intermoleculares. De esta manera se pueden generar patrones de una, dos y tres dimensiones. En general, existen dos tipos de sintones supramoleculares: homosintones, es decir aquellas interacciones que se generan entre grupos funcionales idénticos y heterosintones donde dicho reconocimiento se da entre grupos funcionales diferentes (**Figura 5**). Los sintones más comunes se forman entre ácidos carboxílicos, amidas, carbohidratos, alcoholes y aminoácidos. Puesto que el análisis de las estructuras existentes es fundamental a la hora de establecer los sintones más frecuentes, y por tanto más probables, una herramienta imprescindible en esta búsqueda es la base de datos estructurales de Cambridge (CSD). La CSD permite realizar análisis estadísticos de los motivos en empaquetamientos cristalinos. Asimismo, proporciona información empírica referente a los grupos funcionales y la forma en que interactúan entre ellos, es decir, informa sobre la composición de los sintones supramoleculares. El grupo funcional más estudiado es el grupo carboxílico, que se encuentra presente en 30 de los 100 medicamentos más vendidos en EUA. (48,62–64)

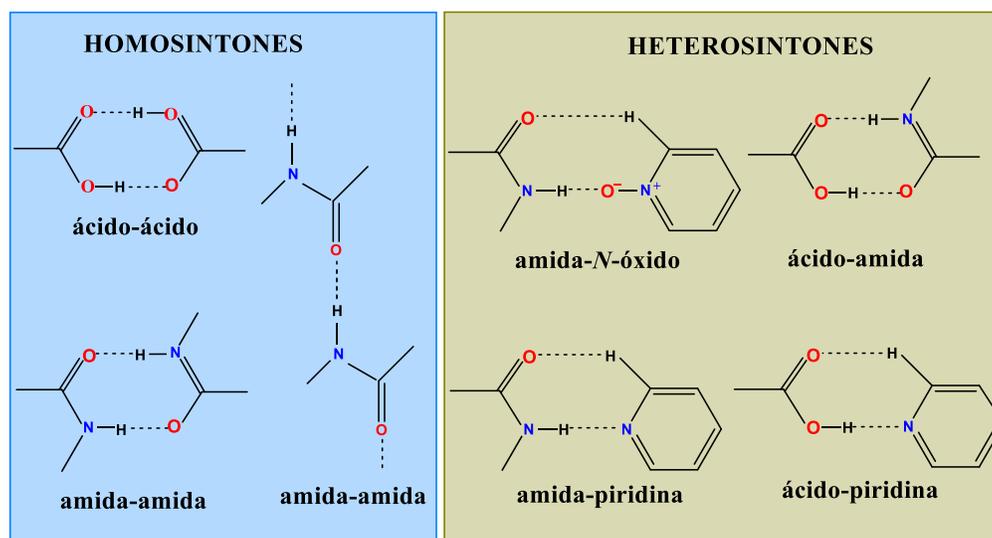


Figura 5. Principales sintones supramoleculares que se generan durante la formación de cocristales.(63)

2.7.4 Métodos de preparación de Cocristales

Los cocristales farmacéuticos se preparan principalmente por métodos en solución y por métodos en estado sólido. Los métodos en solución consisten en mezclar cantidades equimolares del IFA y del coformador en un disolvente adecuado, con la finalidad de que al evaporarse el disolvente se obtengan los cocristales.

Dentro de los métodos en solución más utilizados se encuentran:

- **Transformación mediada por solución (*slurry*):** es un proceso simple que incluye la adición de un disolvente de cristalización a una mezcla de los componentes, es decir, el IFA junto con el coformador preseleccionado, en cantidades estequiométricas. Al formarse una suspensión o pasta, esta se agita hasta que se completa la formación del cocrystal. Una vez formado el cocrystal, se filtra y se deja evaporar el disolvente para su posterior caracterización. Un ejemplo claro de este método es el descrito por Carlos-Martínez para la cocrystalización de Tadalafilo utilizando el ácido *D*-Málico como coformador y acetonitrilo como disolvente en estequiometría 1:1 (fármaco:coformador) La pasta formada se agita durante 1 h y se deja secar por 24 h, obteniéndose 1 g de cocrystal.(49,65)
- **Evaporación lenta de disolvente, cristalización.** Esta técnica es la forma más común de sintetizar cocrystal. En este método, los componentes del cocrystal o coformadores se solubilizan en relación estequiométrica en un disolvente. La solución resultante se deja evaporar lentamente. La solubilidad de ambos reactivos (IFA y coformador) en el disolvente seleccionado juega un papel importante, ya que, si la solubilidad de ambos no es similar, entonces aquel que presenta solubilidad más baja tendrá una tendencia a precipitar. Esta técnica funciona según el principio de que, moléculas con grupos funcionales complementarios forman enlaces de hidrógeno más favorables que aquellos entre cada uno de los componentes moleculares individuales entre sí. En este caso, es probable que el cocrystal sea favorecido termodinámicamente. La principal desventaja de este método es que requiere una gran cantidad de disolvente. Un ejemplo de esta técnica es la síntesis de cocrystal de Fexofenadina con ácido tartárico (1:1). Ambos componentes se disuelven en agua y la solución se calienta lentamente hasta la evaporación del disolvente, dando lugar a la formación del cocrystal.(66,67)

Los métodos de preparación de cocrystal en estado sólido consiste en la síntesis mecanoquímica por molienda en un mortero o en un molino partiendo de cantidades equimolares del IFA y del coformador. Los métodos más comúnmente utilizados son:

- **Molienda en seco.** La molienda en estado sólido es un método de síntesis de cocrystal alternativo al proceso de cocrystalización basado en solución, ya que ofrece un aumento de selectividad y simplicidad sobre la técnica de cristalización en solución. La formación de cocrystal en estado sólido se basa en la activación mecánica de los materiales mediante procesos de molienda; debido a que este es un proceso altamente energético, la formación de cocrystal mediante la comolienda de los reactivos (IFA y coformador) procede a través

de la formación de fases amorfas o desordenadas por los reactivos, aunado a una disminución en el tamaño de partícula.(67,68) Un ejemplo de esta técnica es el utilizado para cocrystalizar cafeína con ácido maléico y malónico en estequiometría 2:1 para ambos casos, llevándose a molienda en mortero durante 30 y 60 min, respectivamente.(69)

- **Molienda asistida con disolvente.** Esta estrategia es alternativa a la molienda en seco para el desarrollo de cocrystalos. Consiste en triturar dos materiales diferentes (IFA y coformador) en cantidades equimolares adicionando una pequeña cantidad de disolvente que actúa como catalizador. La molienda asistida con disolvente surge como una opción para la preparación de polimorfos de cocrystalos al usar diferentes disolventes. Esta técnica no solo está asociada con la síntesis de cocrystalos, sino también con la síntesis de sales cristalinas farmacéuticas.(70)

Adicionalmente a estas técnicas, más recientemente se han descrito otras alternativas para el desarrollo de cocrystalos tales como: la molienda asistida con polímeros donde al igual que en la molienda asistida con gota de disolvente los polímeros actúan como promotores de la formación de cocrystalos. Otros métodos que son conocidos por facilitar la formación de cocrystalos incluyen técnicas de ultrasonido, microfluidización y tecnologías de fluido supercrítico.(71,72)

2.7.5 Caracterización de Cocrystalos

La caracterización de los cocrystalos es de suma importancia y teniendo en cuenta que son sustancias de naturaleza cristalina, su caracterización no difiere de la que se realiza para cualquier otro sólido farmacéutico (sales, polimorfos, solvatos e hidratos). Existen diferentes métodos analíticos para su caracterización desde una simple determinación del punto de fusión hasta la determinación completa de su estructura mediante la difracción de rayos X de monocristal (DRXMC). Sin embargo, la obtención de monocristales de buena calidad para una correcta determinación resulta ser todo un desafío. Otros métodos incluyen el análisis de la morfología del cristal por métodos microscópicos, el estudio de la transición de fase por métodos térmicos (TGA-DSC), y la caracterización del ambiente químico con el uso de espectroscopía vibracional y RMN en estado sólido (63,67).

A continuación, se describe brevemente el fundamento de la técnica empleada principalmente en este proyecto.

Difracción de rayos X. La difracción de rayos X de polvos (DRXP) se usa comúnmente como el método inicial para la caracterización de nuevas fases sólidas (NFS), comparando los patrones de difracción de rayos X entre todas las formas conocidas de la IFA y el coformador. Si por DRXP

se encuentra una NFS, se procede a la caracterización adicional por otros métodos. Es importante destacar que la mayoría de los IFAs solo pueden prepararse como polvos microcristalinos. Patrones diferentes de DRXP corresponden a diferentes estructuras cristalinas; por ello son considerados como "huellas dactilares" de fases cristalinas específicas tanto para IFAs polimórficos, sales o cocristales.(73)

En una muestra cristalina (**Figura 6**), los átomos se encuentran agrupados de forma periódica y ordenada, por lo que, al interactuar con radiación de rayos X, estos son dispersados en todas direcciones, produciendo fenómenos de interferencia, tanto constructivas como destructivas. La mayor parte de las dispersiones son del tipo destructivo, cancelándose entre sí, pero en situaciones geométricas particulares, debido a la periodicidad de los átomos, las ondas dispersadas se encuentren en fase y se refuerzan entre sí, dando origen al fenómeno de difracción. El fundamento de esta técnica se basa en la incidencia de un haz de rayos X en la superficie de un cristal en un ángulo θ , donde una porción del haz es difractada por la capa de átomos de la superficie. La porción no difractada del haz penetra a la segunda capa de átomos donde, de nuevo, una fracción es difractada, y la que queda pasa a la tercera capa, y así sucesivamente. La longitud de onda de la radiación electromagnética en el rango de los rayos X es cercana a la distancia interatómica de aproximadamente 10^{-10} m, equivalente a 1 Å. La difracción (interferencia constructiva) ocurre solo a ángulos que cumplen la ley de Bragg: $n\lambda=2d\sin\theta$, donde n es un número entero, λ es longitud de onda de la radiación usada, d es el espacio perpendicular entre una serie de planos de la red cristalina y θ es el ángulo entre los rayos X incidentes y el plano de reflexión. En ángulos que no cumplen la ecuación ocurre interferencia destructiva. (29,74)

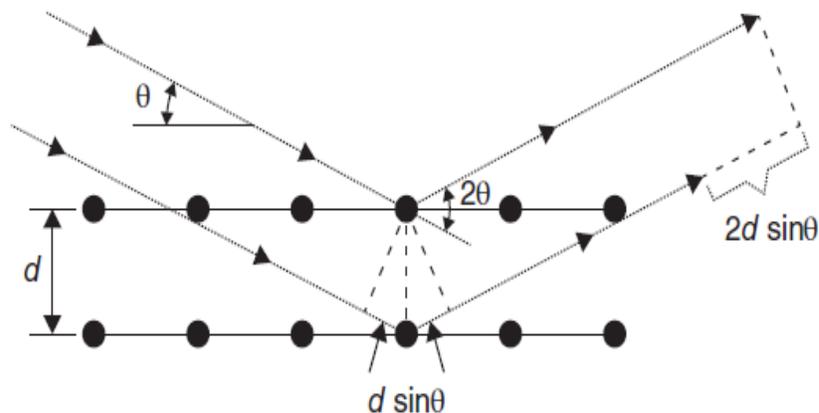


Figura 6. Rayos X difractados por un cristal según la ley de Bragg.(29)

Para caracterizar completamente un IFA es importante establecer su estructura cristalina mediante cristalografía de rayos X de monocristal, que es considerada como una herramienta de suma utilidad para la investigación de sólidos cristalinos. En el mejor de los casos con esta técnica se puede realizar una determinación completa de la estructura del sólido y del mismo modo conocer las interacciones entre moléculas individuales dentro del sólido cristalino.(75)

2.8 SOBRESATURACIÓN

La sobresaturación de un IFA se define como una condición en la que los fármacos se disuelven en una solución por razones cinéticas a una concentración superior a su solubilidad termodinámica. Al tener una solución sobresaturada de un IFA en el lumen gastrointestinal durante un tiempo suficiente para que el fármaco se absorba, se puede dar como resultado una mejora en el flujo a través de la pared intestinal y, por ende, una mayor absorción del mismo. El fenómeno de sobresaturación se describe con el enfoque resorte-paracaídas (**Figura 7**).^(76,77) El efecto “resorte” del sistema sobresaturado está formado por la rápida disolución de una forma de alta energía del IFA como pueden ser los sólidos amorfos, las sales farmacéuticas, los sistemas lipídicos y los cocrystalos farmacéuticos. Debido a que el estado de sobresaturación es una condición termodinámicamente inestable, los IFAs en tal estado tienden a precipitar (cristalizar) a la forma más estable y, por lo tanto, la concentración del fármaco disuelto disminuirá sin poder alcanzar concentraciones favorables para una buena absorción. Para evitar este fenómeno, se requiere del efecto “paracaídas” en el sistema, es decir, inhibir la precipitación del IFA en soluciones sobresaturadas. Este efecto se puede alcanzar por la adición de otros componentes (polímeros, tensoactivos y ciclodextrinas) a la formulación que alteran la nucleación y/o el crecimiento de cristales y, por lo tanto, estabilizan el estado metaestable en el fármaco sobresaturado. Para imitar dicho entorno, deben asegurarse condiciones sobresaturadas (no *sink*) cuando se realizan pruebas de disolución en la investigación de la inhibición de la precipitación del fármaco mediado por excipientes. En otras palabras, estos estudios (disolución de polvos) permiten evaluar el comportamiento de la precipitación del fármaco después de la liberación del fármaco.⁽⁷⁸⁾

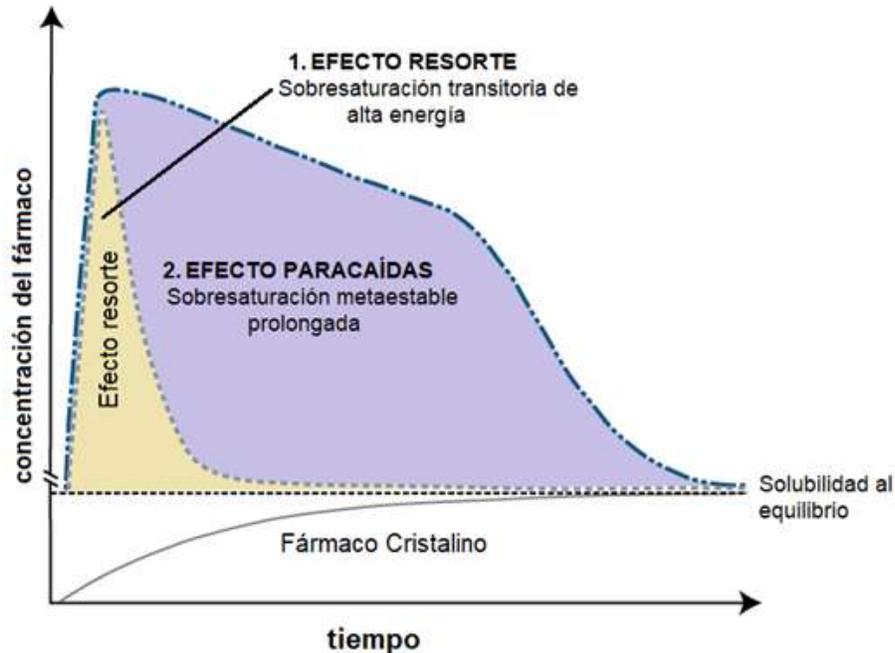


Figura 7. Esquema de los perfiles de disolución de un IFA cristalino con baja solubilidad acuosa, **1)** Una forma cocrystalina genera un efecto resorte y **2)** el fármaco con excipiente estabilizante en solución que prolonga el estado de sobresaturación (efecto resorte-paracaídas).(76)

El efecto del mantenimiento de la sobresaturación (efecto paracaídas) por los componentes de la formulación que generalmente son polímeros inhibidores de la precipitación (PIP), varía ampliamente según la estructura química del IFA, la estructura del polímero, así como el medio de disolución empleado, lo que hace que el desarrollo de herramientas predictivas para un proceso de selección de PIP farmacéutico racional y eficiente sea más complejo.

Aunque los PIP han sido ampliamente estudiados en muchos otros sistemas (principalmente amorfos), tales estudios son escasos para formulaciones basadas en cocrystalinas. Recientemente, se ha encontrado que la competencia de interacciones intermoleculares, principalmente por puentes de hidrógeno, entre fármaco-coformador, fármaco-polímero y coformador-polímero son los responsables de mantener la sobresaturación mediante la inhibición de la precipitación (nucleación y crecimiento cristalino) en un estado sobresaturado del cocrystal en solución con un polímero predisuelto. Debe destacarse que al encontrarse los PIP predisueltos no solo pueden funcionar como inhibidores para mantener el estado sobresaturado del fármaco original, sino que también influyen en las propiedades de disolución de los sistemas cocrystalinos.(79) Cuanto mayor sea el grado inicial de sobresaturación, más rápida será la precipitación. Se puede lograr

la inhibición de la precipitación termodinámica del fármaco al reducir el grado de sobresaturación, o cinéticamente al inhibir o retardar la precipitación del fármaco en sistemas sobresaturados.

Son varios los polímeros farmacéuticos que pueden generar y mantener un estado sobresaturado de IFAs durante un período prolongado, donde se ha confirmado que estos inhiben cinética o termodinámica la precipitación por retardo de la nucleación del fármaco y/o del crecimiento de cristales e incluso cambian las propiedades en dependencia del medio de disolución empleado. (77) Los diferentes mecanismos de acción de los PIP sobre la inhibición de la precipitación de IFAs en sistemas sobresaturados se enlistan en **Tabla 5**.

Tabla 5. Mecanismos de inhibición de la precipitación de los PIP. (77,80,81)

Mecanismo de inhibición de la precipitación	Excipientes	Descripción
Solubilización	Tensioactivos, ciclodextrinas	Reducción del grado de saturación por aumento de la solubilidad aparente del IFA.
Interacciones hidrofóbicas y rigidez del polímero	Polímeros	Un aumento en la hidrofobicidad además de afectar la nucleación, inhibien y/o retrasa el crecimiento cristalino, al formar una recubierta alrededor de los cristales recién formados.
Peso molecular (PM) del polímero e impedimento estérico	Polímeros	Se ha reportado que polímeros de mayor peso molecular prolongan el estado sobresaturado en comparación con los de menor PM.
Viscosidad del medio	Polímeros	Un aumento en la viscosidad local que rodea la disolución del IFA por polímeros de mayor PM disminuye la velocidad de difusión del fármaco
Interacciones por puentes de hidrógeno	Polímeros, tensioactivos	Al aumentar el número de sitios de interacciones por puentes de hidrógeno aumenta la interacción entre el IFA y el excipiente por lo que retrasa la nucleación y/o el crecimiento cristalino.
Adsorción del polímero a la superficie cristalina	Polímeros, tensioactivos	La adsorción del excipiente a las interfaces de los núcleos cristalinos ralentiza el crecimiento de los cristales.
Formación de estructuras nanoensamblada (coloides)	Polímeros	Las regiones hidrófilicas de los polímeros permiten que agregados IFA-polímero permanezcan como coloides estables en solución acuosa.

2.8.1 Cocristales de Praziquantel

Dentro del grupo de investigación en 2013 Espinosa-Lara *et al.*(82) obtuvieron ocho cocristales de *RS*-PZQ a diferentes estequiometrías utilizando ácidos carboxílicos alifáticos saturados e insaturados como coformadores (**Tabla 6**). En presencia de disolventes tales como acetona y acetonitrilo, fueron la cristalización y molienda asistida con disolvente (*liquid-assisted grinding*, LAG) las técnicas que permitieron la obtención de las nuevas fases sólidas.(82)

Tabla 6. Coformadores utilizados para la síntesis de cocristales de *RS*-PZQ.(82)

Coformador	Estequiometría (<i>RS</i> -PZQ:coformador)	Coformador	Estequiometría (<i>RS</i> -PZQ:coformador)
Ác. Oxálico	1:1	Ác. Fumárico	1:1
Ác. Malónico	1:1	Ác. Glutárico	1:1
Ác. Succínico	1:1	Ác. Adípico	1:1
Ác. Maléico	2:1	Ác. Pimélico	2:1

Posteriormente en 2015 Sánchez-Guadarrama *et al.*, del mismo grupo de investigación, realizaron la resolución quiral del racemato *RS*-PZQ mediante la síntesis de cocristales diastereoisoméricos *R*-PZQ:*L*-Mál + *S*-PZQ:*L*-Mál (1:1) en acetato de etilo, utilizando como auxiliar quiral el ácido *L*-Málico. Se dio lugar a la resolución quiral dada la diferencia de solubilidades que presentaron estos cocristales en el disolvente, siendo el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál el más estable y, por lo tanto, menos soluble precipitando rápidamente. Una vez obtenido el cocrystal del enantiómero activo, este se disoció en medio acuoso obteniendo el hemihidrato de *R*-PZQ (*R*-PZQ·0.5H₂O) (**Figura 8**).(19)

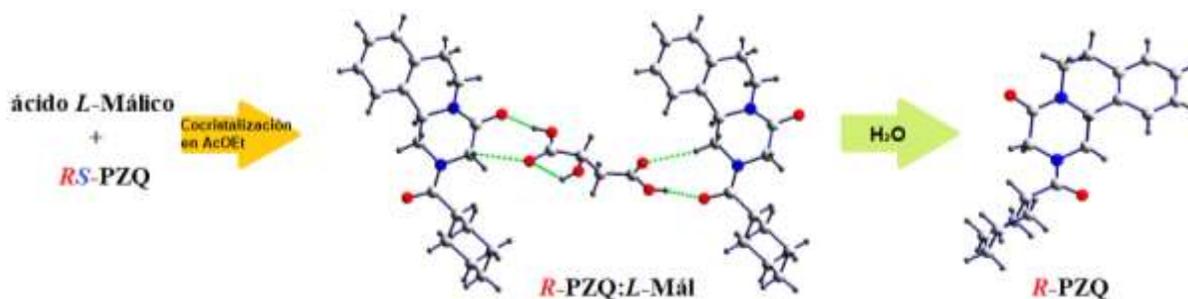


Figura 8. Representación esquemática de la resolución quiral de *RS*-PZQ en presencia del coformador quiral ácido *L*-Málico.(19)

En una etapa consecutiva en 2017 Ruiz-Rodríguez, en su tesis de Maestría desarrolló la síntesis de cocrisales del enantiómero activo *R*-PZQ mediante molienda asistida con acetona, utilizando los ácidos: succínico, glutárico, adípico y pimélico como coformadores (**Tabla 7**).(83)

Tabla 7. Coformadores utilizados para la síntesis de cocrisales del enantiómero activo de praziquantel (*R*)-PZQ.(83)

Coformador	Estequiometría (<i>R</i> -PZQ:coformador)
Ác. Succínico	1:1
Ác. Glutárico	1:1
Ác. Adípico	1:1
Ác. Pimélico	2:1

2.9 EVALUACIÓN BIOFARMACÉUTICA DE COCRISTALES DE PZQ

La evaluación biofarmacéutica de los cocrisales *RS*-PZQ:ÁcSuc y *RS*-PZQ:ÁcGlu en medio acuoso de HCl pH 1.2 realizado por Alejandra Delgado en 2016, mostró que estos cocrisales son inestables en agua por la rápida disociación del cocrystal, haciéndose presente la forma sólida identificada como el hemihidrato de *RS*-PZQ (HCl pH 1,2).(56) Por ello, se inició la búsqueda de polímeros inhibidores de la precipitación (PIP) que pudieran aumentar y prolongar la sobresaturación generada por las fases cocrystalinas, encontrándose que los polímeros metilcelulosa (MC) e hidroxipropilcelulosa (HPC) tuvieron un aumento importante en la concentración de *RS*-PZQ (**Figura 9**).

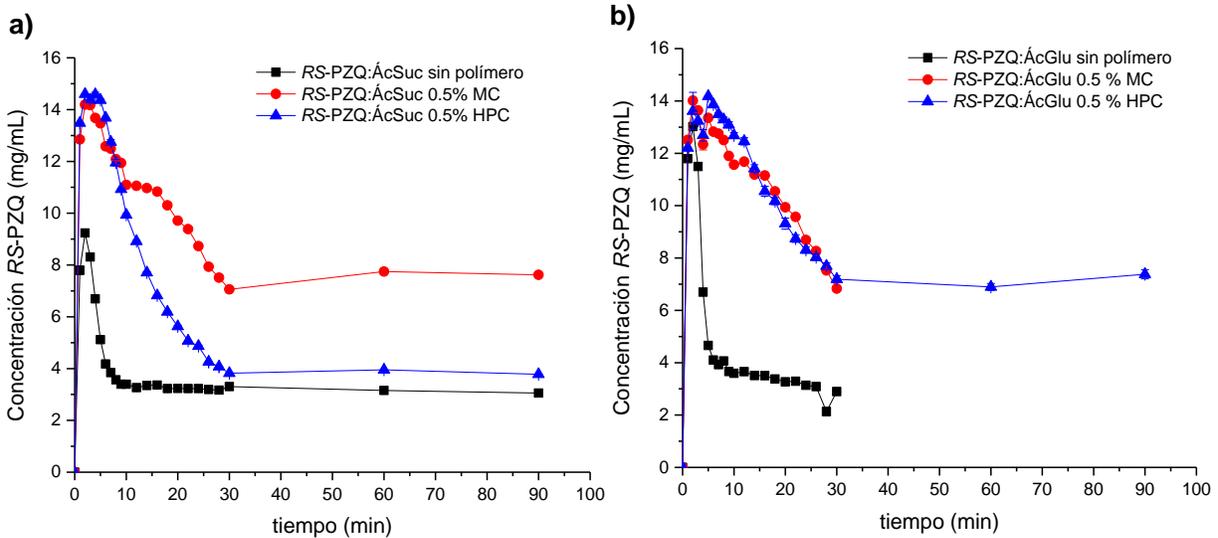


Figura 9. Perfiles de disolución en condiciones saturadas de cocrystalos del racemato *RS-PZQ* a) *RS-PZQ:ÁcSuc* y b) *RS-PZQ:ÁcGlu* con y sin polímeros MC y HPC predisueltos en HCl pH 1.2 al 0.5 % p/v.(56)

Dentro de la investigación reportada en su tesis de maestría Rodríguez-Ruiz(83) también realizó una evaluación biofarmacéutica de los cocrystalos, pero aplicada al enantiómero activo *R-PZQ* utilizando como coformadores los ácidos succínico y glutárico. Al predisolver los polímeros MC o HPC al 0.5% p/v, se observó un efecto resorte-paracaídas similar al obtenido por Alejandra Delgado con la adición de los polímeros. En el caso del cocrystal *R-PZQ:ÁcSuc*, la sobresaturación no se alcanzó a observar hasta que se preformuló con los polímeros derivados de celulosas (**Figura 10**).

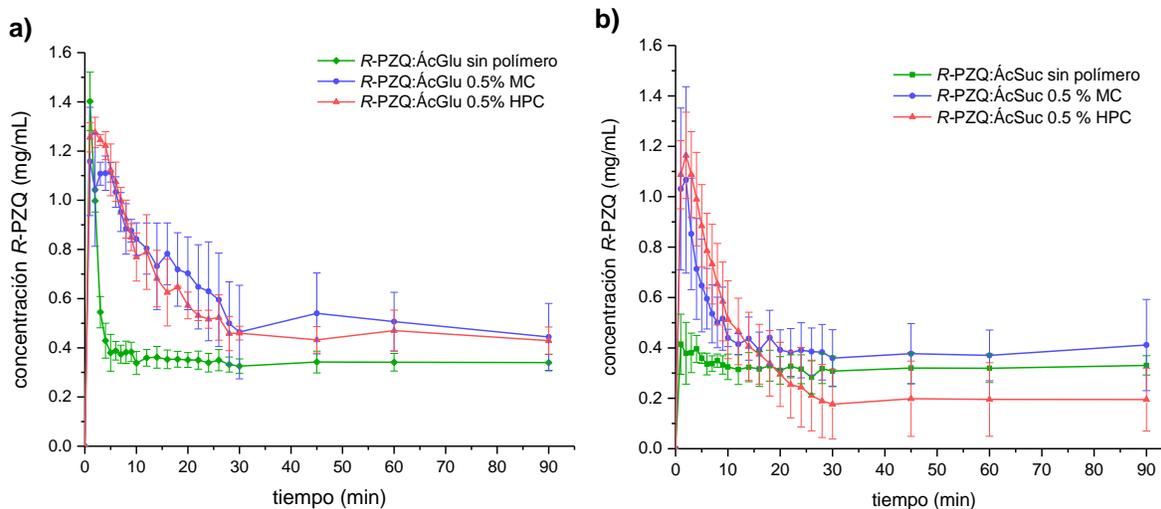


Figura 10. Perfiles de disolución fen condiciones saturadas de cocrisales del enantiómero activo *R*-PZQ **a)** *R*-PZQ:ÁcSuc y **b)** *R*-PZQ:ÁcGlu con y sin polímeros (MC o HPC) predisueltos al 0.5 % p/v.(83)

Con base en los resultados obtenidos dentro del grupo de investigación sobre la influencia que tienen los polímeros MC y HPC frente a cocrisales tanto del racemato como del enantiómero activo de PZQ, surge el interés de también realizar la evaluación biofarmacéutica del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál. Además del aumento en la VDI, este cocrystal se obtiene de forma directa en el proceso de resolución quiral de *RS*-PZQ, por lo que requiere menos pasos de reacción, razón que a nivel industrial significa costo y tiempo. La síntesis de los cocrisales. *R*-PZQ:ÁcSuc y *R*-PZQ:ÁcGlu requiere de dos pasos de reacción adicionales (*R*-PZQ:*L*-Mál → *R*-PZQ·0.5H₂O → *R*-PZQ:ÁcSuc/Glu).

3. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo de cocrystalos ha adquirido gran auge en los últimos años, debido a la mejora en las propiedades fisicoquímicas de un fármaco como solubilidad y velocidad de disolución, parámetros que son de suma importancia para que los IFAs sean absorbidos, lleguen a circulación sanguínea y lleven a cabo su efecto terapéutico. Teniendo en cuenta que un alto porcentaje de fármacos se encuentran en fase de investigación y desarrollo clase II del SCB (alta permeabilidad, baja solubilidad), existe un compromiso de los científicos farmacéuticos en el uso cocrystalos como una forma sólida alternativa en los estudios de preformulación.

Praziquantel es un fármaco clase II (SCB) antihelmíntico de amplio espectro, útil para el tratamiento de enfermedades causadas por céstodos y tremátodos. Dada su baja solubilidad acuosa (0.4 mg/mL, 25°C), tiene como consecuencia una baja biodisponibilidad al administrarse por vía oral, limitando su efecto terapéutico aun cuando es administrado a dosis altas. Gracias a su estructura química deficiente en grupos ionizables, dentro del grupo de investigación de química supramolecular se llevó a cabo la modificación del estado sólido con la formación de cocrystalos farmacéuticos, utilizando como coformadores diferentes ácidos carboxílicos que permitieron mejorar la solubilidad y velocidad de disolución de PZQ. Recientemente, mediante cocrystalización, utilizando como coformador quiral el ácido *L*-Málico, se pudo realizar la resolución racémica de la forma hemihidratada del enantiómero activo *R*-PZQ. Por otra parte, al realizar la evaluación biofarmacéutica de este cocrystal resultó ser inestable en medio acuoso (HCl, pH 1.2), debido a la rápida disociación del cocrystal haciéndose presente el hemihidrato de *R*-PZQ. Por lo tanto, la mejora en la solubilidad que presenta este cocrystal no es suficiente para que se lleve a cabo una buena absorción del mismo en el tracto gastrointestinal. Es por ello por lo que la incorporación de excipientes poliméricos que ayuden a mantener y/o aumentar el estado de sobresaturación de PZQ partiendo cocrystal con ácido *L*-Málico es de especial interés en este proyecto. Adicionalmente, en este estudio se empleó una fase cocrystalina que contiene únicamente el enantiómero biológicamente activo (*R*-PZQ).

4. HIPÓTESIS

Una formulación de los cocristales *R*-PZQ:*L*-Málico y *RS*-PZQ:*L*-Mál (*R*-PZQ:*L*-Mál + *S*-PZQ:*L*-Mál) a base de polímeros hidrofílicos permitirá mejorar la baja solubilidad acuosa de PZQ, aumentando y prolongando la concentración de PZQ disuelto en comparación con el hemihidrato del enantiómero activo *R*-PZQ y el racemato *RS*-PZQ.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de excipientes poliméricos sobre los perfiles de disolución del sistema cocrystalino de Praziquantel con ácido *L*-Málico

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar las siguientes fases de PZQ: hemihidrato de *R*-PZQ, mezcla de cocrisales diastereoméricos *RS*-PZQ:*L*-Mál (*R*-PZQ:*L*-Mál + *S*-PZQ:*L*-Mál) (1:1) y cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál (1:1)
- Optimizar las condiciones para la obtención de cocrisales diastereoméricos por la técnica de molienda asistida con disolvente.
- Determinar la solubilidad aparente del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál en medio acuoso (HCl pH 1.2).
- Analizar la estabilidad de fase del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál con y sin polímeros hidrofílicos predisueltos (MC o HPC).
- Realizar formulaciones sólidas de los cocrisales diastereoméricos de *RS*-PZQ con ácido *L*-Málico con polímeros MC o HPC a concentraciones 1:0.3 y 1:0.5 (fármaco:polímero).
- Evaluar los perfiles de disolución de las formulaciones sólidas de la mezcla de cocrisales diastereoméricos *RS*-PZQ:*L*-Mál en HCl pH 1.2.
- Seleccionar la mejor formulación y evaluar el perfil de disolución con el sistema cocrystalino de *R*-PZQ y ácido *L*-Málico.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 REACTIVOS

Todos los reactivos y disolventes se utilizaron tal cual se recibieron por parte del proveedor, es decir no recibieron purificación posterior.

Tabla 8. Reactivos utilizados en este proyecto con nombre de fabricante y pureza (si está determinada)

Reactivos	Fabricante	Pureza (%)
<i>RS</i> -Praziquantel	Sigma-Aldrich	≥98%
Ácido <i>L</i> -Málico	Sigma-Aldrich	99.5
Methocel® 60HG	Sigma-Aldrich	28-30% base de metoxilo
Hidroxipropilcelulosa 80000	Sigma-Aldrich	n/d
Acetato de Etilo	J.T. Baker	Grado reactivo
Acetona	J.T. Baker	Grado reactivo
Acetonitrilo	J.T. Baker	Grado reactivo
Agua bidestilada	ELGA PURELAB Option-R 7 BP	n/d
Agua desionizada	ELGA PURELAB Option-R 7 BP	n/d
Ácido clorhídrico	J.T. Baker	36.5%

n/d=no determinado

6.1.1 Coformador

Ácido *L*-Málico. El ácido *L*-Málico se presenta como un polvo blanco, inodoro, de granulometría variada. Es generalmente reconocido como seguro (GRAS), su estructura molecular se muestra en la **Figura 11** Se usa como adyuvante en numerosas aplicaciones alimentarias como regulador de acidez. Dado que presenta grupos donadores y aceptores de puentes de hidrógeno ha permitido la formación de diversos cocristales con itraconazol, teofilina, cafeína y praziquantel por mencionar algunos.(84) Se le asocian dos constantes de disociación (pK_a) $pK_{a1} = 3.40$ y $pK_{a2} = 5.20$, y presenta una solubilidad en agua de 55.8 g /100 mL (20 °C).

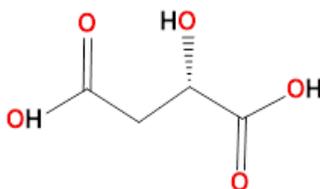


Figura 11. Estructura molecular del ácido *L*-Málico, coformador utilizado para la síntesis del cocristal utilizado en esta tesis.

6.1.2 Polímeros

Metilcelulosa 60 HG (MC). Es un metil éter de celulosa que contiene grupos metoxi al 28-30%. Dado que la celulosa tiene 3 grupos hidroxilo por unidad de glucosa, se pueden sintetizar metilcelulosas con diferente peso molecular que varían en su solubilidad y viscosidad. Los tipos más frecuentemente utilizados en farmacia contienen de 1 a 2 grupos metoxi por unidad de glucosa. Se presenta como gránulos blancos y fibrosos. Es insoluble en éter, alcohol o cloroformo; soluble en ácido acético; se hincha en agua, produciendo una solución coloidal viscosa, es insoluble en agua caliente y en soluciones salinas saturadas. Se emplea como un sustituto sintético de gomas naturales que tienen aplicaciones tanto farmacéuticas como terapéuticas. En farmacia se usa como agente dispersante, espesante, emulsionante, cohesivo y de revestimiento. (85,86) La metilcelulosa utilizada en este proyecto se comercializa como Methocel 60 HG® y será descrita como MC en el escrito (**Figura 12a**).

Hidroxipropilcelulosa 80000 (HPC). Es también conocida como éter hidroxipropílico de celulosa o hipromelosa, es un polvo fibroso casi blanco, inodoro e insípido que se ablanda a 130°C. Al aumentar la temperatura, disminuye su viscosidad y viceversa. Es soluble en agua por debajo de 40°C e insoluble por encima de los 45°C y soluble en la mayoría de los disolventes orgánicos polares. Tiene un amplio uso en farmacia destacando principalmente su función como aglutinante, agente de granulación y para la formación de películas, recubierto de comprimidos. (85,86) La hidroxipropilcelulosa utilizada en este proyecto fue la hidroxipropilcelulosa 80000 y será descrita como HPC en el escrito (**Figura 12b**).

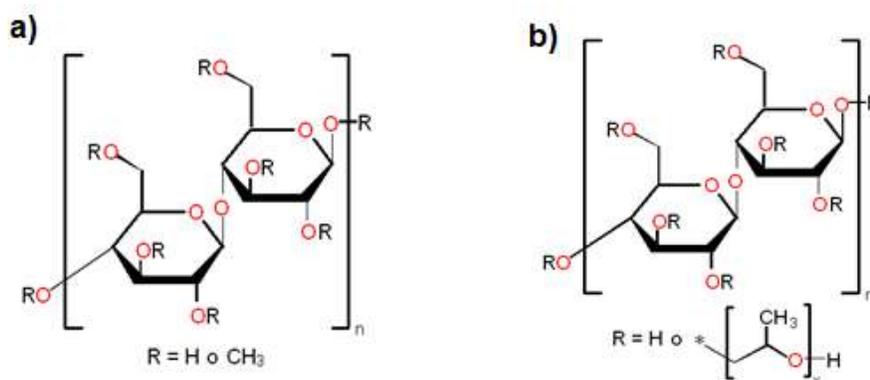


Figura 12. Estructura molecular de polímeros utilizados en esta investigación **a)** metilcelulosa 60 HG y **b)** hidroxipropilcelulosa 80 000.

6.2 INSTRUMENTOS

Nombre	Marca/Modelo
Balanza Analítica	Ohaus/Adventurer
Parrilla eléctrica, con agitación magnética	Thermo Scientific/Cimarec
Potenciómetro	Condustronic/pH 120
Destilador y desionizador de agua	Elga Purelab/Option-R 7 BP
Espectrofotómetro UV-Vis	Agilent Technologies/Varian Cary 50
Molino mezclador de bolas	Retsch/MM400
Equipo personalizado Reaction Station	J-KEM Scientific
Difractómetro de rayos X de polvos 1	Bruker/D8 Advanced
Difractómetro de rayos X de polvos 2	Bruker/D2 Phaser
Disolutor de canastillas	Agilent Technologies/708-DS

6.3 MATERIAL

Nombre	Nombre
Agitadores magnéticos	Pipeta graduada de 10 mL
Cánula	Portafiltro Swinex
Celda de cuarzo	Probeta graduada de 500 mL
Espátulas (diferentes tamaños)	Puntas para micropipeta
Papel Filtro Whatman grado 3	Tamiz N° 50
Frascos de vidrio (250, 500 y 1000 mL)	Tubo condensador lineal de vidrio
Mantas eléctricas	Tubos de ensaye 50 mL
Termómetro de mercurio	Vasos de precipitados (5, 10, 50, 250, 500 y 1000 mL)
Micropipetas (20, 200 y 1000 µL)	Viales de vidrio con taparrosca (5 y 10 mL)
Papel encerado para pesar	Viales de vidrio de 5mL
Matraces volumétricos aforados (5, 10, 25 mL)	

6.4 METODOLOGÍA

6.4.1 Diagrama general para el desarrollo experimental de esta tesis.

El siguiente diagrama resume las actividades realizadas en la parte experimental de esta investigación y a continuación se describe con detalle cada uno.



6.4.2 Síntesis de materias primas

La síntesis del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál, la mezcla de cocrystal diastereoméricos *R*-PZQ:*L*-Mál + *S*-PZQ:*L*-Mál (*RS*-PZQ:*L*-Mál) así como del *RS*-PZQ enantioméricamente puro en su forma hemihidratada *R*-PZQ·0.5H₂O, se llevaron a cabo de acuerdo con la metodología descrita por Sánchez O. *et al.*(19) Es importante resaltar que la mezcla de cocrystal diastereoméricos *R*-PZQ:*L*-Mál y *S*-PZQ:*L*-Mál (*RS*-PZQ:*L*-Mál) se obtiene al reaccionar el racemato *RS*-PZQ con el ácido *L*-Málico.

Cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál. En el caso del cocrystal del enantiómero activo de PZQ con ácido *L*-Málico, este se obtuvo mediante cristalización fraccionada en acetato de etilo. Para ello, se pesaron 1000 mg de *RS*-PZQ y 429 mg de ácido *L*-Málico (estequiometría 1:1), y se colocaron en un matraz balón provisto de agitación magnética y se adicionaron 25 mL de acetato de etilo. La solución se llevó a reflujo a ~90°C por un tiempo de 60 min (tiempo necesario para observar la desaparición de residuos sólidos en el medio de disolución) y se apagó la reacción. Al dejar reposar por aproximadamente 12 h, se observó la formación de cristales de *R*-PZQ:*L*-Mál en el fondo del matraz, que fueron recuperados y pesados después de decantar el exceso de acetato

de etilo. Para obtener cristales de una mayor pureza se realizaron dos recrystalizaciones utilizando el mismo disolvente (30 mL de AcOEt por cada 1000 mg de cocrystal). Para la recrystalización los cristales se colocaron en un vaso de precipitado de 50 mL con agitación magnética y se calentó a 90°C hasta observar la completa disolución de los cristales. Finalmente se dejó reposar por 12 h para después decantar el acetato de etilo y recuperar el sólido del fondo del matraz.

***R*-PZQ·0.5H₂O (hemihidrato de *R*-PZQ).** La obtención del enantiómero activo de praziquantel se llevó a cabo partir de la disociación del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál. En un matraz Erlenmeyer provisto de agitación (30 min) se colocaron 200 mg del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál y 100 mL de agua. Posteriormente el sólido obtenido se filtró al vacío mediante un matraz kitasato y un embudo de porcelana y con papel filtro Whatman N.º 3 con. El sólido recuperado se dejó secar a TA por 24 h. La obtención del *R*-PZQ en su forma hemihidratada fue corroborada por DRXP al comparar los patrones de difracción del sólido con los patrones del hemihidrato de *R*-PZQ calculado a partir de los datos de DRXMC.

Cocrystal diastereoméricos *R*-PZQ:*L*-Mál + *S*-PZQ:*L*-Mál (*RS*-PZQ:*L*-Mál). La preparación de esta mezcla de cocrystal se llevó a cabo mediante molienda asistida con disolvente en un molino de bolas. Para ello se pesaron las cantidades de 35 y 15 mg (estequiometría 1:1) de *RS*-PZQ y ácido *L*-Málico, respectivamente, que fueron trasvasados al contenedor de 2 mL del molino mecánico Retsch MM400. Tras la adición de 10 µL de acetona, se colocó una esfera de acero inoxidable de 7 mm de diámetro y se realizó la molienda mecánica por 30 min a 25 Hz. Posteriormente, los residuos de disolvente se dejaron evaporar a TA durante 1 h, y se recuperó el sólido que se analizó por DRXP.

Optimización de las condiciones de síntesis de la mezcla de cocrystal diastereoméricos *R*-PZQ:*L*-Mál + *S*-PZQ:*L*-Mál por molienda mecanoquímica

Debido a que se requerirían mayores cantidades de los cocrystal diastereoméricos para realizar las formulaciones sólidas y realizar las pruebas de disolución en el aparato I USP (canastillas), se procedió a optimizar el tiempo y la frecuencia para la obtención de los cocrystal por molienda asistida con acetona. A partir de las condiciones descritas en la bibliografía (25 Hz, 30 min),⁽¹⁹⁾ se procedió a disminuir el tiempo en intervalos de 5 min manteniendo la frecuencia (25 Hz) (**Tabla 9a**). Posteriormente se disminuyó la frecuencia, manteniendo constante el tiempo, en el cual se obtuvo el producto en forma pura en la primera serie de experimentos (**Tabla 9b**). Finalmente, la reacción se escaló a 500 mg (por contenedor de molino) equivalente a 10 veces la cantidad de

los reactivos, en las siguientes condiciones: molienda de 10 min a 25 Hz con 100 μ L de acetona. Los sólidos obtenidos fueron analizados por DRXP.

Tabla 9. Variaciones del (a) tiempo (min) y (b) frecuencia (Hz) para la obtención de los cocristales diastereoméricos *R*-PZQ:*L*-Mál y *S*-PZQ:*L*-Mál por molienda asistida con acetona.

a)		b)	
Tiempo (min)	Frecuencia (Hz)	Tiempo (min)	Frecuencia (Hz)
25	25		5
20		10	10
15			15
10			20
5			

6.4.3 Caracterización física de fases sólidas

Los sólidos obtenidos por los diferentes métodos de síntesis, así como las materias primas se caracterización por DRXP. La difracción de rayos X de polvos fue realizada en dos difractómetros:

1. Difractómetro Bruker D8-ADVANCE equipado con un detector LynxEye ($\lambda_{\text{CuK}\alpha 1} = 1.5406 \text{ \AA}$, monocromador de germanio). El equipo fue operado a 40 kV y 40 mA, y los datos fueron colectados a TA en un rango de $2\theta = 5\text{--}45^\circ$ durante 20 min.
2. Difractómetro Bruker D2 PHASER equipado con un detector LynxEye 1D Mode, ($\text{Cu}=1.54184 \text{ \AA}$). El ensayo se realizó en un intervalo de $2\theta = 5\text{--}45^\circ$ durante 10 minutos.

Los datos obtenidos se graficaron mediante el software OriginPro 2016.(56,65,83)

6.4.4 Evaluación Biofarmacéutica

Preparación del medio de disolución para las pruebas de disolución en condiciones saturadas y no saturadas.

El medio acuoso empleado tanto en los ensayos de disolución de polvos como de disolución en el aparato 1 (canastillas) fue el descrito en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) undécima edición para el análisis de tabletas de PZQ, utilizando HCl pH 1.2 (0.1 N). Sin embargo, no se adicionó el lauril sulfato de sodio ya que se le atribuyen propiedades solubilizantes(87) que podrían interferir en el objetivo de estudio del proyecto, que es evaluar el efecto de polímeros.

- El medio de disolución se preparó al agregar 8.5 mL de ácido clorhídrico (HCl, 36-38 %) en 1 L de agua desionizada. Posteriormente se determinó el pH del medio con ayuda del potenciómetro.
- Para la preparación del medio con polímeros predisolultos al 0.5% peso/volumen (p/v) se pesaron y adicionaron 5.00 g de polímero (MC o HPC) a 1 L del medio (HCl pH 1.2) y se agitó hasta la desaparición de residuos sólidos.

Curva de calibración por UV-Vis.

Los ensayos espectrofotométricos para obtener la curva de cuantificación de PZ se realizaron en un equipo Varian Cary 50, empleando una celda de cuarzo con capacidad de 3 mL y un paso del haz de luz de 1 cm. Las curvas de calibración para cuantificar *R*-PZQ y el racemato *RS*-PZQ se realizaron en un medio de HCl pH 1.2, utilizando la misma metodología para el enantiómero y para el racemato. Se preparó una solución madre (200 µg/mL) de PZQ, al pesar 10 mg de *RS*-PZQ y 10.3 mg del hemihidrato de *R*-PZQ, respectivamente. La cantidad pesada se disolvió en 1 mL de acetonitrilo en un vaso de precipitado de 5 mL con agitación constante para asegurar su total disolución. Posteriormente esta solución madre fue trasvasada a un matraz de 50 mL y se aforó con medio acuoso de HCl pH 1.2. A partir de esta solución concentrada se tomaron alícuotas que se colocaron en matraces volumétricos de 10 mL, para establecer la curva de cuantificación (ver **Tabla 10**). Se abarcaron las siguientes concentraciones: 1, 2, 3, 5, 8, 11, 13 y 16 µg/mL.

Tabla 10. Concentraciones de la curva de cuantificación para *RS*-PZQ y *R*-PZQ en HCl pH 1.2

Volumen tomado de solución madre (µL)	Volumen final del aforo (mL)	Concentración final (µg/mL)
50	10	1
100	10	2
150	10	3
250	10	5
400	10	8
550	10	11
650	10	13
800	10	16

Pruebas de disolución de polvos en condiciones saturadas (no sink)

Para realizar esta técnica se siguió la metodología descrita por Delgado-Díaz en su tesis de maestría. (56)

En un reactor J-KEM Scientific que mantiene agitación y temperatura constantes: (Figura 13)

- 1) Se colocó un tubo de ensayo de 15 mL y se adicionaron 200 mg del hemihidrato de *R*-PZQ o *R*-PZQ:L-Mál.
- 2) Después, se agregaron 10 mL de HCl pH 1.2 o HCl pH 1.2 con polímero (MC o HPC) predisoluto al 0.5 % p/v con agitación constante (450 rpm) a 37 ± 0.5 °C.
- 3) Se tomaron muestras de 1 mL con una cánula y jeringa de plástico de 3 mL a los tiempos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 45, 60, 75 y 90 min con reposición inmediata de medio (con o sin polímero predisoluto).
- 4) Cada muestra fue filtrada con porta filtro Swinnex y papel filtro Whatman No. 3. Las muestras filtradas se colocaron en viales de 5 mL, de los cuales se tomaron alícuotas de 100 μ L.
- 5) Se colocaron en matraces aforados de 10 mL para su posterior dilución con el medio acuoso a evaluar (con y sin polímero).
- 6) Finalmente, para determinar la cantidad de *R*-PZQ disuelto en cada muestra aforada, se realizó su cuantificación en un espectrofotómetro UV-Vis a 217 nm de longitud de onda. Previamente se verificó que los polímeros y los coformadores no presentaran bandas de absorción a la longitud de onda a la que absorbe PZQ (datos no mostrados). El estudio se realizó por triplicado para cada experimento. Los datos obtenidos se graficaron con el software OriginPro 2016.

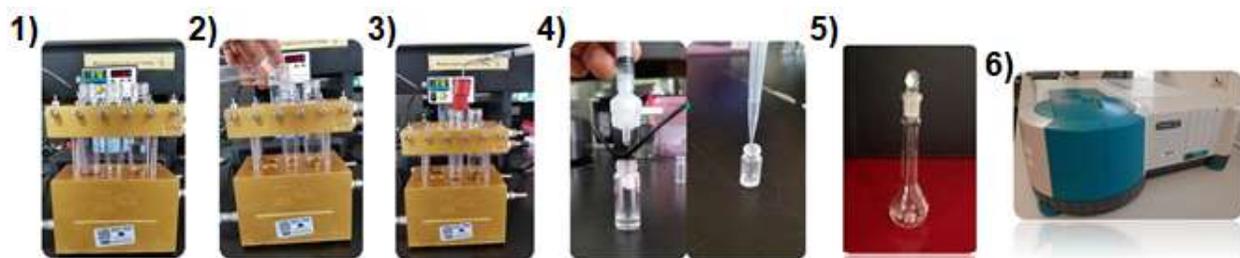


Figura 13. Esquema general de la prueba de disolución de polvos en condiciones saturadas (no sink).

Pruebas de estabilidad de fase

Esta técnica nos permite detectar cambios en la estructura cristalina de los sólidos que se evaluaron en la prueba de disolución de polvos, al comparar los difractogramas de los diferentes sólidos recuperados después de las pruebas con los sólidos del hemihidrato de *R*-PZQ y *R*-PZQ:*L*-Mál. Si ocurre la disociación del cocrystal, se puede determinar el tiempo (min) en que esto sucede, es decir, se puede analizar la estabilidad de fase del cocrystal en presencia de los diferentes medios utilizados con y sin polímeros predisuelto. Únicamente se analizaron los polvos recuperados de una de las pruebas en la disolución de polvos que se realizaron por triplicado.

Formulaciones sólidas

Basándose en los perfiles de las pruebas de disolución de polvos en condiciones saturadas, se observó que ambos polímeros MC y HPC tuvieron un efecto significativo en el aumento y la prolongación de la sobresaturación de *R*-PZQ que fue inducida por el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál. Por ello, se decidió ampliar el estudio con la incorporación de estos polímeros como excipientes sólidos. Para esta etapa se comenzó a trabajar con el racemato de Praziquantel y su forma cocrystalina con el ácido *L*-Málico, con el fin de reducir el tiempo de estudio y ahorrar materias primas. Una vez establecidas las condiciones de con mejor efecto sobre los perfiles de disolución de (RS)-PZQ proveniente de la fase cocrystalina, se utilizó el enantiómero hemihidratado de *R*-PZQ para un estudio complementario.

Para realizar las formulaciones en estado sólido, se empleó la molienda en un molino Retsch MM400 que generalmente es una operación unitaria usada para mezclar los componentes de formas de dosificación oral (tabletas); además esta permite disminuir el tamaño de partícula y por consiguiente tener un impacto positivo en la cantidad de fármaco disuelto.(88)

Se llevaron a cabo moliendas del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál evaluando dos tiempos de molienda (10 y 30 min) y dos frecuencias (10 y 25 Hz) (**Tabla 11**).

Tabla 11. Condiciones de molienda realizadas para el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál

Tiempo (min)	Frecuencia (Hz)
10	10
10	25
30	10
30	25

Para observar el impacto de la diferentes condiciones de molienda sobre el tamaño de partícula del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál, los sólidos obtenidos se analizaron en un microscopio óptico Leica con aumento (objetivo) de 10x. Aproximadamente 1 mg del sólido obtenido a partir de las moliendas correspondientes se colocó en una cámara Neubauer después de agregar una gota de glicerina para mantener dispersas las partículas y, finalmente se tomaron fotografías de las muestras. Para las pruebas de disolución en el aparato I USP (canastillas) se llevaron a cabo formulaciones de cocrystal:polímero (HPC o MC) a proporción de 1:0.3 y 1:0.5 p/p (fármaco:polímero) por molienda mecánica (10 min, 10 Hz). A manera de control algunas formulaciones se realizaron sin la aplicación de fuerza mecánica en un agitador vórtex (2 min).

Para las formulaciones en agitador vórtex, los componentes (cocrystal diastereoméricos y polímero) se trituraron previamente durante 1 min (por separado) en un mortero de ágata y se tamizaron con un tamiz W. S. TYLER N° 50 con apertura de poro de 300 µm para homogenizar el tamaño de partícula. Los cocrystal diastereoméricos *RS*-PZQ:*L*-Mál, el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál y el hemihidrato de *R*-PZQ fueron tamizados posterior a su obtención. El sólido *RS*-PZQ que se utilizó como referencia en la prueba de disolución en condiciones no saturadas se tomó tal cual venía en el frasco, es decir, sin tratamiento posterior.

Las cantidades utilizadas para las formulaciones del racemato, mezcla de cocrystal y enantiómero activo y su fase cocrystalina con MC o HPC se enlistan en las **Tabla 12 y 13**.

Tabla 12. Mezclas realizadas para evaluar los perfiles de disolución en el aparato I USP (canastillas) para *RS*-PZQ y la mezcla de cocrystal diastereoméricos *RS*-PZQ:*L*-Mál.

Formulación p/p	Componentes (mg)				Tipo de mezclado
	<i>RS</i> -PZQ	<i>L</i> -Mál	MC	HPC	
F1	400.0	-	-	-	-
F2	307.7	-	92.3	-	Vórtex
F3	307.7	-	-	92.3	Vórtex
F4	307.7	-	92.3	-	Molienda
F5	307.7	-	-	92.3	Molienda
F6	279.9	120.1	-	-	-
F7	207.3	89.1	103.6	-	Molienda
F8	207.3	89.1	-	103.6	Molienda
F9	231.2	99.4	69.4	-	Molienda
F10	231.2	99.4	-	69.4	Molienda
F11	231.2	99.4	69.4	-	Vórtex
F12	231.2	99.4	-	69.4	Vórtex

El *RS-PZQ* con ácido *L-Málico* en las formulaciones se refiere a la mezcla de cocristales diastereoméricos *RS-PZQ:L-Mál* (F6-F12).

Tabla 13. Mezclas realizadas para evaluar los perfiles de disolución en el aparato I USP (canastillas) para *R-PZQ* y su fase cocristalina con ácido *L-Málico*.

Formulación p/p	Componentes (mg)			Tipo de mezclado
	(<i>R</i>)-PZQ	<i>L-Mál</i>	HPC	
F13	400.0	-	-	-
F14	309.3	-	90.7	Molienda
F15	279.9	120.1	-	-
F16	231.2	99.4	69.4	Molienda

El *R-PZQ* con ácido *L-Málico* en las formulaciones se refiere al cocristal *R-PZQ:L-Mál* (F15 y F16).

Pruebas de disolución de formulaciones sólidas en condiciones no saturadas (*sink*)

Una vez obtenidas las mezclas sólidas de los cocristales diastereoméricos con polímeros HPC o MC se llevaron a cabo las pruebas de disolución en el aparato I (canastillas) de la USP (**Figura 14**), tanto del *RS-PZQ*, el hemihidrato de *R-PZQ* y de los cocristales correspondientes con y sin polímeros premezclados. Se pesaron 100 mg (por triplicado) correspondientes a *RS-PZQ* o *R-PZQ* según sea el caso, se colocaron en tres canastillas que posteriormente se llevaron a disolución en 500 mL de medio acuoso previamente desgasificado (HCl pH 1.2) a 37 °C ± 0.5 con agitación de 100 rpm. Durante 2 h, se tomaron alícuotas de 4 mL con ayuda de una jeringa de 5 mL de capacidad, a los 2, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 y 120 min. Si era necesario, estas alícuotas se diluían para tener absorbancias dentro de la curva de cuantificación y posteriormente se leyeron en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de $\lambda=217$ nm. Hay que resaltar que la cantidad del medio de disolución empleado así como la agitación se encuentran dentro de las recomendaciones generales para pruebas de disolución de formas de dosificación oral de liberación inmediata en la Guía para la Industria.(89)



Figura 14. Aparato I (canastillas) USP utilizado para las pruebas de disolución de las formulaciones realizadas en condiciones no saturadas (*sink*).

6.4.5 Análisis Estadístico para los perfiles de disolución

El análisis estadístico de las áreas bajo la curva (ABC) de los perfiles de disolución en condiciones saturadas (no *sink*) y no saturadas (*sink*), se realizó mediante el análisis de varianza de una vía (ANOVA) con un intervalo de confianza del 95% ($p < 0.05$); se empleó una prueba *post hoc* (Tukey) para determinar las diferencias entre las medias de las variables con el programa STATGRAPHICS Centurion los resultados del análisis estadístico se agrupan en los **Anexos 8-11**. Las ABC fueron calculadas con el programa OriginPro 2016.

La comparación de los perfiles de disolución se realizó al aplicar el enfoque de modelo independiente (factor de similitud f2 y factor de diferencia f1) calculado en Microsoft Excel 2016 **Anexos 12 y 13**.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 CARACTERIZACIÓN DE MATERIAS PRIMAS

En primera instancia se realizó la caracterización por DRXP de los sólidos que permitirían la síntesis de lo que se identifica como materia prima en este proyecto.

Cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál

En los difractogramas obtenidos se observa la similitud en los patrones de difracción del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál obtenido (**Figura 15c**) y el calculado por el programa MERCURY (**Figura 15d**) con base en los datos extraídos de los archivos cristalográficos de la base de datos de Cambridge (CSD) que simulan el patrón de DRXP a partir de los datos de difracción de rayos X de monocristal, que sirve de referencia. Estos patrones a su vez, son distintos de los patrones de difracción *RS*-PZQ y ácido *L*-Málico (**Figura 15a** y **Figura 15b** respectivamente), corroborando que existe la formación del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál para picos representativos ver **Tabla 14a**.

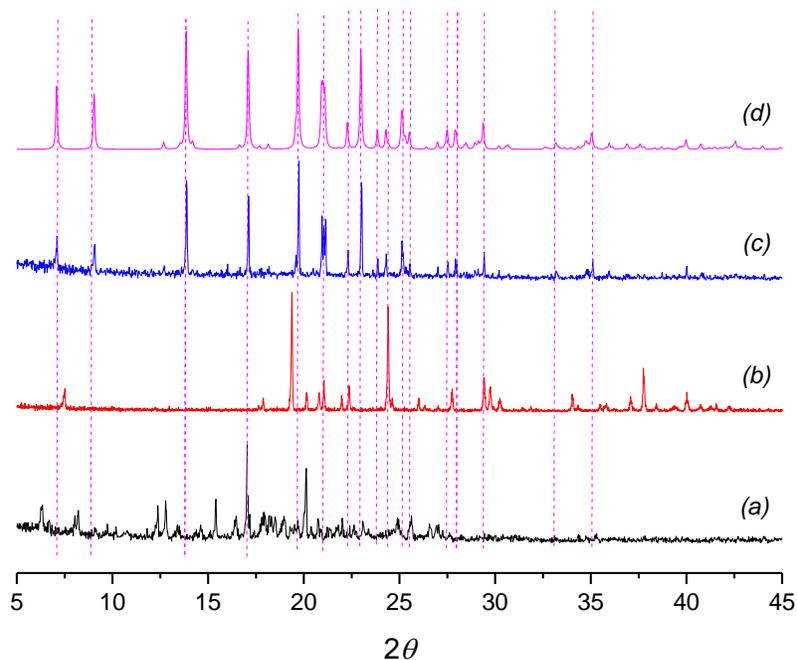


Figura 15. Difractogramas de **a)** *RS*-Praziquantel, **b)** ácido *L*-Málico, **c)** cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál experimental y **d)** cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál calculado. La línea punteada (rosa) identifica los picos correspondientes al cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál calculado.

Hemihidrato de *R*-PZQ (*R*-PZQ·0.5H₂O)

Para corroborar que se procedió adecuadamente la metodología descrita para la obtención del enantiómero activo *R*-PZQ·0.5H₂O, se realizó su caracterización física por DRXP, comparando los patrones de difracción del compuesto con el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál (**Figura 16**), como material de partida, y el patrón del hemihidrato de *R*-PZQ calculado a partir de los datos de DRXMC reportados por Sánchez-Guadarrama *et al.*, (**Figura 16c**), observando que los picos del patrón calculado y el experimental del hemihidrato de *R*-PZQ coinciden en su totalidad y que estos difieren del patrón del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál (para picos característicos del hemihidrato de *R*-PZQ, ver **Tabla 14b**).

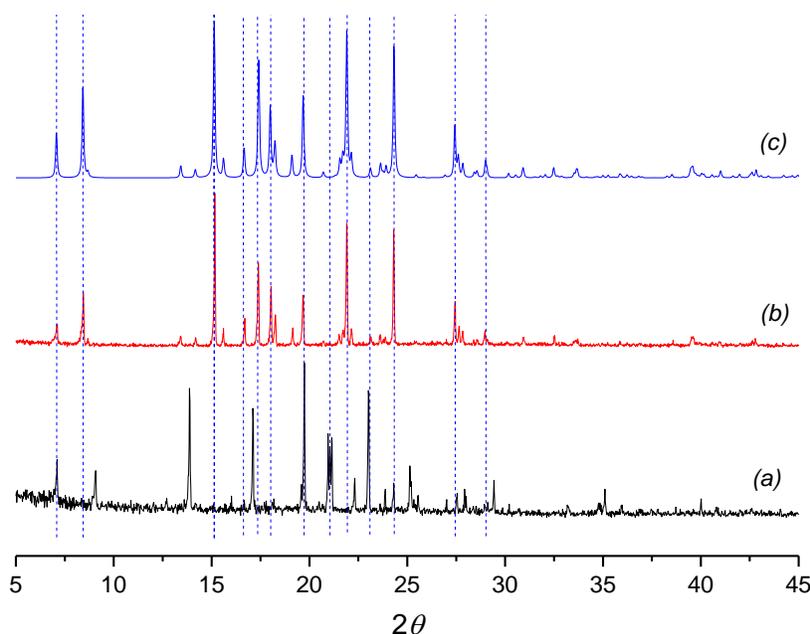


Figura 16. Difractogramas de **a)** *R*-PZQ:*L*-Mál (material de partida), **b)** hemihidrato de *R*-PZQ experimental y **c)** hemihidrato de *R*-PZQ calculado. La línea punteada de color azul identifica los picos correspondientes al hemihidrato de *R*-PZQ calculado.

Cocristales diastereoméricos de *R*-PZQ:*L*-Mál + *S*-PZQ:*L*-Mál (*RS*-PZQ:*L*-Mál)

Con el fin de optimizar tiempo y materia prima, ya que prácticamente se desecha la mitad de *RS*-PZQ cuando se utiliza el hemihidrato de *R*-PZQ, en la segunda etapa de la tesis (pformulación sólida) se decidió trabajar con el racemato *RS*-PZQ y los cocristales diastereoméricos (*RS*-PZQ:*L*-Mál). En este caso, la técnica de cocristalización utilizada fue la molienda mecánica

asistida por disolvente (30 min, 25 Hz) utilizando acetona como disolvente; no obstante, cabe señalar que al hacer reaccionar el racemato de praziquantel con el ácido *L*-Málico se obtiene la mezcla de cocristales diastereoméricos *R*-PZQ:*L*-Mál y *S*-PZQ:*L*-Mál (*RS*-PZQ:*L*-Mál); por lo tanto, el patrón de difracción de rayos X es una suma de picos de ambos cocristales. La caracterización de las fases cocrystalinas se realizó por DRXP, obteniendo los siguientes difractogramas (**Figura 17**):

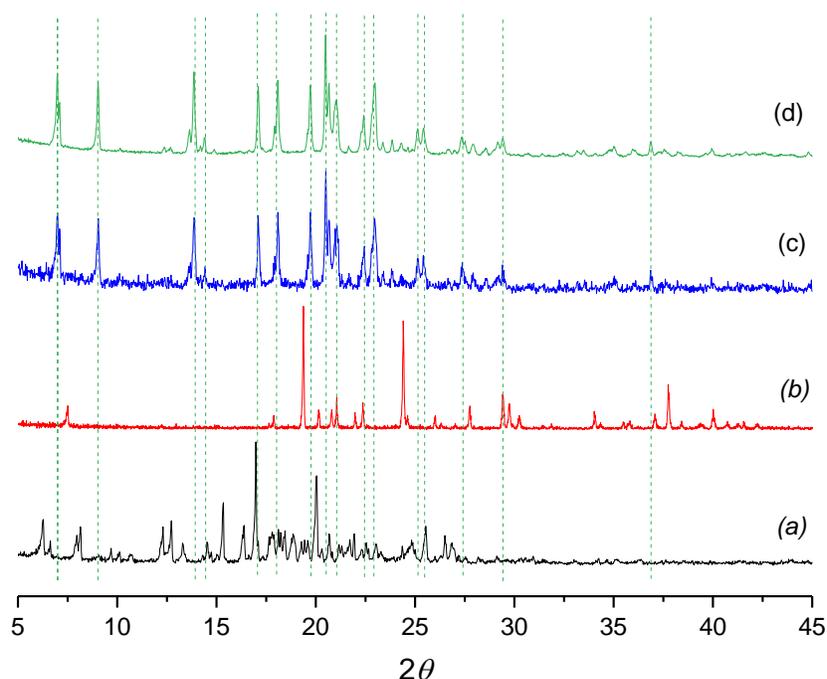


Figura 17. Difractogramas de **a)** *RS*-PZQ, **b)** ácido *L*-Málico, **c)** Mezcla de cocristales diastereoméricos *R*-PZQ:*L*-Mál + *S*-PZQ:*L*-Mál experimental y **d)** Mezcla de cocristales diastereoméricos *R*-PZQ:*L*-Mál + *S*-PZQ:*L*-Mál calculado. La línea punteada de color verde identifica los picos correspondientes a los cocristales diastereoméricos de *RS*-PZQ calculados.

Al comparar el patrón de difracción del sólido resultante de la molienda (**Figura 17c**), este difiere de los picos característicos de las materias primas *RS*-PZQ y ácido *L*-Málico (**Figura 17a** y **Figura 17b**, respectivamente) y coincide con los picos del patrón de difracción calculado en el software MERCURY para la mezcla de cocristales diastereoméricos (**Figura 17d**).

Tabla 14. Picos característicos identificados en los patrones de DRXP **a)** cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál, **b)** (*R*)-PZQ hemihidrato y **c)** mezcla de cocrisales diastereoméricos *R*-PZQ:*L*-Mál + *S*-PZQ:*L*-Mál.

a)		b)		c)	
2θ	Intensidad Relativa	2θ	Intensidad Relativa	2θ	Intensidad Relativa
7.1	0.3	7.1	0.1	6.9	0.6
9.1	0.3	8.4	0.3	7.1	0.4
13.9	0.8	15.1	1.0	9.1	0.6
17.1	0.7	15.6	0.1	13.8	0.7
19.7	1.0	16.6	0.1	17.1	0.5
21.0	0.5	17.3	0.5	18.0	0.6
22.3	0.2	18.0	0.3	19.7	0.5
23.0	0.8	18.2	0.2	20.5	1.0
23.9	0.1	19.1	0.1	20.6	0.6
24.3	0.2	19.6	0.3	21.0	0.4
25.1	0.3	21.9	0.8	22.3	0.3
25.6	0.1	24.3	0.7	23.0	0.6
27.5	0.1	27.4	0.2	25.1	0.2
27.9	0.1	-----		25.6	0.2
29.4	0.2			27.5	0.1
35.1	0.1			27.9	0.1
-----				29.9	0.1
				36.8	0.1

7.1.1 Optimización y escalamiento de los cocrisales *RS*-PZQ:*L*-Mál (mezcla diastereomérica) por molienda asistida con acetona

En un inicio las condiciones estándar de molienda para la obtención de los cocrisales por molienda asistida con acetona era una frecuencia de 25 Hz y un tiempo de 30 min; sin embargo, cuando se monitoreó la formación de los cocrisales al modificar el tiempo de molienda (25, 20, 15, 10, 5 min) a la frecuencia de 25 Hz (**Figura 18a**) se observó en la comparación con el patrón de difracción calculado para los cocrisales, que este se conservó sin presencia de picos característicos de materias primas hasta el minuto 10. En el minuto 5 se observaron picos característicos tanto de ácido *L*-Málico como de *RS*-PZQ (materias primas). Cuando se modificó la frecuencia (20, 15, 10 y 5 Hz) y se mantuvo constante el tiempo de reacción (10 min) (**Figura 18b**), se pudo apreciar que desde los 5 Hz ya había picos característicos del cocrystal; no obstante, también se observaron picos característicos de materias primas en todos los casos. De tal manera se pudo establecer que un tiempo de 10 min y una frecuencia de 25 Hz eran los parámetros óptimos para la obtención de los cocrisales diastereoméricos (*RS*-PZQ:*L*-Mál).

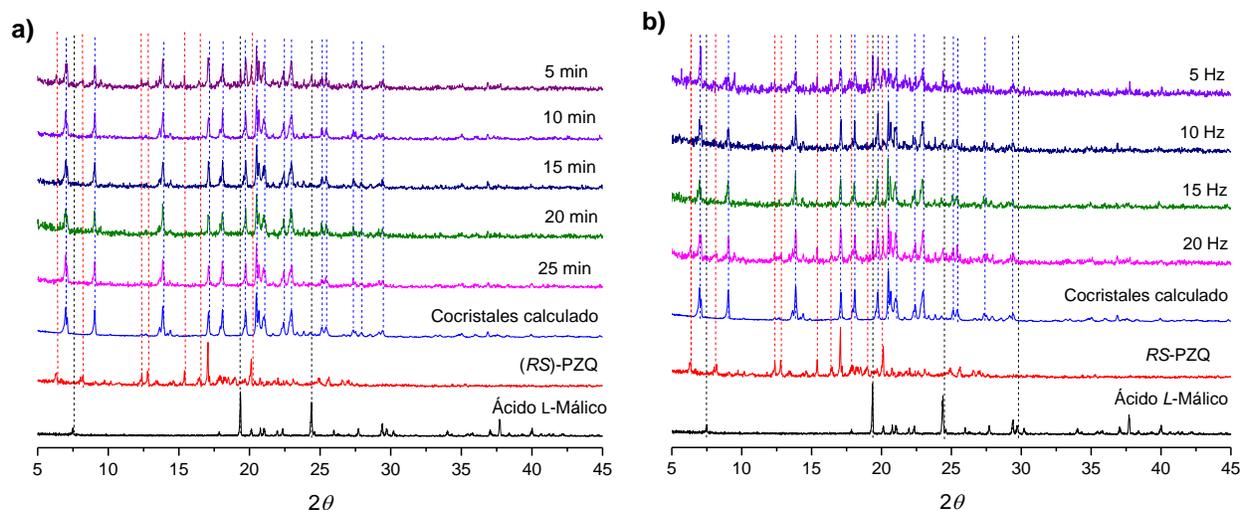


Figura 18. Difractogramas para los sólidos obtenidos de la reacción *RS*-PZQ + *L*:Mál (1:1) modificando **a)** el tiempo de la reacción manteniendo la frecuencia en 25 Hz y **b)** modificando la frecuencia y mantenido el tiempo en 10 min. Para fines de comparación, también se incluyen los patrones de las materias primas y el calculado para mezcla de cocristales diastereoméricos (*RS*-PZQ:*L*-Mál).

Es necesario resaltar que las pruebas antes mencionadas se realizaron en lotes de 50 mg (por contenedor de molino). Con el fin de escalar la reacción, también se realizaron reacciones de molienda con un total de 500 mg con 50 μ L de acetona (por contenedor) para obtener 1 g de cocristales. Se observó que en el sólido resultante se mantuvieron los picos característicos de los cocristales diastereoméricos en comparación con los patrones de difracción de la mezcla de cocristales calculado (**Figura 19**).

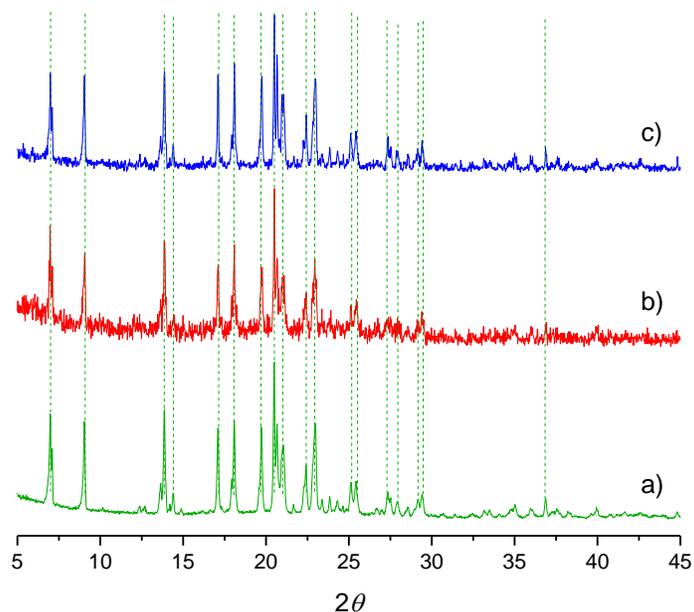


Figura 19. Difractogramas calculados y experimentales de los cocristales diastereoméricos *RS-PZQ:L-Mál* obtenidos por molienda asistida con acetona (10 min, 25 Hz) **a)** calculado **b)** obtenido a 50 mg y **c)** escalamiento a 500 g. Líneas punteadas de color verde identifican picos característicos del difractograma calculado para los cocristales diastereoméricos.

7.1.2 Estudios de disolución de polvos

Una vez sintetizadas las materias primas, se llevó a cabo la evaluación biofarmacéutica en condiciones sobresaturadas (no *sink*) del hemihidrato de *R-PZQ* y su fase cocrystalina *R-PZQ:L-Mál* en medio de HCl pH1.2 con y sin adición de polímero (MC o HPC) predisuelto.

Curva de cuantificación para *R-PZQ* y *RS-PZQ*

La cuantificación de PZQ se realizó mediante la técnica de UV-visible usando como base la metodología empleada por Delgado-Díaz.(56) Se realizó la evaluación de cuatro parámetros de validación de interés de acuerdo con la Guía de Validación de Métodos Analíticos del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, la cual establece que debe prepararse una curva, por duplicado, al menos con 5 puntos de concentración, sin incluir el punto cero, en las cuales se incluye la Linealidad del Sistema, la Precisión del Método (Tolerancia interdía), el Límite de Detección (LD) y el Límite de Cuantificación (LD) (**Tabla 15**).

El límite de detección (LD) se define como la mínima concentración del analito detectable por el método (**Ecuación 1**).

$$LD = 3.3 \frac{DE b}{\bar{m}}$$

Ecuación 1

El límite de cuantificación (LQ), también denominado límite de determinación es la más pequeña concentración del analito que puede ser determinada con niveles de exactitud y precisión aceptables (**Ecuación 2**).

$$LQ = 10 \frac{DE b}{\bar{m}}$$

Ecuación 2

Tabla 15. Parámetros de validación evaluados en la curva de cuantificación para *R*-PZQ y *RS*-PZQ

Curva de Calibración	Intercepto	Pendiente	R ²	LD (mg/mL)	LQ (mg/mL)	Tolerancia Interdía
<i>R</i> -PZQ Día 1	0.0065	49.025931	0.9949	0.001204	0.003650	Cumple
<i>R</i> -PZQ Día 2	0.0059	47.569112	0.9937	0.001391	0.004217	
<i>RS</i> -PZQ Día 1	0.0144	48.702688	0.9936	0.001405	0.004528	Cumple
<i>RS</i> -PZQ Día 2	0.0152	49.702086	0.9904	0.001721	0.005215	

Se realizaron por triplicado dos curvas de calibración para la cuantificación de *RS*-PZQ y *R*-PZQ en dos días diferentes para observar su reproducibilidad (tolerancia interdía). De acuerdo con los resultados obtenidos, la respuesta del analito es directamente proporcional a la concentración obtenida (Linealidad del Sistema), puesto que las curvas de calibración de *R*-PZQ y *RS*-PZQ obtuvieron un coeficiente de correlación $R^2 \geq 0.98000$, tal como se muestra en las Figura **20** y **21**, respectivamente.

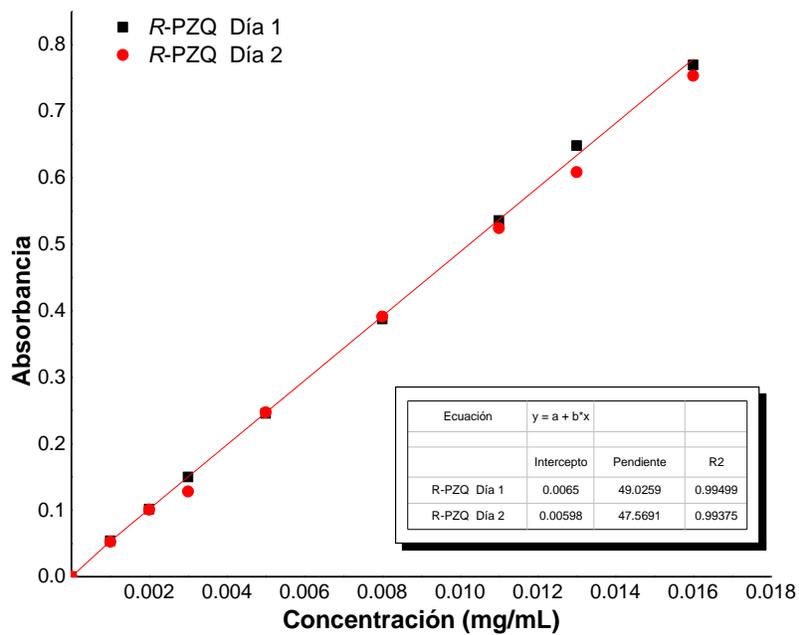


Figura 20. Representación gráfica de la linealidad del sistema a partir de las curvas de cuantificación de R-PZQ en HCl pH 1.2

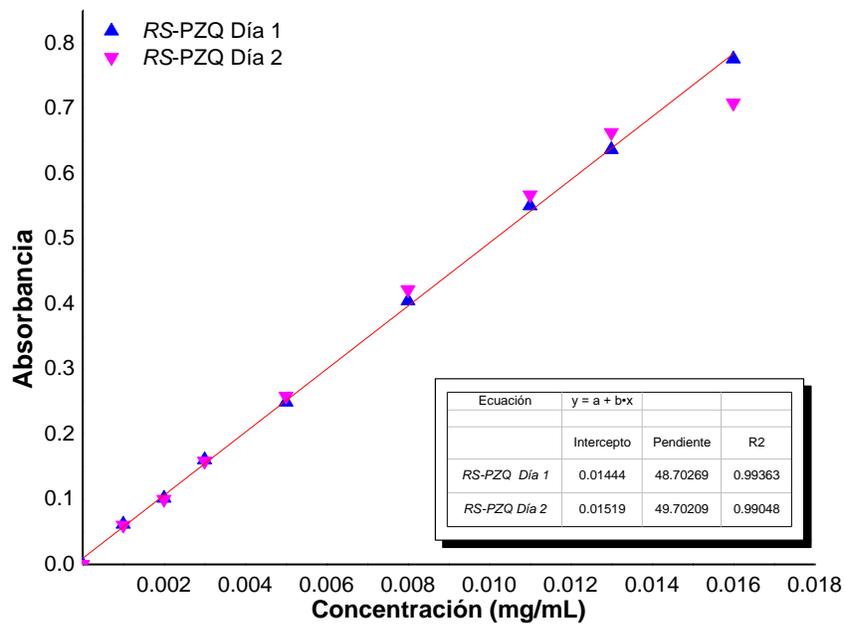


Figura 21. Representación gráfica de la linealidad del sistema a partir de las curvas de cuantificación de RS-PZQ en HCl pH 1.2

La tolerancia interdía de las curvas de calibración generó un coeficiente de variación $CV \leq 3.00\%$, lo cual demuestra la reproducibilidad de las curvas de calibración tanto para *R*-PZQ como para *RS*-PZQ. De acuerdo con los resultados obtenidos de las curvas de calibración del enantiómero *R*-PZQ y el racemato *RS*-PZQ, se obtuvieron respuestas analíticas similares para los diferentes niveles de la curva de calibración; por lo tanto, se deduce que para cuantificar *R*-PZQ o *RS*-PZQ se puede utilizar cualquiera de las dos curvas de calibración (**Anexo 5**).

7.1.3 Pruebas de disolución en condiciones saturadas (*no sink*)

En la **Figura 22** se observan los perfiles de disolución en condiciones sobresaturadas (*no sink*) del hemihidrato de *R*-PZQ y su fase cocrystalina con ácido *L*-Málico en HCl pH 1.2, observando que la fase cocrystalina presenta un ligero aumento en la concentración de *R*-PZQ; sin embargo, este aumento no permanece por mucho tiempo, al después obtener concentraciones similares a las observadas para el hemihidrato de *R*-PZQ. Al ser un cocrystal inestable en medio acuoso, el coformador *L*-Mál se desprende del IFA dada su alta solubilidad en el medio, destruyéndose la fase cocrystalina; por lo tanto, el IFA precipita rápidamente en una forma sólida más estable (menos soluble)(90) que consiste del hemihidrato del enantiómero activo, alcanzando así concentraciones similares a las del hemihidrato de *R*-PZQ, de tal manera que no hay evidencia de un beneficio biofarmacéutico para este cocrystal al no mostrar una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

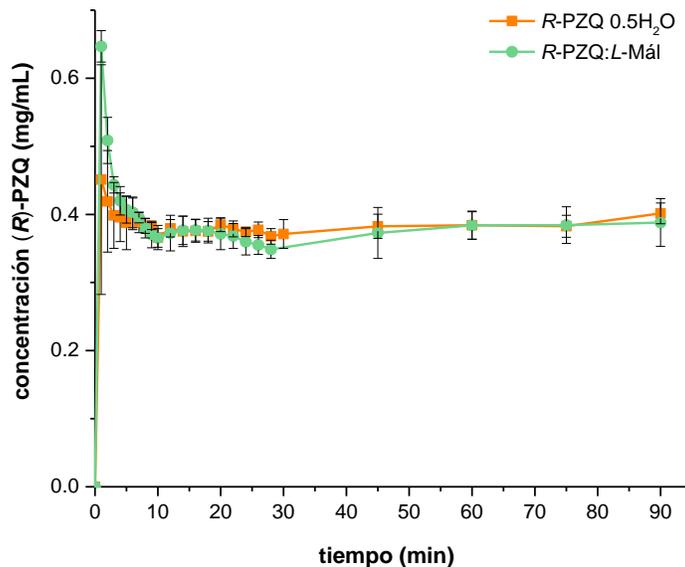


Figura 22. Perfiles de disolución del hemihidrato de *R*-PZQ y su fase cocrystalina *R*-PZQ:L-Mál en medio de HCl pH 1.2 en condiciones sobresaturadas (promedio $n=3 \pm DE$).

Para analizar si es posible prolongar el estado de sobresaturación, se realizó la evaluación de los perfiles de disolución del hemihidrato de *R*-PZQ y el cocrystal del enantiómero activo *R*-PZQ:*L*-Mál con HPC predisoluto al 0.5% p/v en HCl pH 1.2 (**Figura 23a**), observando que no hay efecto del polímero sobre el enantiómero hemihidratado al presentar concentraciones similares al experimento con *R*-PZQ sin polímero. Caso contrario sucede cuando se encuentra el polímero HPC formulado con el cocrystal, al obtener un incremento en la concentración de *R*-PZQ (1.5 ± 0.02 mg/mL) que en el primer minuto del estudio es 3.3 veces mayor al valor del perfil de disolución del hemihidrato sin formular, 3.7 veces mayor al valor con el hemihidrato formulado con este polímero y 2.3 veces mayor que el valor obtenido en el perfil de disolución del cocrystal sin formular mostrando una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

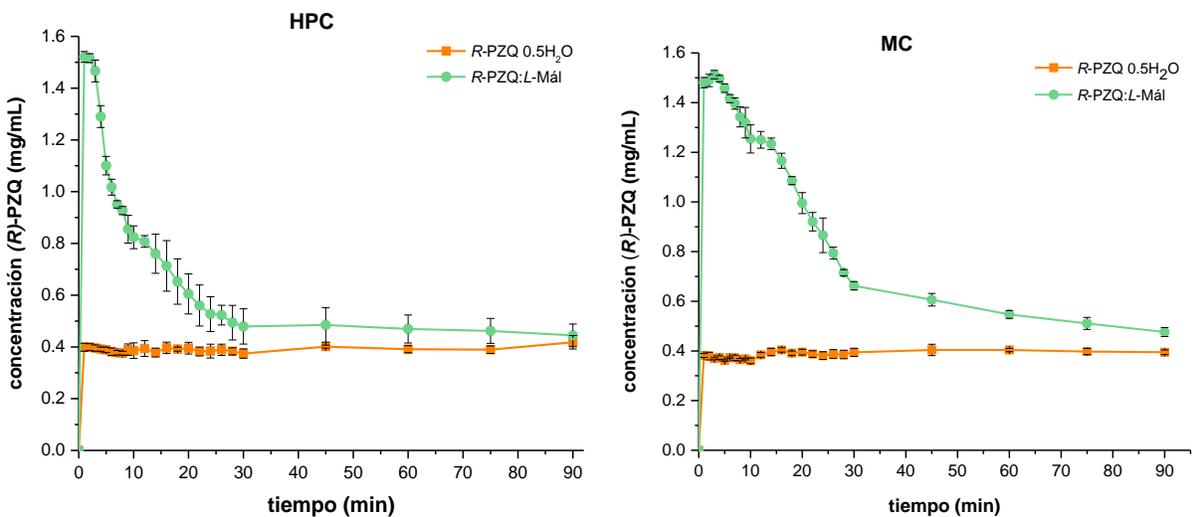


Figura 23. Perfiles de disolución en condiciones sobresaturadas del hemihidrato de *R*-PZQ y el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál en medio de HCl pH 1.2 con polímero **a)** HPC predisoluto al 0.5% p/v y **b)** MC predisoluto al 0.5% p/v (promedio $n=3 \pm DE$).

Cuando se evaluó el efecto del polímero MC predisoluto al 0.5% p/v sobre el perfil de disolución del hemihidrato de *R*-PZQ (**Figura 23b**), se observó que al igual que HPC, este no presentó algún efecto sobre el perfil de disolución del hemihidrato de *R*-PZQ ($p > 0.05$), además de conservar el perfil de disolución característico de *R*-PZQ sin polímeros. No obstante, la concentración de *R*-PZQ proveniente del cocrystal fue mayor al encontrarse formulado con MC alcanzando una concentración máxima (1.51 ± 0.017 mg/mL) a los 3 min del estudio, que es 4.1 veces mayor que el valor del perfil del hemihidrato formulado con MC, así como 3.8 y 3.5 veces mayor que los valores con el hemihidrato y el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál sin polímeros predisolutos, respectivamente.

Al graficar la cantidad de *R*-PZQ disuelto a los 90 min del estudio, traducido como el área bajo la curva (ABC), se obtuvo la solubilidad aparente de los sólidos evaluados en los medios de disolución antes mencionados (**Figura 24**). La solubilidad aparente se refiere a la concentración de un IFA en equilibrio aparente (sobresaturación), que es diferente de la solubilidad termodinámica, que se alcanza a un tiempo de equilibrio infinito.(91)

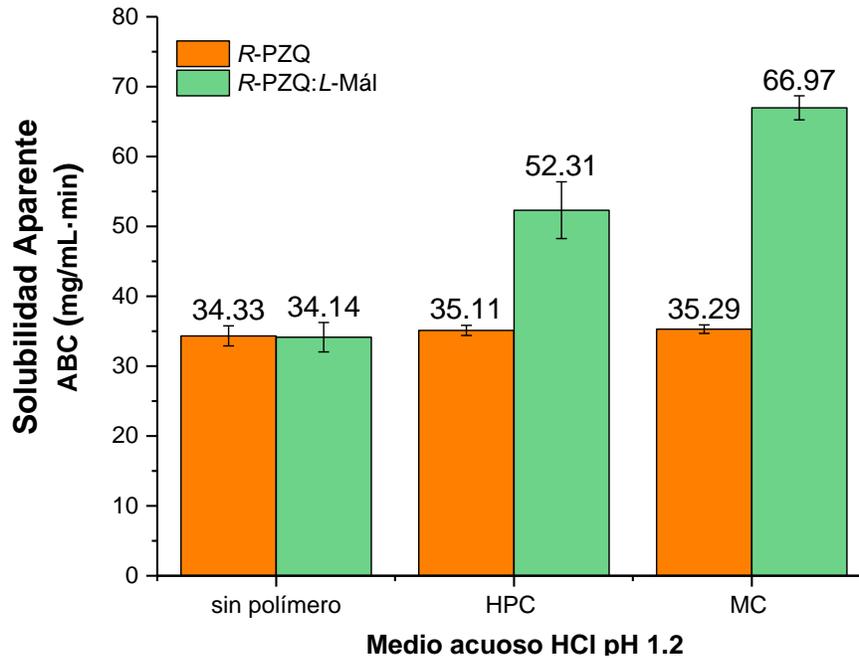


Figura 24. Áreas bajo la curva (ABC) de los perfiles de disolución de polvos del hemihidrato de *R*-PZQ y cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál con y sin polímero (MC o HPC) predisueltos al 0.5% p/v en HCl pH 1.2 (promedio $n=3$, \pm DE).

7.1.4 Estabilidad de fase

Los residuos sólidos que se recuperaron del filtrado en cada tiempo de muestreo durante los experimentos de disolución de polvos se dejaron secar a TA para analizar su estabilidad de fase por DRXP en medio acuoso de HCl pH 1.2. En la **Figura 25** se observa que el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál es inestable en este medio, dado que la fase del hemihidrato de *R*-PZQ se hace presente desde el minuto 1. A partir del minuto 4 el patrón de DRXP corresponde prácticamente en su totalidad al patrón del hemihidrato, indicando la rápida transformación de la fase cocrystalina a sus componentes. No es posible observar el patrón del coformador ácido *L*-Málico debido a que este se encuentra en solución al ser muy soluble en medio acuoso.

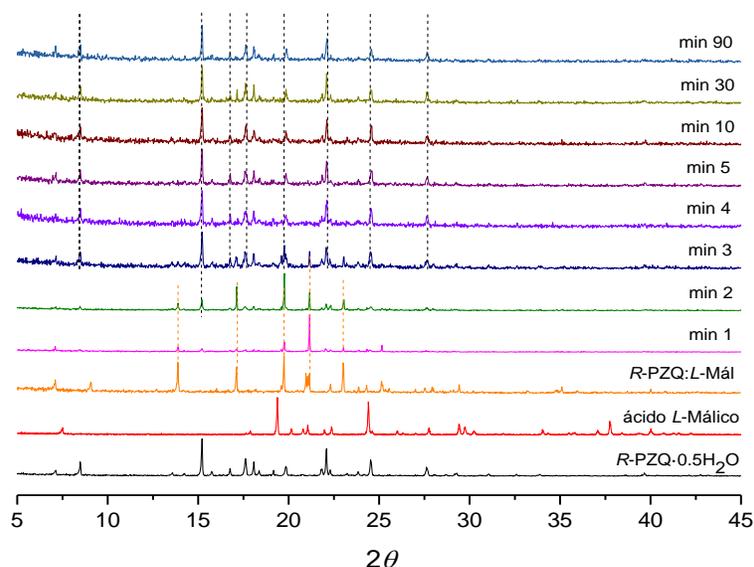


Figura 25. Patrones de difracción de rayos X para determinar la estabilidad de fase del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál en HCl pH 1.2. Líneas punteadas de color negro identifican picos característicos del hemihidrato y líneas punteadas de color naranja denotan los picos identificados para el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál.

Al evaluar la estabilidad de fase para el hemihidrato en medio acuoso HCl pH 1.2 se pudo observar que este es muy estable y no hubo picos de difracción característicos que no pertenecieran a este sólido cristalino, conservandose el mismo patrón de difracción hasta finalizar el estudio (**Figura 26**).

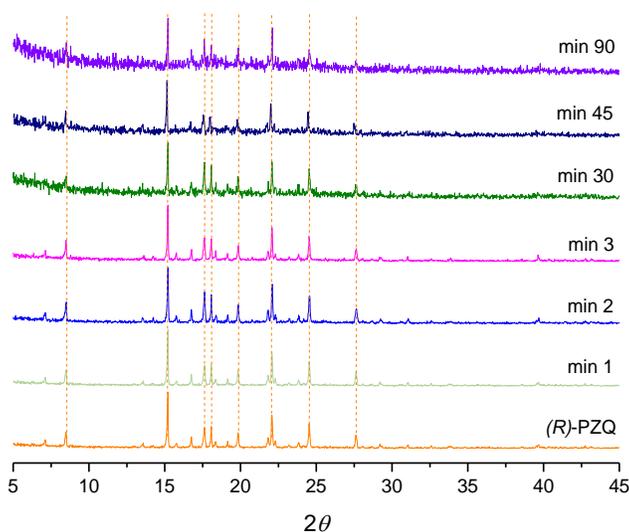


Figura 26. Patrones de difracción de rayos X para analizar la estabilidad de fase del hemihidrato de *R*-PZQ en medio acuoso HCl pH 1.2. Líneas punteadas de color naranja, identifican los picos característicos del hemihidrato.

Al comparar los patrones de difracción de rayos X de los sólidos recuperados de los estudios de disolución de polvos la fase del hemihidrato de *R*-PZQ con HPC predisuelto, se pudo observar que no hubo modificación alguna en su estructura cristalina, ya que los sólidos recuperados en los tiempos de muestreo mantuvieron el mismo patrón de difracción de rayos X (**Figura 27**).

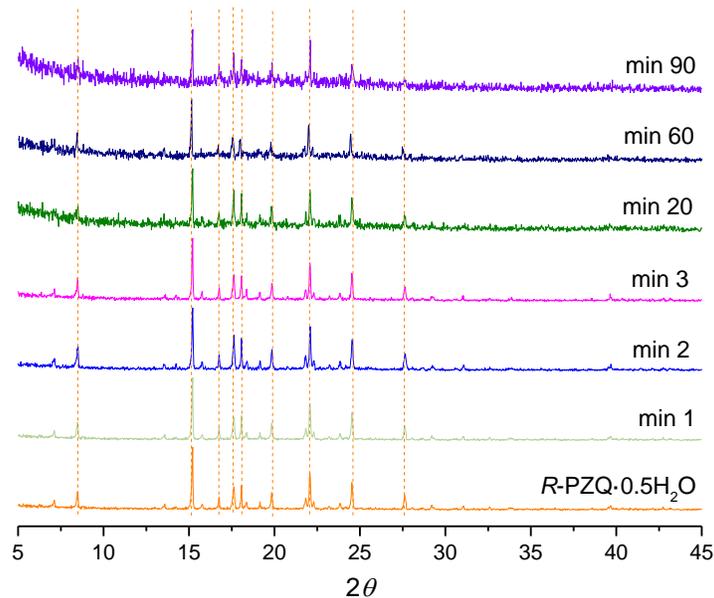


Figura 27. Patrones de difracción de rayos X para analizar la estabilidad de fase del hemihidrato de *R*-PZQ en medio acuoso HCl pH 1.2 con polímero HPC predisuelto al 0.5 % p/v. Líneas punteadas de color naranja identifican los picos característicos del hemihidrato de *R*-PZQ.

Cuando el estudio de estabilidad de fase se realizó con las muestras del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál con HPC predisuelto, se observó que este polímero estabilizó la fase cocrystalina por un tiempo mayor (8 min) en comparación con el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál sin formular (**Figura 28**), exhibiendo su capacidad como inhibidor de la precipitación frente a este sólido cocrystalino. Esto puede ser atribuido a interacciones por puente de hidrógeno entre el polímero y el cocrystal.

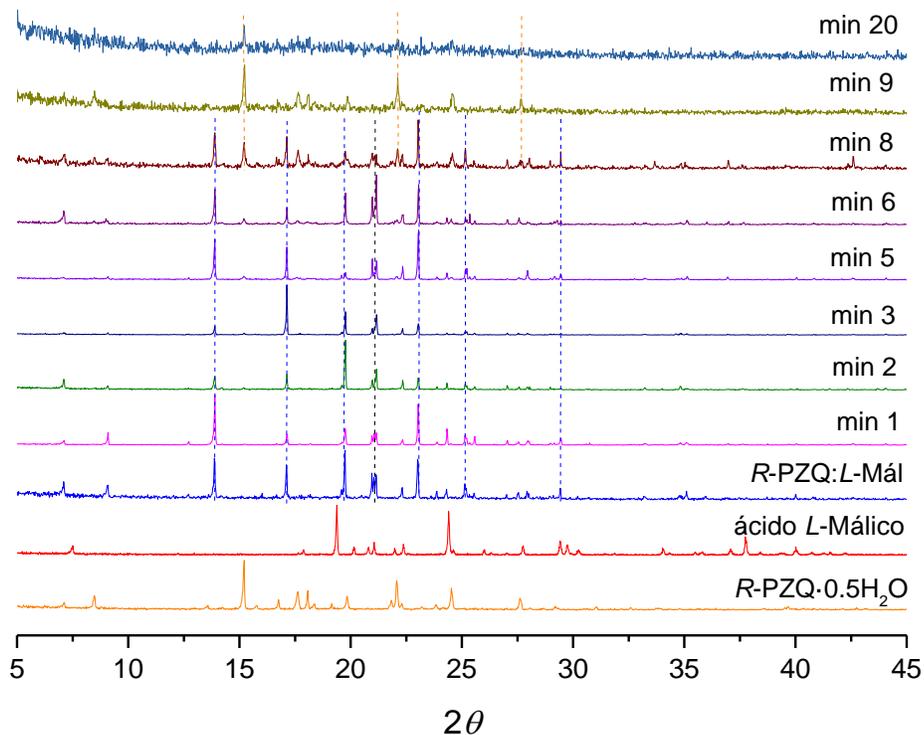


Figura 28. Patrones de difracción de rayos X de la estabilidad de fase del cocrystal *R-PZQ:L-Mál* en medio acuoso HCl pH 1.2 con polímero HPC predisuelto al 0.5 % p/v. Líneas punteadas de color naranja identifican los picos característicos del hemihidrato, y líneas punteadas de color azul denotan los picos característicos del cocrystal.

Finalmente se evaluó la estabilidad de fase del hemihidrato de *R-PZQ* y su fase cocrystalina con ácido *L-Mál* y MC predisuelto (0.5% p/v). Se observa que este polímero no ejerce efecto sobre la estructura cristalina del hemihidrato, al conservar el patrón de difracción característico del hemihidrato (**Figura 29**), pero para el cocrystal los picos característicos se aprecian solo hasta el minuto 7 del estudio (**Figura 30**). Posterior a este tiempo, los picos corresponden en su mayoría al patrón de difracción de rayos X del hemihidrato. Sin embargo, a diferencia del polímero HPC este genera concentraciones mayores de *R-PZQ* disuelto pudiendo, indicado que MC este polímero además de estabilizar la fase cocrystalina actúa como solubilizante inhibiendo la reprecipitación del hemihidrato de *R-PZQ* por un tiempo prolongado.

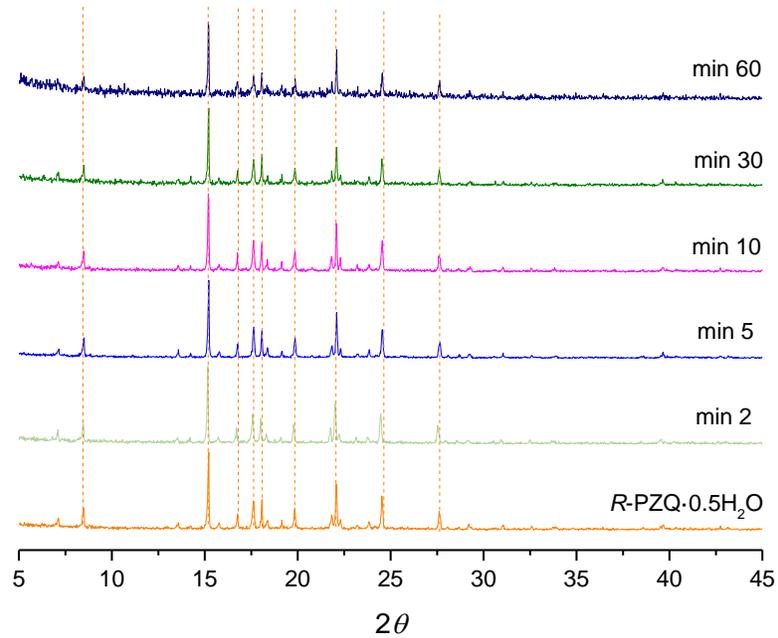


Figura 29. Patrones de difracción de rayos X del análisis de la estabilidad de fase del hemihidrato de *R*-PZQ en medio acuoso HCl pH 1.2 con polímero MC predisoluto al 0.5 % p/v. Líneas punteadas de color naranja identifican los picos característicos del hemihidrato.

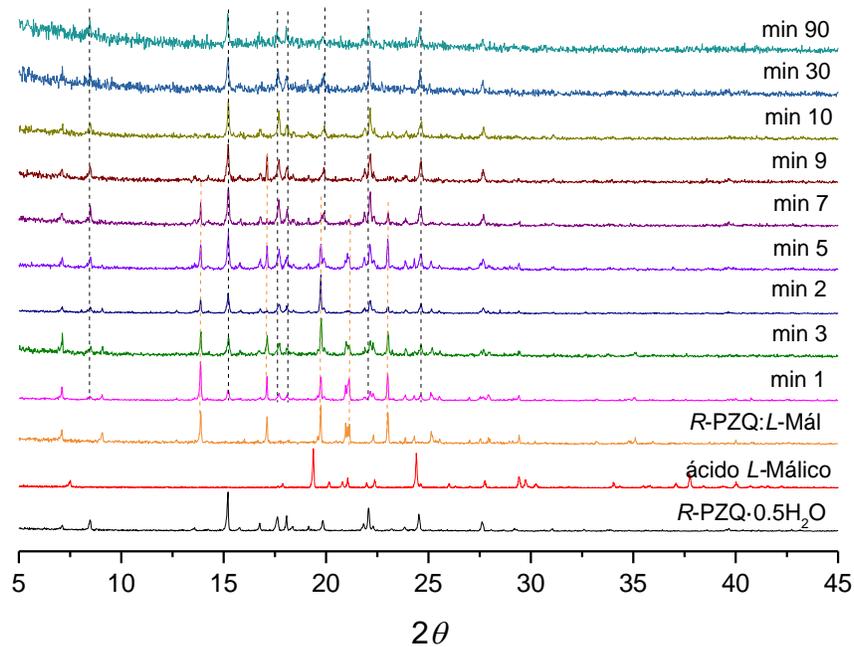


Figura 30. Patrones de difracción de rayos X de la estabilidad de fase de *R*-PZQ:L-Mál en medio acuoso HCl pH 1.2 con polímero MC predisoluto al 0.5 % p/v. Líneas punteadas de color naranja identifican los picos del cocristal *R*:PZQ:L-Mál. Líneas punteadas de color negro denotan picos característicos del hemihidrato de *R*-PZQ.

7.1.5 Formulaciones sólidas

Para realizar las mezclas sólidas entre el cocrystal y los polímeros se realizaron experimentos preliminares de molienda con el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál para establecer las condiciones óptimas para este tipo de reacciones. Los productos se analizaron en un microscopio óptico (**Figura 31**), observando gránulos de tamaño variado que en la molienda realizada a 10 Hz de frecuencia durante 30 min (**Figura 31b**) al igual que en la molienda realizada a 25 Hz por 10 min (**Figura 31c**). Gránulos de mayor tamaño podrían impactar negativamente en la prueba de disolución. Para la molienda realizada a 10 Hz de frecuencia durante 10 min (**Figura 31a**), se aprecia un tamaño de partícula homogéneo y disminuido en comparación con las otras condiciones.

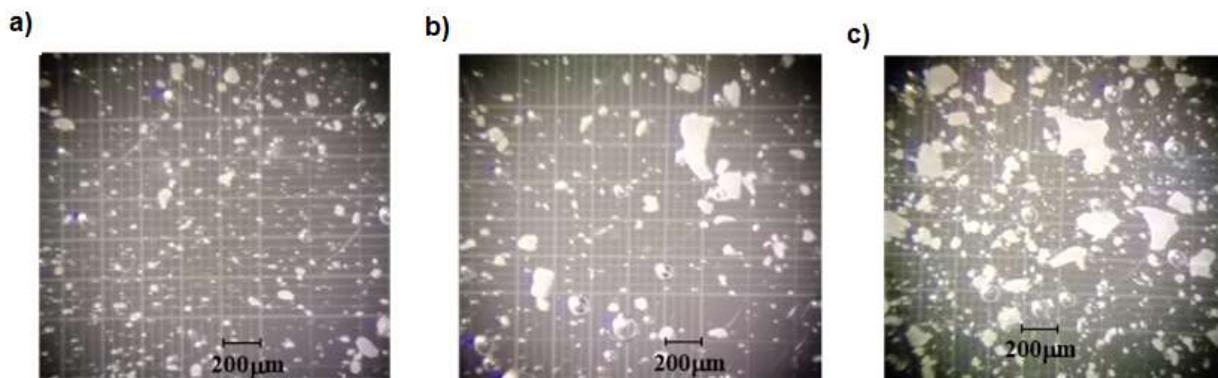


Figura 31. Fotografías de los productos de molienda de cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál con los siguientes parámetros **a)** 10 min, 10 Hz **b)** 30 min, 10 Hz y **c)** 10 min, 25 Hz obtenidas en microscopio óptico a 10x.

El producto de la molienda realizado por 30 min a 25 Hz no pudo ser recuperado debido a que el sólido quedó fuertemente adherido a las paredes de los contenedores del molino.

En esta sección del proyecto primero se realizaron formulaciones sólidas para la mezcla de cocrystal diastereoméricos con los polímeros HPC y MC, dado que ambos polímeros mostraron un aumento de la concentración de *R*-PZQ en la prueba de disolución de polvos. Para cada polímero (HPC y MC) se prepararon mezclas en dos proporciones 1:0.5 y 1:0.3 p/p (fármaco:polímero), que de acuerdo a las pruebas preliminares se sometieron a molienda por 10 minutos a 10 Hz de frecuencia en un molino Restch MM400. Los sólidos de las mezclas resultantes se analizaron por DRXP con la finalidad de observar si había un cambio en la estructura cristalina del cocrystal al realizar la molienda con los polímeros, ya que estudios previos han demostrado que la comolienda de IFAs con polímeros pueden generar productos.(92,93)

En los patrones de difracción mostrados en **Figura 32a** se observa que los procesos de molienda entre los cocrystal diastereoméricos y el polímero MC en las proporciones 0.5 y 0.3 p/p (F7 y F9 respectivamente), permite conservar la fase de los cocrystal al presentar los múltiples picos característicos; sin embargo, la relación señal/ruido disminuye, indicando un menor grado de cristalinidad debido a la presencia del polímero. Un resultado similar se observa en los ensayos con HPC (**Figura 32b**). Es interesante notar que no hay una variación significativa entre los patrones obtenidos en el molino mecánico y el vórtex (F9 y F11; F10 y F12).

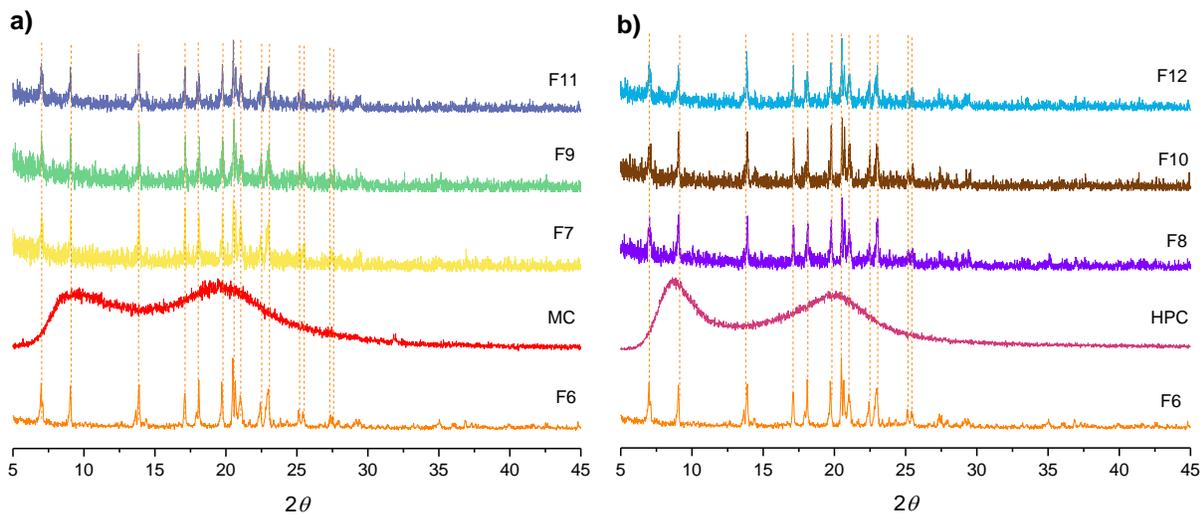


Figura 32. Patrones de difracción de rayos X de polvos de los productos de las siguientes reacciones **a)** Molienda de *RS-PZQ:L-Mál* con MC (10 min, 10 Hz) en presencia de polímero 0.5 y 0.3 p/p F7 y F9 respectivamente. Mezcla en vórtex entre los mismos componentes en proporción 0.3 (F11). **b)** Molienda de *RS-PZQ:L-Mál* con HPC (10 min, 10 Hz) en presencia de polímero 0.5 y 0.3 p/p F8 y F10 respectivamente. Mezcla en vórtex entre los mismos componentes en proporción 0.3 (F12). Para comparar se incluyen los patrones de DRXP de los cocrystal identificados con las líneas punteadas color naranja.

Cuando se analizaron los patrones de difracción de rayos X de la formulación del *RS-PZQ* con MC en la proporción de 0.3 p/p por molienda (F2) y en vórtex (F4) se observa para ambos casos el patrón de difracción característico de *RS-PZQ* (F1), además que la relación señal ruido es más grande que en los casos anteriores concluyendo que este polímero afecta la cristalinidad del compuesto en menor grado (**Figura 33a**).

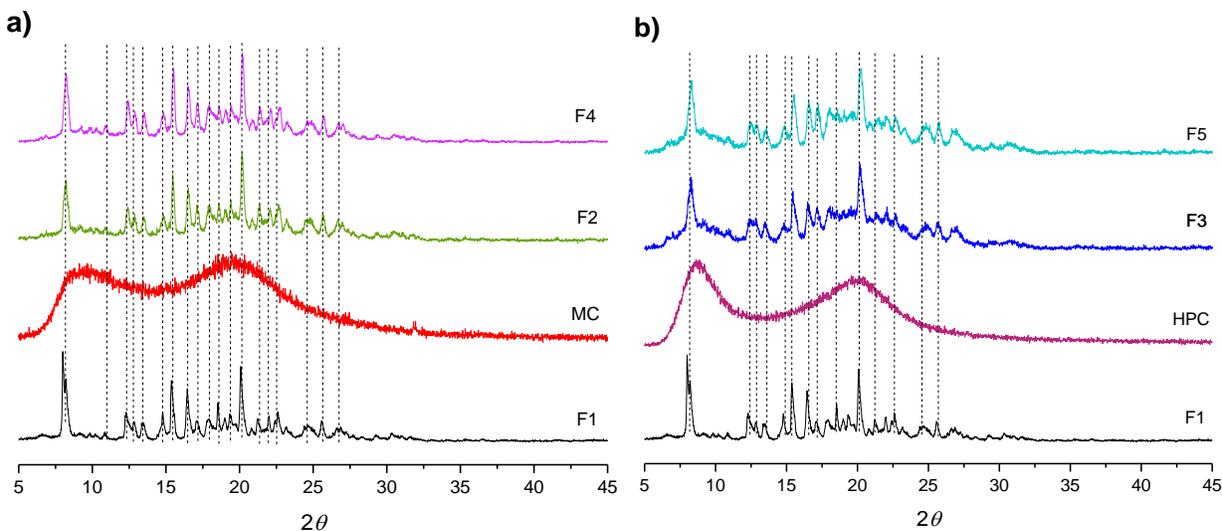


Figura 33. Patrones de difracción de rayos X de polvos de los productos de las siguientes reacciones **a)** Molienda (10 min, 10 Hz) de *RS-PZQ* con MC 0.3 p/p (F4). Mezcla en vórtex entre los mismos componentes en proporción 0.3 p/p (F2). **b)** Molienda (10 min, 10 Hz) de *RS-PZQ* con HPC 0.3 p/p (F5). Mezcla en vórtex entre los mismos componentes en proporción 0.3 p/p (F3). Para comparar se incluyen los patrones de DRXP de los cocrystal sin formular y del polímero. Para comparar se incluyen los patrones de DRXP del fármaco *RS-PZQ* sin formular y del polímero.

En el caso de las formulaciones análogas preparados con polímero HPC (0.3 p/p) por molienda o mezclado en vórtex, la cristalinidad de *RS-PZQ* se ve más afectado al observar picos más anchos y una curvatura de la línea base que es reminiscente del patrón de difracción característico del polímero (**Figura 33b**).

Al realizar las formulaciones del cocrystal *R-PZQ:L-Mál* y el enantiómero hemihidratado de *R-PZQ* con HPC 0.3 p/p por molienda (10 min, 10 Hz) se observó el mismo comportamiento que para las formulaciones realizadas con la mezcla de cocrystal diastereoméricos al mantener la cristalinidad tanto del hemihidrato de *R-PZQ* (**Figura 34a**) como de la fase cocrystalina *R-PZQ:L-Mál* (**Figura 34b**), pues en ambos casos se conservan los picos característicos del hemihidrato y el cocrystal al ser molidos con HPC F14 y F16, respectivamente).

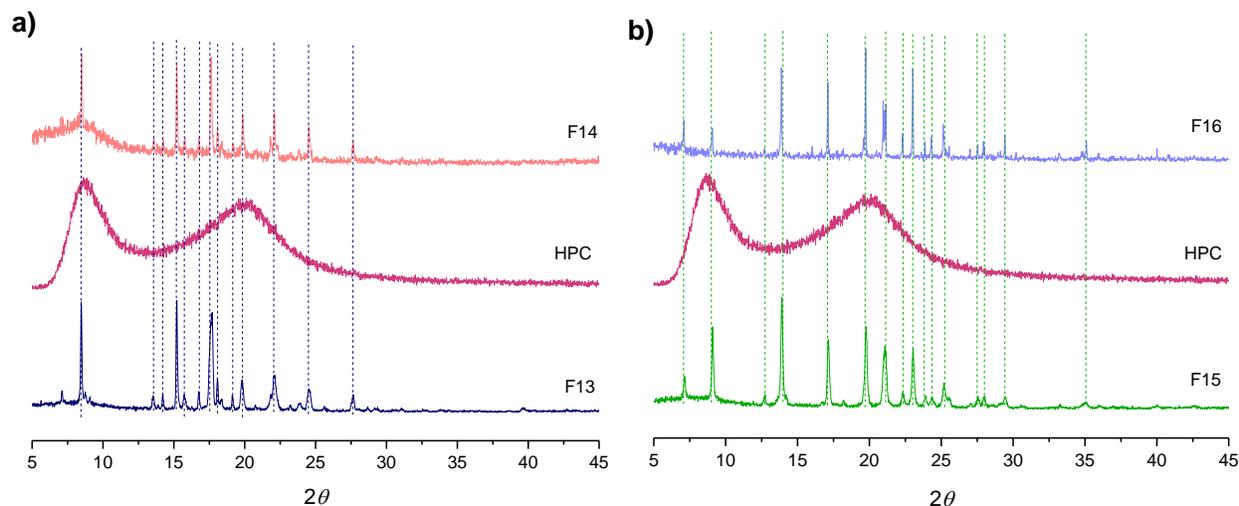


Figura 34. Patrones de difracción de rayos X de polvos de las siguientes reacciones por molienda (10 min, 10 Hz) **a)** el hemihidrato de *R*-PZQ con polímero HPC 0.3 p/p (F14) y **b)** el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál con polímero HPC proporción 0.3 p/p (F16) (10 min, 10 Hz). Para comparar se incluyen los patrones de DRXP del hemihidrato de *R*-PZQ, el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál sin formular y del polímero.

Ya que en los estudios posteriores también se incluye el perfil de la velocidad disolución para la forma comercial de *RS*-PZQ (CISTICID®), se analizó el patrón de difracción de rayos X de polvos de dicha forma en comparación con la muestra de *RS*-PZQ utilizado en este proyecto. En la **Figura 35** se puede observar que hay coincidencia de los picos de ambos sólidos; no obstante, para CISTICID® se observa una relación señal/ruido menor que se atribuye a la variedad de excipientes presentes en la formulación oral que son de naturaleza amorfa y semicristalina (almidón de maíz, estearato de magnesio, celulosa microcristalina, povidona, lauril sulfato de sodio, polietilenglicol, dióxido de titanio e hidroxipropilcelulosa (HPC)).(8)

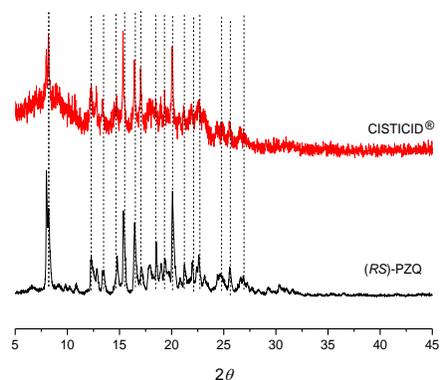


Figura 35. Patrones de difracción de rayos X de la forma comercial de *RS*-PZQ CISTICID® y el *RS*-PZQ que fue usado como materia prima en este proyecto.

7.1.6 Pruebas de disolución de las formulaciones sólidas en condiciones no saturadas (*sink*)

Una vez realizadas las formulaciones de los cocrystalos con los polímeros, se llevaron a cabo las pruebas de disolución en el aparato I (canastillas) de la USP de forma comparativa con el *RS-PZQ* y los cocrystalos diastereoméricos sin polímeros, bajo las condiciones anteriormente descritas. Las áreas bajo la curva (ABC) de todos los perfiles de disolución se muestran en los **Anexos 6 y 7**.

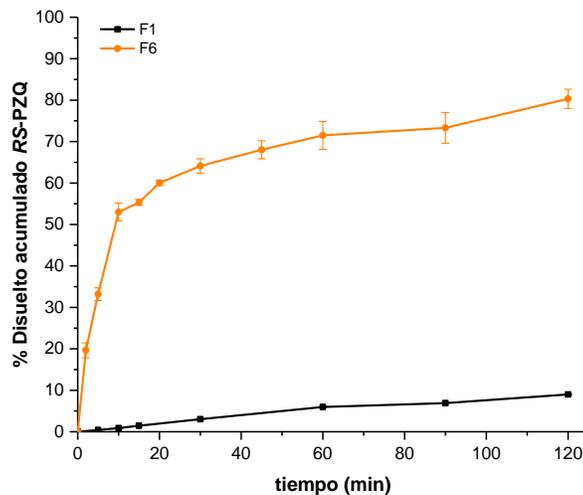


Figura 36. Perfiles de disolución en (condiciones no saturadas) de *RS-PZQ* (F1) y *RS-PZQ:L-Mál* (F6) en medio acuoso de HCl pH 1.2 (promedio $n=3$, \pm DE).

Se observa que la mezcla de cocrystalos *RS-PZQ:L-Mál* (*R-PZQ:L-Mál* + *S-PZQ:L-Mál*) presenta una mayor velocidad de disolución que el fármaco puro *RS-PZQ*, al encontrarse disuelto una concentración de *RS-PZQ* 13 veces mayor con un ABC de 8008.76 ± 285.47 (610.56 ± 7.56 para *PZQ* puro) a los 120 minutos del ensayo (**Figura 36**). Esta diferencia puede ser atribuida a la disminución en la energía de red cristalina del *RS-PZQ* (punto de fusión = $142\text{ }^{\circ}\text{C}$)(94) cuando se encuentra en la fase cocrystalina con el ácido *L-Málico* (punto de fusión = $107\text{ }^{\circ}\text{C}$)(95) así como al aumento de la afinidad del ácido *L-Málico* por el medio de disolución dada su alta solubilidad en agua.(96)

Tabla 16. Valores de las áreas bajo la curva (ABC) del minuto 0-120 y porcentaje disuelto acumulado (% DA) a los 120 min del estudio de las pruebas de disolución las formulaciones de F1 y F6.

Formulación p/p	Componentes (mg)		ABC _{0-120 min} (± DE) (mg/mL*min)	% DA _{120 min} (± DE)
	RS-PZQ	L-Mál		
F1	400.0	-	610.56 ± 7.69	9.00 ± 0.11
F6	279.9	120.1	8008.76 ± 285.47	80.30 ± 2.30

Al evaluar los perfiles de disolución de las formulaciones de la mezcla de cocrystalos por molienda (10 min, 10 Hz) con los polímeros HPC o MC en proporción 1:0.3 y 1:0.5 p/p fármaco:polímero, se aprecia que MC a la proporción de 0.5 (F7) disminuye ligeramente el porcentaje disuelto de RS-PZQ en comparación con las fases cocrystalinas sin polímero (F6) ($p < 0.05$), mientras que a la concentración de 0.3 p/p (F9) este polímero no ejerce ningún efecto ($p > 0.05$), al tener un perfil semejante al de los cocrystalos sin polímero (F6) (**Figura 37a**).

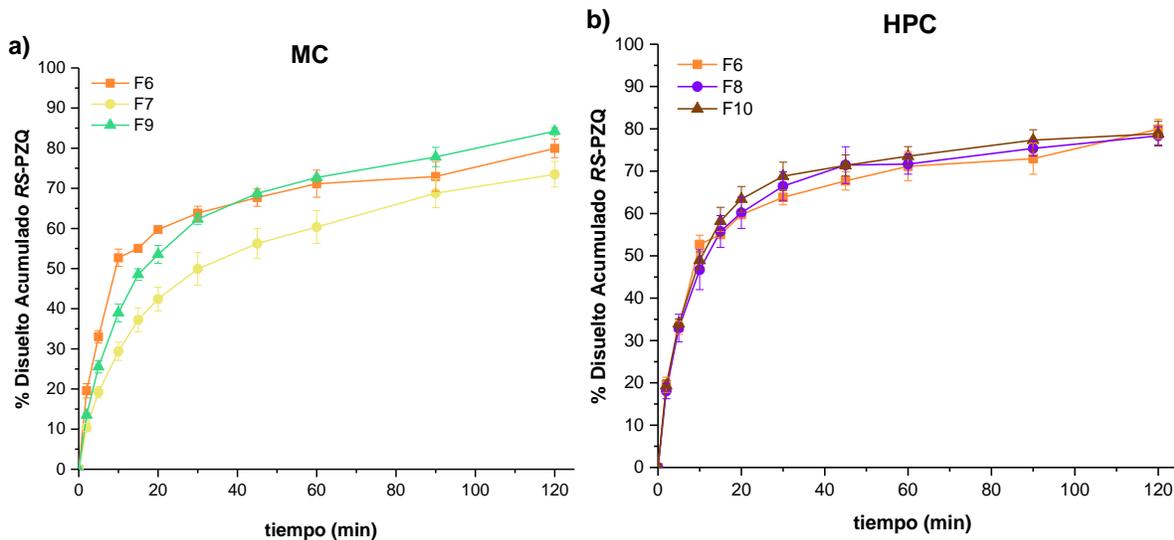


Figura 37. Perfiles de disolución en medio acuoso de HCl pH 1.2 de las siguientes formulaciones preparadas por molienda **a)** Mezcla de cocrystalos diastereoméricos con MC en proporción 0.3 p/p (F9) y 0.5 p/p (F7) y **b)** Mezcla de cocrystalos diastereoméricos con HPC en proporción 0.3 p/p (F10) y 0.5 p/p

(F8) (promedio $n=3 \pm DE$). Para comparar se incluye el perfil de disolución de la mezcla de cocristales diastereoméricos (*RS*-PZQ:*L*-Mál) (F6).

Tabla 17. Valores de las áreas bajo la curva (ABC) del minuto 0-120 y porcentaje disuelto acumulado (% DA) a los 120 min del estudio de las pruebas de disolución de formulaciones F7-F10.

Formulación p/p	Componentes (mg)				ABC _{0-120 min} ($\pm DE$) (mg/mL*min)	% DA _{120 min} ($\pm DE$)
	RS-PZQ	L-Mál	MC	HPC		
F7	207.3	89.1	103.6 ^{a,c}	-	6780.97 \pm 364.75	73.48 \pm 3.18
F8	207.3	89.1	-	103.6 ^{a,c}	8132.56 \pm 296.26	78.35 \pm 2.13
F9	231.2	99.4	69.4 ^{b,c}	-	8058.30 \pm 77.56	84.23 \pm 0.88
F10	231.2	99.4	-	69.4 ^{b,c}	8323.89 \pm 218.30	78.86 \pm 2.90

^a Concentración 0.5 p/p de polímero con relación al fármaco.

^b Concentración 0.3 p/p de polímero con relación al fármaco.

^c Formulaciones obtenidas por molienda mecánica (10 min, 10 Hz).

Para las muestras con HPC los perfiles de disolución a las diferentes concentraciones (0.3 y 0.5 p/p), se comportaron de manera similar al del cocristal sin formular (**Figura 37b**). Esto se ilustra por los valores de ABC: 8008.77 \pm 285.48 (F6), 8132.56 \pm 296.26 (F8) y 8323.89 \pm 218.30 (F10) que no presentan diferencia estadística significativa ($p>0.05$).

Con el fin de comparar se decidió preparar las muestras en vórtex. Al evaluar los perfiles de disolución de las muestras con MC obtenidos por molienda (F9) y vórtex (F11) se observó que estos perfiles fueron prácticamente iguales (**Figura 38a**) confirmándose por el análisis estadístico ($p>0.05$). En el caso de las muestras con HPC el tipo de mezclado sí influyó sobre el perfil de disolución al disminuirse la cantidad disuelta de PZQ (**Figura 38b**) cuando se preparó en vórtex (F12).

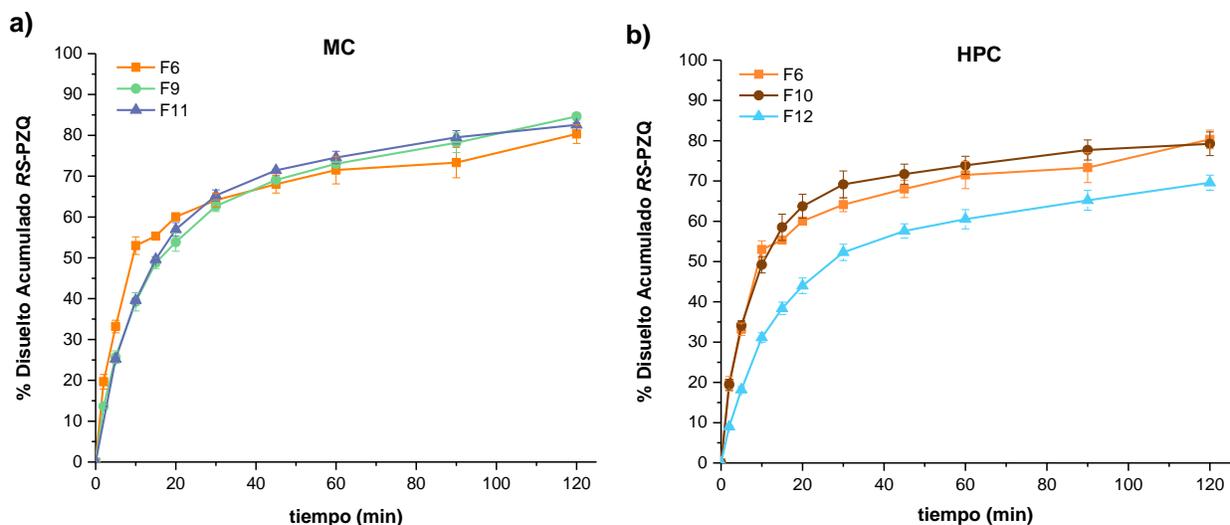


Figura 38. Perfiles de disolución en medio acuoso (HCl, pH 1.2) de las siguientes formulaciones **a)** Mezcla de cocrisales diastereoméricas con MC por molienda (F9) y en vórtex (F11) y **b)** Mezcla de cocrisales diastereoméricas con HPC por molienda (F10) y vórtex (F12) en medio acuoso de HCl pH 1.2 (promedio $n=3 \pm DE$). Para comparar se incluye el perfil de disolución de la mezcla de cocrisales diastereoméricas (RS-PZQ:L-Mál) (F6).

Tabla 18. Valores de las áreas bajo la curva (ABC) del minuto 0-120 y porcentaje disuelto acumulado (% DA) a los 120 min del estudio de las pruebas de disolución de formulaciones F11 y F12.

Formulación p/p	Componentes (mg)				ABC _{0-120 min} ($\pm DE$) (mg/mL*min)	% DA _{120 min} ($\pm DE$)
	RS-PZQ	L-Mál	MC	HPC		
F11	231.2	99.4	69.4 ^{a,b}	-	8189.21 \pm 107.47	82.56 \pm 0.47
F12	231.2	99.4	-	69.4 ^{a,b}	6651.01 \pm 203.95	69.58 \pm 1.86

^a Concentración 0.3 p/p de polímero con relación al fármaco.

^b Formulación obtenida en agitador vórtex (2 min).

A manera de comparación, también se evaluó si el polímero (MC o HPC) tenía un efecto sobre los perfiles de disolución del fármaco puro RS-PZQ. Para ello, en primera instancia se mezcló RS-PZQ con MC en proporción 0.3 p/p por molienda (F2) y vórtex (F4), observando que aunque hubo un aumento significativo en el porcentaje disuelto de PZQ cuando este se formula por molienda con MC (F4) (40.04 % DA), en comparación con RS-PZQ mezclado con MC en vórtex (F2) y sin formular (F1) (19.13 y 9.00 % DA, respectivamente), no alcanza las concentraciones obtenidas en el perfil de disolución de la mezcla diastereomérica de cocrisales sin polímero (80.21 % DA) (**Figura 39a**).

Al evaluar el efecto del polímero HPC en la proporción de 0.3 p/p sobre el perfil de disolución de RS-PZQ, se observa un aumento significativo de la cantidad de PZQ disuelto tanto para la mezcla

preparada por molienda (F5) como en vórtex (F3) alcanzando un % DA de 63.93 ± 2.41 y 67.41 ± 1.98 , respectivamente (**Figura 39b**). Esta mejoría puede deberse a que HPC forma un aducto más soluble con el RS-PZQ debido a interacciones intermoleculares tipo puente de hidrógeno con los residuos -OH y -OCH₂CHOHCH₃ del polímero; por lo tanto, la fluidez y humectabilidad de PZQ se ven mejoradas. Esto se pudo corroborar al momento de la realizar la prueba, ya que todo el sólido de esta formulación salió de las canastillas generando turbidez en el vaso del disolutor.

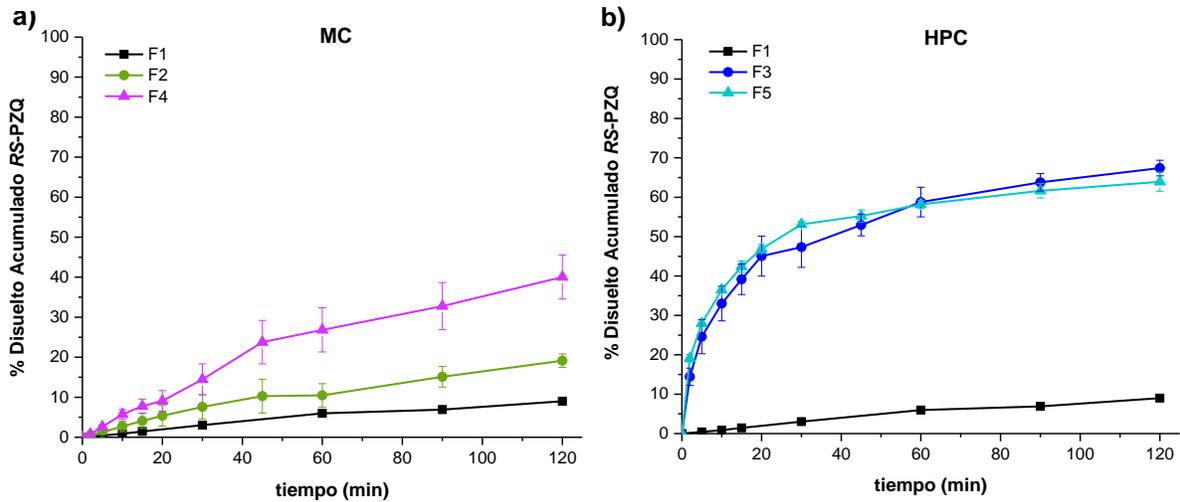


Figura 39. Perfiles de disolución en medio acuoso (HCl, pH 1.2) de las siguientes formulaciones **a)** RS-PZQ con MC 0.3 p/p por molienda (F4) y vórtex (F2) **b)** RS-PZQ con HPC 0.3 p/p por molienda (F5) y vórtex (F3) (promedio $n=3 \pm DE$). Para comparar se incluye el perfil de disolución del fármaco RS-PZQ (F1).

Tabla 19. Valores de área bajo la curva (ABC) del minuto 0-120 de las pruebas de disolución de F2-F5, y porcentaje disuelto acumulado (% DA) a los 120 min del estudio.

Formulación	Componentes (mg)			ABC _{0-120 min} ($\pm DE$) (mg/mL ² ·min)	% DA _{120 min} ($\pm DE$)
	RS-PZQ	MC	HPC		
F2	307.7	92.3 ^{a,b}	-	1305.41 \pm 306.01	19.13 \pm 1.69
F3	307.7	-	92.3 ^{a,b}	6465.88 \pm 377.71	67.41 \pm 1.98
F4	307.7	92.3 ^{a,c}	-	2973.69 \pm 517.10	40.04 \pm 5.59
F5	307.7	-	92.3 ^{a,c}	8323.89 \pm 118.43	63.93 \pm 2.41

^a Concentración 0.3 p/p de polímero con relación al fármaco.

^b Formulaciones obtenidas en vórtex (2 min).

^c Formulaciones obtenidas por molienda (10 min, 10 Hz).

Hasta este momento se observó que, aunque la molienda con los polímeros MC y HPC no tuvo un impacto adicional sobre la concentración disuelta de PZQ cuando la muestra provenía de los cocrystal diastereoméricos, esta técnica permite controlar de mejor manera los parámetros de

obtención de las formulaciones y en este sentido generar una mejor reproducibilidad, ya que se observan barras de error disminuidas en comparación con las formulaciones realizadas en agitador vórtex. Además, se observó un importante aumento en el porcentaje disuelto de la formulación de sólo *RS*-PZQ con HPC a la proporción de 0.3 p/p; es por ello que también se decidió evaluar el efecto del polímero HPC sobre el cocrystal del enantiómero activo *R*-PZQ:*L*-Mál y el hemihidrato *R*-PZQ.

Por consiguiente, se realizaron los perfiles de disolución del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál (F13) y el hemihidrato de *R*-PZQ (F15), en donde se observa un aumento de hasta 2 veces del ABC ($p < 0.05$) la cantidad disuelta de *R*-PZQ para la fase cocrystalina (**Figura 40**). Esta mejora indica una ventaja de solubilidad que ofrece este cocrystal frente al hemihidrato de *R*-PZQ (**Figura 36**).

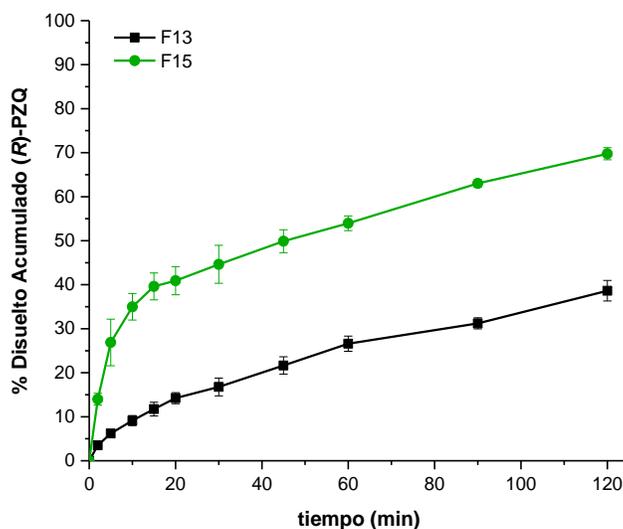


Figura 40. Perfiles de disolución en condiciones no saturadas en medio acuoso de HCl pH 1.2 del hemihidrato de *R*-PZQ (F13) y la fase cocrystalina *R*-PZQ:*L*-Mál (F15) (promedio $n=3$, \pm DE).

Tabla 20. Valores de área bajo la curva (ABC) del minuto 0-120, y porcentaje disuelto acumulado (% DA) a los 120 min del estudio de las pruebas de disolución de las formulaciones F13 y F15.

Formulación	Componentes (mg)		ABC _{0-120 min} (\pm DE) (mg/mL*min)	% DA _{120 min} (\pm DE)	
	p/p	<i>R</i> -PZQ			<i>L</i> -Mál
F13		400.0	-	2893.70 \pm 144.38	38.63 \pm 2.33
F15		279.9	120.1	6279.49 \pm 230.55	69.75 \pm 1.37

El perfil de disolución realizado para la formulación entre el hemihidrato de *R*-PZQ y HPC (0.3 p/p) (F16) indica en comparación con el hemihidrato sin formular (F13) un aumento 2.4 veces en la concentración de *R*-PZQ alcanzando un % DA de 92.31 (38.63 % DA para el hemihidrato) (**Figura 41a**). Al realizar la evaluación de la formulación del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál con HPC en proporción 0.3 p/p obtenido por molienda (10 min, 10 Hz) se observa en la gráfica un ligero incremento en la concentración de *R*-PZQ en comparación con la muestra que sólo contiene la fase cocrystalina (sin HPC) (**Figura 41b**). Sin embargo, registrando las ABC de 6781.45 ± 231.28 (F16) y 6279.49 ± 230.55 (F15) respectivamente, se muestra que estadísticamente no presentaron diferencia significativa ($p > 0.05$).

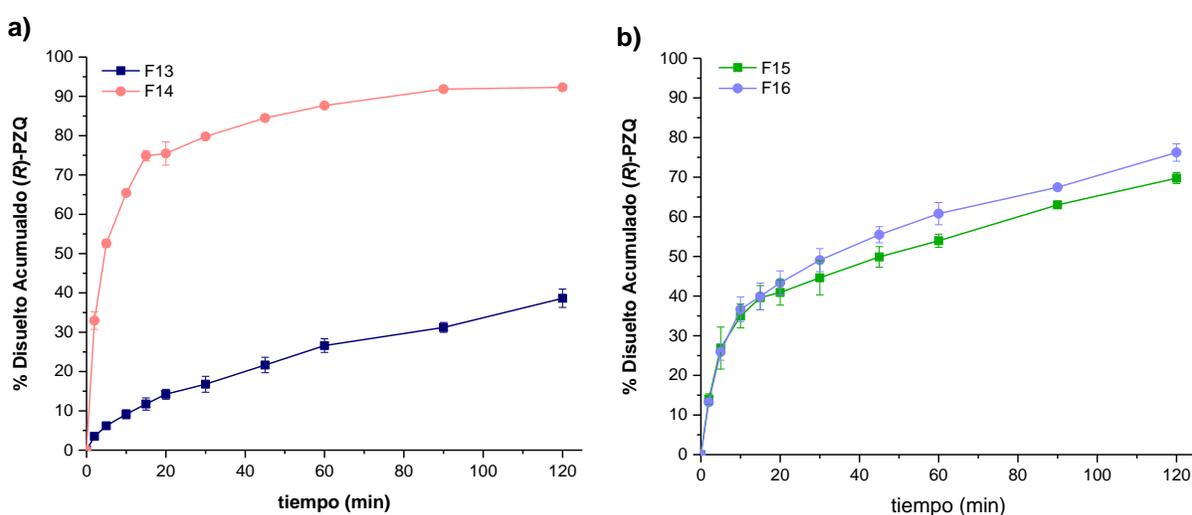


Figura 41. Perfiles de disolución en medio acuoso de HCl pH 1.2 de las siguientes formulaciones por molienda (10 min, 10 Hz) **a)** Mezcla del hemihidrato de *R*-PZQ con HPC 0.3 p/p (F14) y **b)** Mezcla del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál con HPC 0.3 p/p (F16) (promedio $n=3 \pm DE$). Para comparar se incluye el perfil de disolución del hemihidrato del *R*-PZQ (F13) y del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál (F15).

Tabla 21. Valores de área bajo la curva (ABC) del minuto 0-120, y porcentaje disuelto acumulado (% DA) a los 120 min del estudio de las pruebas de disolución de F14, F15 y CISTICID.

Formulación p/p	Componentes (mg)			ABC _{0-120 min} ($\pm DE$) (mg/mL*min)	% DA _{120 min} ($\pm DE$)
	R-PZQ	L-Mál	HPC		
F14	309.3	90.7	-	9937.57 ± 43.66	92.31 ± 0.19
F16	231.2	99.4	69.4 ^a	6781.45 ± 231.28	76.22 ± 2.19
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>					
CISTICID®				9788.31 ± 130.95	92.64 ± 2.24

Con la finalidad de realizar una comparación del perfil de disolución del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál con la forma comercial de *RS*-PZQ, CISTICID® se llevó a cabo la determinación del perfil de disolución bajo los mismos parámetros de prueba, observando que hay una mayor cantidad de PZQ disuelto a partir de la forma de dosificación comercial, al presentar un ABC de 9788.31 ± 130.95 ($p < 0.05$) (**Figura 42**).

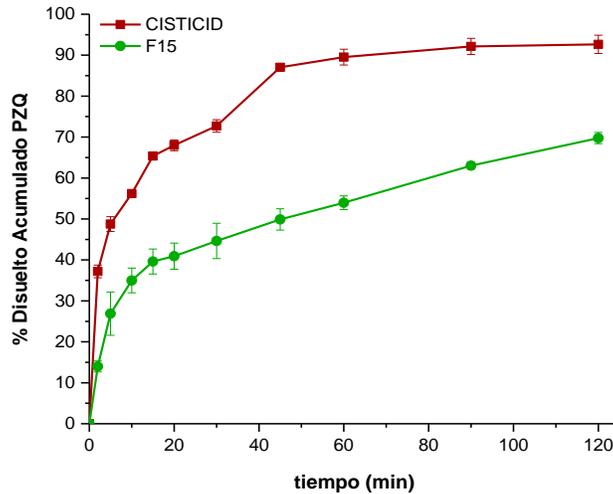


Figura 42. Perfiles de disolución en medio acuoso de HCl pH 1.2 del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál (F15) y la forma comercial de *RS*-PZQ CISTICID® (promedio, $n=3 \pm DE$).

En la **Figura 43** se comparan los perfiles de disolución de la formulación del hemihidrato de *R*-PZQ (F14) con la forma comercial de *RS*-PZQ, CISTICID®, ya que al realizar el análisis de varianza (ANOVA) de una vía de las medias obtenidas con prueba *post hoc* de Tukey se observó que estos perfiles no tuvieron diferencia significativa ($p > 0.05$) **Anexo 5**, obteniendo valores de ABC de 9937.57 ± 43.66 (F14) y 9788.31 ± 130.95 (CISTICID®). En este contexto es importante mencionar que la cantidad disuelta de PZQ en el caso de CISTICID® corresponde al 50 % de *R*-PZQ, por lo que hay una ventaja importante al emplear sólo *R*-PZQ en la formulación.

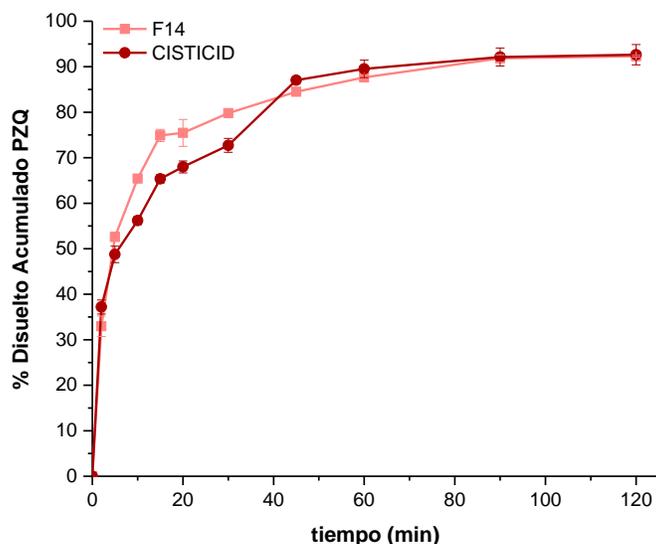


Figura 43. Perfiles de disolución en medio acuoso de HCl pH 1.2 de CISTICID® y la formulación del hemihidrato de *R*-PZQ con HPC 0.3 p/p por molienda (10 min, 10 Hz) (promedio n=3, ±DE).

Para poder realizar una mejor comparación de los perfiles de disolución del co cristal *R*-PZQ:*L*-Mál (F14) y el hemihidrato de *R*-PZQ formulado con HPC 0.3 p/p (F15) con la forma comercial de *RS*-PZQ CISTICID® se calculó el factor de similitud f_2 (**Ecuación 3**) entre estos perfiles.

Este es un método de modelo independiente que compara y determina numéricamente qué tan parecidos son dos perfiles de disolución entre sí. Es una medida de la similitud del porcentaje de disolución entre ambas curvas, calculado a partir de la siguiente ecuación:

$$f_2 = 50 \cdot \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n |R_t - T_t|^2 \right]^{-0.5} \cdot 100 \right\} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde n = número de puntos experimentales

R_t = % de fármaco disuelto a cada tiempo de la referencia (CISTICID®)

T_t = % de fármaco disuelto a cada tiempo del nuevo producto (F14 o F15)

Esta evaluación se realiza simultáneamente con el factor de diferencia f_1 que calcula la diferencia porcentual (%) entre las dos curvas en cada punto temporal y es una medida del error relativo entre las dos curvas (**Ecuación 4**):

$$f_1 = \left\{ \left[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t| \right] / \left[\sum_{t=1}^n R_t \right] \right\} \cdot 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

Este factor toma valores de 100 cuando los perfiles son idénticos y tenderá a cero a medida que se hacen diferentes. La FDA sugiere que dos perfiles de disolución se consideran iguales si f_2 se encuentra entre 50 y 100. En términos generales un $f_2 \geq 50$, refleja diferencias menores al 10 %. Para llevar a cabo esta comparación se sugiere tener en cuenta las siguientes consideraciones:(89)

- Las evaluaciones de los perfiles de disolución deberán realizarse bajo los mismos parámetros (tiempos de muestreo, medio de disolución, temperatura y agitación).
- Sólo se deberá considerar una medición después del 85% disuelto de ambos productos.

En la comparación de perfiles de disolución del cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál con CISTICID® se obtuvo un factor de similitud con valor de $f_2 = 29\%$ y un factor de diferencia $f_1 = 73\%$ lo que indica que no hay una similitud en estos perfiles al encontrar un porcentaje de f_2 menor a 50 (**Anexo 12**).

Cuando se determinó el factor de similitud entre el hemihidrato formulado con HPC 0.3 p/p por molienda, se encontró un valor de $f_2 = 58\%$ y $f_1 = 9\%$ concluyendo que la formulación del hemihidrato con HPC surge como una alternativa prometedora para el desarrollo de una formulación de (*R*)-PZQ como una forma de dosificación oral de liberación inmediata, al encontrar una similitud en estos perfiles de disolución. Pudiendo disminuir el tamaño de la tableta comercial de PZQ al tener únicamente al eutómero de este IFA por lo que pudiera ser beneficioso para la administración en niños además que se ha reportado que es dos veces más potente que el racemato (**Anexo 13**)

8. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron satisfactoriamente las materias primas hemihidrato de *R*-PZQ, cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál y los cocristales diastereoméricos *R*-PZQ:*L*-Mál + *S*-PZQ:*L*-Mál (*RS*-PZQ:*L*-Mál) mediante la metodología descrita en la bibliografía. Se pudo optimizar la obtención de los cocristales diastereoméricos determinando que una molienda por 10 min a 25 Hz de frecuencia es suficiente para su síntesis.
- Los polímeros hidrofílicos MC y HPC permitieron aumentar y prolongar la sobresaturación de *R*-PZQ generada por el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál; sin embargo, quien mostró mejor efecto como PIP fue el polímero MC siendo la solubilidad aparente 2.1 veces mayor con respecto a *R*-PZQ·0.5H₂O sin polímero inhibiendo la rápida precipitación del hemihidrato *R*-PZQ.
- El análisis de los sólidos recuperados de las muestras en la prueba de disolución de polvos en condiciones saturadas mostró que MC y HPC predisueltos estabilizan la fase cocrystalina por un tiempo prolongado de 7 y 8 min, respectivamente, en comparación con el hemihidrato de *R*-PZQ sin formular (3 min), lo que explica en parte la influencia favorable del polímero en la solubilidad aparente.
- Se prepararon formulaciones sólidas con los polímeros MC o HPC, en condiciones de mezclado por molienda (10 min, 10 Hz) o en agitador vórtex (2 min). La cristalinidad de los sólidos evaluados se conservó, al analizar los patrones de DRXP.
- Los cocristales diastereoméricos *RS*-PZQ:*L*-Mál y el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál aumentaron significativamente la concentración de PZQ en comparación con el fármaco (13 y 2 veces, respectivamente).
- No obstante, los cocristales diastereoméricos sin formular muestran un perfil de disolución similar al obtenido cuando estos se encuentran formulados con HPC 0.3 p/p por molienda (10 min, 10 Hz), alcanzando concentraciones entre 80-85% DA de *RS*-PZQ sin diferencia estadística. El mismo efecto fue observado en la comparación de las muestras con el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál formulado con HPC y sin formular, al no haber un cambio significativo en los perfiles de disolución; sin embargo la formulación del hemihidrato de *R*-PZQ con HPC incremento de forma significativa el % DA de PZQ.
- Al comparar los perfiles de disolución con el factor de similitud *f*₂ de la forma comercial de *RS*-PZQ CISTICID®, con el obtenido de la formulación del hemihidrato de *R*-PZQ con HPC (0.3 p/p) por molienda (10 Hz, 10 min) se observó que presentan un perfil de disolución similar con un

valor de $f_2 = 58\%$, lo que indica una ventaja importante sobre la forma comercial, al encontrarse sólo el enantiómero activo *R*-PZQ formulado con HPC mientras que CISTICID® contiene una variedad de excipientes (almidón de maíz, estearato de magnesio, celulosa microcristalina, povidona, lauril sulfato de sodio, polietilenglicol, dióxido de titanio e hidroxipropilcelulosa (HPC). Con base en este resultado se podría crear una formulación con una disminución significativa de la dosis comercial (600 mg), reduciendo los efectos adversos asociados a PZQ.

9. PERSPECTIVAS

- Realizar estudios de estabilidad indicativa y acelerada de la formulación con mayor cantidad disuelto de PZQ (F14).
- Evaluar otras familias y concentraciones de polímeros hidrofílicos con sistemas cocrystalinos del enantiómero activo de PZQ.
- Realizar estudios de permeabilidad en membranas artificiales con el fin de observar si el cocrystal *R*-PZQ:*L*-Mál modifica el proceso de difusión pasiva de este IFA.
- Evaluar por TGA-DSC e IR el tipo de interacciones que se llevan a cabo entre el cocrystal:polímero y fármaco:polímero.
- Realizar una tableta del enantiómero activo *R*-PZQ hemihidratado con HPC y analizar los perfiles de disolución en comparación con la presentación comercial actual de PZQ.
- Una vez obtenida la forma de dosificación oral, realizar estudios in-vivo de biodisponibilidad en un modelo animal.

10. REFERENCIAS

1. Trastullo R, Stella L, Passerini N, Albertini B. Development of flexible and dispersible oral formulations containing praziquantel for potential schistosomiasis treatment of pre-school age children. *Int J Pharm.* 2015;495(1):536–50.
2. Friedman JF, Olveda RM, Mirochnick MH, Bustinduy AL, Elliott AM. Praziquantel for the treatment of schistosomiasis during human pregnancy. *Bull World Heal Organ.* 2018;96:59–65.
3. OMS | Esquistosomiasis [Internet]. WHO. World Health Organization; 2017 [citado el 4 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/es/>
4. Flórez J. *Farmacología Humana*. 6a ed. Elsevier; 2014. 1123 p.
5. Wu ZH, Lu M, Hu LY, Li X. Praziquantel synergistically enhances paclitaxel efficacy to inhibit cancer cell growth. *PLoS One.* 2012;7(12):1–11.
6. Alsaqabi SM, Lotfy WM. Praziquantel : A Review. *J Vet Sci Technol.* 2014;5(5):1–8.
7. Tatar E, Ates G, Kucukguzel I. Development and validation of a RP-HPLC method for quality control of oxantel pamoate, pyrantel pamoate and praziquantel in tablets. *Marmara Pharm J.* 2015;1(19):27–27.
8. FDA. BILTRICIDE. [citado el 17 de noviembre de 2017]; Disponible en: <http://www.bayerresources.com.au/resources/uploads/pi/file9318.pdf>
9. Chai J-Y. Praziquantel treatment in trematode and cestode infections: an update. *Infect Chemother.* 2013;45(1):32–43.
10. Praziquantel Side Effects [Internet]. [citado el 16 de noviembre de 2017]. Disponible en: <https://www.drugs.com/sfx/praziquantel-side-effects.html#refs>
11. King CH. Drugs Five Years Later: Praziquantel. *Ann Intern Med.* 1989;110(4):290.
12. Nguyen LA, He H, Pham-Huy C. Chiral drugs: an overview. *Int J Biomed Sci.* 2006;2(2):85–100.
13. Roberts JD, Caserio MC. *Basic principles of organic chemistry*. W.A. Benjamin; 1977. 1596 p.
14. Asymmetric synthesis | chemical reaction | Britannica.com [Internet]. [citado el 12 de febrero de 2018]. Disponible en: <https://www.britannica.com/science/asymmetric-synthesis>
15. Camps García P, Escolano Mirón C, Vázquez Cruz S. *Química Farmacéutica I*. España: Universidad de Barcelona; 2009. 55-56 p.
16. Roszkowski P, Maurin JK, Czarnocki Z. Enantioselective synthesis of (R)-(-)-praziquantel (PZQ). *Tetrahedron: Asymmetry.* 2006;17(9):1415–9.
17. Feitsma KG, Drenth BFH. Chromatographic separation of enantiomers. *Int J Clin Pharm.*

- 1988;10(1):1–11.
18. Ching CB, Lim BG, Lee EJD, Ng SC. Preparative resolution of praziquantel enantiomers by simulated counter-current chromatography. *J Chromatogr.* 1993;634(2):215–9.
 19. Sánchez-Guadarrama O, Mendoza-Navarro F, Cedillo-Cruz A, Jung-Cook H, Arenas-García JI, Delgado-Díaz A, et al. Chiral Resolution of RS-Praziquantel via Diastereomeric Co-Crystal Pair Formation with L-Malic Acid. *Cryst Growth Des.* 2016;16(1):307–14.
 20. Baena Y, Ponce D'león LF. Importancia y fundamentación del sistema de clasificación biofarmacéutico, como base de la exención de estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia in vivo. *Rev Colomb Cienc Quím Farm.* 2008;37(1):18–32.
 21. Issa MG, Ferraz HG. Intrinsic dissolution as a tool for evaluating drug solubility in accordance with the biopharmaceutics classification system. *Dissolution Technol.* 2011;18(3):6–13.
 22. CDER/FDA. Guidance for Industry, Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. *Cent Drug Eval Res.* 2017;(1):3.
 23. Sisodiya DS, Patel R, Nigam A. Solubility & Dissolution. *Int J Res Rev Pharm Appl Sci.* 2(2):305–41.
 24. Behera L, Sahoo S, Patil S. Enhancement of Solubility: A pharmaceutical Overview. *Der Pharm Lett.* 2010;2(2):310–8.
 25. Gao Z, Rohani S, Gong J, Wang J. Recent Developments in the Crystallization Process: Toward the Pharmaceutical Industry. *Engineering.* 2017;3(3):343–53.
 26. Smith BT. *Physical Pharmacy.* 1a ed. Pharmaceutical Press; 2015. 168 p.
 27. Gadade DD, Pekamwar SS. Pharmaceutical cocrystals: Regulatory and strategic aspects, design and development. *Adv Pharm Bull.* 2016;6(4):479–94.
 28. Fuentes Noriega I, Rubio C. K, Hernández Z LP, Portilla B. M, Aguilar C. AE. Estudios de perfiles de disolución, calorimetría diferencial de barrido y tamaño de partícula como elementos para determinar la calidad de materias primas. *Rev Mex Ciencias Farm.* 2006;37(4):43–57.
 29. Agrawal S, Ashokraj Y, Bharatam P V, Pillai O, Panchagnula R. Solid-state characterization of rifampicin samples and its biopharmaceutic relevance. *Eur J Pharm Sci.* 22(3):127–44.
 30. Shan N, Zaworotko MJ. The role of cocrystals in pharmaceutical science. *Drug Discov Today.* 2008;13(9–10):440–6.
 31. Rodriguez-Aller M, Guillarme D, Veuthey J, Gurny R. Strategies for formulating and delivering poorly water-soluble drugs. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2015;30:342–51.
 32. Jain A, Ran Y, Yalkowsky SH. Effect of pH-sodium lauryl sulfate combination on solubilization of PG-300995 (an anti-HIV agent): a technical note. *AAPS PharmSciTech.* 2004;5(3):65–7.

33. Testa B. Prodrugs: bridging pharmacodynamic/pharmacokinetic gaps. *Curr Opin Chem Biol.* 2009;13(3):338–44.
34. Rasenack N, Müller BW. Micron-Size Drug Particles: Common and Novel Micronization Techniques. *Pharm Dev Technol.* 2004;9(1):1–13.
35. Chen H, Khemtong C, Yang X, Chang X, Gao J. Nanonization strategies for poorly water-soluble drugs. *Drug Discov Today.* 2011;16(7–8):354–60.
36. Jambhekar SS, Breen P. Cyclodextrins in pharmaceutical formulations I: structure and physicochemical properties, formation of complexes, and types of complex. *Drug Discov Today.* 2016;21(2):356–62.
37. Gupta S, Kesarla R, Omri A. Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on self-emulsifying systems. *ISRN Pharm.* 2013;2013:1–16.
38. Vimalson C. Techniques to Enhance Solubility of Hydrophobic Drugs : An Overview. *Asian J Pharm.* 2016;2016(2):1–5.
39. Janssens S, Mooter G Van Den. Review: physical chemistry of solid dispersions. *J Pharm Pharmacol.* 2009;1571–86.
40. Dametto PR, Dametto AC, Polese L, Ribeiro CA, Chorilli M, de Freitas O. Development and physicochemical characterization of solid dispersions containing praziquantel for the treatment of schistosomiasis. *J Therm Anal Calorim.* 2017;127(2):1693–706.
41. Om B, Amruta S, Shashikant D, Rohini P, Vinita R, Priyanka K. Design and statistical optimisation of praziquantel tablets by using solid dispersion approach. *Asian J Pharm.* 2015;9(2):83–92.
42. Liu Y, Wang T, Ding W, Dong C, Wang X, Chen J, et al. Dissolution and oral bioavailability enhancement of praziquantel by solid dispersions. *Drug Deliv Transl Res.* 2018;8(3):580–90.
43. De La Torre P, Torrado S, Torrado S. Preparation, Dissolution and Characterization of Praziquantel Solid Dispersions. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 1999;47(11):1629–33.
44. Becket G, Schep LJ, Tan MY. Improvement of the in vitro dissolution of praziquantel by complexation with alpha-, beta- and gamma-cyclodextrins. *Int J Pharm.* 1999;179(1):65–71.
45. Li Y, Yehui G, Hao L, Yu Z, Jinsong Y, Yanyan C. Enhancement the oral bioavailability of praziquantel by incorporation into solid lipid nanoparticles. *Pharmazie.* 2009;64(2):86–9.
46. Alonzo DE, Zhang GGZ, Zhou D, Gao Y, Taylor LS. Understanding the behavior of amorphous pharmaceutical systems during dissolution. *Pharm Res.* 2010;27(4):608–18.
47. Savjani KT, Gajjar AK, Savjani JK. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. *ISRN Pharm.* 2012;2012:1–10.
48. Blagden N, de Matas M, Gavan PT, York P. Crystal engineering of active pharmaceutical

- ingredients to improve solubility and dissolution rates. *Adv Drug Deliv Rev.* 2007;59(7):617–30.
49. Vitthalrao MA, Kumar FN, Radheshyam BK. Co-crystallization: An Alternative Approach for Solid Modification. *J Drug Deliv Ther.* 2013;3(4):166–72.
 50. Brittain HG. *Polymorphism in pharmaceutical solids.* 192a ed. Informa Healthcare; 2009. 656 p.
 51. Zanolli D, Perissutti B, Passerini N, Chierotti MR, Hasa D, Voinovich D, et al. A new soluble and bioactive polymorph of praziquantel. *Eur J Pharm Biopharm.* 2018;127:19–28.
 52. Serajuddin ATM. Salt formation to improve drug solubility. *Adv Drug Deliv Rev.* 2007;59(7):603–16.
 53. Childs SL, Stahly GP, Park A. The salt-cocystal continuum: The influence of crystal structure on ionization state. *Mol Pharm.* 2007;4(3):323–38.
 54. Byrn SR, Zografi G, Chen X (Sean). *Solid-state properties of pharmaceutical materials.* United States of America: WILEY; 2017. 432 p.
 55. Healy AM, Worku ZA, Kumar D, Madi AM. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;117:25–46.
 56. Delgado-Díaz A. Estudio del impacto del uso de polímeros en las propiedades biofarmacéuticas de sistemas cocrystalinos de praziquantel. Universidad Autónoma del Estado de Morelos; 2016.
 57. Borrego-Sánchez A, Viseras C, Aguzzi C, Sainz-Díaz CI. Molecular and crystal structure of praziquantel. Spectroscopic properties and crystal polymorphism. *Eur J Pharm Sci.* 2016;92:266–75.
 58. Dalpiaz A, Pavan B, Ferretti V. Can pharmaceutical co-crystals provide an opportunity to modify the biological properties of drugs? *Drug Discov Today.* 2017;22(8):1134–8.
 59. Sanchez-Gonzalez EG, Vázquez-Olvera JI, Marroquin-Segura R, Espinosa-Contreras C, Hernández-Abad VJ. Importancia de la investigación acerca del estado sólido durante las etapas iniciales del desarrollo de medicamentos. *Rev Mex Ciencias Farm.* 2016;47(3):7–25.
 60. Savjani J. Co-crystallization: An approach to improve the performance characteristics of active pharmaceutical ingredients. *Asian J Pharm.* 2015;9(3):147.
 61. Bolla G, Nangia A. Pharmaceutical cocrystals: walking the talk. *Chem Commun (Camb).* 2016;52(54):8342–60.
 62. Saucedo-Balderas MM, Zúñiga-Lemus O, Ortigón-Reyna D, González-González JS. Los cocrystalos farmacéuticos: Conceptos generales. *An la Real Acad Nac Farm.* 2014;80(2):265–73.
 63. Puigjaner C, Barbas R, Portell A, Prohens R. Cocrystalos Farmacéuticos: El nuevo reto.

Farmacéutico. 2009;419:42–54.

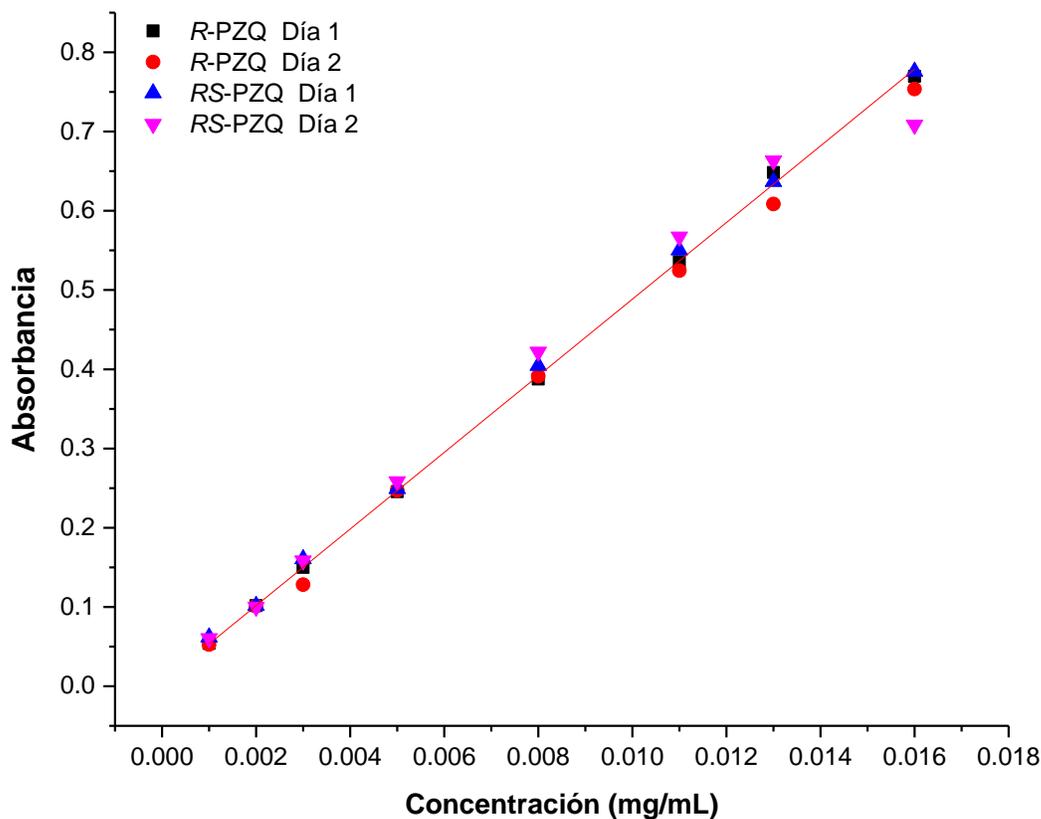
64. Duggirala NK, Perry ML, Almarsson Ö, Zaworotko MJ. Pharmaceutical cocrystals: along the path to improved medicines. *Chem Commun*. 2016;52(4):640–55.
65. Carlos-Martínez JG. Desarrollo Farmacéutico de Cocrisales de Tadalafilo. Universidad Autónoma del Estado de Morelos; 2017.
66. Mounika P, Raj SV, Divya G, Gowramma A, Vijayamma G, Rangampet A, et al. Preparation and Characterization of Novel Co-Crystal Forms of Fexofenadine. *Int J Innov Pharm Res*. 2015;6(1):458–63.
67. Kotak U, Prajapati V, Solanki H, Jani G, Jha P. Co-crystallization Technique - Its rationale and recent progress. *World J Pharm Pharm Sci*. 2015;4(4):1484–508.
68. Bethune SJ. Thermodynamic and kinetic parameters that explain crystallization and solubility of pharmaceuticals. University of Michigan; 2009.
69. Trask A V., Motherwell WDS, Jones W. Pharmaceutical Cocrystallization: Engineering a Remedy for Caffeine Hydration. *Cryst Growth Des*. mayo de 2005;5(3):1013–21.
70. Shankar P, Jagannath S, Nathuram U, Prasad P, Prakash S, Sudhir V. Pharmaceutical co-crystals: a novel approach and techniques for solubility enhancement. *Eur J Pharm Med Res*. 2017;4(2):376–84.
71. Alvarado K. Uso de cocrisales para mejorar la solubilidad y velocidad de disolución de los fármacos. *Rev Pensam Actual*. 2015;15(25):207–15.
72. Kale DP, Zode SS, Bansal AK. Challenges in Translational Development of Pharmaceutical Cocrystals. *J Pharm Sci*. 2017;106(2):457–70.
73. Newman A. X-ray Powder Diffraction in Solid Form Screening and Selection [Internet]. 2011 [citado el 20 de enero de 2018]. Disponible en: <http://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/36946-X-ray-Powder-Diffraction-in-Solid-Form-Screening-and-Selection/>
74. Pindelska E, Sokal A, Kolodziejski W. Pharmaceutical cocrystals, salts and polymorphs: Advanced characterization techniques. *Adv Drug Deliv Rev* [Internet]. 2017;117:111–46. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.09.014>
75. Brittain HG. Characterization of Pharmaceutical Compounds in the Solid State [Internet]. 2a ed. Vol. 10, Separation Science and Technology. Elsevier Inc.; 2011. 11-58 p. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-375680-0.00002-4>
76. Feeney OM, Crum MF, McEvoy CL, Trevaskis NL, Williams HD, Pouton CW, et al. 50 years of oral lipid-based formulations: Provenance, progress and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016;101:167–94.
77. Xu S, Dai W-G. Drug precipitation inhibitors in supersaturable formulations. *Int J Pharm*. 2013;453(1):36–43.
78. Petruševska M, Urleb U, Peternel L. Evaluation of a High-Throughput Screening Method

for the Detection of the Excipient-Mediated Precipitation Inhibition of Poorly Soluble Drugs. *Assay Drug Dev Technol.* 2013;11(2):117–29.

79. Guo M, Wang K, Qiao N, Fábíán L, Sadiq G, Li M. Insight into Flufenamic Acid Cocrystal Dissolution in the Presence of a Polymer in Solution: from Single Crystal to Powder Dissolution. *Mol Pharm.* 2017;14(12):4583–96.
80. Laitinen R, Löbmann K, Grohganz H, Priemel P, Strachan CJ, Rades T. Supersaturating drug delivery systems: The potential of co-amorphous drug formulations. *Int J Pharm.* 2017;532(1):1–12.
81. Warren DB, Benameur H, Porter CJH, Pouton CW. Using polymeric precipitation inhibitors to improve the absorption of poorly water-soluble drugs: A mechanistic basis for utility. *J Drug Target.* 2010;18(10):704–31.
82. Espinosa-Lara JC, Guzman-Villanueva D, Arenas-García JI, Herrera-Ruiz D, Morales-Rojas H, Höpfl H. Cocrystals of active pharmaceutical ingredients - Praziquantel in combination with oxalic, malonic, succinic, maleic, fumaric, glutaric, adipic, and pimelic acids. *Cryst Growth Des.* 2013;13(1):169–85.
83. Rodríguez C. Desarrollo Farmacéutico de Cocrisales de R-Praziquantel. Universidad Autónoma del Estado de Morelos; 2017.
84. Leyssens T, Tumanova N, Robeyns K, Candoni N, Veessler S. Solution cocrystallization, an effective tool to explore the variety of cocrystal systems: caffeine/dicarboxylic acid cocrystals. *CrystEngComm.* 2014;16(41):9603–11.
85. Gennaro AR, Remington JP, Belluci S. Remington Farmacia. 20a ed. Editorial Médica Panamericana; 2003. 2506 p.
86. Rowe R, Sheskey P, Quinn M. Handbook of Pharmaceutical Excipients. *Handb Pharm excipients*, Sixth Ed. 2009;549–53.
87. Rahman SMH, Telny TC, Ravi TK, Kuppusamy S. Role of Surfactant and pH in Dissolution of Curcumin. *Indian J Pharm Sci.* 2009;71(2):139–42.
88. Augsburger LL, Hoag WS. *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets - Vol 1. Unit Operations and Mechanical Properties.* 3a ed. United States of America: Informa Healthcare; 2008. 639 p.
89. Guía para la Industria: Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata. [Internet]. U.S. FDA/CDER; 1997 [citado el 25 de marzo de 2018]. Disponible en: <https://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm200707.htm>
90. Babu NJ, Nangia A. Solubility Advantage of Amorphous Drugs and Pharmaceutical Cocrystals. *Cryst Growth Des.* 2011;11(7):2662–79.
91. FDA. Guidance for Industry ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism. Chemistry, Manufacturing, and Controls Information [Internet]. 2007 [citado el 25 de marzo de 2018]. p. 1–10. Disponible en: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>

92. Barzegar-Jalali M, Valizadeh H, Dastmalchi S, Shadbad MRS, Barzegar-Jalali A, Adibkia K, et al. Enhancing Dissolution Rate of Carbamazepine via Cogrinding with Crospovidone and Hydroxypropylmethylcellulose. *Iran J Pharm Res.* 2007;6(3):159–65.
93. Barzegar-Jalali M, Valizadeh H, Shadbad MRS, Adibkia K, Mohammadi G, Farahani A, et al. Cogrinding as an approach to enhance dissolution rate of a poorly water-soluble drug (gliclazide). *Powder Technol.* 2010;197(3):150–8.
94. Cugovčan M, Jablan J, Lovrić J, Cinčić D, Galić N, Jug M. Biopharmaceutical characterization of praziquantel cocrystals and cyclodextrin complexes prepared by grinding. *J Pharm Biomed Anal.* 2017;137:42–53.
95. L-(–)-Malic acid ≥95% (titration) | Sigma-Aldrich [Internet]. [citado el 25 de marzo de 2018]. Disponible en: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/m1000?lang=es®ion=MX>
96. Walsh D, Serrano DR, Worku ZA, Norris BA, Healy AM. Production of cocrystals in an excipient matrix by spray drying. *Int J Pharm.* 2018;536(1):467–77.

11. ANEXOS



Anexo 1. Comparación de la linealidad del sistema de las curvas de cuantificación para *R-PZQ* y *RS-PZQ* en HCl pH 1.2 en dos días diferentes.

Tabla ANOVA para ABC

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2809.88	5	561.976	125.84	0.0000
Intra grupos	53.5904	12	4.46587		
Total (Corr.)	2863.47	17			

Anexo 2. Análisis de varianza de una vía de las ABC de los perfiles de disolución de polvos en condiciones sobresaturadas del cocrystal *R-PZQ*:*L-Mál* y el hemihidrato de *R-PZQ* con y sin polímero predisuelto (0.5 % p/v).

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
R-PZQ:L-Mál	3	34.14	X
R-PZQ hemihidrato	3	34.3333	X
R-PZQ + HPC 0.5%	3	35.1	X
R-PZQ + MC 0.5%	3	35.2867	X
R-PZQ:L-Mál + HPC 0.5 %	3	52.3033	X
R-PZQ:L-Mál + MC 0.5 %	3	66.97	X

Anexo 3. Pruebas de múltiples rangos (Tukey, $p < 0.05$) para ABC de los perfiles de disolución de polvos en condiciones sobresaturadas del cocrystal R-PZQ:L-Mál y el hemihidrato de R-PZQ con y sin polímero predisolto (0.5 % p/v).

Tabla ANOVA para ABC por formulación F1-F16 y CISTICID®.

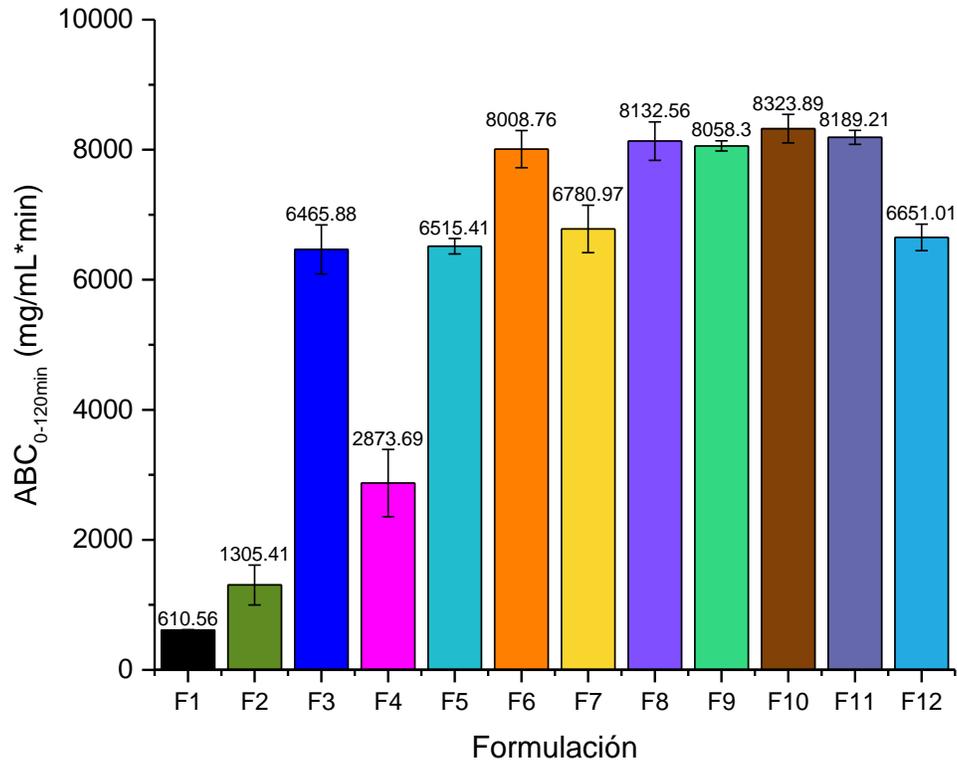
Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3.71219E8	16	2.32012E7	367.80	0.0000
Intra grupos	2.14478E6	34	63081.9		
Total (Corr.)	3.73364E8	50			

Anexo 4. Análisis de varianza de una vía de las ABC de los perfiles de disolución en condiciones no saturadas de las formulaciones F1-F16 y CISTICID®.

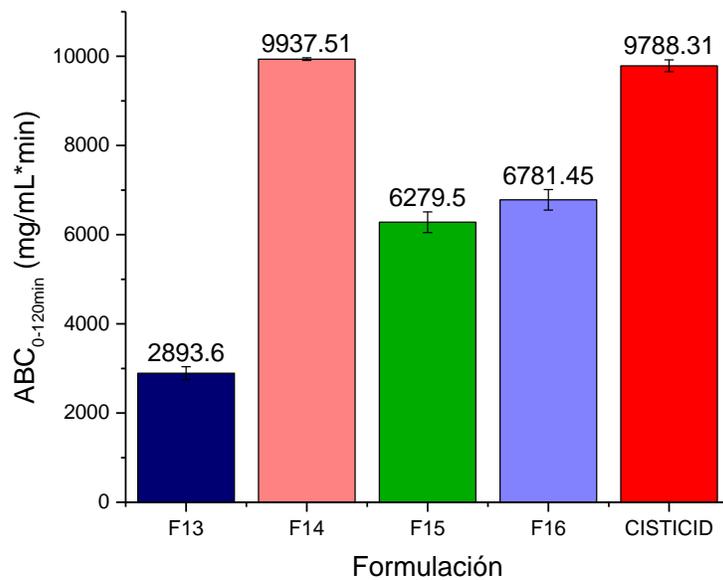
Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Sólido	Casos	Media	Grupos Homogéneos
F1	3	610.567	X
F2	3	1305.41	X
F4	3	2873.69	X
F13	3	2893.6	X
F15	3	6279.5	X
F3	3	6465.88	X
F5	3	6515.42	X
F12	3	6651.01	X
F7	3	6780.97	X
F16	3	6781.45	X
F6	3	8008.77	X
F9	3	8058.3	X
F8	3	8132.56	X
F11	3	8189.21	X
F10	3	8323.9	X
CISTICID®	3	9788.31	X
F14	3	9937.51	X

Anexo 5. Prueba de múltiples rangos (Tukey, $p < 0.05$) para las ABC de perfiles de disolución de las formulaciones realizadas (F1- F16) y CISTICID® en condiciones no saturadas.



Anexo 6. ABC_{0-120min} de los perfiles de disolución en condiciones no saturadas de las formulaciones realizadas con los cocristales diastereoméricos con los polímeros HPC y MC.



Anexo 7. ABC_{0-120min} de los perfiles de disolución en condiciones no saturadas de las formulaciones realizadas para el cocristal *R*-PZQ:*L*-Mál con y sin polímero HPC (0.3 p/p) por molienda (10 min, 10 Hz) y para CISTICID®.

No.	Nivel (%)	Conc. (mg/mL)	Absorbancia R-PZQ	X ²	Y ²	XY
1	40	0.001	0.05123844	0.000001	0.002625378	0.000051
2	40	0.001	0.05411067	0.000001	0.002927965	0.000054
3	40	0.001	0.0538111	0.000001	0.002895634	0.000054
1	60	0.002	0.10068031	0.000004	0.010136525	0.000201
2	60	0.002	0.10297971	0.000004	0.010604821	0.000206
3	60	0.002	0.10152005	0.000004	0.010306321	0.000203
1	80	0.003	0.14680262	0.000009	0.021551009	0.000440
2	80	0.003	0.15217397	0.000009	0.023156917	0.000457
3	80	0.003	0.15073907	0.000009	0.022722267	0.000452
1	100	0.005	0.23992636	0.000025	0.057564658	0.001200
2	100	0.005	0.24277731	0.000025	0.058940822	0.001214
3	100	0.005	0.25380602	0.000025	0.064417496	0.001269
1	120	0.008	0.38695294	0.000064	0.149732578	0.003096
2	120	0.008	0.39238173	0.000064	0.153963422	0.003139
3	120	0.008	0.38319898	0.000064	0.146841458	0.003066
1	120	0.010	0.52998871	0.000100	0.280888033	0.005300
2	120	0.010	0.54038119	0.000100	0.292011831	0.005404
3	120	0.010	0.53663755	0.000100	0.287979860	0.005366
1	120	0.013	0.65811544	0.000169	0.433115932	0.008556
2	120	0.013	0.63978577	0.000169	0.409325831	0.008317
3	120	0.013	0.64746326	0.000169	0.419208673	0.008417
1	120	0.016	0.76053017	0.000256	0.578406139	0.012168
2	120	0.016	0.77269143	0.000256	0.597052046	0.012363
3	120	0.016	0.77615106	0.000256	0.602410468	0.012418

ΣX:	0.174000	Promedio X:	0.007250
ΣY:	8.674844	Promedio Y:	0.361452
ΣX²:	0.001884	Promedio X²:	0.000079
ΣY²:	4.639	Promedio Y²:	0.193
ΣXY:	0.093411	Promedio XY:	0.003892

Pendiente (β₁):	49.025931
Ordenada al origen (β₀):	0.006014
Desviación Estándar de Regresión (S_{x/y}):	0.017892
Desviación Estándar de la Pendiente (Sβ₁):	0.717133
Límite Superior IC para la Pendiente (IC(β₁)):	50.513266
Límite Inferior IC para la Pendiente (IC(β₁)):	47.538597
Coefficiente de Determinación (R²):	0.995315

Límite de Detección:	0.001204	mg/mL
Límite de Cuantificación:	0.003650	mg/mL

Anexo 8. Datos obtenidos de la curva de cuantificación del día 1 para R-PZQ en medio de HCl pH 1.2.

No.	Nivel (%)	Conc. (mg/mL)	Absorbancia R-PZQ	X ²	Y ²	XY
1	40	0.001	0.05214484	0.000001	0.002719084	0.000052
2	40	0.001	0.05153931	0.000001	0.002656300	0.000052
3	40	0.001	0.05405525	0.000001	0.002921970	0.000054
1	60	0.002	0.09871616	0.000004	0.009744880	0.000197
2	60	0.002	0.10137455	0.000004	0.010276799	0.000203
3	60	0.002	0.1027224	0.000004	0.010551891	0.000205
1	80	0.003	0.12527956	0.000009	0.015694968	0.000376
2	80	0.003	0.13013934	0.000009	0.016936248	0.000390
3	80	0.003	0.12892383	0.000009	0.016621354	0.000387
1	100	0.005	0.24303463	0.000025	0.059065831	0.001215
2	100	0.005	0.24703912	0.000025	0.061028327	0.001235
3	100	0.005	0.25158668	0.000025	0.063295858	0.001258
1	120	0.008	0.39915088	0.000064	0.159321425	0.003193
2	120	0.008	0.3904123	0.000064	0.152421764	0.003123
3	120	0.008	0.38437724	0.000064	0.147745863	0.003075
1	120	0.010	0.51172519	0.000100	0.261862670	0.005117
2	120	0.010	0.52999383	0.000100	0.280893460	0.005300
3	120	0.010	0.53130192	0.000100	0.282281730	0.005313
1	120	0.013	0.59939545	0.000169	0.359274905	0.007792
2	120	0.013	0.60736615	0.000169	0.368893640	0.007896
3	120	0.013	0.61907297	0.000169	0.383251342	0.008048
1	120	0.016	0.7469449	0.000256	0.557926684	0.011951
2	120	0.016	0.76256228	0.000256	0.581501231	0.012201
3	120	0.016	0.75161201	0.000256	0.564920614	0.012026

ΣX:	0.174000	Promedio X:	0.007250
ΣY:	8.420471	Promedio Y:	0.350853
ΣX²:	0.001884	Promedio X²:	0.000079
ΣY²:	4.372	Promedio Y²:	0.182
ΣXY:	0.090660	Promedio XY:	0.003778

Pendiente (β₁):	47.569112
Ordenada al origen (β₀):	0.005977
Desviación Estándar de Regresión (S_{x/y}):	0.020064
Desviación Estándar de la Pendiente (Sβ₁):	0.804158
Límite Superior IC para la Pendiente (IC(β₁)):	49.236935
Límite Inferior IC para la Pendiente (IC(β₁)):	45.901288
Coefficiente de Determinación (R²):	0.993752

Límite de Detección:	0.0013919	mg/mL
Límite de Cuantificación:	0.0042178	mg/mL

Anexo 9. Datos obtenidos de la curva de cuantificación del día 2 para R-PZQ en medio de HCl pH 1.2.

No.	Nivel (%)	Conc. (mg/mL)	Absorbancia RS-PZQ	X ²	Y ²	XY
1	40	0.001	0.06243378	0.000001	0.003897977	0.000062
2	40	0.001	0.06310082	0.000001	0.003981713	0.000063
3	40	0.001	0.05976395	0.000001	0.003571730	0.000060
1	60	0.002	0.10208564	0.000004	0.010421478	0.000204
2	60	0.002	0.09868795	0.000004	0.009739311	0.000197
3	60	0.002	0.10391914	0.000004	0.010799188	0.000208
1	80	0.003	0.16176924	0.000009	0.026169287	0.000485
2	80	0.003	0.16361412	0.000009	0.026769580	0.000491
3	80	0.003	0.15598309	0.000009	0.024330724	0.000468
1	100	0.005	0.24846926	0.000025	0.061736973	0.001242
2	100	0.005	0.25358015	0.000025	0.064302892	0.001268
3	100	0.005	0.24508144	0.000025	0.060064912	0.001225
1	120	0.008	0.39838472	0.000064	0.158710385	0.003187
2	120	0.008	0.40741792	0.000064	0.165989362	0.003259
3	120	0.008	0.40765539	0.000064	0.166182917	0.003261
1	120	0.010	0.54644603	0.000100	0.298603264	0.005464
2	120	0.010	0.55884272	0.000100	0.312305186	0.005588
3	120	0.010	0.54553729	0.000100	0.297610935	0.005455
1	120	0.013	0.63674313	0.000169	0.405441814	0.008278
2	120	0.013	0.64206171	0.000169	0.412243239	0.008347
3	120	0.013	0.63149482	0.000169	0.398785708	0.008209
1	120	0.016	0.78579474	0.000256	0.617473373	0.012573
2	120	0.016	0.77059513	0.000256	0.593816854	0.012330
3	120	0.016	0.77137464	0.000256	0.595018835	0.012342

ΣX:	0.174000	Promedio X:	0.007250
ΣY:	8.820837	Promedio Y:	0.367535
ΣX²:	0.001884	Promedio X²:	0.000079
ΣY²:	4.728	Promedio Y²:	0.197
ΣXY:	0.094268	Promedio XY:	0.003928

Pendiente (β₁):	48.702688
Ordenada al origen (β₀):	0.014440
Desviación Estándar de Regresión (S_{x/y}):	0.020739
Desviación Estándar de la Pendiente (Sβ₁):	0.831234
Límite Superior IC para la Pendiente (IC(β₁)):	50.426667
Límite Inferior IC para la Pendiente (IC(β₁)):	46.978708
Coefficiente de Determinación (R²):	0.993632

Límite de Detección:	0.001405	mg/mL
Límite de Cuantificación:	0.004258	mg/mL

Anexo 10. Datos obtenidos de la curva de cuantificación del día 1 para RS-PZQ en medio de HCl pH 1.2.

No.	Nivel (%)	Conc. (mg/mL)	Absorbancia RS-PZQ	X ²	Y ²	XY
1	40	0.001	0.06025361	0.000001	0.003630498	0.000060
2	40	0.001	0.06161547	0.000001	0.003796466	0.000062
3	40	0.001	0.0588816	0.000001	0.003467043	0.000059
1	60	0.002	0.10015477	0.000004	0.010030978	0.000200
2	60	0.002	0.09718021	0.000004	0.009443993	0.000194
3	60	0.002	0.10270749	0.000004	0.010548829	0.000205
1	80	0.003	0.15758266	0.000009	0.024832295	0.000473
2	80	0.003	0.15739468	0.000009	0.024773085	0.000472
3	80	0.003	0.1605864	0.000009	0.025787992	0.000482
1	100	0.005	0.25934711	0.000025	0.067260923	0.001297
2	100	0.005	0.2572133	0.000025	0.066158682	0.001286
3	100	0.005	0.25867295	0.000025	0.066911695	0.001293
1	120	0.008	0.41644141	0.000064	0.173423448	0.003332
2	120	0.008	0.41634911	0.000064	0.173346581	0.003331
3	120	0.008	0.43266928	0.000064	0.187202706	0.003461
1	120	0.010	0.56724179	0.000100	0.321763248	0.005672
2	120	0.010	0.5688194	0.000100	0.323555510	0.005688
3	120	0.010	0.56531096	0.000100	0.319576481	0.005653
1	120	0.013	0.65512025	0.000169	0.429182542	0.008517
2	120	0.013	0.66552299	0.000169	0.442920850	0.008652
3	120	0.013	0.66864514	0.000169	0.447086323	0.008692
1	120	0.016	0.79228011	0.000256	0.627707773	0.012676
2	120	0.016	0.7603821	0.000256	0.578180938	0.012166
3	120	0.016	0.77232156	0.000256	0.596480592	0.012357

ΣX:	0.174000	Promedio X:	0.007250
ΣY:	9.012694	Promedio Y:	0.375529
ΣX²:	0.001884	Promedio X²:	0.000079
ΣY²:	4.937	Promedio Y²:	0.206
ΣXY:	0.096282	Promedio XY:	0.004012

Pendiente (β₁):	49.702086
Ordenada al origen (β₀):	0.015189
Desviación Estándar de Regresión (S_{x/y}):	0.025921
Desviación Estándar de la Pendiente (Sβ₁):	1.038924
Límite Superior IC para la Pendiente (IC(β₁)):	51.856814
Límite Inferior IC para la Pendiente (IC(β₁)):	47.547359
Coefficiente de Determinación (R²):	0.990479

Límite de Detección:	0.0017210	mg/mL
Límite de Cuantificación:	0.0052153	mg/mL

Anexo 11. Datos obtenidos de la curva de cuantificación del día 2 para RS-PZQ en medio de HCl pH 1.2.

TIEMPO	CISTICID®	F15	ABS(R-T)	(R-T)2	R-T	PROMEDIO
Minutos	% Disuelto	% Disuelto				
2 min	37.2 %	13.99	23.21	538.75	23.21	25.60
5 min	48.8 %	26.89	21.87	478.17	21.87	37.82
10 min	56.2 %	34.98	21.20	449.39	21.20	45.58
15 min	65.4 %	39.62	25.73	662.02	25.73	52.49
20 min	68.0 %	40.92	27.07	732.56	27.07	54.45
30 min	72.7 %	44.63	28.09	789.02	28.09	58.67
45 min	87.0 %	49.89	37.14	1379.09	37.14	68.46
SUMATORIA	435.22	250.92	184.30	5029.00	184.30	49.01
n	7					
(R-T)2/n	718.4285					
1/RAIZ	3.7283					

Factor de Diferencia f1=	73%
Factor de Similitud f2=	29%

Anexo 12. Factor de similitud f2 y factor de diferencia f1 calculados para comparar los perfiles de disolución (condiciones no saturadas) entre la forma comercial de RS-PZQ CISTICID® y el cocristal de R-PZQ:L-Mál (F15).

TIEMPO	CISTICID®	F14	R-T	(R-T)2	R-T	PROMEDIO
Minutos	% Disuelto	% Disuelto				
2 min	37.2	32.97	4.23	17.91	4.23	35.09
5 min	48.8	52.60	3.84	14.77	-3.84	50.68
10 min	56.2	65.41	9.23	85.11	-9.23	60.80
15 min	65.4	74.91	9.55	91.29	-9.55	70.13
20 min	68.0	75.46	7.47	55.86	-7.47	71.72
30 min	72.7	79.80	7.08	50.12	-7.08	76.26
45 min	87.0	84.49	2.54	6.45	2.54	85.76
SUMATORIA	435.22	465.63	43.95	321.52	-30.40	64.35
n	7					
(R-T)2/n	45.9308					
1/RAIZ	14.5972					

Factor de Diferencia f1=	9%
Factor de Similitud f2=	58%

Anexo 13. Factor de similitud f2 y factor de diferencia f1 calculados para comparar los perfiles de disolución (condiciones no saturadas) entre la forma comercial de RS-PZQ CISTICID® y el hemihidrato de R-PZQ formulado con HPC 0.3 por molienda (F14).