



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**UTILIZACIÓN DE COCRISTALES
PARA EL DESARROLLO DE NUEVOS
FÁRMACOS**

Autor: PATRICIA HERNÁNDEZ VICENTE

Tutor: Dolores Remedios Serrano López

Convocatoria: Madrid, **Junio 2018.**

ÍNDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	4-5
3. OBJETIVOS	6
4. MATERIAL Y MÉTODOS	6
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	6-18
5.1. Cocristales farmacéuticos y su desarrollo	6-8
5.2. Coformadores	8-9
5.3. Métodos de preparación	9-16
5.3.1. Pasos en la síntesis o preparación	9-10
5.3.2. Técnicas y métodos de preparación	11-14
A) <u>TOP-DOWN</u>	11-12
a) Micronización	11
b) Homogeneización de alta presión	11-12
c) Ultrasonidos y láser	12
B) <u>BOTTOM-UP</u>	12-14
a) Nanoprecipitación (cocrystalización antisolvente)	12-13
b) Secado (liofilización)	13
c) Atomización	13-14
✓ <i>Spray drying</i> o secado por pulverización	13-14
✓ <i>Fluidised bed spray coating</i> o recubrimiento por pulverización en lecho fluido	14
✓ Fluidos supercríticos	14
5.4. Cocristales en investigación y en mercado comercial	16-17
5.5. Evaluación biofarmacéutica	17
5.6. Marco regulatorio	17-18
6. CONCLUSIONES	18-19
7. BIBLIOGRAFÍA	19-21

1. RESUMEN.

Características como la baja solubilidad y la velocidad de disolución constituyen una limitación para la absorción de fármacos en el organismo, afectando también a su biodisponibilidad. Para evitarlo, existen técnicas que forman con el principio activo sales, solvatos, polimorfos y, además, existen otras técnicas más novedosas como dispersiones sólidas amorfas y cocristales. Dichos cocristales surgieron como un nuevo modelo de cristales que permiten mejorar algunas características fisicoquímicas como solubilidad, velocidad de disolución, estabilidad fisicoquímica e higroscopicidad; evitando los problemas de técnicas anteriores. Están compuestos por un ingrediente farmacéutico activo (API) y un conformador unidos por interacciones moleculares, en especial, por enlaces de hidrógeno. Para lograr estas ventajas es necesario seguir un proceso de preparación con la selección adecuada de los componentes, seguido de posterior screening y caracterización, para demostrar su rendimiento. Existen numerosas técnicas a nivel industrial para sintetizarlos, sin embargo, su uso y comercialización no está tan extendido a pesar de ser una técnica exitosa, como se analizará a continuación.

ABSTRACT

Low dissolution rate as well as low solubility are characteristics that limit the absorption of drugs by the organism, affecting its bioavailability. In order to avoid this limitation, there are some techniques which form with the active substance salts, solvates and polymorphs and, in the same way, there are others much more innovative such as amorphous solid dispersions or co-crystals. These cocrystals appeared as a new model of crystal that allow to improve different physicochemical characteristics including solubility, dissolution rate, physicochemical stability and hygroscopicity. Furthermore, they prevent the problems created by previous techniques. These models are made up of an active pharmaceutical ingredient (API) and a conformer, both bounded by molecular interactions, especially by hydrogen bounds. In order to achieve these advantages, it is necessary to follow a preparation process. First, to select the right components, then to carry out a screening and finally, a characterization to prove the performance of the product. Numerous industrial techniques are available to synthesize them, however, their use and commercialization it is not widely spread despite them being, as it is argued in this paper, a very successful technique.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES:

La mayoría de los principios activos de medicamentos son sólidos, por lo que se encuentran en estado cristalino. El gran problema reside en que muchos de los mismos poseen una baja solubilidad, lo que es considerado un inconveniente para su liberación y absorción en el organismo. Cuando hablamos de baja solubilidad, tenemos que fijarnos en el contexto biofarmacéutico; según el *Biopharmaceutics Classification System* (BCS) un compuesto es considerado poco soluble (o de clase II) cuando de manera repetida no puede disolverse en 250 mL de un líquido comprendido entre un pH de 1-7 (1). Si fuera poco soluble y además poco permeable, sería determinado como clase IV. Tanto los de clase II como los de clase IV requieren desarrollo de nuevas estrategias para mejorar sus inconvenientes de solubilidad, mientras que se mantiene una estructura química estable. Por esta razón, surgieron técnicas que transforman el principio activo en un compuesto más soluble y dan lugar a la formación de sales, solvatos y polimorfos entre otros, manteniéndose el estado sólido (2).

El principal ejemplo son las sales, siendo el método más sencillo y común para solubilizar compuestos. Se obtienen gracias a la reacción química entre el principio activo y un ácido o base débil, obteniéndose una forma ionizada y más soluble del compuesto inicial [Figura 1]. Sin embargo, existen ocasiones en las que las sales no pueden formarse por la ausencia de grupos ionizables.

Por otro lado, están los solvatos, formados por el atrapamiento de moléculas de disolvente dentro de la red cristalina, lo cual mejora la solubilidad en medios acuosos, pero podría afectar negativamente a la estabilidad de la forma farmacéutica.

Por último, estaría el polimorfismo. Es la capacidad de un compuesto para poseer más de una forma cristalina. Los polimorfos son las distintas estructuras cristalinas que puede tener un mismo principio activo al organizarse su estructura química de manera distinta. Esto aumenta la solubilidad, pero existe la posibilidad de obtener formas cristalinas del principio activo no activas o incluso con un mecanismo de acción tóxico no deseado.

Las técnicas ya nombradas, han sido las más comunes para aumentar la solubilidad, no obstante, siguen existiendo compuestos sólidos a los que no es posible aplicarlas. Incluso pudiéndose llevar a cabo, en ocasiones surgen problemas de estabilidad química o polimorfismo indeseado; por tanto, surgieron técnicas más innovadoras como las dispersiones sólidas amorfas y los co-cristales (3).

Las dispersiones sólidas amorfas implican la mezcla de uno o más principios activos en una sustancia que actúa como vehículo o matriz inerte, en estado sólido. El vehículo, normalmente un polímero, debe ser adecuado para gran variedad de principios activos. Para su obtención, por un lado, es necesario la ruptura de las celdas de la estructura cristalina del principio activo y, por otro lado, se realiza la cavitación del disolvente. El paso final es la solvatación (hidratación) de las moléculas del fármaco en el seno del solvente. Cuando la mezcla de moléculas solvatadas se enfría rápido, se forma una estructura sólida amorfa (las partículas no siguen orden alguno o es de corto alcance) con aspecto cristalino (4-6). Se realizaron estudios en el sulfatiazol utilizando la urea como vehículo, observando un exitoso aumento de la solubilidad. Las principales uniones de las moléculas son por enlaces covalentes o fuerzas de Van der Waals.

La segunda técnica, aún más novedosa, son los cocrystal. Un cocrystal puede ser definido como un complejo cristalino formado por dos o más especies neutras que se encuentran en la misma celda cristalina, una de ellas es el principio activo, también conocido como API y otra, un agente cocrystalizante o coformador. En definitiva, es un complejo supramolecular no iónico (7). Ambas especies son de naturaleza sólida a temperatura ambiente y se mantienen unidas entre sí mediante interacciones no covalentes, principalmente por enlaces de hidrógeno (8). En este último aspecto, es donde reside la mayor diferencia entre dispersiones sólidas amorfas y cocrystal. Adicionalmente, es una de las razones por las que los cocrystal permiten obtener nuevos sólidos farmacéuticos con mejoras en las propiedades de solubilización, estabilidad y velocidad de disolución.

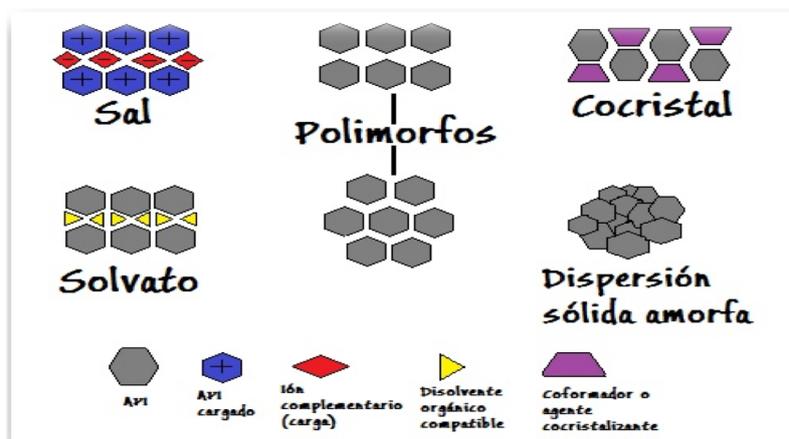


Figura 1. Estrategias para mejorar solubilidad y velocidad de disolución.

3. OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo son:

- Conocer las mejoras en la solubilidad y velocidad de disolución de los fármacos poco solubles mediante el uso de cocristales, así como el desarrollo farmacéutico de estos compuestos.
- Determinar qué métodos de preparación de los cocristales farmacéuticos existentes.
- Evaluación de los cocristales farmacéuticos que se encuentran actualmente en el mercado comercial
- Evaluación de los cocristales en investigación y desarrollo de los mismos.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se basa en una revisión bibliográfica de las fuentes y bases de datos Pubmed (NCBI), Science Direct y Google académico. Se realizó un estudio de tipo analítico y descriptivo a partir de los datos obtenidos. Se han incluido en el estudio solo aquellos artículos en los que los cocristales han sido utilizados para el desarrollo de nuevos fármacos o como método para mejorar la solubilidad de fármacos ya existentes. Además, se han considerado solo aquellos artículos publicados desde el año 2009.

Las palabras claves utilizadas para dicha investigación han sido: “pharmaceutical cocrystals”, “API”, “bioavailability”, “solubility”, “coformer”, “amorphous solid dispersion”, “manufacturing of cocrystals”, “hot melt extrusión”, “synthesis”.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. COCRISTALES FARMACÉUTICOS Y SU DESARROLLO

La formación y desarrollo de cocristales farmacéuticos abre un campo de investigación creciente y con aplicación en la industria farmacéutica. Esto es debido al hecho de que un API no solo puede unirse a un coformador, sino que, por el contrario, cada API puede unirse a una variedad aceptable de coformadores. Puede decirse que existe la capacidad teórica de que todos los API puedan formar un cocrystal con distintos coformadores. Por tanto, para el diseño de los cocristales se deben tener en cuenta los grupos funcionales del principio activo o API, los cuales tienen que ser reconocidos molecularmente por el agente coformador o cocrystalizante. Sin embargo, esta no es la única característica a tener en cuenta, ya que los coformadores son además seleccionados por la capacidad de formar enlaces de hidrógeno y perfiles toxicológicos.

Es necesario tener en cuenta que, normalmente, los API en su forma inicial son cristales sólidos siendo su estructura rígida y altamente simétrica. En la síntesis, se llevará a cabo

una evaluación del API, examinándose el número y disposición de los donantes y aceptores de enlaces de hidrógeno, la capacidad que tienen los mismos de formar sales solubles y la solubilidad real que son capaces de alcanzar en el organismo (evaluada mediante pKa) (3). No obstante, también es importante que posean bajo peso molecular para que sean más propensas a cocrystalizar.

Respecto a su estructura, principalmente poseen enlaces de hidrógeno $\pi - \pi$ y Fuerzas de Van der Waals. Por tanto, a la hora de disolverse no sería necesario romper enlaces covalentes y se facilitarían la disolución.

Los cocristales pueden existir como formas sólidas anhidras e hidratadas que se pueden convertir entre ellas durante la fabricación, almacenamiento o procesado (9).

En las formas hidratadas, las moléculas de agua forman enlaces intermoleculares con ambos componentes del cocrystal, el API y el coformador. Un ejemplo sería Cakzul, un cocrystal tetrahidratado de alprazolam-ácido succínico. Es creado a partir del anillo de la benzodiazepina, se producen uniones entre los N del anillo heterocíclico del alprazolam, los H del la molécula de agua y el ácido succínico. La presencia de la molécula de agua afecta a la temperatura de deshidratación y por tanto a la estabilidad, dependiendo esta del número de enlaces de hidrógeno formados.

En las formas anhidras, el coformador asume el papel de la molécula de agua en la estructura cristalina. Es el caso de la cafeína, cuando se forman cocrystal con las moléculas de agua se produce gran variación entre los distintos grados de hidratación, se forman infinitas cadenas con el anillo imidazol que hacen que su solubilidad no mejore y que sean altamente inestables. Sin embargo, cuando se forman cocrystal entre la cafeína y coformadores (pequeños ácidos carboxílicos, dicarboxílicos u oxálicos) no quedaría un N libre y no se darían esas infinitas cadenas. Cabe destacar el cocrystal anhidro cafeína-ácido dicarboxílico, con una estabilidad bastante superior.

Un tercer tipo, serían los cocrystal polimorfos. Dentro de ellos podemos distinguir principalmente entre el polimorfismo de sintones y polimorfismo conformacional.

-El **polimorfismo de sintones** es identificado por la presencia de distintos tipos de sintones primarios, los cuales se diferencian en los enlaces de hidrógeno que pueden establecer con otros sintones. Un sintón es aquella parte constituyente de un API y un coformador que participa en el reconocimiento de grupos funcionales y posterior interacción molecular, que permite la unión de los componentes del polimorfo. A su vez,

se pueden clasificar en homosintón o heterosintón en función de si dichos grupos en la molécula son iguales y complementarios (homosintón) o por el contrario son diferentes pero complementarios (heterosintón). Un ejemplo de polimorfismo de sintones son los cristales de carbamazepina (CBZ) con nicotamida (NCT) y sacarina (SAC) (9).

-El **polimorfismo conformacional**, está definido por compuestos moleculares con libertad rotacional y conformacional en el interior de la celda cocrystalina (9). Es más frecuente en conformadores de baja energía. Es el caso de los cocrystal de ácido glutárico-glicina, el ácido glutárico es una molécula conformacionalmente flexible mientras que la glicina se considera un componente rígido.

-Cuando diferentes **tautómeros** (isómeros que se diferencian en la posición de un grupo funcional) de un compuesto orgánico cristalizan y coexisten en equilibrio dinámico entre sí, es decir, en múltiples formas crystalinas, pueden dar lugar a polimorfos de un mismo compuesto químico.

Por último, cabe destacar que a partir de las formas hidratadas o anhidras de un cocrystal se puede formar, a su vez, una estructura polimorfa ya sea hidratada o anhidra en función del cocrystal original [Figura 2.]

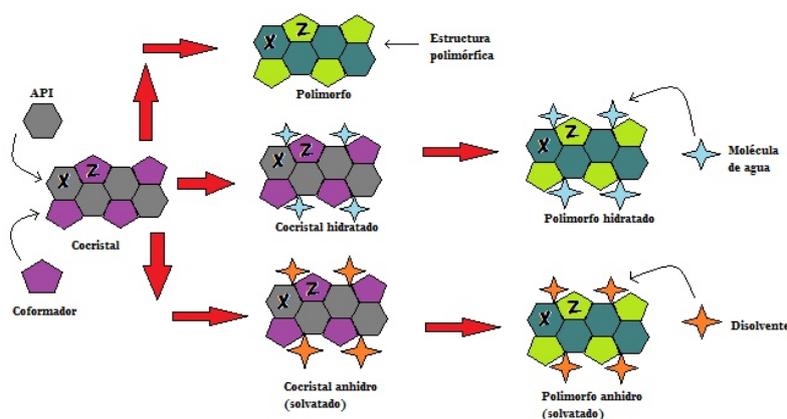


Figura 2. Posibilidades químicas a partir de la estructura de un cocrystal.

5.2. COFORMADORES

Según la definición estricta, un cocrystal está compuesto por dos o más sustancias, siendo una de ellas el API y otra el coformador. El coformador del cocrystal es distinto de lo que se conoce como excipiente ya que participa en la interacción molecular y forma parte de la estructura del cocrystal. Debe advertirse que para el diseño de los cocrystal farmacéuticos hay que tener en cuenta los **grupos funcionales del API** que permitan el **reconocimiento molecular por parte del coformador**, es decir, se utilizan sintones supramoleculares en los coformadores. Son moléculas que tienen en su estructura grupos

funcionales que se complementan con el del API favoreciendo el reconocimiento molecular.

Ejemplos representativos de cocristales farmacéuticamente estables, indican que entre los grupos funcionales de **coformadores más comunes** encontramos **ácidos carboxílicos, amidas, carbohidratos, alcoholes y aminoácidos**. Siendo principalmente grupos ácidos o básicos. Sin embargo, no son los únicos ya que hay algunos con otras propiedades de ionización que han sido cocrystalizados con éxito (10). El ácido carboxílico ha sido el grupo funcional más extensamente estudiado en el área de la investigación del cocrystal farmacéutico. Suele encontrarse formando un homosintón. Por ejemplo, un homosintón común es el homodímero de amida formando un cocrystal de ácido carboxílico-piridina y ácido carboxílico-amina a través de un enlace de hidrógeno C=O—H-N. Sin embargo, aunque lo más común sea encontrarlo como homosintón en otros cocristales se ha demostrado que el heterosintón forma un enlace más fuerte y más estable obteniéndose mayor rendimiento (11). Por tanto, la elección del tipo de sintón depende del fármaco.

Este concepto se emplea en lo que se conoce como el enfoque supramolecular en el screening de cocristales, en el que la base de datos Cambridge Structural Database (CSD) se utiliza para identificar los coformadores apropiados para un API. Este paso de screening es fundamental en la síntesis de los cocristales como se verá a continuación.

5.3. MÉTODOS DE PREPARACIÓN

5.3.1. PASOS EN LA SÍNTESIS O PREPARACIÓN

Gran parte del uso y rendimiento de los cocristales farmacéuticos depende de la ingeniería de síntesis y las estrategias de diseño. La preparación de los cocristales farmacéuticos es un proceso que consta de varias etapas [Figura 3].

El **primer paso** es estudiar la **estructura del API** y descubrir que **grupos funcionales** pueden formar una interacción molecular con los posibles coformadores. El siguiente paso es **elegir un agente coformador**, este paso es crucial para el diseño y solubilidad del compuesto final, junto con la estabilidad y biodisponibilidad en el organismo. Se analizan los grupos funcionales o **sintones** de los posibles coformadores y sus interacciones con los sintones de los API, para ello, se utiliza la base de datos CSD que permite estudiar las posibles interacciones y clasificar los coformadores de acuerdo con

la contribución al empaquetamiento del cristal. Obteniéndose así una jerarquía de sintones supramoleculares que, en definitiva, son posibilidades para formar cocristales. Para la mayoría de estructuras cocrystalinas farmacéuticas, los enlaces de hidrógeno desempeñan un papel importante en la dirección del reconocimiento intermolecular entre un API y un coformador, Se creó una notación gráfica para describir los enlaces de hidrógeno mediante letras (C cadenas, D dímeros, R anillos y S enlaces de hidrógeno intermoleculares) y números (1 si participan en el enlace de H, 2 si se pueden formar enlaces de H de seis anillos y 3 si forman enlaces intermoleculares entre sí) (10). Otros parámetros son el pKa y la solubilidad del coformador en el API.

El siguiente paso sería el **screening o cribado de los cocristales**. Se realiza mediante un proceso **experimental** para determinar si un candidato a ser coformador es capaz de cristalizar con un API. Inicialmente, se realiza un cribado a pequeña escala y se selecciona un grupo de coformadores inicialmente adecuados que se utilizarán para los experimentos a gran escala. Se han desarrollado varios métodos de cribado para cocristales, uno de ellos se basa en una solución, es decir, un disolvente en el que se disuelven pequeñas cantidades estequiométricas de los componentes del cocrystal. A continuación, se obtienen los productos mediante evaporación lenta y se les realizan pruebas para comprobar la estabilidad física de los mismos. Otra técnica recientemente utilizada es la de microscopía térmica en fase caliente o técnica de Kofler basada en el cribado de cocristales *in vitro*, permitiendo observar una nueva fase en la interfaz de dos reactantes bajo el microscopio. **Por último**, se realiza la **caracterización**, investigando las propiedades fisicoquímicas, químicas y cristalográficas. Suele basarse en el análisis de la conformación estructural, características térmicas, estabilidad y solubilidad. Existen diferentes técnicas para ello como difracción de rayos X, espectroscopía de infrarrojos, etc.

El paso final son las **pruebas de rendimiento de los cocristales** incluyendo pruebas *in vitro* e *in vivo*. Las pruebas *in vitro* se centran en pruebas intrínsecas de disolución, mientras que las *in vivo* se refieren a la biodisponibilidad y la tasa de API alcanzada en circulación sistémica (10).



Figura 3. Etapas comunes en la preparación de los cocristales para las distintas técnicas utilizadas

5.3.2. TÉCNICAS Y MÉTODOS DE PREPARACIÓN:

Para la preparación de los cocristales farmacéuticos se distinguen algunas estrategias principales: métodos *top-down* y métodos *bottom-up*.

Los métodos *top-down* se basan en la aplicación de una fuerza energética intensiva para lograr que el API en estado sólido alcance un tamaño micrométrico, mientras que las técnicas *bottom-up* se centran en el control de la precipitación del fármaco en solución en partículas dentro de un rango micrométrico o incluso nanométrico (12).

A) TOP-DOWN

a) **Micronización**

Es una especie de síntesis mecanoquímica, basada en moler en mortero o molino reduciendo el tamaño de partícula, a partes equimoleculares, del API y el coformador.

Durante la molienda se producen dos fenómenos opuestos al mismo tiempo: la fractura y reducción del tamaño de partícula, y la agregación de las mismas debido a las colisiones entre ellas. Lo tradicional, es realizar una molienda en seco con martillo, chorro o bolas, alcanzando tamaños de la orden de micrómetros. Posteriormente, se observó que se perdía alta cantidad de energía y la tendencia a la agregación durante el proceso era elevada. Para evitar los problemas asociados con la molienda seca se han desarrollado técnicas de molienda húmeda en las que se añade al polvo una solución de tensoactivo o polímero, esto reduce la aglomeración y mejora la distribución del tamaño de partícula (13). Es lo que se conoce como molienda asistida.

En adición, la presión mecánica puede inducir vibraciones que desestabilicen la red cristalina y ciertas regiones de la sustancia pasarían al estado amorfo. Para tratar de disminuir estos problemas se introdujeron modificaciones como la criomolienda (se utiliza nitrógeno líquido fuera de la cámara reduciendo la temperatura) o ultracriomolienda (el nitrógeno líquido se utiliza como medio de dispersión y se evapora espontáneamente de manera posterior).

b) **Homogenización de alta presión**

-Microfluidificación: es la colisión frontal de dos corrientes de fluido bajo altas presiones, dando como resultado pequeñas partículas, fuerzas de cizalla y de cavitación. Requiere un alto número de ciclos para reducir el tamaño de partícula suficientemente.

-Homogeneizadores de émbolo en agua: basados en un émbolo que fuerza el paso del fármaco en una solución acuosa que contiene tensoactivo, a través de un espacio pequeño

de homogeneización. El pistón ejerce presión sobre la solución y se produce un aumento de la presión dinámica que se compensa con una reducción de la presión estática (por debajo de la presión de vapor del líquido). El agua comienza a hervir y se produce la cavitación que reduce el tamaño de partícula (14).

-Homogeneizadores de émbolo con mezclas de agua o no acuosos: para evitar los problemas de inestabilidad relacionados con la hidrólisis se pensó en mezclas acuosas (glicerol-agua, etanol-agua) y en mezclas no acuosas (aceites, PEG). En este caso la cavitación es limitada por la menor presión de vapor de estos medios. Además, al alcanzar menores temperaturas, puede usarse para medicamentos termolábiles.

c) **Top-down no convencional**

-Ultrasonidos (*SonicSlurry*): consiste en la reducción del tamaño de partícula mediante sonidos de alta intensidad (hasta 18 W) en una suspensión líquida de nitrógeno, para evitar el sobrecalentamiento de la muestra. También se añaden polielectrolitos (cloruro de polialilamida) y polianiones (sulfonato de poliestireno) al medio. Son condiciones aceleradas que pueden alterar las interacciones electrostáticas e incluso las propiedades de disolución de las partículas, obteniendo beneficios en la estabilidad (12,17).

-Fragmentación láser: se busca la reducción del tamaño de partícula. Para ello hay dos fases: una ablación mediante un rayo láser que incide sobre los microcristales incrustados en una mezcla de un surfactante acuosa; seguido de fragmentación en el que la suspensión se agita y se irradia obteniéndose una nanosuspensión. Es difícil controlar el contenido cristalino de los nanocristales ya que pueden formarse dominios amorfos e incluso el API puede degradarse (12,18).

B) BOTTOM-UP

Se basan en la mezcla de cantidades equimoleculares del API y el coformador en un disolvente orgánico adecuado. Posteriormente, se evaporará el disolvente obteniéndose el cocrystal. Puede ser evaporación a temperatura ambiente, enfriamiento rápido, enfriamiento lento de una solución saturada en caliente y precipitación anti disolvente.

a) **Nanoprecipitación (cocrystalización antisolvente):**

Consiste en la previa disolución del fármaco en un disolvente orgánico biocompatible, seguido de la adición de otro disolvente (antisolvente) a la solución, este último induce la precipitación del fármaco o la variación en su pH, seguido de precipitación. Es debido

a que las moléculas del antisolvente compiten con las del fármaco por la interacción con el disolvente orgánico, dándose nucleación y crecimiento cristalino del fármaco fuera de la solución. Requiere la adicción de un estabilizador.

Hay otras técnicas más novedosas como la precipitación rápida con dos corrientes que colisionan: un solvente que contiene el fármaco y un vehículo estabilizado con polímeros.

Para ello, existen una gran variedad de dispositivos que lo realizan.

Una variación de la técnica sería la nanoprecipitación con antisolvente seguida de una evaporación rápida del disolvente inducida por el calor (15).

b) Secado (*freeze drying* o liofilización):

Se suele utilizar para convertir una solución acuosa en polvo seco. Se hace de manera industrial, el producto se encuentra en unas ampollas y la liofilizadora primero las congela y luego las calienta a baja a presión, de manera que, el disolvente se elimina por sublimación y se forma una torta porosa. Esto es lo que se conoce como secado primario. Posteriormente, el agua ligada a la torta se elimina en el secado secundario, aumentando la temperatura del producto. Existe riesgo de cristalización incontrolada.

Para conseguir un crecimiento nanocristalino controlado se utiliza un API de baja T_g (temperatura de transición vítrea) y un soporte como el manitol, que cristaliza fácilmente durante el secado. A mayor velocidad de congelación se crean espacios intersticiales más pequeños y así, se da la formación de cristales (12).

c) Atomización

- ✓ ***Spray drying* o secado por pulverización:** El secado por pulverización clásico se centra en convertir una sustancia disuelta en polvo seco a través de un medio gaseoso, consiguiendo la evaporación del disolvente mediante una temperatura superior a la temperatura de ebullición del mismo. La solubilidad del cristal formado depende en gran medida de la temperatura. En el proceso, interaccionan en la fase líquida API y coformador, y a continuación, va creciendo el núcleo del cristal. Se da en regiones altamente saturadas de API, por la rápida evaporación del disolvente.

Es una técnica que aumenta mucho el rendimiento a escala industrial, pero necesita una investigación adicional para seguir optimizando el proceso (16). Puede haber inconvenientes, uno es que puede haber transformación durante el almacenamiento de los cristales. Otro es que el polvo del cocrystal obtenido tras el secado puede tener una mayor tendencia a formar agregados en medio acuoso

lo que limitaría la solubilidad y su rendimiento. Actualmente, en industria existe un secador llamado Büchi Nano Spray Dryer B-90, equipado con un atomizador de vibración, es decir, mediante la vibración que se realiza frente a una membrana se consigue la evaporación (12).

- ✓ **Fluidised bed spray coating o recubrimiento por pulverización en lecho fluido:** Esta técnica puede utilizarse para formar cocrystal *in situ* depositados en forma de capa delgada sobre diferentes sustratos que actúan como molécula ligante y que normalmente poseen forma esférica. En algunos estudios se han utilizado como ligantes microesferas de azúcar. Al comienzo del proceso, se disuelven los componentes (API y coformador) en una proporción molar 1:1 en etanol o acetona y se añade un estabilizador (PVP k90) (22). Esta solución se incluye en un equipo encargado de rociar la disolución sobre esferas microcristalinas, lo que da lugar a partículas de un tamaño suficientemente grande para evitar la agregación en medio acuoso. Los productos que se están formando son recubiertos y secados en el mismo equipo, funciona por ciclos. Una vez secos caen de nuevo sobre el lecho para volver a iniciarse proceso y que pueda formarse otra capa de recubrimiento.
- ✓ **Fluidos supercríticos:** en esta técnica participan sustancias que se comprimen por encima del punto crítico de la sustancia, donde la fase líquida y gas son indistinguibles. Posteriormente, la mezcla cristaliza. Un claro ejemplo de este tipo de fluido es el dióxido de carbono (CO₂), con un punto crítico muy bajo. Existen variaciones de la técnica (17). [Figura 4.]

Figura 4. Modificaciones de la técnica de fluidos supercríticos.

TÉCNICA	Características	Cocrystal	Problemas
RESS (<i>Rapid Expansion of Supercritical Solutions</i>)	-API disuelto en un fluido supercrítico -Sobrepresión de la mezcla, se hace pasar por un orificio y nucleación del cristal.	Ibuprofeno- Nicotamida	Problemas de estabilidad Existen APIs no solubles en fluidos supercríticos (CO ₂)
SAS (<i>Supercritical Anti-Solvent</i>)	Si el API es insoluble en CO ₂ supercrítico, se disuelve en un disolvente y la solución resultante se pulveriza en una cámara con líquido supercrítico como anti solvente	Naproxeno- Nicotamida	El rápido contacto entre los dos medios produce la nucleación de los cristales, pero puede provocar problemas de estabilidad
CSS (<i>Co-crystallization with supercritical solvents</i>)	El API en estado sólido se coloca en un recipiente a alta presión y el CO ₂ se introduce bajo temperatura y presión controladas.	Teofilina- Sacarina	Es productivo en reactores de c de pequeño volumen y solo se han encontrado altos rendimientos con ciertos APIs
GAS (<i>Gas anti-solvent</i>)	El API se disuelve y el CO ₂ , a su vez, se disuelve en el solvente orgánico líquido, disminuye la capacidad de solubilización del mismo y el soluto cristaliza	Naproxeno- Nicotamida en acetona	Es mas una técnica de purificación y aumento del rendimiento que una nueva técnica de síntesis

Técnica	Técnica de síntesis	Características de la técnica	API	coformador	solubilidad	estabilidad	Ref
Top-Down	Micronización (molienda mecánica)	-Molienda en seco (<i>dry grinding</i>) con martillo, chorro o bolas	Sulfadimidina (SDM) (Polimorfo 1)	Ác. 4-Aminosalicílico (4-ASA) Etanol	Mayor solubilidad de saturación	Son estables pero la presión mecánica puede producir regiones amorfas. Mayor reducción del tamaño de partícula con otras técnicas	(12,13) (18)
		-Molienda húmeda con tensoactivo (<i>drop grinding</i>)	Cafeína	Ácido glutárico			
	Homogenización de alta presión	-Tecnología de microfluidificación -Homogeneización en pistón acuosa (<i>Hot melt extrusion</i>) -Homogeneización en pistón de mezclas acuosas o no acuosas	AMG 517	Ácido sórbico	Mejoras en la solubilidad	El agua produce inestabilidad del API (hidrólisis). Mezclas o los medios no acuosos mejoran la estabilidad.	(14) (19)
			Carbamazepina	Nicotamida (NA), Sacarina Ácido trans-cinámico			
			Ibuprofeno	NA, Isonicotamida			
	Top-down no convencional:	<ul style="list-style-type: none"> • Ultrasonidos • Fragmentación láser 	Aportan condiciones aceleradas mediante ultrasonidos	Cafeína	Ácido maleico Ácido oxálico	Sólo en algunos casos mejora la solubilidad	Es más estable el cristal en proporción 1:1, tarda más en disociarse
-Fase de ablación mediante láser -La dispersión se irradia → nanosuspensión			Acetato de megestrol	Ácidos carboxílicos		Aumenta la degradación del API al aumentar la potencia del láser	(21)
Botton-up	Nanoprecipitación (cocrystalización antisolvente)	-Disolución del fármaco en un disolvente compatible -Adición de un antisolvente que hace precipitar el fármaco.	Fenofibrato	Nicotamida	Solubilidad más alta frente a otras técnicas (46,48%)	Estabilidad más alta frente a otras técnicas.	(15)
	Secado (liofilización: <i>freeze drying</i>)	-Secado 1º: congelación + sublimación -Secado 2º: eliminación de agua	Fenofibrato	Manitol + (alcohol butírico 3º y agua como disolv.)	Las mejoras en la solubilidad dependen del API	Estabilidad variable. Se da crecimiento descontrolado si Tg alta → inestabilidad	(12)
	Atomización <ul style="list-style-type: none"> • Secado por pulverización (<i>spray drying</i>) • Recubrimiento por pulverización en lecho fluido (<i>Fluidised bed spray coating</i>) • supercritical fluids 	-Disolución: interacción API y coformador en un disolvente -Evaporación rápida del disolvente -Cocrystalizar a gran escala	SDM (Polimorfo II-hábito IV)	4-ASA NA	Mejora solubilidad (40%) respecto a otras técnicas	Más estable que otros polimorfos, pero agregación en medio acuoso. Aumenta rendimiento (70%)	(22) (16)
		Pulverización sobre microesferas	SDM P.II (IV)	4-ASA	Gran aumento	Evita agregación	(22)
		El solvente es un fluido supercrítico	Indometacina	sacarina	Depende del API	Depende del API	(23)

Figura 5. Resumen de las principales técnicas utilizadas.

5.4. COCRISTALES EN MERCADO COMERCIAL Y EN INVESTIGACIÓN.

Existen muchos cocristales que se encuentran en los distintos pasos de un ensayo clínico, sin embargo, pocos se comercializan. Podemos encontrar algunos ejemplos:

- **Cocristales en el mercado comercial**

- Cocrystal E-58425 (Tramadol/ celecoxib):**

Es un cocrystal iónico compuesto por clorhidrato de tramadol racémico y celecoxib en proporción 1:1 (en cantidades equimoleculares) formando una red supramolecular. Posee dos tipos de uniones: los puentes de hidrógeno y los iones cloruro. Será el primer cocrystal API-API comercializado y posee varios mecanismos de acción analgésica (μ -agonista, inhibición de la recaptación de 5-HT y NA e inhibición de la COX-2).

A pesar de estar en igual cantidad molar, sus pesos son distintos, por tanto, una dosis de 100 mg del cristal contiene 44 mg de clorhidrato de tramadol racémico y 56 mg de celecoxib, se consideran dosis clínicas. Su objetivo es aumentar la magnitud de la eficacia sin aumentar los efectos adversos debidos a la terapia de combinación (24). Además, posee ventajas farmacocinéticas y beneficios clínicos respecto a los APIs por separado; aumenta la tasa de disolución y la velocidad de liberación del celecoxib, mientras que la liberación del tramadol es más lenta, reduciendo su concentración máxima y mejorando su seguridad y eficacia. Este fármaco estaría a punto de empezar la fase III del ensayo clínico y la compañía farmacéutica que lo desarrolla (Esteve) solicitará aprobación a la FDA a lo largo de este año 2018, para que pueda estar en el mercado en 2019.

- Entresto® (Sacubitrilo/valsartán) comprimidos:**

Está indicado para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca crónica sintomática con fracción de eyección reducida en pacientes adultos. Es un cocrystal iónico que comprende 6 moléculas de sacubitrilo (inhibidor de nepresilina) y 6 de valsartán (bloqueante de los receptores de angiotensina) como principios activos, que a su vez, están combinados con moléculas de agua (25). Está disponible en varias concentraciones y fue aprobado por la FDA en julio de 2015 y por la EMA en noviembre del mismo año (14).

- Suglat® (Ipraglifozina-L-prolina) comprimidos:**

Es un cocrystal formado por una API (Ipraglifozina, inhibidor del cotransportador SGLT2 de glucosa) y un coformador (Prolina). Tiene beneficios en Diabetes Mellitus. Fue

desarrollado en Japón por Astellas Pharma y Kotobuki Pharmaceutitcals, comercializado en Japón en varias dosis de comprimidos recubiertos con película (26).

- **Cocristales en investigación**

- Cocrystal de Ertuglifozina- ácido L-piroglutámico**

Cocrystal formado por un API, ertuglifozina (inhibidor del cotransportador SGLT2 en DM2) y un coformador, piroglutámico (mejora las propiedades de fabricación y aumenta la calidad del cocrystal). Promueve la excreción urinaria de glucosa. Este fármaco se encuentra en fase II en ensayos clínicos (14).

- TAK-020-ácido gentísico**

Es un fármaco en investigación, el cocrystal ha superado la fase I de ensayos clínicos. Pertenece a la clase del inhibidor de tirosina-quinasa de Bruton, utilizado para la artritis reumatoide (14).

5.5.EVALUACIÓN BIOFARMACÉUTICA.

Los cocristales permiten modificar propiedades biofarmacéuticas y farmacotécnicas de un API, es decir, distintas propiedades de solubilidad, velocidad de disolución, estabilidad fisicoquímica e higroscopicidad.

Respecto a la solubilidad, en la mayoría de los casos se ve aumentada, es decir, mejora las características de disolución de un API insoluble. Además, la solubilidad es la característica que permite correlacionar las posibles mejoras encontradas *in vitro* con lo que posteriormente se producirá *in vivo* en un organismo (27).

Otro aspecto importante es la biodisponibilidad (cantidad de fármaco inalterado que alcanza la circulación sistémica). Existen numerosos estudios que comparan la biodisponibilidad del API libre con la del API en forma de cocrystal, se ha demostrado que en la mayoría de los fármacos se ha visto aumentada.

Otro aspecto en el diseño de cocristales es que al producirse una transformación en la estructura del fármaco pueden existir cambios en su actividad, se debe tener especial vigilancia en cuanto a efectos tóxicos o adversos en el organismo.

5.6. MARCO REGULATORIO

La reglamentación de los cocristales farmacéuticos y sus formulaciones afecta a las estrategias de desarrollo y al control de calidad. Existen diferentes requisitos para las dos

principales agencias reguladoras a nivel mundial: EMA (*European Medicines Agency*) y FDA (*Food and Drugs Administration*). Ambas agencias optan por la misma definición científica de los cocrystalos, sin embargo, poseen diferentes enfoques regulatorios(28). Por otro lado, cabe destacar que en Japón no existen directrices oficiales sobre los cocrystalos farmacéuticos. Esta es una de las razones por las que en dichos lugares hay cocrystalos comercializados que no lo están en Europa.

Una de las principales diferencias es que la FDA considera el cocrystal como un producto intermedio, no como un nuevo API, lo que supone menos ensayos clínicos al no considerarse nueva sustancia; en cambio, la EMA lo considera una nueva sustancia activa, tiene que demostrar eficacia y seguridad para ser considerado el mismo API.

En adición, la FDA indica seguir en su fabricación las normas GMP (*Good manufacturing practice*) generales mientras que la EMA exige seguir la parte II de las GMP europeas para producto terminado (29).

6. CONCLUSIONES

Los cocrystalos farmacéuticos son empleados como una técnica para conseguir que fármacos ya existentes, poco solubles y que presentan problemas de polimorfismo o de formación de sales, puedan ser formulados a partir de las interacciones entre los sintones de un API y un coformador. Son de gran importancia para modificar las propiedades fisicoquímicas de los fármacos, en concreto, mejoran características como solubilidad y velocidad de disolución. Además, la ingeniería de cocrystalos está demostrando que pueden crearse cocrystalos con dos APIs de manera que puede potenciarse la acción de un compuesto a través de varios mecanismos de acción.

El estudio de los cocrystalos farmacéuticos permite la correcta elección de los coformadores adecuados, así como screening de los posibles cocrystalos para lograr mejor rendimiento. Además, existen numerosas técnicas para sintetizar los cocrystalos, las cuales pueden dividirse en *Top-down* (molienda mecánica, homogenización de alta presión y top-down no convencional como ultrasonidos y fragmentación láser) y *Bottom-up* (nanoprecipitación, secado y atomización). Se comenzó con técnicas clásicas como la molienda, pero, actualmente se están desarrollando técnicas como secado por pulverización que permite obtener cocrystalos farmacéuticos a gran escala.

No solo mejora las características anteriormente nombradas, sino que también mejora otras características como higroscopicidad, estabilidad o compactibilidad. Debido a estas propiedades y ventajas se encuentran en desarrollo, en el mercado comercial se encuentran algunos como Entresto®, sin embargo, cocrisales con dos APIs como celecoxib/tramadol, aún no están comercializados, pero se espera que lo estén próximamente. Son, por tanto, una alternativa a las formulaciones habituales que están actualmente en auge e investigación.

7. **BIBLIOGRAFÍA**

1. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Waiver of in-vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. 2017.
2. Saucedo MM, Zúñiga-Lemus O, Ortegón-Reyna D, González-González SJ. Los co-crisales farmacéuticos: conceptos generales.: An. Real Acad. Farm. ; 2014; 80(2): 265-73.
3. López KA. Uso de co crisales para mejorar la solubilidad y velocidad de disolución de los fármacos. Universidad de Costa Rica- Sede de occidente: Rev Pensam Act. 2015; 15(25):207-2015
4. Mishra DK, Dhote V, Bhargava A, Jain DK, Mishra PK. Amorphous solid dispersion technique for improved drug delivery: basics to clinical applications. Drug Deliv Transl Res. 2015;5(6):552-65.
5. Haser A, Zhang F. New Strategies for Improving the Development and Performance of Amorphous Solid Dispersions. AAPS Pharm Sci Tech. 2018; 19(3): 978-990.
6. Van den Mooter G. The use of amorphous solid dispersions: a formulation strategy to overcome poor solubility and dissolution rate. Elsevier, Drug Discov Today Technol. 2012; 9: 79-85.
7. Herrera RD. ¿Qué sabe Ud. acerca de los co-crisales farmacéuticos?. Rev. Mex. Cienc. ; 2010; 41(3): 55-56.
8. Semjonov K, Salm M, Lipiäinen T, Kogermann K, Lust A, Laidmäe I, et al. Interdependence of particle properties and bulk powder behavior of indomethacin in quench-cooled molten two-phase solid dispersions. Int J Pharm. 2018; 54(1-2): 188-197.
9. Healy AM, Worku ZA, Kumar D, Madi AM. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. Elsevier, Adv Drug Deliv Rev. 2017;117: 25-46.
10. Qiao N, Li M, Schlindwein W, Malek N, Davies A, Trappitt G. Pharmaceutical cocrystals: an overview. Elsevier. Int J Pharm. 2011; 419(1-2): 1-11.
11. Ross SA, Lamprou DA, Douroumis D. Engineering and manufacturing of pharmaceutical co-crystals: A review on solvent-free manufacturing technologies. Chem Comm. 2016; 52(57): 8772-8886.
12. Serrano DR, Gallagher KH, Healy AM. Emerging Nanonisation Technologies: Tailoring Crystalline Versus Amorphous Nanomaterials. Curr Top Med Chem. 2015;15(22): 2327-40.
13. Yadav AV, Shete AS, Dabke AP, Kulkarni PV, Sakhare SS. Co-crystals: A Novel approach to modify Physicochemical Properties of Active Pharmaceutical Ingredients. Indian J Pharm Sci. 2010;71(4): 359-70

14. Chavan RB, Thipparaboina R, Yadav B, Shastri NR. Continuous manufacturing of co-crystals: challenges and prospects. *Drug Deliv Transl Res*. 2018.
15. Shewale S, Shete AS, Doijad RC, Kadam SS, Patil VA, Yadav AV. Formulation and Solid State Characterization of Nicotinamide-based Co-crystals of Fenofibrate. *Indian J Pharm Sci*. 2015;77(3): 328-34.
16. Douroumis D, Ross SA, Nokhodchi A. Advanced methodologies for cocrystal synthesis. *Adv Drug Deliv Rev*. 2017;117: 178-95.
17. Müllers KC, Paisana M, Wahl MA. Simultaneous formation and micronization of pharmaceutical cocrystals by rapid expansion of supercritical solutions (RESS). *Pharm Res*. 2015;32(2): 702-13.
18. Serrano DR, O'Connell P, Paluch KJ, Walsh D, Healy AM. Cocrystal habit engineering to improve drug dissolution and alter derived powder properties. *J Pharm Pharmacol*. 2016;68(5): 665-77.
19. Li S, Yu T, Tian Y, Lagan C, Jones DS, Andrews GP. Mechanochemical Synthesis of Pharmaceutical Cocrystal Suspensions via Hot Melt Extrusion: Enhancing Cocrystal Yield. *Mol Pharm*. 2017.
20. Apshingekar PP, Aher S, Kelly AL, Brown EC, Paradkar A. Synthesis of Caffeine/Maleic Acid Co-crystal by Ultrasound-assisted Slurry Co-crystallization. *J Pharm Sci*. 2017;106(1): 66-70.
21. Sylvestre JP, Tang MC, Furtos A, Leclair G, Meunier M, Leroux JC. Nanonization of megestrol acetate by laser fragmentation in aqueous milieu. *J Control Release*. 2011;149(3): 273-80.
22. Serrano DR, Walsh D, O'Connell P, Mugheirbi NA, Worku ZA, Bolas-Fernandez F, et al. Optimising the in vitro and in vivo performance of oral cocrystal formulations via spray coating. *Eur J Pharm Biopharm*. 2018;124: 13-27.
23. Padrela L, Rodrigues MA, Velaga SP, Matos HA, de Azevedo EG. Formation of indomethacin-saccharin cocrystals using supercritical fluid technology. *Eur J Pharm Sci*. 2009; 38(1): 9-17.
24. Almansa C, Mercè R, Tesson N, Farran J, Tomàs J, Plata-Salamán CR. Co-crystal of Tramadol Hydrochloride-Celecoxib (etc): A Novel API-API Co-crystal for the Treatment of Pain. *Crystal Growth Design (Laboratorios del DrEsteve, SAU Barcelona, 08028, Spain)*. 2017:1888-92.
25. Khalil PH, Kabbach G, Mukherjee D, Said S. Entresto, a new Panacea for Heart Failure? *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2018.
26. Astellas PI, Kotobuki PC. Astellas Submits Supplemental New Drug Application for Approval of Additional Indication of Selective SGLT2 Inhibitor Ipragliflozin L-Proline for Patients with Type 1 Diabetes Mellitus in Japan. Astellas [Internet]. 2018 [actualizado 1 ene 2018; citado 1 may 2018]; Disponible en: https://www.astellas.com/en/system/files/news/2018-01/eg_180111_joint.pdf
27. Berry DJ, Steed JW. Pharmaceutical cocrystals, salts and multicomponent systems; intermolecular interactions and property based design. *Adv Drug Deliv Rev*. 2017;117:3-24.
28. Izutsu KI, Koide T, Takata N, Ikeda Y, Ono M, Inoue M, et al. Characterization and Quality Control of Pharmaceutical Cocrystals. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2016;64(10):1421-30.
29. Gadade DD, Pekamwar SS. Pharmaceutical Cocrystals: Regulatory and Strategic Aspects, Design and Development. *Adv Pharm Bull*. 2016;6(4):479-94.