UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Trabajo de Servicio Social:

Desarrollo de un método miniaturizado para determinación de solubilidad termodinámica por medio de cromatografía líquida de alta resolución

Perteneciente al proyecto: Evaluación biofarmacéutica de medicamentos

Presentado por:

Javier Yeshua Mejía Pérez

Matrícula: 2213018996

Realizado en el Laboratorio de Bio-Analítica

Unidad Interdisciplinaria de Docencia, Investigación y Servicios (UIDIS), UAM Xochimilco

Duración: 25 de noviembre de 2024 – 25 de mayo de 2025

Asesores:

M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña

Dra. Georgina Alarcón Ángeles

AGRADECIMIENTOS

Principalmente quiero expresar mi más profunda gratitud a Dios, por permitirme culminar satisfactoriamente mis estudios y ser mi sustento en mis peores momentos.

A mis padres, Javier Mejía y Rocío Guzmán, por apoyarme siempre, confiar en mí y brindarme las herramientas necesarias para concluir mi licenciatura, pese a las adversidades. A mi hermana, Lizette Mejía, por invertir en mí, por alentarme día con día y por todas las aventuras extraordinarias que hemos pasado juntos. A mi gato, Rocket, quien se desvelaba conmigo al realizar mis tareas y proyectos.

A mis asesoras, Marcela Hurtado y Georgina Alarcón, quienes me acogieron en su laboratorio para realizar mi servicio social y me brindaron su ayuda, orientación y conocimiento en todo momento, y a quienes recordaré con gratitud por siempre.

RESUMEN

La solubilidad es una propiedad fisicoquímica clave en el desarrollo farmacéutico, ya que condiciona la biodisponibilidad y el efecto terapéutico de los fármacos. En las etapas tempranas del descubrimiento de fármacos, la determinación de la solubilidad resulta especialmente crítica; sin embargo, los métodos convencionales, como el matraz agitado (shake flask), requieren grandes cantidades de compuesto y disolvente, lo que limita su aplicación cuando la disponibilidad de material es reducida.

En este trabajo se desarrolló y evaluó un método miniaturizado tipo shake flask para la determinación de la solubilidad termodinámica de fármacos benzimidazólicos, compuestos representativos con baja solubilidad. El método empleó volúmenes de 2 mL, condiciones controladas de temperatura y agitación, y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) como técnica analítica para la cuantificación del fármaco disuelto. Asimismo, se realizaron estudios de solubilidad termodinámica convencional y ensayos de solubilidad cinética, con el fin de comparar su desempeño con el método miniaturizado propuesto.

Los resultados mostraron que el método miniaturizado permitió alcanzar la saturación del medio y obtener valores de solubilidad comparables con los reportados en la literatura para mebendazol y tiabendazol, empleando cantidades significativamente menores de fármaco y disolvente. En el caso del albendazol, se observaron valores de solubilidad superiores a algunos reportes bibliográficos, lo cual se atribuyó principalmente a características propias del estado sólido del fármaco. Por otro lado, los estudios de solubilidad cinética mostraron la influencia del efecto de cosolvencia del DMSO, lo que limitó su desempeño.

Todos los resultados demuestran que el método miniaturizado constituye una alternativa eficiente y confiable para la determinación de la solubilidad termodinámica en estudios preliminares de caracterización fisicoquímica de nuevos fármacos.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS ---------- 2

RESUMEN ---------- 3

ÍNDICE GENERAL ---------- 4

ÍNDICE DE FIGURAS ---------- 6

ÍNDICE DE TABLAS ---------- 7

ÍNDICE DE ANEXOS ---------- 7

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN ---------- 8

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO ---------- 10

1. Solubilidad de compuestos farmacéuticos ---------- 10

1.1 Definición general de solubilidad ---------- 10

1.2 Importancia de la determinación de la solubilidad de compuestos farmacéuticos ---------- 10

1.3 Factores que determinan y afectan la solubilidad ---------- 12

2. Fundamentos fisicoquímicos de la solubilidad ---------- 16

2.1 Interacciones soluto-disolvente ---------- 16

2.2 Equilibrio sólido-líquido ---------- 17

2.3 Influencia del pH y la ionización ---------- 19

3. Solubilidad termodinámica ---------- 20

3.1 Condiciones necesarias para alcanzar el equilibrio ---------- 20

3.2 Técnicas experimentales para determinar la solubilidad termodinámica ---------- 21

4. Método Shake Flask para solubilidad termodinámica ---------- 21

5. Solubilidad cinética ---------- 22

5.3 Técnicas experimentales para determinar solubilidad cinética ---------- 23

6. Nuevas líneas experimentales y miniaturización de técnicas para determinar la solubilidad de nuevos fármacos ---------- 24

7. Fármacos benzimidazoles ---------- 26

7.1 Comportamiento de los benzimidazoles en medio acuoso ---------- 27

CAPÍTULO III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS ---------- 28

1. Planteamiento del problema ---- 28
2. Justificación ---- 28
3. Objetivos ---- 29
CAPÍTULO IV. MATERIAL Y MÉTODOS ---- 30
Materiales ---- 30
Métodos ---- 30
1. Análisis cromatográfico ---- 30
2. Linealidad del sistema ---- 30
3. Método miniaturizado para la determinación de solubilidad termodinámica ---- 30
4. Método convencional para la determinación de solubilidad termodinámica ---- 31
5. Método miniaturizado para la determinación de solubilidad cinética ---- 31
CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN ---- 32
Resultados ---- 32
1. Análisis cromatográfico ---- 32
2. Linealidad del sistema ---- 32
3. Método miniaturizado para la determinación de solubilidad termodinámica - 33
4. Método convencional para la determinación de solubilidad termodinámica -- 35
5. Método miniaturizado para la determinación de la solubilidad cinética ---- 35
Discusión de resultados ---- 37
Análisis cromatográfico y linealidad del sistema ---- 37
Solubilidad termodinámica método miniaturizado vs convencional ---- 37
Solubilidad termodinámica método miniaturizado vs solubilidad cinética ---- 39
Recomendaciones y perspectivas finales ---- 40
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES ---- 42
CAPÍTULO VII. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS ---- 43
REFERENCIAS ---- 44
ANEXOS ---- 50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BSC) ---------- 11
Figura 2. Polaridad molecular ---------- 12
Figura 3. Influencia de la fuerza iónica en la solubilidad ---------- 14
Figura 4. Fuerzas intermoleculares ---------- 17
Figura 5. Proceso de solvatación. (a) Interacción independiente de soluto y disolvente. (b) Separación de soluto de la red cristalina. (c) Incorporación del soluto en el disolvente ---- 18
Figura 6. Perfil de pH-solubilidad para un compuesto monobásico con pKa de 5 --------- 19
Figura 7. Condiciones necesarias para alcanzar el equilibrio ---------- 21
Figura 8. Método Shake Flask---------- 22
Figura 9. Determinación de solubilidad cinética ---------- 23
Figura 10. Estructura de benzimidazol ---------- 26
Figura 11. Mecanismo de acción de benzimidazoles ---------- 26
Figura 12. Estructura química de Albendazol, Mebendazol y Tiabendazol ---------- 27
Figura 13. Linealidad del sistema para Albendazol (ABZ), Tiabendazol (TBZ) y Mebendazol (MBZ) ---------- 32
Figura 14. Curva de disolución método miniaturizado para Albendazol (ABZ) ---------- 34
Figura 15. Curvas de disolución método miniaturizado para Tiabendazol (TBZ) ---------- 34
Figura 16. Curvas de disolución método miniaturizado para Mebendazol (MBZ) --------- 35
Figura 17. Curva de disolución método convencional ---------- 35
Figura 18. Curva de disolución método cinético para ABZ ---------- 36
Figura 19. Curva de disolución método cinético para MBZ ---------- 36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Técnicas para determinar solubilidad acuosa en el descubrimiento de fármacos - 25
Tabla 2. Propiedades FQ de ABZ, MBZ y TBZ ---------- 27
Tabla 3. Características cromatográficas del método ---------- 32
Tabla 4. Valores de solubilidad termodinámica de ABZ, TBZ y MBZ obtenidos con el método shake flask miniaturizado comparados con valores reportados en la literatura ---- 33

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Elaboración de curvas de calibración ---------- 50
Anexo 2. Diseño general del método miniaturizado tipo shake flask---------- 50
Anexo 3. Diseño experimental ensayo de solubilidad convencional ---------- 51
Anexo 4. Diseño experimental del método miniaturizado cinético para ABZ ---------- 51
Anexo 5. Diseño experimental del método miniaturizado cinético para MBZ ---------- 52

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Introducción

Caracterizar las propiedades fisicoquímicas de moléculas con posible o demostrada actividad terapéutica es un proceso indispensable para comprender su comportamiento. Una de las propiedades de mayor interés es la solubilidad, ya que los fármacos necesariamente deben encontrarse en forma soluble para poder ejercer su actividad biológica.

La solubilidad es un fenómeno físico que involucra una dispersión a nivel molecular y se define como la cantidad máxima de sustancia que puede integrarse en un disolvente generando una mezcla homogénea. Asimismo, la solubilidad es una propiedad termodinámica, es decir, es un valor característico de cada molécula. No obstante, puede verse influenciada por diversos factores como la temperatura, la presión, la cristalinidad y el pH. Esta propiedad está directamente relacionada con la estructura molecular y se encuentra estrechamente vinculada al coeficiente de reparto, ya que ambos parámetros contribuyen a definir si un compuesto presenta mayor afinidad por disolventes polares o no polares.

Estas características hacen que la solubilidad no solo sea un concepto fisicoquímico de interés teórico, sino también un parámetro clave para predecir el comportamiento de las moléculas en sistemas biológicos. En particular, el conocimiento de la solubilidad permite anticipar el potencial éxito terapéutico de un fármaco, ya que esta propiedad es considerada por el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB) como un indicador clave de su capacidad de absorción; por ello, la determinación de la solubilidad resulta fundamental en el desarrollo farmacéutico.

Como se ha descrito, la determinación de la solubilidad en las fases tempranas del descubrimiento de fármacos es un paso fundamental para asegurar el éxito en el desarrollo de nuevos tratamientos. La solubilidad de un fármaco influye directamente en su biodisponibilidad, lo que determina si el compuesto alcanzará las concentraciones necesarias en el organismo para ejercer su efecto terapéutico.

Sin embargo, las técnicas experimentales tradicionales para medir la solubilidad presentan varias limitaciones, en particular con fármacos de baja solubilidad. El método del matraz agitado (shake flask), considerado el estándar de oro para medir solubilidad termodinámica, requiere grandes cantidades de material y disolventes, lo que puede ser problemático en las primeras etapas de descubrimiento, donde la cantidad de compuesto disponible es limitada. Además, estos métodos pueden ser laboriosos y poco eficientes para compuestos clase II del SCB que presentan escasa solubilidad acuosa (Wishart et al., 2016). También existe el desafío de que las técnicas tradicionales pueden no ser lo suficientemente selectivas para diferenciar entre el fármaco y posibles impurezas o productos de degradación, lo que podría comprometer la precisión de los resultados.

Frente a estas limitaciones, la miniaturización de las técnicas experimentales ha emergido como una solución prometedora. Los métodos miniaturizados no solo requieren menos material y disolventes, sino que también permiten realizar múltiples experimentos en paralelo, agilizando la determinación de la solubilidad. Un ejemplo de esto es el uso del método del matraz agitado miniaturizado, combinado con detección por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Este enfoque es altamente selectivo y permite detectar no solo la concentración del fármaco en solución, sino también la presencia de impurezas o productos de degradación, asegurando resultados más confiables (Lipinski, 2016). La capacidad del HPLC para ofrecer una lectura precisa y selectiva es especialmente útil en el manejo de compuestos poco solubles y complejos, como los fármacos clase II del BCS.

Otro enfoque que comúnmente se emplea en los laboratorios para estimar la solubilidad de nuevos compuestos es la determinación de la solubilidad cinética, que si bien no representa la solubilidad en equilibrio (termodinámico), sirve para obtener información rápida.

En este contexto, se propone desarrollar un método miniaturizado para determinar la solubilidad termodinámica de fármacos benzimidazoles (fármacos de clase II del SCB) utilizando HPLC como técnica analítica, con el objetivo de superar las limitaciones de las técnicas tradicionales y obtener datos precisos. Además, se propone llevar a cabo ensayos de solubilidad termodinámica convencional y de solubilidad cinética, con el fin de compararlos con el desempeño del método miniaturizado termodinámico.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

1. Solubilidad de compuestos farmacéuticos

1.1 Definición general de solubilidad

La solubilidad es una propiedad termodinámica que tienen los compuestos para disolverse en un disolvente y generar una disolución homogénea a escala molecular. Convencionalmente se define a la solubilidad como la cantidad máxima de una sustancia que se puede disolver completamente en una cantidad dada de disolvente a una presión, temperatura y pH específicos (Bhattachar et al., 2006; Gupta & Devi, 2019; Könczöl & Dargó, 2018).

Este fenómeno puede describirse en términos cuantitativos y cualitativos. Cuantitativamente se describe como la concentración del soluto en una disolución saturada a una temperatura específica y se expresa comúnmente como miligramos de soluto por mililitro de disolvente. Mientras que, cualitativamente la solubilidad es la interacción espontánea de dos o más sustancias para formar una dispersión molecular homogénea (Vemula et al., 2010).

De acuerdo con la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) (Chemistry IUPAC, 2018), la solubilidad se define como "la composición analítica de una disolución saturada, expresada en términos de la proporción de un soluto designado en un disolvente designado". Una disolución saturada expresa la cantidad máxima de un compuesto que se puede disolver.

La solubilidad es un fenómeno dinámico en el que están involucrados procesos opuestos entre sí: la disolución y la unión de fases (precipitación). Cuando una disolución alcanza la saturación se consigue un equilibrio en el que los procesos de disolución y precipitación se desarrollan simultáneamente con una velocidad constante (Gupta & Devi, 2019).

Cada fármaco en su forma cristalina más estable y pura posee un solo valor verídico de solubilidad (solubilidad intrínseca). La solubilidad intrínseca (real) depende exclusivamente de las propiedades fisicoquímicas del compuesto y las condiciones del medio. Desafortunadamente, la forma cristalina más estable de los sólidos es también la menos soluble. A parte de la solubilidad intrínseca, los compuestos sólidos pueden presentarse en forma metaestable (por ejemplo, polimorfos, forma ionizada) que, a diferencia de la forma más estable, disponen de mayor energía y presentan mayor solubilidad (solubilidad aparente).

1.2 Importancia de la determinación de la solubilidad de compuestos farmacéuticos

En el descubrimiento de nuevos fármacos y el desarrollo farmacéutico, la determinación de la solubilidad de los fármacos es crucial, ya que influye directamente en la eficacia del tratamiento. La solubilidad de un fármaco determina su capacidad para disolverse en el medio biológico y, por lo tanto, afecta su biodisponibilidad, es decir, la fracción del fármaco que

llega a la circulación sistémica y que está disponible para ejercer su acción terapéutica (Savjani et al., 2012). Un fármaco de escasa solubilidad puede no alcanzar concentraciones terapéuticas adecuadas, limitando su eficacia o requiriendo formulaciones especiales para mejorar su absorción (Kalepu & Nekkanti, 2015). La solubilidad está íntimamente relacionada con el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB), que clasifica los fármacos en cuatro clases (**Figura 1**) según su solubilidad y permeabilidad (Amidon et al., 1995). Los fármacos de clase I (alta solubilidad y alta permeabilidad) suelen absorberse bien y presentan una buena biodisponibilidad oral. En contraste, los fármacos de clase II (baja solubilidad y alta permeabilidad) presentan desafíos, ya que aunque pueden atravesar las membranas celulares fácilmente, su baja solubilidad limita la cantidad disponible para la absorción (Takagi et al., 2006). Determinar la solubilidad de un nuevo fármaco es esencial para diseñar estrategias de formulación de medicamentos que mejoren su biodisponibilidad, como el uso de cosolventes, nanopartículas o sistemas de liberación modificada (Kalepu & Nekkanti, 2015).

Sin embargo, determinar la solubilidad experimentalmente presenta varios desafíos. Uno de los problemas principales es la disponibilidad limitada de material en las primeras etapas de desarrollo, lo que dificulta la realización de experimentos suficientes (Savjani et al., 2012). Además, los nuevos compuestos pueden tener propiedades fisicoquímicas complejas, como la formación de polimorfos, lo que afecta su solubilidad de manera impredecible (Di et al., 2012). La presencia de impurezas o la inestabilidad del fármaco durante el proceso experimental también puede complicar la medición precisa de la solubilidad (Di et al., 2012).

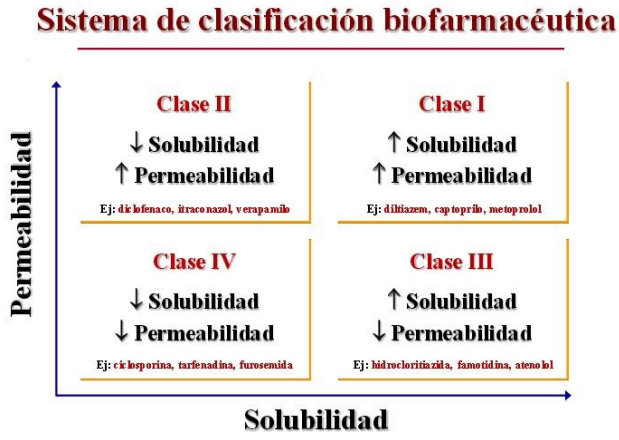


Figura 1. Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BSC)

Otro desafío es que la solubilidad puede depender de múltiples factores inherentes a la naturaleza química del compuesto, a la naturaleza del disolvente, y factores experimentales como la temperatura, la presión, y el pH, lo que hace necesario realizar un rango amplio de experimentos en diferentes condiciones para obtener una caracterización completa, esto resulta en estudios lentos y laboriosos.

1.3 Factores que determinan y afectan la solubilidad

La solubilidad, como se ha abordado previamente, es una propiedad termodinámica cuyo valor es característico de cada compuesto (solubilidad intrínseca) y está determinado principalmente por la naturaleza química de la sustancia. Sin embargo, existen diversos factores que pueden modificar la solubilidad de un compuesto, dando lugar a valores mayores o menores según diferentes condiciones.

Por definición, la solubilidad corresponde a la cantidad máxima de soluto que puede disolverse en un disolvente específico, bajo condiciones constantes de presión, pH y temperatura. En consecuencia, puede deducirse que los parámetros incluidos en esta definición influyen directamente en el valor de la solubilidad, y su variación puede incrementar o disminuir la cantidad de sustancia disuelta.

A continuación, se detallan los factores que afectan la solubilidad:

- **Naturaleza del soluto**

La composición química y la estructura influyen significativamente en la solubilidad (Zhang et al., 2011). En primer lugar, la polaridad de los compuestos, que es determinada por la estructura química (geometría molecular y electronegatividad) hace referencia a la distribución de cargas eléctricas dentro de una molécula (**Figura 2**). Las moléculas polares se caracterizan por una distribución desigual de carga, lo que da lugar a regiones de cargas parcialmente positivas y negativas. En cambio, las moléculas no polares poseen una distribución uniforme de la carga eléctrica, lo que conduce a la ausencia de polaridad (Xin, 2022).

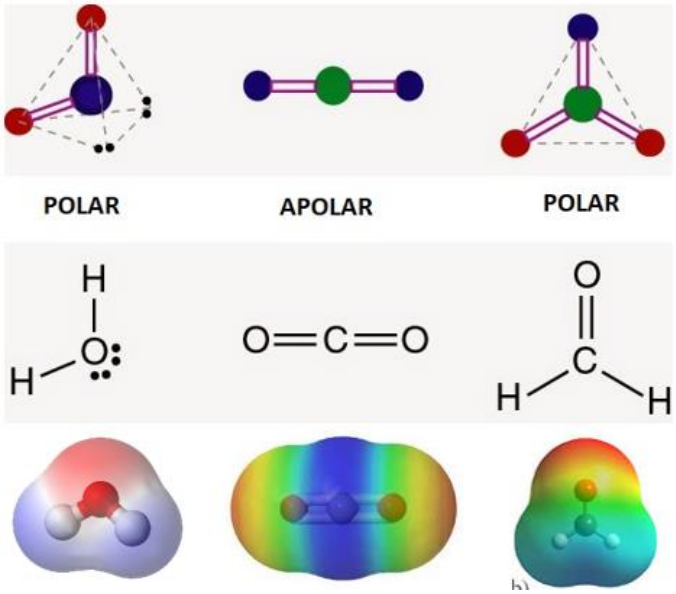


Figura 2. Polaridad molecular

Esta distribución de cargas influye directamente en diversas propiedades fisicoquímicas, ya que los compuestos polares tienden a disolverse con mayor facilidad en disolventes polares, como el agua, y generalmente presentan puntos de fusión y ebullición más elevados. En contraste, los compuestos no polares muestran mayor solubilidad en disolventes no polares, como aceites o solventes orgánicos como hexano, y suelen presentar puntos de fusión y ebullición considerablemente menores (Xin, 2022). En el ámbito farmacéutico, los fármacos pueden presentar naturaleza polar, como la metformina, el aciclovir o la cafeína, o naturaleza no polar, como la dexametasona, el verapamilo o la fluoxetina, lo cual permite correlacionar su estructura química con propiedades fisicoquímicas relevantes, tales como la solubilidad, el coeficiente de reparto y el comportamiento biológico.

Otro factor influyente, determinado por la estructura química, es la presencia de grupos ionizables. Los grupos ionizables corresponden a grupos funcionales o regiones de una molécula capaces de ganar o perder un protón (H^+), modificando su estado de carga y convirtiéndose en especies iónicas en función del pH del medio (Gaohua et al., 2021). Este fenómeno es de particular relevancia, ya que la ionización del compuesto provoca una redistribución de cargas que incrementa su polaridad y, en consecuencia, su afinidad por disolventes polares, lo cual impacta directamente en su solubilidad.

Muchos fármacos presentan grupos ionizables y, dependiendo de si ganan o pierden protones, se clasifican como bases (albendazol, lidocaína) o ácidos (ibuprofeno, naproxeno), respectivamente. Sin embargo, debido a que la mayoría de los fármacos son ácidos o bases débiles, su disociación no ocurre al cien por ciento, sino que depende del pH del medio y del valor de pKa de la molécula. El pKa se define como el valor de pH al cual una sustancia se encuentra ionizada en un 50 %, y constituye una medida de la fuerza relativa de un ácido o una base, así como de su tendencia a ceder o aceptar protones (Manallack, 2007). No obstante, algunos fármacos presentan múltiples grupos ionizables, por lo que poseen más de un valor de pKa, correspondiente a cada uno de estos grupos funcionales, como es el caso del ciprofloxacino.

- **Naturaleza del disolvente**

El segundo protagonista en la solubilidad es el disolvente, el cual, al igual que el soluto, puede clasificarse en función de su polaridad. Los disolventes polares se caracterizan por presentar una distribución desigual de su densidad electrónica y pueden subdividirse en próticos y apróticos, dependiendo de la presencia o ausencia de átomos de hidrógeno capaces de participar en enlaces de hidrógeno. Los disolventes próticos (como el agua, el metanol y el etanol) y los disolventes apróticos (como la acetona, el acetonitrilo y el dimetilsulfóxido) disuelven con mayor facilidad compuestos polares, sales y sustancias susceptibles de ionización (Bubalo et al., 2014). Por su parte, los disolventes no polares son aquellos que no presentan polos o cargas eléctricas permanentes, ya sea porque su estructura carece de átomos altamente electronegativos o porque su geometría molecular compensa cualquier posible

polaridad. Ejemplos de estos disolventes incluyen los hidrocarburos, como el hexano, así como los aceites, los cuales, debido a su naturaleza lipídica, interactúan preferentemente con compuestos no polares.

Además de la polaridad del disolvente, la constante dieléctrica y la fuerza iónica del medio juegan un papel fundamental, ya que influyen directamente en las interacciones intermoleculares que permiten o limitan la disolución de una sustancia.

La constante dieléctrica (ε) es una medida de la capacidad de un disolvente para reducir las fuerzas de atracción electrostática entre cargas opuestas (Sean, 2022). Cuando un disolvente tiene un alta constante dieléctrica, como el agua, es más eficiente para estabilizar especies cargadas o polares, favoreciendo la disolución de compuestos iónicos o altamente polares. Esto ocurre porque el disolvente puede rodear y estabilizar las cargas del soluto mediante interacciones dipolo–ión o dipolo–dipolo. En contraste, disolventes con baja constante dieléctrica, como los aceites o hidrocarburos, presentan menor capacidad para estabilizar cargas, por lo que favorecen la solubilidad de compuestos no polares (Trento, 2023).

Por otro lado, la fuerza iónica del disolvente se refiere a la concentración total de iones presentes en la solución y a sus respectivas cargas (Abdo Taher et al., 2025). La fuerza iónica influye en la solubilidad principalmente de compuestos ionizables. Al aumentar la fuerza iónica del medio, se modifican las interacciones electrostáticas entre el soluto y el disolvente, lo que puede generar fenómenos como el “salting-in” o el “salting-out” (Ebrahimi et al., 2018). En algunos casos, una mayor fuerza iónica puede incrementar la solubilidad del fármaco al estabilizar sus especies ionizadas; sin embargo, en otros casos puede disminuirla debido a la competencia entre los iones del medio y el soluto por las moléculas de disolvente (**Figura 3**).

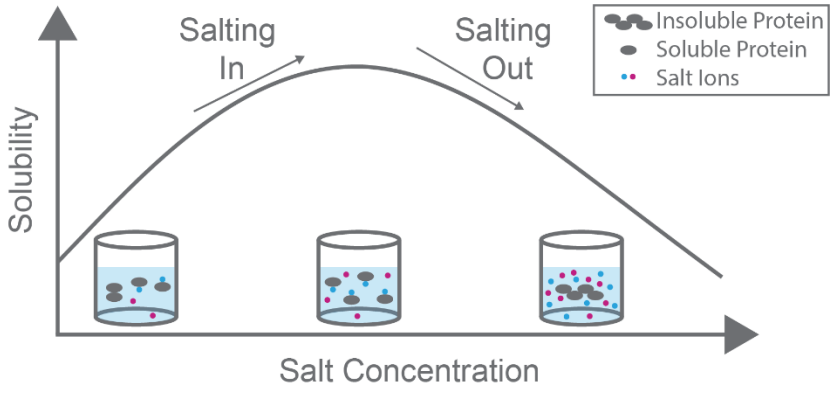


Figura 3. Influencia de la fuerza iónica en la solubilidad

- **Estado sólido del fármaco**

El estado sólido del fármaco es uno de los factores más importantes que influyen en su solubilidad, ya que determina la energía necesaria para que las moléculas abandonen la red sólida y pasen a la solución (Aaltonen et al., 2009; Hancock & Zografi, 1997). Dentro de este

estado sólido, aspectos como la forma cristalina, el polimorfismo y el tamaño de partícula juegan un papel clave en el comportamiento de disolución.

La forma cristalina se refiere a la manera en que las moléculas del fármaco se organizan en el sólido. En general, los sólidos cristalinos presentan una red ordenada, por lo que comúnmente tienen una menor solubilidad en comparación con las formas amorfas, ya que estas poseen un mayor contenido energético y una estructura menos estable, facilitando la interacción con el disolvente (Hancock & Zografi, 1997; Yu, 2001).

El polimorfismo es la capacidad que tiene un fármaco para existir en más de una forma cristalina (Brittain, 2018). Cada polimorfo puede presentar diferentes propiedades fisicoquímicas, como punto de fusión, estabilidad y, de manera importante, solubilidad (Brittain, 2018; Hilfiker, 2006). Generalmente, los polimorfos más estables termodinámicamente tienen menor solubilidad, mientras que los polimorfos metaestables, suelen disolverse con mayor facilidad (Aaltonen et al., 2009; Yu, 2001).

Por otro lado, el tamaño de partícula influye directamente en la solubilidad aparente y en la velocidad de disolución del fármaco. La reducción del tamaño de partícula incrementa el área superficial disponible para el contacto con el disolvente, lo que favorece una disolución más rápida (Noyes & Whitney, 1897). En sistemas donde la solubilidad es limitada, como ocurre con muchos fármacos poco solubles, la micronización o nanonización puede mejorar la solubilidad del compuesto (Ding et al., 2024).

- **Influencia de la temperatura, presión y pH del medio**

La temperatura interactúa de forma proporcional con la solubilidad. Tras la manipulación de la temperatura, se consigue cambiar la energía cinética del sistema; mientras haya mayor energía se promueven las interacciones entre el soluto con el disolvente permitiendo una mayor solubilidad. Con un aumento de la temperatura es posible generar disoluciones sobresaturadas, en cambio, con bajas temperaturas se apelmazan las partículas del soluto, cristalizan y precipitan (Vertzoni et al., 2022).

Por otro lado, la presión puede influir en la solubilidad de los compuestos; sin embargo, su efecto es relevante principalmente en sistemas gas–líquido. La presión influye en la solubilidad de gases disueltos en líquidos debido a su mayor capacidad para comprimirse (Verdier & Andersen, 2005). La ley de Henry menciona que la solubilidad de los gases es proporcional a la presión (Quiroz, 2022). El efecto de la presión en la solubilidad de compuestos sólidos y líquidos es insignificante a presiones estándar, debido a que estos compuestos son menos compresibles que los gases (Quiroz, 2022). Para la mayoría de los sistemas sólido–líquido, como los fármacos disueltos en medios acuosos u orgánicos, el efecto de la presión sobre la solubilidad es generalmente mínimo y puede considerarse despreciable en condiciones normales. No obstante, bajo la influencia de presiones extremas puede haber efectos apreciables.

El efecto del pH en la solubilidad acuosa de los compuestos es significativo en particular para compuestos que son ionizables, pues al separarse en iones se generan mayores interacciones ion-dipolo que promueven la solubilidad en medios acuosos y polares. En este sentido, el pKa del compuesto también juega un papel importante en su solubilidad como se describe más adelante.

2. Fundamentos fisicoquímicos de la solubilidad

La solubilidad es el resultado de las interacciones entre el soluto y el disolvente, que por medio de fuerzas intermoleculares (puentes de hidrogeno, fuerzas de Van der Waals, interacciones electrostáticas, etc) se permite el reacomodo de las moléculas para permitir que el soluto se disuelva (Peiffer, 1980; Singh et al., 2021; Torres et al., 2005). Las características del soluto (grupos funcionales, estado cristalino, pureza, tamaño de partícula, logP, densidad electrónica, pka) y del disolvente (pH, polaridad, constante dieléctrica) son los principales responsables de promover o evitar que se solubilice un compuesto.

2.1 Interacciones soluto-disolvente

La solubilidad, como ya se mencionó, es un proceso dinámico, en donde las moléculas del soluto se encuentran dispersas y en constante movimiento dentro del disolvente (Gupta & Devi, 2019). Gracias a esta dinámica molecular, tanto el soluto como el disolvente están interactuando constantemente a través de fuerzas intermoleculares (GONG et al., 2007). Las fuerzas intermoleculares son interacciones no covalentes de atracción o de repulsión entre moléculas, sin que ocurra la formación de nuevos enlaces químicos (Tassios, 1993). Son más débiles que los enlaces covalentes e iónicos, pero participan en muchas propiedades como la solubilidad, miscibilidad, punto de ebullición, etc (Chandler, 2005).

Si las fuerzas intermoleculares entre el soluto y el disolvente son similares e implican la atracción, entonces el compuesto será soluble (Singh et al., 2021). Esto se resume en una regla general que indica que lo similar disuelve a lo similar (Bergström & Larsson, 2018; A. Chaudhary et al., 2012; Montes et al., 2003; Zhuang et al., 2021), por lo tanto: lo polar disuelve lo polar, lo no polar disuelve a lo no polar y compuestos de distinta naturaleza se disuelven con dificultad.

Las principales fuerzas intermoleculares (**Figura 4**) incluyen, puentes de hidrógeno, un tipo de interacción fuerte entre un hidrógeno unido a O, N o F y otro átomo electronegativo de una molécula vecina (Torres et al., 2010); fuerzas de Van der Waals como interacciones dipolo-dipolo entre moléculas polares, donde hay atracción entre regiones con carga parcial positiva y negativa; fuerzas ión-dipolo que ocurre entre iones y moléculas polares como el agua, este tipo de interacción es clave cuando un fármaco está ionizado; y por último, fuerzas de dispersión de London, que suceden con moléculas no polares debido a fluctuaciones electrónicas temporales e interacciones hidrofóbicas (Meyer et al., 2006; Torres et al., 2010).

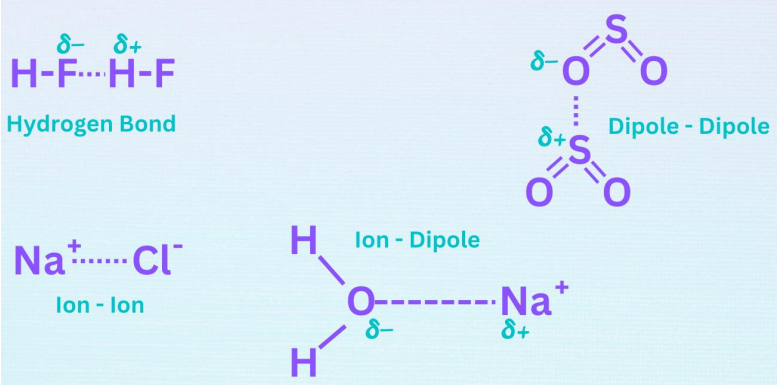


Figura 4. Fuerzas intermoleculares

Un fármaco será soluble cuando las interacciones fármaco-disolvente sean iguales o mayores que las interacciones fármaco-fármaco en la red sólida. Este comportamiento se debe a la energía de solvatación, que es la energía liberada o absorbida cuando las moléculas de un disolvente rodean e interactúan con las partículas de un soluto al formar una solución homogénea (Sachan, 2019). Este concepto de energía de solvatación se profundizará en la siguiente sección.

Además de las fuerzas intermoleculares derivadas de las interacciones entre el soluto y el disolvente, la cantidad de partículas de soluto disueltas en el medio también influye en las propiedades intrínsecas del disolvente, en las denominadas propiedades coligativas. Las propiedades coligativas son las características de las soluciones que depende exclusivamente de la cantidad de moléculas de soluto disueltas y no de su naturaleza química (Belford, 2025). Esto tiene un impacto en el descenso de la presión de vapor, la elevación del punto de ebullición, el descenso del punto de congelación y la presión osmótica (Belford, 2025). Estas propiedades muestran como la cantidad de soluto altera el comportamiento termodinámico del disolvente y sirven para entender el equilibrio en sistemas de disolución.

2.2 Equilibrio sólido-líquido

La solubilidad consiste en un equilibrio dinámico entre el soluto y el disolvente. Este equilibrio se alcanza cuando el número de moléculas transferidas de la solución a un estado sólido es igual a la transferencia de moléculas de un estado sólido a la solución (GONG et al., 2007). La solubilidad es una propiedad del equilibrio termodinámico, pero no es un proceso aislado, ya que, la disolución también está involucrado en el proceso de solvatación (E. Skyner et al., 2015). La disolución es un parámetro cinético que describe la velocidad a la que una sustancia se transfiere de una fase sólida a una en solución (Noyes & Whitney, 1897).

El equilibrio termodinámico siempre buscará el estado general de menor energía del sistema. Y solo la solubilidad de equilibrio real (solubilidad termodinámica) muestra el equilibrio

entre la solución y la forma cristalina más estable (Battino & Letcher, 2001). Este equilibrio depende no solo de la energía del sólido inicial, sino de la energía total del proceso de disolución, que incluye el reacomodo molecular, es decir, la solvatación de los iones o moléculas.

Desde el punto de vista termodinámico, la solubilidad consiste en una serie de eventos (**Figura 5)** comenzando con el soluto y el disolvente segregados que interactúan con otras moléculas del mismo tipo. Posteriormente, las interacciones entre las moléculas del soluto en el cristal (energía reticular) deben romperse para separar las moléculas de la red cristalina, este proceso involucra un incremento en la entalpía del sistema (ΔH). Asimismo, las moléculas del disolvente generan el espacio requerido (energía de cavitación) para incorporar las moléculas del soluto. Esto da como resultado que la entropía del sistema (ΔS) aumente ligeramente porque se ha alterado la red ordenada de enlaces de hidrógeno entre las moléculas del disolvente. Por último, se forman nuevas interacciones (fuerzas intermoleculares) estabilizadoras entre el soluto y el disolvente (energía de solvatación) favoreciendo la disolución en un proceso espontáneo (Battino & Letcher, 2001; GONG et al., 2007).

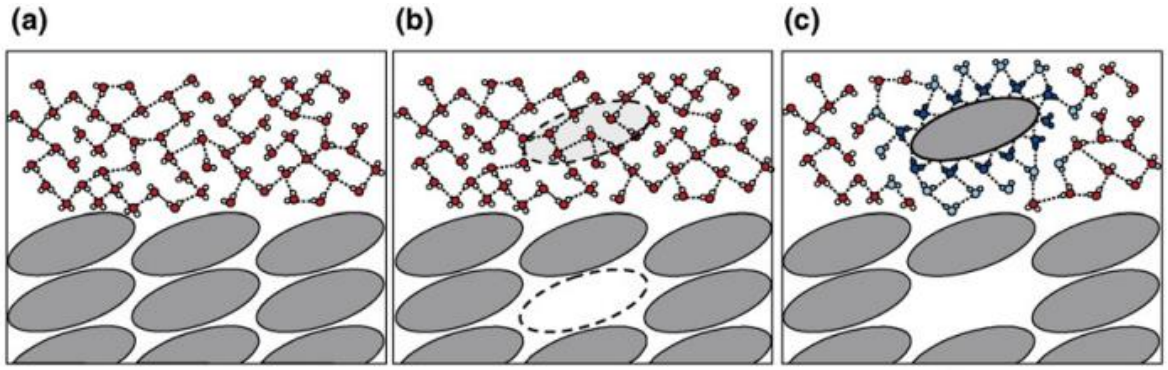


Figura 5. Proceso de solvatación. (a) Interacción independiente de soluto y disolvente. (b) Separación de soluto de la red cristalina. (c) Incorporación del soluto en el disolvente

Como se mencionó, la entropía (desorden) del sistema aumenta debido a la mezcla del soluto y del disolvente, pero también disminuye porque surge un nuevo orden de poco alcance por la presencia de las fuerzas intermoleculares estabilizantes (Bhattachar et al., 2006).

Dado que hay variaciones en la entalpía y entropía en el proceso de disolución de un compuesto, inherentemente también hay un cambio en la energía libre de Gibbs (ΔG). De manera general, un proceso de disolución es termodinámicamente favorable cuando ΔG tenga un valor negativo, lo que indica que la energía requerida para romper el estado sólido es compensada por las interacciones del soluto-disolvente (energía de solvatación), y el aumento de la entropía del sistema, por lo que el proceso es espontáneo.

2.3 Influencia del pH y la ionización

La solubilidad de los compuestos no ionizables es un valor único que refleja tan sólo el equilibrio entre la energía libre del fármaco sólido y la del fármaco que se encuentra en disolución. Para compuestos ionizables se debe de considerar su grado de ionización en función del pH del disolvente. Debido a que el grado de ionización de los compuestos cambia con el pH, el equilibrio de solubilidad del estado sólido al estado de disolución del fármaco también cambia (Martínez & Amidon, 2002).

Cuando un compuesto se ioniza se vuelve más polar y afín al agua, por lo que su solubilidad acuosa incrementa en contraste con el compuesto neutro. La relación pH-solubilidad para compuestos ionizables se basa en la conocida relación de Henderson-Hasselbach, que asocia la solubilidad intrínseca de los compuestos (en estado neutro) tanto con el valor de pKa y la solubilidad a un determinado pH.

Para calcular la solubilidad de un compuesto débilmente ionizable la ecuación de Henderson-Hasselbach adopta ligeras modificaciones (Bhattachar et al., 2006) para compuestos ácidos y básicos:

$S = S_o[1 + 10^{(pK_a - pH)}]$ para compuestos monobásicos

$S = S_o[1 + 10^{(pH - pK_a)}]$ para compuestos monoácidos

Donde S, es la solubilidad a un determinado pH y S_o es la solubilidad intrínseca del compuesto neutro.

Experimentalmente, se puede construir el perfil de solubilidad acuosa para compuestos ionizables con distintos valores de pH (**Figura 6**). Al hacerlo se demuestra que cuando el compuesto está presente en forma iónica exhibe mayor solubilidad.

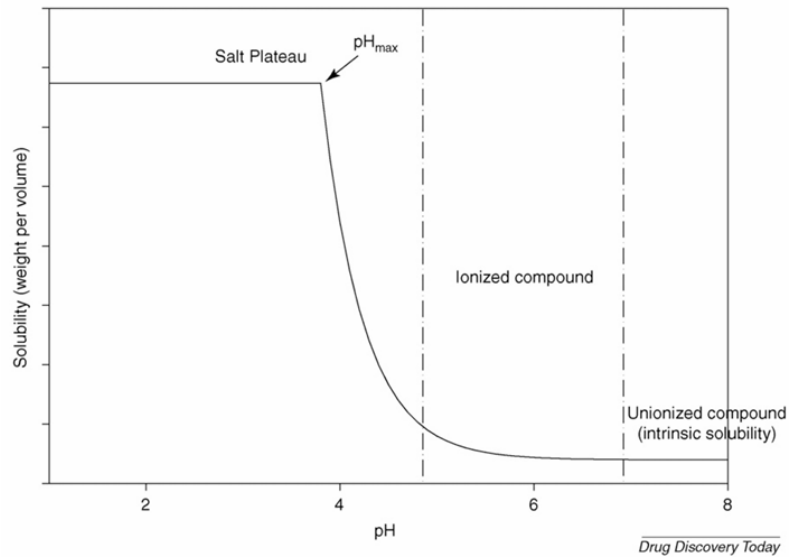


Figura 6. Perfil de pH-solubilidad para un compuesto monobásico con pKa de 5

Si el valor de pH es igual a el pKa del compuesto, la proporción ionizada y neutra del compuesto es la misma. Cada cambio en una unidad de pH a ambos lados del pKa dará lugar a un cambio de diez veces en la cantidad de especie ionizada en la disolución (Bhattachar et al., 2006).

Cuando el compuesto se encuentra totalmente ionizado, predomina la solubilidad de la sal formada, lo que se manifiesta como una meseta en el perfil de solubilidad (**Figura 6**). En estas condiciones, la solubilidad permanece prácticamente constante, ya que depende únicamente del equilibrio del sólido iónico con la solución, el cual está gobernado por el producto de solubilidad (Kps), un parámetro constante a temperatura definida. Asimismo, un aumento en la concentración del contraión común desplaza el equilibrio hacia la fase sólida, provocando una disminución de la solubilidad de la sal (Bhattachar et al., 2006).

3. Solubilidad termodinámica

La solubilidad termodinámica representa el equilibrio dinámico entre las tasas de disolución y precipitación cuando se alcanza la saturación (Gupta & Devi, 2019), y proporciona una medida precisa de la solubilidad intrínseca de un compuesto en su estado sólido más estable. En este equilibrio, la velocidad de disolución del compuesto es igual a la velocidad de precipitación, por lo que, la cantidad de compuesto disuelto permanece constante (Fowles et al., 2025). Este tipo de solubilidad representa una propiedad en equilibrio verdadera (Fowles et al., 2025).

Los principios que rigen la solubilidad termodinámica se basan en el balance energético (energía libre de Gibbs ΔG) entre la ruptura de la red sólida y la aparición de interacciones entre el soluto y el disolvente, tal y como lo vimos en secciones anteriores. Sin embargo, hay múltiples condiciones que contribuyen a que se alcance el equilibrio (**Figura 7**).

3.1 Condiciones necesarias para alcanzar el equilibrio

El sistema debe tener tiempo suficiente para que el contacto y equilibrio entre la fase sólida y la fase en solución se alcance, esto se logra aplicando agitación constante y empleando tiempos prolongados de contacto (Takács-Novák et al., 2017). También, es necesario colocar un exceso de sólido que garantice que la solución está realmente saturada, aunque, se debe tener especial cuidado para no tener un estado de sobresaturación que comúnmente sucede cuando no se mantiene la temperatura controlada (Baka et al., 2008). La temperatura, presión y pH deben permanecer constantes para que no influyan en los resultados experimentales (Vertzoni et al., 2022). El compuesto tiene que presentarse en su forma más estable, diferentes estados cristalinos arrojarían solubilidades aparentes y no la solubilidad termodinámica (Vertzoni et al., 2022) Por último, es primordial asegurar que el compuesto no sufra de degradación química, esto puede comprobarse en el análisis, especialmente por HPLC (Saal & Petereit, 2012).



Figura 7. Condiciones necesarias para alcanzar el equilibrio

3.2 Técnicas experimentales para determinar la solubilidad termodinámica

La solubilidad termodinámica se alcanza cuando la concentración del soluto en el disolvente permanece constante con el tiempo. Para ello, hay diversas técnicas experimentales como el método estándar shake flask o matraz agitado que se abordará con mayor detalle en la siguiente sección.

El método de saturación estática es un enfoque experimental para determinar la solubilidad termodinámica que consiste en agregar un exceso de soluto en un volumen definido de disolvente y se caracteriza por permitir que la disolución alcance el equilibrio de manera pasiva por un tiempo prolongado. Aunque el enfoque es sencillo presenta inconvenientes como tiempos largos y baja reproducibilidad (Veseli et al., 2019).

Existen métodos basados en la determinación de la solubilidad termodinámica dependiente del pH. Este enfoque es útil para compuestos ionizables, donde se realizan ensayos de solubilidad a diferentes valores de pH. Al recopilar los valores de solubilidad en función del pH puede extrapolarse la solubilidad termodinámica del compuesto (Wiedenbeck et al., 2020)

También hay técnicas potenciométricas (Avdeef & Berger, 2001; Wiedenbeck et al., 2020) y térmicas, que ofrecen diferentes panoramas para determinar la solubilidad termodinámica, aunque no son empleados con frecuencia.

4. Método Shake Flask para solubilidad termodinámica

Conocido como el método estándar de oro para determinar la solubilidad termodinámica (Könczöl & Dargó, 2018), el método shake flask es la técnica más utilizada. El fundamento de esta técnica, al igual que los demás enfoques termodinámicos, consiste en agregar un exceso de soluto sólido al disolvente y mantener la mezcla bajo agitación y temperatura

constantes durante un tiempo prolongado para alcanzar el equilibrio. Una vez concluido el tiempo de agitación, la fase líquida se separa por filtración o centrifugación. Finalmente, la concentración del soluto disuelto se cuantifica por análisis espectrofotométricos o cromatográfico con ayuda de una curva de calibración de soluciones con concentración conocida del analito (Könczöl & Dargó, 2018). La **Figura 8** representa los pasos a seguir del método shake flask.

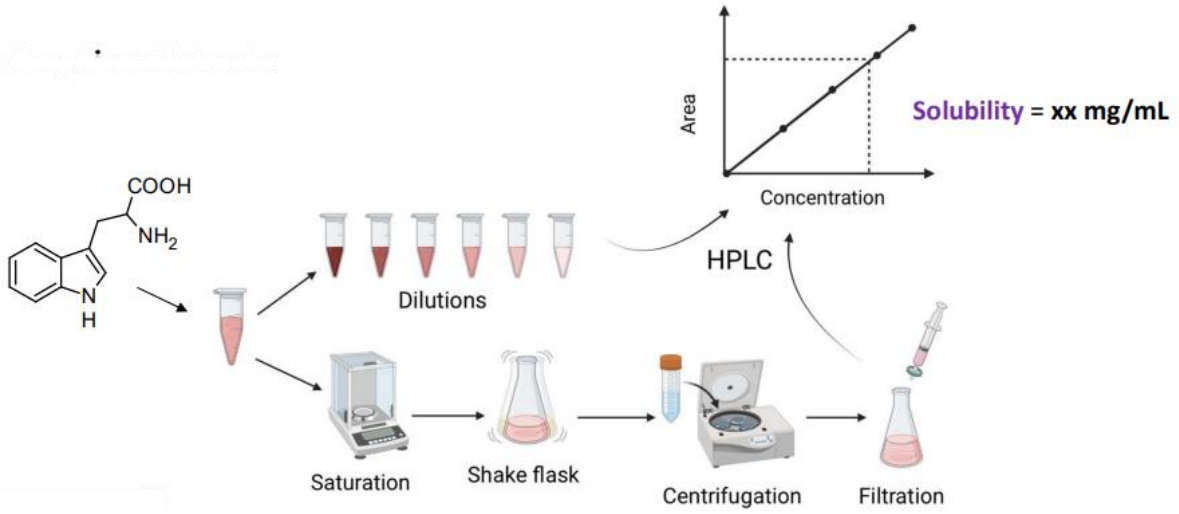


Figura 8. Método Shake Flask

La simplicidad, aceptación y accesibilidad son las principales ventajas de este método, debido a que permite alcanzar el equilibrio sólido-líquido real y ofrece resultados fácilmente comparables. A pesar de ello, el método shake flask tiene limitaciones como el tiempo prolongado necesario para alcanzar el equilibrio y requiere cantidades grandes de muestra, lo que no resulta provechoso en la determinación de la solubilidad de nuevos fármacos.

5. Solubilidad cinética

Dentro de la literatura farmacéutica, la solubilidad cinética refleja la concentración de un compuesto en el punto en que aparece por primera vez un precipitado inducido en la disolución (Apley et al., 2017; Könczöl & Dargó, 2018; Saal & Petereit, 2012). Aunque el término "solubilidad cinética" se utiliza comúnmente, es incorrecto, ya que en realidad mide la tasa de precipitación, no la solubilidad en sí (Bhattachar et al., 2006).

El fundamento de la solubilidad cinética se centra en disolver el compuesto de interés en un solvente orgánico fuerte como dimetilsulfóxido (DMSO) generando una solución madre de concentración conocida. Posteriormente, se añaden volúmenes de la solución madre al disolvente acuoso de interés hasta que se expulsa al compuesto de la solución (Saal & Petereit, 2012). Pero ¿por qué precipita el compuesto?, esto se debe a las propiedades anti disolvente del medio acuoso, ya que, al estar el compuesto disuelto en DMSO, las

interacciones soluto-DMSO predominan inicialmente; cuando se comienza a reemplazar el DMSO por el solvente acuoso, las interacciones del soluto con ambos disolventes comienzan a cambiar. Al ser el agua un disolvente con mayor constante dieléctrica que el DMSO, y al establecer diferentes interacciones en el proceso de solvatación, el soluto es expulsado al no poder solvatarse (Bhattachar et al., 2006).

A diferencia de la solubilidad termodinámica que responde a la pregunta "¿En qué medida se disuelve el compuesto?", la solubilidad cinética responde a la pregunta "¿En qué medida precipita el compuesto?". Aunque, la solubilidad cinética no representa el equilibrio real, resulta útil para realizar mediciones rápidas y automatizadas, además permite el manejo de material semisólido o pegajoso (Saal & Petereit, 2012).

La solubilidad cinética normalmente conduce a valores mayores que la solubilidad termodinámica (Bhattachar et al., 2006), esto se debe a múltiples factores que desfavorecen esta técnica como un alto riesgo de sobresaturación, el efecto de cosolvencia y debido a que el compuesto ya está en solución de DMSO la energía requerida para romper la red cristalina no se toma en cuenta en las mediciones de solubilidad (Bhattachar et al., 2006; Saal & Petereit, 2012). Por lo tanto, los resultados deben manejarse con prudencia.

5.3 Técnicas experimentales para determinar solubilidad cinética

La solubilidad cinética, al igual que la termodinámica, se basa inicialmente en la elaboración de un sistema saturado (Saal & Petereit, 2012). En la práctica, los métodos empleados para determinar la solubilidad cinética comparten un procedimiento general en el que el compuesto se disuelve en DMSO. Posteriormente, esta solución se adiciona al disolvente acuoso de forma controlada, ya sea por titulación o mediante la adición de volúmenes definidos, y se incuba bajo condiciones de agitación y temperatura controladas. Finalmente, se analiza en el momento en que se detecta la aparición de un precipitado, lo cual indica el límite de estabilidad de la solución (Bhattachar et al., 2006; Könczöl & Dargó, 2018; Saal & Petereit, 2012). Las diferencias entre las técnicas radican principalmente en el método de detección del precipitado, que puede ir desde la observación macroscópica directa hasta técnicas como la nefelometría, la turbidimetría o análisis de saturación del medio con HPLC. La **Figura 9** muestra el panorama general de un ensayo de solubilidad cinético.



Figura 9. Determinación de solubilidad cinética

6. Nuevas líneas experimentales y miniaturización de técnicas para determinar la solubilidad de nuevos fármacos

La determinación de la solubilidad puede realizarse con técnicas computacionales, predictivas y experimentales. La selección de la técnica depende de los intereses y recursos disponibles. Si se requiere precisión en la determinación de la solubilidad, es necesario recurrir a un ensayo experimental. Cuando los recursos sean limitados, y se necesite caracterizar simultáneamente una gran cantidad de compuestos en menor tiempo, un enfoque computacional predictivo podría ser suficiente para estimar parcialmente la solubilidad (Savjani et al., 2012).

Este trabajo se centra en enfoques experimentales, por lo que no se realiza un análisis exhaustivo de las técnicas computacionales y predictivas para la estimación de la solubilidad de fármacos; sin embargo, los siguientes trabajos pueden servir de consulta si se desea conocer más acerca de los modelos no experimentales: Lipinski, 2004; Delaney, 2004, Savjani et al., 2012. Las técnicas experimentales para determinar la solubilidad de fármacos suelen ser más fiables que los métodos predictivos, ya que, proporcionan mediciones directas y precisas, evitando aproximaciones inherentes a los modelos computacionales (Savjani et al., 2012). Existen muchos métodos experimentales para evaluar tanto la solubilidad cinética como la termodinámica de nuevos fármacos que varían en dificultad y rendimiento (Tabla 1).

Las limitaciones de los ensayos convencionales para determinar la solubilidad incluyen el uso de gran cantidad de materia prima y disolvente, así como los tiempos prolongados de determinación. Esto resulta inconveniente para determinar la solubilidad en las fases de descubrimiento y desarrollo de fármacos, especialmente cuando la cantidad de principio activo es insuficiente (Lipinski, 2004). Algunas alternativas atractivas incluyen la miniaturización de las técnicas convencionales, lo que permite definir la solubilidad de nuevos fármacos utilizando menor cantidad de tiempo, fármaco y disolvente (Di et al., 2012).

Las técnicas miniaturizadas para determinar la solubilidad de fármacos son métodos novedosos que ofrecen varias ventajas sobre los enfoques tradicionales. Estas técnicas, que se realizan en volúmenes más pequeños y con menos cantidad de material, permiten evaluar la solubilidad de compuestos con mayor rapidez y eficiencia, lo que es especialmente útil en las primeras etapas del desarrollo de fármacos, cuando la disponibilidad de la sustancia es limitada. Además, las técnicas miniaturizadas son más rentables, y permiten llevar a cabo múltiples experimentos en paralelo, acelerando así la obtención de resultados (Di et al., 2012).

Tabla 1. Técnicas para determinar solubilidad acuosa en el descubrimiento de fármacos

Tipo de método	Técnica	Descripción	Rendimiento
Cinético (no en equilibrio)	Directo (microfiltración, centrifugación)	Basado en UV	Alto
		Basado en CLND	Alto
		Basado en HPLC	Medio
	Indirecto (precipitado)	Nefelometría	Alto
		Turbidimetría	Medio
Termodinámico (en equilibrio)	Matraz agitado de saturación	Convencional	Bajo
		Miniaturizado	Bajo/medio
	Matraz agitado miniaturizado de alto rendimiento (HT miniaturized shake flask)	Dispersión de sólido basado en placas	Medio
		Remoción de disolvente por liofilización o evaporación (DMSO, MeOH)	Medio/alto
		Semi-equilibrio (incubación prolongada, cosolvente)	Medio/alto
	Disolución	Microdisolución (µDISS)	Bajo/medio
		Método de disolución facilitada (FDM)	Bajo
	Potenciométrico	Titulación en doble fase (DTT)	Bajo
		Equilibrio por persecución (CheqSol)	Bajo
	Dispositivo miniatura		Bajo
	Optofluídico		Bajo
	Método de partícula única		Bajo
	Microbalanza de cristal de cuarzo (QCM)		Bajo

Estas técnicas miniaturizadas consisten en diseñar una versión homóloga de las técnicas convencionales, con el objetivo de obtener resultados equiparables y reproducibles empleando la mínima cantidad de material posible (Apley et al., 2017; Bhattachar et al., 2006; Könczöl & Dargó, 2018). Para contar con un método miniaturizado adecuado, es necesario asegurar la precisión, seleccionar equipos que suministren la energía suficiente al sistema y minimizar la cantidad de variables que puedan influir en el desempeño del método.

La adquisición y el análisis de los datos se realizan comúnmente mediante espectrofotometría UV-Vis o HPLC, siendo esta última la técnica de elección debido a su alta sensibilidad y a su capacidad para detectar la presencia de impurezas y productos de degradación (Saal & Petereit, 2012).

7. Fármacos benzimidazoles

Los benzimidazoles son una clase de compuestos aromáticos heterocíclicos. Estructuralmente, los benzimidazoles comparten la fusión de un anillo de benceno y un anillo imidazol (**Figura 10**).

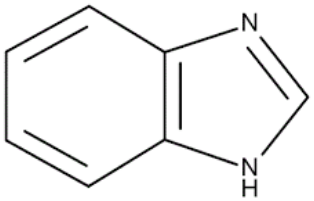


Figura 10. Estructura de benzimidazol

Los benzimidazoles se emplean como antiparasitarios y antihelmínticos. Constituyen la familia química más extensa que se emplea para el tratamiento de infecciones para combatir nematodos y trematodos. Aunque, también existen derivados con actividad antifúngica, antiviral y anticancerígena (Golla et al., 2024). Dentro de la basta familia de benzimidazoles destacan el albendazol (ABZ), mebendazol (MBZ), tiabendazol (TBZ), flubendazol, oxfendazol, el sulfóxido de albendazol y el tiofanato, los cuales tienen un mecanismo de acción similar (**Figura 11**) donde los benzimidazoles se unen de manera no covalente a la beta-tubulina de los parásitos lo que impide la polimerización de los microtúbulos y altera procesos celulares esenciales (Aguayo-Ortiz et al., 2013).

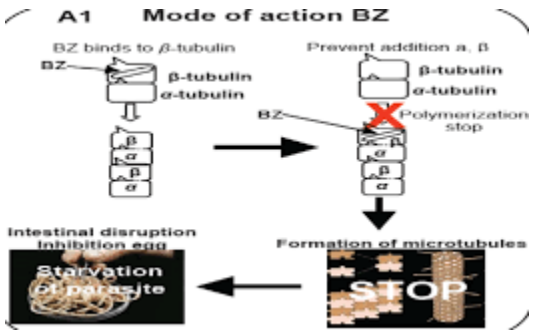


Figura 11. Mecanismo de acción de benzimidazoles

Históricamente el TBZ fue el primer benzimidazol en ser desarrollado e introducido en la década de 1960 (Henriquez-Camacho et al., 2016). Posteriormente, se sintetizó MBZ como una alternativa con mayor eficacia terapéutica. Por último, se sintetizó ABZ como una

evolución estructural del MBZ que incorporó un grupo propilsulfanilo con la finalidad de mejorar su espectro de acción (Partridge et al., 2020). La **Figura 12** muestra la estructura química del ABZ, MBZ y TBZ.



Figura 12. Estructura química de Albendazol, Mebendazol y Tiabendazol

7.1 Comportamiento de los benzimidazoles en medio acuoso

Los fármacos pertenecientes a los benzimidazoles se clasifican como compuestos **TIPO II** del SCB, pues se caracterizan por tener baja solubilidad acuosa y alta permeabilidad. Aunque se disuelven bien en DMSO. Múltiples factores como la estructura aromática plana, carácter relativamente lipofílico y su estabilidad del estado cristalino contribuyen a su baja solubilidad (Bongioanni et al., 2019). Estas características influyen en su biodisponibilidad oral.

Los benzimidazoles actúan como bases débiles, debido a los átomos de nitrógeno del anillo imidazólico que pueden protonarse (Shah et al., 2023). La **Tabla 2**, muestra las propiedades fisicoquímicas del ABZ, MBZ y TBZ.

Debido a su baja solubilidad, bajo grado de ionización y a que son fármacos representativos de la clase II del SCB, el albendazol (ABZ), el tiabendazol (TBZ) y el mebendazol (MBZ) fueron seleccionados como fármacos modelo para la determinación de su solubilidad intrínseca mediante un enfoque termodinámico. Este proyecto tiene como objetivo proponer un método miniaturizado para la determinación de la solubilidad termodinámica.

Tabla 2. Propiedades FQ de ABZ, MBZ y TBZ

Propiedad	ABZ	MBZ	TBZ
Peso molecular (g/mol)	265.33	295.29	201.25
Solubilidad	*22.8 mg/L en agua a 25 °C	*0.713 mg/L en agua a 25 °C	*50 mg/L en agua a 25 °C
Log P	2.7	2.83	2.47
pKa	--	--	4.64

Fuente: PubChem

CAPÍTULO III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

1. Planteamiento del problema

En el proceso de descubrimiento de fármacos, la determinación de la solubilidad es uno de los primeros y más cruciales pasos, ya que, este parámetro influye directamente en la biodisponibilidad del compuesto y, por lo tanto, en su eficacia terapéutica. Un fármaco debe de ser capaz de disolverse adecuadamente en el medio biológico para ser absorbido y alcanzar concentraciones efectivas en la circulación sistémica.

Sin embargo, un problema recurrente en las primeras fases del desarrollo de fármacos es la cantidad limitada del compuesto en sí. En esta etapa, la cantidad de compuesto sintetizado es escasa y no suele ser suficiente para realizar determinaciones de solubilidad utilizando métodos convencionales, como la técnica del matraz agitado. Este método requiere grandes cantidades de materia prima y disolvente, además de tiempos prolongados para alcanzar el equilibrio termodinámico, lo que lo hace impráctico en el descubrimiento de nuevos compuestos.

Dada esta problemática, es necesario desarrollar un método alternativo a pequeña escala que permita determinar la solubilidad de los compuestos con precisión semejante que los métodos tradicionales y con cantidades mínimas del compuesto a analizar. Por ello, se plantea como objetivo el desarrollo de un método miniaturizado para la determinación de solubilidad termodinámica. Este enfoque no solo debe producir datos precisos y reproducibles, sino también solucionar los problemas del método convencional, como el alto consumo de recursos y el tiempo requerido, optimizando el proceso de caracterización fisicoquímica de nuevos fármacos.

2. Justificación

La justificación de este trabajo radica en la necesidad de desarrollar métodos eficientes y confiables para la determinación de la solubilidad de nuevos fármacos, donde la cantidad del compuesto suele ser limitada. Diseñar un método miniaturizado para la determinación de la solubilidad termodinámica permitiría obtener información preliminar de la solubilidad de nuevos fármacos empleando cantidades mínimas de compuesto, reduciendo costos, tiempo y consumo de recursos. De tal forma que, el método propuesto represente una alternativa viable al método convencional, facilitando la evaluación fisicoquímica de nuevos compuestos con potencial terapéutico.

3. Objetivos

General: Diseñar y validar el método miniaturizado para la determinación de la solubilidad termodinámica de un fármaco modelo.

Específicos:

1. Conocer y adquirir las competencias necesarias para el manejo adecuado de los equipos e instalaciones.

2. Desarrollar las condiciones cromatográficas para el análisis de la solubilidad.

3. Determinar precisión y linealidad del sistema de HPLC.

4. Diseñar un método miniaturizado que se aplicará a los estudios de solubilidad termodinámica.

5. Determinar e implementar los medios relevantes adecuados para los ensayos de solubilidad termodinámica en formato miniaturizado.

6. Realizar los estudios de solubilidad termodinámica con el método miniaturizado y utilizar HPLC como técnica analítica.

7. Analizar los resultados obtenidos en los estudios de solubilidad.

8. Comparar los resultados experimentales con los datos reportados en la literatura científica.

CAPÍTULO IV. MATERIAL Y MÉTODOS

Materiales

Albendazol, tiabendazol y mebendazol se seleccionaron como fármacos modelo para los estudios de solubilidad. El ácido clorhídrico al 37% de pureza (Herschi Trading, México) se empleó para preparar el medio de solubilidad. Se utilizó dimetil sulfóxido (DMSO) con una pureza del 99.9% (Sigma Aldrich). El agua utilizada para la preparación de soluciones se obtuvo a partir de agua destilada purificada en un sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA), alcanzando una resistencia de 18.2 mΩ. Se emplearon metanol de grado HPLC (J.T. Baker, México) y sales de fosfato monobásico (J.T. Baker, México) y dibásico (Merck, Alemania) como componentes de la fase móvil. La fase móvil se filtró mediante filtros de nailon de 0.45 µm (Lida Manufacturing Corp., USA) y se desgasificó en un baño ultrasónico (Branson Ultrasonic Corp., Danbury CT, USA).

Métodos

1. Análisis cromatográfico

El análisis cromatográfico se realizó mediante un sistema isocrático en fase reversa, utilizando un cromatógrafo líquido de alta resolución Knauer (Berlín, Alemania) equipado con una bomba Smartline Pump 100, un detector de arreglo de diodos PDA Smartline 3000 y un autosampler Smartline 3950. El software Clarity Chrom V2.6 (DataApex, República Checa) se empleó para la adquisición y procesamiento de datos.

Se empleó una columna C_{18} de 3.5 µm, 4.6 x 150 mm (Eclipse Plus, USA) a 38°C en un compartimento termostato para columnas (Varian MetaTherm, USA). La fase móvil consistió en una mezcla de metanol y buffer de fosfatos 0.05 M a pH 5.7 en proporción 70:30. El flujo se mantuvo constante a 0.7 mL/min y la detección se realizó a 295 nm.

2. Linealidad del sistema

Se evaluó la linealidad del sistema cromatográfico mediante el análisis de la regresión lineal y el cálculo del coeficiente de variación (CV) de curvas de calibración preparadas en un intervalo de 10–50 µg/mL para cada uno de los fármacos analizados. Para ello, se pesaron aproximadamente 10 mg de albendazol, tiabendazol y mebendazol, los cuales se disolvieron inicialmente en DMSO para obtener las soluciones stock. A partir de dichas soluciones, se prepararon las curvas de calibración correspondientes en fase móvil metanol: buffer de fosfatos en proporción 70:30 (ver **Anexo 1**).

3. Método miniaturizado para la determinación de solubilidad termodinámica

El estudio de solubilidad se llevó a cabo mediante una versión miniaturizada del método de matraz agitado (shake flask). El estudio consistió en colocar un exceso de fármaco a un medio de disolución y someterlo a agitación durante 26 h analizando progresivamente en función

del tiempo la disolución del fármaco hasta llegar a la saturación (solubilidad), por lo cual, para cada fármaco se prepararon nueve muestras independientes correspondientes a los tiempos de análisis; se pesó aproximadamente 5 mg en cada caso y se transfirieron a tubos Eppendorf de 2 mL. A cada tubo se adicionaron 2 mL de HCl 0.1 N y se colocaron en un sistema termo-shaker (Biosan TS-100C, Latvia) a 37 °C y 300 rpm durante 26 horas.

Las muestras correspondientes a los tiempos de 2, 4, 6, 8, 9, 10, 12, 24 y 26 h se retiraron y filtraron mediante filtros de 0.45 µm para construir la curva de disolución. Las soluciones filtradas se diluyeron según fuera necesario y se almacenaron en viales bajo refrigeración (4 °C). Finalmente, se inyectaron 20 µL de cada muestra en el sistema HPLC para cuantificar la concentración del fármaco disuelto (ver **Anexo 2**).

4. Método convencional para la determinación de solubilidad termodinámica

La solubilidad del albendazol se determinó mediante la técnica convencional de matraz agitado (shake flask). Se prepararon ocho frascos que contenían 20 mL de HCl 0.1 N, a los cuales se añadieron 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 mg de albendazol, respectivamente. Los frascos se colocaron en una incubadora a 37 °C y 100 rpm durante 24 h.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, las disoluciones se filtraron con filtros de 0.45 µm. De cada filtrado se tomaron 500 µL, los cuales se mezclaron con fase móvil hasta un volumen final de 10 mL para su análisis. Finalmente, se cuantificó la cantidad disuelta de albendazol tras inyectar 20 µL de cada muestra en el sistema HPLC bajo las condiciones previamente establecidas (ver **Anexo 3**).

5. Método miniaturizado para la determinación de solubilidad cinética

Se realizaron ensayos de solubilidad cinética para albendazol y mebendazol. Para ello, se prepararon soluciones concentradas de cada fármaco en DMSO, con concentración de 20 mg/mL para albendazol y 5 mg/mL para mebendazol. Posteriormente, se adicionaron alícuotas de estas soluciones concentradas a tubos eppendorf que contenían HCl 0.1 N previamente equilibrado a 37 °C, de tal manera que la suma de ambos volúmenes resultó en un volumen final de 1 mL (ver **Anexo 4** y **5**).

Para albendazol, se prepararon siete muestras independientes con concentraciones teóricas comprendidas entre 0.5 y 4 mg/mL (ver **Anexo 4**), mientras que para mebendazol se prepararon diez muestras con concentraciones teóricas en el intervalo de 0.025 a 0.5 mg/mL (ver **Anexo 5**). Las muestras se incubaron en un sistema termo-shaker (Biosan TS-100C, Letonia) a 37 °C y 300 rpm durante 2 horas, con el objetivo de evaluar la presencia de precipitado como indicador del límite de solubilidad cinética.

Posteriormente, las soluciones se filtraron a través de filtros de 0.45 µm y las soluciones obtenidas se analizaron mediante HPLC bajo las condiciones cromatográficas previamente establecidas para la cuantificación del fármaco disuelto.

CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

1. Análisis cromatográfico

La **Tabla 3** muestra los resultados de los tiempos de retención y factores de retención para cada fármaco. Las condiciones cromatográficas permitieron un análisis adecuado con un tiempo de corrida no mayor a 6 minutos y con factores de retención entre 0.8 y 1.9

Tabla 3. Características cromatográficas del método

Fármaco	Tiempo de retención (min)	Factor de retención (*k*)
TM*	1.860	-
ABZ	3.450	0.85
TBZ	4.133	1.22
MBZ	5.380	1.89

*TM: Tiempo muerto

2. Linealidad del sistema

Bajo las condiciones cromatográficas establecidas y el tratamiento para la construcción de las curvas de calibración, el sistema presentó un comportamiento lineal en el intervalo de 10 a 50 µg/mL. El coeficiente de relación de la regresión lineal fue R > 0.999 y el CV fue menor al 3% en todos los niveles de concentración estudiados para todos los fármacos (**Figura 13**).

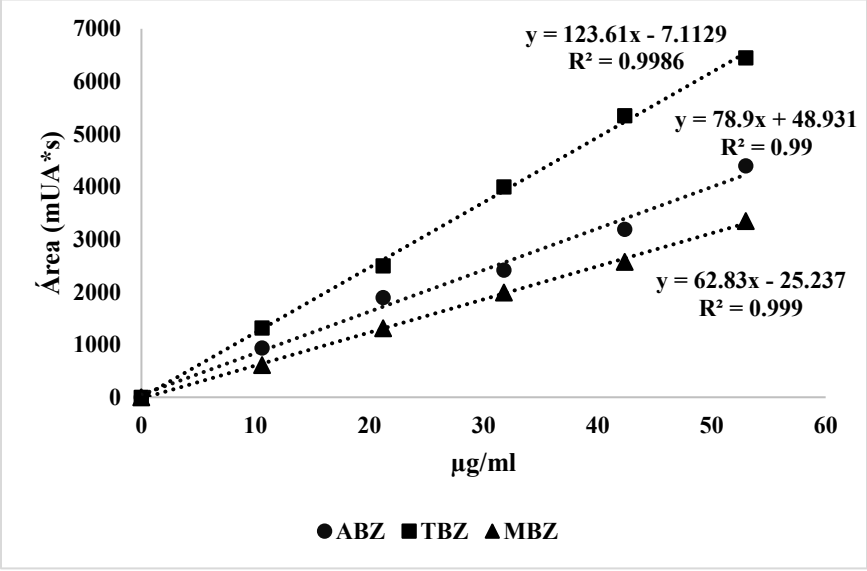


Figura 13. Linealidad del sistema para Albendazol (ABZ), Tiabendazol (TBZ) y Mebendazol (MBZ)

3. Método miniaturizado para la determinación de solubilidad termodinámica

La **Tabla 4** presenta los valores de solubilidad termodinámica obtenidos para ABZ, TBZ y MBZ, así como su comparación con los datos reportados en la literatura, bajo un enfoque experimental a 37 °C, en medio de HCl 0.1 N y a 300 rpm.

Tabla 4. Valores de solubilidad termodinámica de ABZ, TBZ y MBZ obtenidos con el método shake flask miniaturizado comparados con valores reportados en la literatura

Fármaco	Solubilidad (mg/mL) en HCl 0.1 N a 37°C	
	Shake flask miniaturizado	Literatura científica
ABZ	1.5	0.6 (Hurtado y de la Peña et al., 2003) 0.515 (Shah et al., 2023)
TBZ	2.69	1.5 % a pH 2.5 (Budetić et al., 2023) ~15 mg/ml a pH 2.5 (Cassens et al., 2013)
MBZ	0.104	0.15 (Chen et al., 2012) 0.09178 (S. Chaudhary et al., 2016)

Las **Figuras 14, 15 y 16**, muestran los resultados de los perfiles de disolución para la determinación de solubilidad termodinámica miniaturizada para ABZ, TBZ y MBZ respectivamente. Para ABZ, la curva de solubilidad mostrada se basa en la integración de cinco estudios independientes, mientras que, las curvas de solubilidad de TBZ y MBZ se realizaron por duplicado como se visualiza en sus respectivas figuras.

Para ABZ, la curva de solubilidad muestra una pequeña inflexión perceptible entre el análisis de las 12 y 24 h, sin embargo, se puede apreciar que sigue incrementando la cantidad de fármaco disuelto en el medio, cuyo valor máximo encontrado fue de 1.5 mg/mL aproximadamente, por lo que no se observa un estado de saturación conciso. Mientras que, para TBZ y MBZ los estudios de solubilidad miniaturizados lograron efectivamente alcanzar la saturación del sistema, esto se puede constatar mediante los puntos de inflexión en las curvas de solubilidad.

El método miniaturizado arrojó una solubilidad termodinámica para TBZ de 2.69 mg/mL, alcanzados a las 24 h. Por su parte, la solubilidad termodinámica de MBZ fue de 0.104 mg/mL, alcanzados aproximadamente desde las 12 h.

El fármaco que tuvo la menor solubilidad registrada fue MBZ con una escala de apenas microgramos por mililitro, mientras que TBZ fue el fármaco que registró mayor solubilidad.

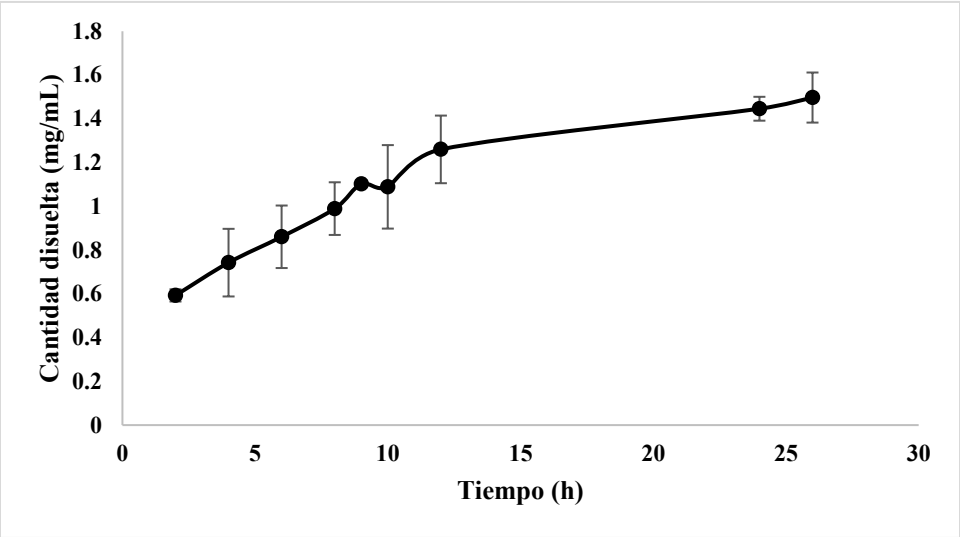


Figura 14. Curva de disolución método miniaturizado para Albendazol (ABZ)

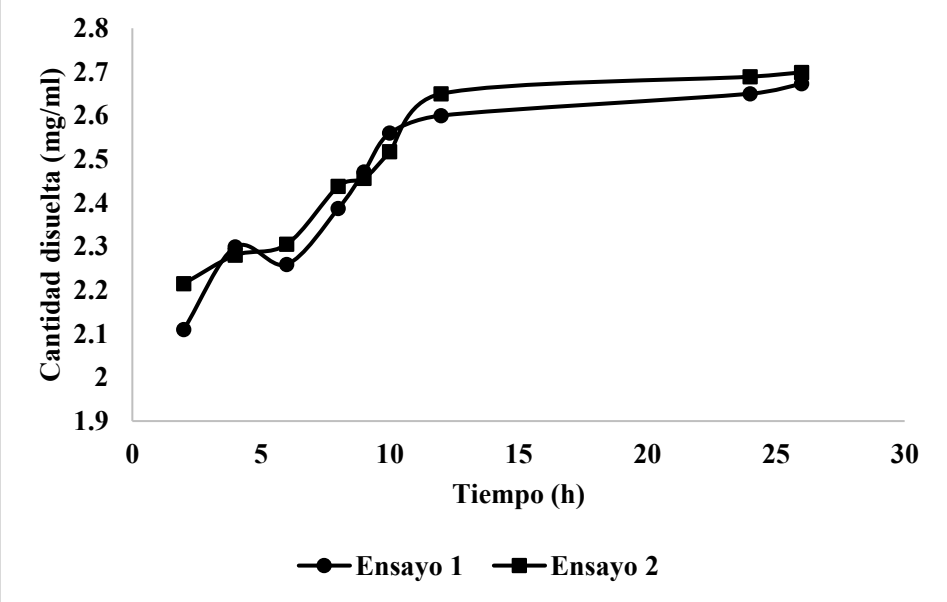


Figura 15. Curvas de disolución método miniaturizado para Tiabendazol (TBZ)

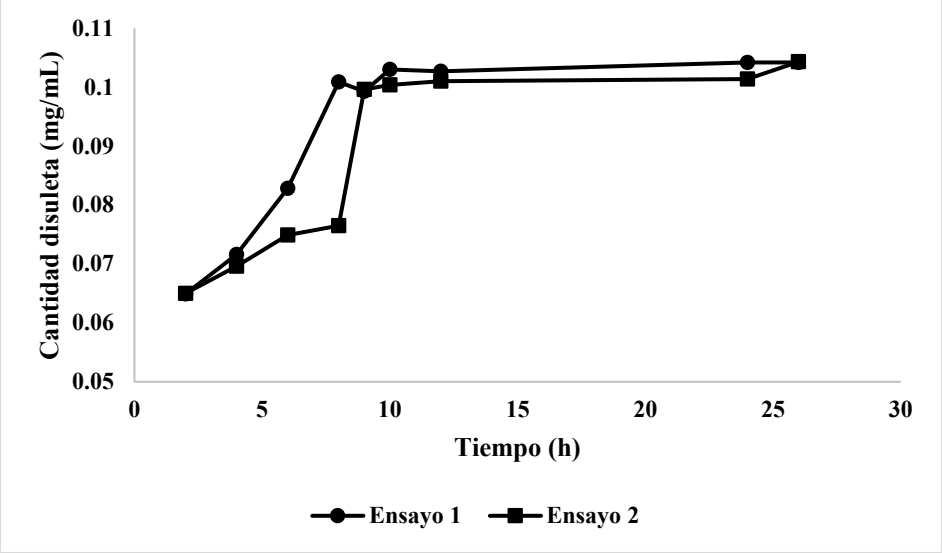


Figura 16. Curvas de disolución método miniaturizado para Mebendazol (MBZ)

4. Método convencional para la determinación de solubilidad termodinámica

El método convencional shake flask para determinar la solubilidad termodinámica se realizó exclusivamente para ABZ, los resultados de este método se muestran en la **Figura 17**.

La curva de solubilidad arrojado por el método convencional para definir la solubilidad termodinámica de ABZ no mostró ningún punto de inflexión y no demuestra el alcance del punto de saturación (valor de solubilidad). La cantidad máxima disuelta registrada en este ensayo fue de 2 mg/mL aproximadamente.

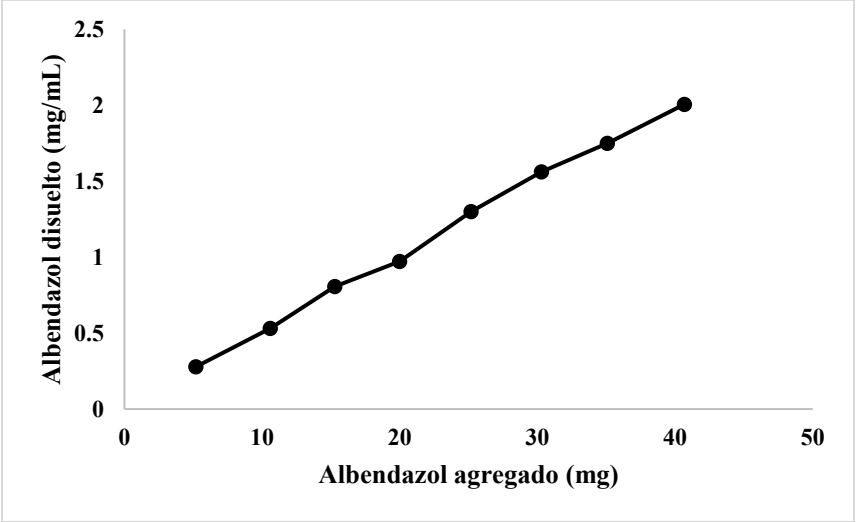


Figura 17. Curva de disolución método convencional

5. Método miniaturizado para la determinación de la solubilidad cinética

Los resultados de la solubilidad cinética bajo el método diseñado se muestran en las **Figuras 18 y 19**, para ABZ y MBZ respectivamente. En ningún caso hubo presencia de precipitado

visible y tampoco se logra llegar a la saturación, puesto que la cantidad añadida fue exactamente la cantidad encontrada en el análisis cromatográfico.

Los datos arrojados por este método exhiben por lo menos tres veces más cantidad disuelta de cada fármaco en comparación con el método miniaturizado termodinámico.

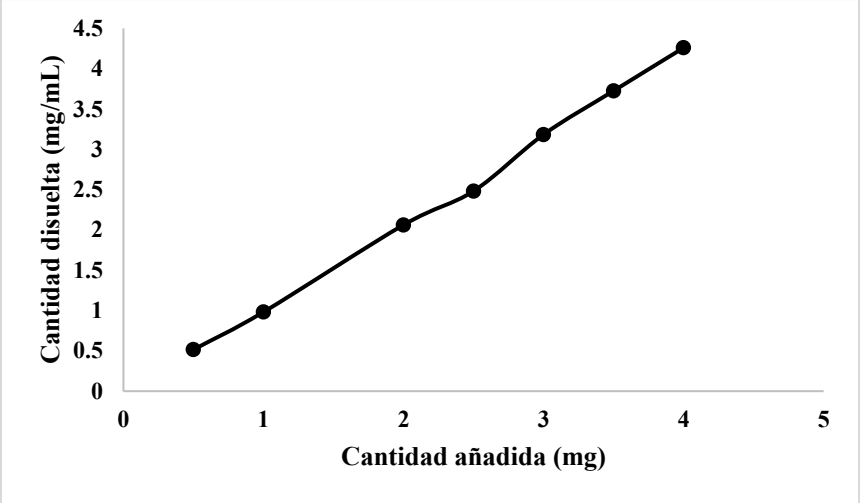


Figura 18. Curva de disolución método cinético para ABZ

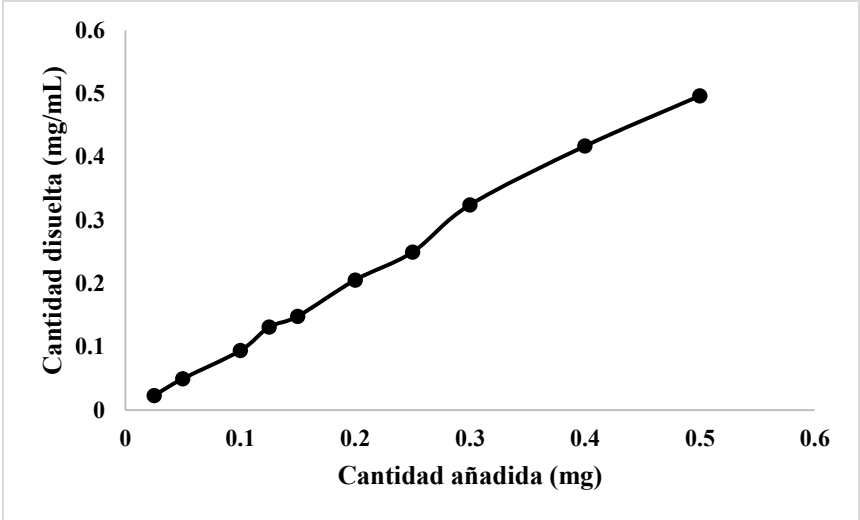


Figura 19. Curva de disolución método cinético para MBZ

Discusión de resultados

Análisis cromatográfico y linealidad del sistema

Las condiciones cromatográficas implementadas en el análisis permitieron obtener tiempos de retención menores a 6 minutos y con buena resolución. Los factores de retención (k) se encontraron entre 0.85 y 1.9. Aunque la literatura menciona que, para métodos isocráticos, lo ideal es tener valores de *k* entre 2 y 10, o en su defecto entre 1 y 20 (Dolan & Osmani, 2026), los resultados experimentales fueron reproducibles y no presentaron interferencias. Así mismo, la linealidad del sistema arrojó que el intervalo de trabajo utilizado corresponde a resultados proporcionales.

Cabe señalar que, gracias al análisis basado en HPLC, ninguno de los fármacos presentó impurezas o productos de degradación, ya que esta técnica es útil para identificarlos (Saal & Petereit, 2012).

Solubilidad termodinámica método miniaturizado vs convencional

Los valores de solubilidad termodinámica obtenidos con el método propuesto en este trabajo tienen aspectos interesantes por analizar. En este caso, los valores obtenidos no coinciden en todos los casos con los reportados en la literatura (**Tabla 4**), por lo que es necesario analizar el comportamiento de cada fármaco de manera individual.

Para el ABZ, la máxima cantidad de fármaco disuelta en los ensayos de solubilidad miniaturizada fue de 1.6 mg/mL (**Figura 14**), valor que representa hasta tres veces la solubilidad intrínseca reportada en la literatura (Hurtado y de la Peña et al., 2003; Shah et al., 2023). El hecho de que este valor supere la solubilidad previamente reportada puede atribuirse a factores relacionados con el estado sólido del fármaco empleado, o en el peor de los casos al método diseñado.

Acerca del estado sólido del fármaco, el ABZ es un sólido cristalino que presenta polimorfismo (Calvo et al., 2016) , específicamente en las formas I y II, las cuales exhiben diferencias en su comportamiento de solubilidad. En este sentido, se han reportado valores de solubilidad cercanos a 1 mg/mL en HCl 0.1 N a 40 °C (Pranzo et al., 2010). Diversos estudios indican que la forma comercial del ABZ generalmente contiene el polimorfo I (Bashpa & Bijudas, 2018; Santos et al., 2014), el cual fue precisamente el que presentó una solubilidad aproximada de 1 mg/mL en las condiciones reportadas por Pranzo y colaboradores (2010). El tamaño de partícula del ABZ constituye otro factor relevante relacionado con el estado sólido del fármaco que contribuye a mejorar su solubilidad, ya que se ha reportado que su micronización puede incrementar su solubilidad hasta aproximadamente 100 veces (KR et al., 2017; Liang et al., 2022). La reducción del tamaño de partícula es una estrategia que actualmente se está implementando con mayor frecuencia para mejorar la solubilidad de fármacos poco solubles. Al disminuir el tamaño de partícula se incrementa el área superficial del sólido (Ding et al., 2024). Sería conveniente analizar el

estado sólido de la materia prima empleada para constatar que los valores obtenidos sean resultado de las características inherentes de fármaco utilizado.

El método propuesto podría no resultar plenamente adecuado para la determinación de la solubilidad termodinámica del ABZ; sin embargo, el perfil de disolución del albendazol (**Figura 14**) muestra que el sistema estuvo cerca de alcanzar la saturación del medio, como se observa en la ligera inflexión de la curva en los últimos tiempos de análisis. Adicionalmente, se realizó un ensayo de solubilidad del ABZ a través del método tradicional shake flask con la finalidad de obtener su solubilidad termodinámica y evaluar si el resultado coincidía con la solubilidad reportada en la literatura (0.6 mg/ml). En dado caso de que este ensayo alcanzara la saturación del medio por debajo de lo obtenido con el método miniaturizado, quedaría demostrado que el método miniaturizado presentaba inconsistencias metodológicas para la determinación de la solubilidad termodinámica. Sin embargo, los resultados del ensayo de solubilidad convencional muestran que el ABZ empleado tenía una solubilidad mayor a 0.6 mg/mL (**Figura 17**). Incluso la cantidad de ABZ disuelto superó los 2 mg/mL sin mostrar indicios de saturación del medio. Por lo tanto, estos resultados respaldan que la solubilidad obtenida del ABZ en el método miniaturizado se debe al fármaco en cuestión. Cabe destacar que se obtuvieron mejores resultados con el método miniaturizado empleando una cuarta parte de la cantidad de fármaco y cerca de diez veces menos volumen de disolvente en comparación con el método convencional.

El TBZ alcanzó una solubilidad máxima alrededor de 2.69 mg/mL en el ensayo miniaturizado (**Figura 15**). No obstante, no existe un valor de solubilidad reportado en la literatura para TBZ bajo las mismas condiciones experimentales implementadas (HCl 0.1 N y 37 °C). Dado que de los tres fármacos empleados, el TBZ es el que tiene un mayor carácter básico, cuyo pKa es cercano a 2.47, este compuesto muestra una solubilidad con marcada dependencia del pH, mediante un comportamiento hiperbólico conforme disminuye el pH debido a la protonación del fármaco (Cassens et al., 2013; Meng & Ibrahim, 2025). Autores comparten que el TBZ alcanza un valor máximo de solubilidad alrededor de 15 mg/ml a un pH de 2.5 (Budetić et al., 2023; Cassens et al., 2013). A medida que el pH disminuye por debajo de 2.5 la solubilidad del TBZ también baja, este efecto es progresivo, como lo demuestra el trabajo de Cassens et al., (2013), quienes a partir de datos experimentales desarrollan un modelado que predice la solubilidad del TBZ en función del pH. Este fenómeno puede ser el resultado de la formación de sales poco solubles donde la concentración de sal excede su producto de solubilidad, impidiendo que el fármaco permanezca en solución. Con base en este análisis, el valor de solubilidad obtenido mediante el método miniaturizado resulta consistente y razonable; sin embargo, la limitada cantidad de estudios disponibles en la literatura sobre la solubilidad del TBZ impide un análisis comparativo más amplio.

La solubilidad del MBZ determinada con el método miniaturizado alcanzó la saturación del medio, con una cantidad máxima disuelta de 0.104 mg/mL a partir de las 12 h (**Figura 16**). Este valor es comparable con la solubilidad termodinámica reportada en la literatura, siendo

de 0.15 mg/mL bajo las mismas condiciones experimentales (Chen et al., 2012). El MBZ presenta tres polimorfos cristalinos (A, B y C) con distinta solubilidad entre sí, sin embargo, el polimorfo C es preferido comúnmente en la farmacéutica (Martins et al., 2009), y corresponde a la forma que tiene la solubilidad de 0.15 mg/mL reportado por Chen et al., (2012). Asimismo, Chaudhary et al., (2016) reportaron una solubilidad de 91.78 µg/mL para el MBZ, valor que también se aproxima con el resultado obtenido mediante el método miniaturizado propuesto.

En conjunto, estos resultados permiten constatar que el método miniaturizado presenta un desempeño adecuado. Si bien no permitió confirmar el estado de saturación en los ensayos con ABZ (**Figura 14**), debido a características propias del fármaco, sí logró alcanzar la saturación en el caso de TBZ y MBZ a partir de las 12 h (**Figura 15** y **16** respectivamente). Aparte de lograr con éxito la saturación del medio, el método miniaturizado propuesto reportó valores de solubilidad, consistentes con la solubilidad de cada benzimidazol, siendo el MBZ el menos soluble, seguido del ABZ y finalmente el TBZ como el más soluble (Budetić et al., 2023; Chen et al., 2012; Hurtado Y de la Peña et al., 2003).

Solubilidad termodinámica método miniaturizado vs solubilidad cinética

La solubilidad cinética refleja la concentración de un compuesto en el punto en que aparece por primera vez un precipitado inducido en la disolución (Apley et al., 2017; Könczöl & Dargó, 2018; Saal & Petereit, 2012). Esta solubilidad no representa un sistema en equilibrio, sin embargo, ha sido ampliamente utilizada para realizar mediciones rápidas y automatizadas (Saal & Petereit, 2012).

En este trabajo se diseñó un método cinético miniaturizado, semejante con fundamento en el trabajo de Saal y Petereit (2012), para obtener valores de solubilidad cinética del ABZ y MBZ, cuyos resultados se muestran en las **Figuras 18** y **19** respectivamente. Experimentalmente, en ninguno de los ensayos se observó la presencia de precipitado, ni se identificó una cantidad máxima disuelta, ya que en ningún caso se alcanzó la saturación del medio. Esta respuesta puede atribuirse a un efecto de cosolvencia. Diversos estudios se valen de este efecto de cosolvencia entre el DMSO y agua para mejorar la solubilidad de compuestos (M. Alshahrani & Shakeel, 2020; Shakeel et al., 2023; Yeh et al., 2009). Asimismo, en la literatura se reconoce que el DMSO actúa como cosolvente para mejorar la solubilidad de compuestos con núcleo benzimidazólico, como el flubendazol (Zheng et al., 2019). El comportamiento de cosolvencia del DMSO se atribuye a su completa miscibilidad con el agua y a su capacidad para interactuar con moléculas polares (gracias al grupo sulfóxido polar) y con moléculas no polares (gracias a los metilos no polares), lo que le confiere un carácter anfifílico (Kashid et al., 2015).

Normalmente, la solubilidad cinética conduce a valores mayores que los obtenidos con enfoques termodinámicos (Bhattachar et al., 2006; Dhananjay, 2013; Saal & Petereit, 2012). En los resultados obtenidos con el método cinético, la concentración máxima registrada para

el MBZ fue de 0.5 mg/mL, lo que supone hasta 5 veces el valor de solubilidad determinado con el método termodinámico miniaturizado para este compuesto (0.104 mg/mL).

No obstante, no es factible realizar una comparación estricta entre ambos métodos, ya que no se alcanzó la saturación del sistema, debido al efecto de cosolvencia del DMSO. Este comportamiento contrasta con la investigación realizada por Singhvi y colaboradores (2013) quienes observaron la formación de precipitado y registraron valores de solubilidad cinética similares a los obtenidos con el método convencional shake flask.

Por su parte, en el trabajo de Saal y Petereit (2012), se comparó la solubilidad cinética y termodinámica de diversos compuestos, empleando ensayos a pequeña escala, con volúmenes finales idénticos empleados en el presente estudio (1 mL para el método cinético y 2 mL para el método termodinámico). Saal y Petereit encontraron que la solubilidad cinética se encontraba por encima de los valores de solubilidad termodinámicos por al menos 2 órdenes de magnitud.

Entonces, ¿por qué no se lograron obtener valores representativos de solubilidad cinética en este trabajo? Esto se relaciona justamente a la cantidad de DMSO agregado al sistema acuoso, ya que en los estudios citados el DMSO constituía una pequeña fracción del sistema acuoso, alrededor de 0.8% (Singhvi et al., 2013) y 2% (Saal & Petereit, 2012), mientras que, en este trabajo, la cantidad de DMSO agregada al medio acuoso alcanzó el 25 % para ABZ y cercano del 10 % para MBZ. Este análisis corrobora que el método cinético diseñado en este trabajo no es factible debido al efecto de cosolvencia, tal y como lo señalan Saal y Petereit (2012).

Recomendaciones y perspectivas finales

El método miniaturizado shake flask para la determinación de la solubilidad termodinámica desarrollado en el presente estudio, permitió alcanzar la saturación del sistema a partir de las 12 h y obtener resultados comparables con la literatura, utilizando poca cantidad de fármaco y disolvente, en comparación con el método shake flask convencional. Esto resulta ser bastante beneficioso para realizar estudios preliminares de solubilidad acuosa de nuevos fármacos, tal y como lo indican los estudios científicos (Apley et al., 2017; Bhattachar et al., 2006; Könczöl & Dargó, 2018; Saal & Petereit, 2012; Veseli et al., 2020).

Los perfiles de disolución obtenidos en el presente trabajo muestran un comportamiento similar a la investigación realizada por Veseli y colaboradores (2020), lo que evidencia la capacidad del método para alcanzar la saturación del medio. No obstante, es necesario prestar especial cuidado a las variables que pueden modificarse con facilidad, tales como la temperatura y la agitación en los ensayos miniaturizados, variables que el equipo Termo-Shaker controló apropiadamente. Asimismo, es importante caracterizar el estado sólido de los compuestos a analizar para poder tener resultados aún más fiables (Saal & Petereit, 2012).

Por otro lado, se propone buscar un mejor diseño para la evaluación de la solubilidad mediante el método cinético, empleando un porcentaje mínimo de DMSO que otorgue resultados semejantes a los proporcionados con la determinación termodinámica.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

Se diseñó un método miniaturizado tipo shake flask para la determinación de la solubilidad de benzimidazoles como fármacos representativos de baja solubilidad acuosa. El método desarrollado permitió evaluar la solubilidad utilizando cantidades significativamente menores de fármaco y de disolvente en comparación con el método convencional, lo que demuestra mayor eficiencia experimental y buena capacidad para ser empleado en la caracterización de nuevos fármacos.

Los estudios de solubilidad realizados con el método miniaturizado permitieron alcanzar la saturación del medio a partir de las 12 h para TBZ y MBZ. Obteniendo valores de solubilidad coherentes con los reportados en la literatura científica. Especialmente, el MBZ presentó valores de solubilidad a su solubilidad termodinámica descrita en la literatura, lo que confirma la capacidad del método para determinar la solubilidad de manera confiable.

Por su parte, los valores de solubilidad obtenidos para el ABZ fueron superiores a los reportes bibliográficos, sin embargo, los resultados del ensayo convencional corroboraron que el fármaco empleado presentaba una solubilidad mayor a la reportada. Este efecto se atribuye a características propias del estado sólido del fármaco, tales como el polimorfismo y el tamaño de partícula, más que a limitaciones del método miniaturizado.

Asimismo, el orden de solubilidad observado para los benzimidazoles analizados (MBZ < ABZ < TBZ) concuerda con sus comportamientos fisicoquímicos y con la bibliografía.

Por otro lado, el contraste entre la solubilidad termodinámica y cinética exhibió que el método cinético miniaturizado no resultó adecuado, debido al efecto de cosolvencia causado por la elevada proporción de DMSO en el sistema acuoso. Este resultado confirma que para obtener valores confiables de solubilidad cinética, es indispensable limitar la cantidad de DMSO, como lo indica la literatura.

En conjunto, los resultados obtenidos permiten concluir que el método miniaturizado propuesto constituye una opción viable, eficiente y confiable para la determinación de la solubilidad termodinámica en estudios preliminares de caracterización de nuevos fármacos. Además, es necesario caracterizar el estado sólido del fármaco para un mayor control de las variables experimentales y una mejor interpretación de los resultados.

CAPÍTULO VII. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS

- ✓ Se diseñó una versión miniaturizada del método shake flask consistente y reproducible para la determinación de la solubilidad termodinámica, empleando cromatografía líquida de alta resolución como técnica de análisis.
- ✓ Se adquirieron las competencias y habilidades para manejar adecuadamente los equipos e instalaciones empleados en el desarrollo del presente trabajo.
- ✓ Se determinaron las condiciones cromatográficas para el análisis con tiempos de corrida menores a 6 minutos. También, se determinó la precisión y linealidad del sistema con éxito.
- ✓ Se realizaron los ensayos de solubilidad termodinámica con formato miniaturizado en HCl 0.1 N como medio biológicamente relevante. Otros medios biológicamente relevantes se descartaron debido a falta de tiempo, ya que al optimizar las condiciones de prueba se optó por realizar suficientes ensayos experimentales sólo en HCl hasta obtener resultados aceptables y continuar con el mismo medio en todas las determinaciones.
- ✓ Se contrastaron los resultados arrojados por el método miniaturizado shake flask con los valores de solubilidad reportados en la literatura científica, observándose una buena similitud, particularmente en el caso de MBZ.

De esta manera, se confirma que la mayoría de los objetivos planteados para este proyecto se cumplieron de manera exitosa. Incluso, el estudio se vio fortalecido con la realización del método shake flask convencional y con estudios de solubilidad cinéticos, lo que permitió un análisis más exhaustivo.

REFERENCIAS

Aaltonen, J., Allesø, M., Mirza, S., Koradia, V., Gordon, K. C., & Rantanen, J. (2009). Solid form screening – A review. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *71*(1), 23-37. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.07.014

Abdo Taher, A. T., Fatema, S., Alsebaei, M., & F. Alsaadi, M. (2025). Impact of Ionic Strength on the Solubility, Density, Viscosity, and Conductivity of Aspirin in Aqueous Phase. *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, *10*(5), 427-434. https://doi.org/10.35629/4494-1005427434

Aguayo-Ortiz, R., Méndez-Lucio, O., Medina-Franco, J. L., Castillo, R., Yépez-Mulia, L., Hernández-Luis, F., & Hernández-Campos, A. (2013). Towards the identification of the binding site of benzimidazoles to β-tubulin of Trichinella spiralis: Insights from computational and experimental data. *Journal of Molecular Graphics & Modelling*, *41*, 12-19. https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2013.01.007

Amidon, G. L., Lennernäs, H., Shah, V. P., & Crison, J. R. (1995). A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. *Pharmaceutical Research*, *12*(3), 413-420. https://doi.org/10.1023/A:1016212804288

Apley, M., Crist, B., Fellner, V., Gonzalez, M., Hunter, R., Martinez, M., Messenheimer, J., Modric, S., Papich, M., Parr, A., Riviere, J., & Marques, M. (2017). Determination of Thermodynamic Solubility of Active Pharmaceutical Ingredients for Veterinary Species: A New USP General Chapter. *Dissolution Technologies*, *24*(1), 36-39. https://doi.org/10.14227/DT240117P36

Avdeef, A., & Berger, C. M. (2001). pH-metric solubility.: 3. Dissolution titration template method for solubility determination. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *14*(4), 281-291. https://doi.org/10.1016/S0928-0987(01)00190-7

Baka, E., Comer, J. E. A., & Takács-Novák, K. (2008). Study of equilibrium solubility measurement by saturation shake-flask method using hydrochlorothiazide as model compound. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *46*(2), 335-341. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.10.030

Bashpa, P., & Bijudas, K. (2018). STUDIES ON POLYMORPHISM OF COMMERCIAL ASPIRIN AND ALBENDAZOLE TABLETS. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *9*(6). https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9(6).2490-93

Battino, R., & Letcher, T. M. (2001). An Introduction to the Understanding of Solubility. *Journal of Chemical Education*, *78*(1), 103. https://doi.org/10.1021/ed078p103

Belford, R. (2025). *13.5: Colligative Properties—Chemistry LibreTexts*. https://chem.libretexts.org/Courses/University_of_Arkansas_Little_Rock/Chem_1403%3A_General_Chemistry_2/Text/13%3A_Solutions/13.04%3A__Colligative_Properties

Bergström, C. A. S., & Larsson, P. (2018). Computational prediction of drug solubility in water-based systems: Qualitative and quantitative approaches used in the current drug discovery and development setting. *International Journal of Pharmaceutics*, *540*(1), 185-193. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.01.044

Bhattachar, S. N., Deschenes, L. A., & Wesley, J. A. (2006). Solubility: It's not just for physical chemists. *Drug Discovery Today*, *11*(21), 1012-1018. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2006.09.002

Bongioanni, A., Bueno, M. S., Abraham Miranda, J., Chattah, A. K., Ayala, A. P., Longhi, M. R., & Garnero, C. (2019). *Investigating a soluble pharmaceutical salt: Albendazole Hydrochloride*. https://doi.org/10.1021/acs.cgd.9b00348

Brittain, H. G. (Ed.). (2018). *Polymorphism in Pharmaceutical Solids* (2.ª ed.). CRC Press. https://doi.org/10.3109/9781420073225

Bubalo, M. C., Radošević, K., Redovniković, I. R., Halambek, J., & Srček, V. G. (2014). A brief overview of the potential environmental hazards of ionic liquids. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *99*, 1-12. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.10.019

Budetić, M., Kopf, D., Dandić, A., & Samardžić, M. (2023). Review of Characteristics and Analytical Methods for Determination of Thiabendazole. *Molecules*, *28*(9), 3926. https://doi.org/10.3390/molecules28093926

Calvo, N. L., Arias, J. M., Altabef, A. B., Maggio, R. M., & Kaufman, T. S. (2016). Determination of the main solid-state form of albendazole in bulk drug, employing Raman spectroscopy coupled to multivariate analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *129*, 190-197. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.07.013

Cassens, J., Prudic, A., Ruether, F., & Sadowski, G. (2013). Solubility of Pharmaceuticals and Their Salts As a Function of pH. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, *52*(7), 2721-2731. https://doi.org/10.1021/ie302064h

Chandler, D. (2005). Interfaces and the driving force of hydrophobic assembly. *Nature*, *437*(7059), 640-647. https://doi.org/10.1038/nature04162

Chaudhary, A., Nagaich, U., Gulati, N., Sharma, V. K., & Khosa, R. L. (2012). Enhancement of solubilization and bioavailability of poorly soluble drugs by physical and chemical modifications: A recent review. *Journal of Advanced Pharmacy Education and Research*, *2*(1-2012), Article 1-2012.

Chaudhary, S., Garg, T., Rath, G., Murthy, R. R., & Goyal, A. K. (2016). Enhancing the bioavailability of mebendazole by integrating the principles solid dispersion and nanocrystal techniques, for safe and effective management of human echinococcosis. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, *44*(3), 937-942. https://doi.org/10.3109/21691401.2014.1000493

Chemistry (IUPAC), T. I. U. of P. and A. (s. f.). *IUPAC - solubilidad (S05740)*. https://doi.org/10.1351/goldbook.S05740

Chen, J., Wang, Z.-Z., Wu, C.-B., Li, S., & Lu, T.-B. (2012). Crystal engineering approach to improve the solubility of mebendazole. *CrystEngComm*, *14*, 6221. https://doi.org/10.1039/c2ce25724f

Dhananjay, S. (2013). *SOLUBILITY DETERMINATION IN DRUG DISCOVERY AND DEVELOPMENT*. https://www.pharmatutor.org/articles/solubility-determination-drug-discovery-development

Di, L., Fish, P. V., & Mano, T. (2012). Bridging solubility between drug discovery and development. *Drug Discovery Today*, *17*(9-10), 486-495. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.11.007

Ding, Y., Zhao, T., Fang, J., Song, J., Dong, H., Liu, J., Li, S., & Zhao, M. (2024). Recent developments in the use of nanocrystals to improve bioavailability of APIs. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, *16*(2), e1958. https://doi.org/10.1002/wnan.1958

Dolan, J. W., & Osmani, F. (2026, enero 12). *Evaluation of an LC Method | LCGC International*. https://www.chromatographyonline.com/view/evaluation-lc-method-1?utm_source=chatgpt.com

Ebrahimi, N., Farahbod, B., & Sadeghi, R. (2018). Salting-in and salting-out effects of organic and inorganic ammonium salts on the aqueous polymer solutions. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, *123*, 86-98. https://doi.org/10.1016/j.jct.2018.03.030

E. Skyner, R., L. McDonagh, J., R. Groom, C., Mourik, T. van, & O. Mitchell, J. B. (2015). A review of methods for the calculation of solution free energies and the modelling of systems in solution. *Physical Chemistry Chemical Physics*, *17*(9), 6174-6191. https://doi.org/10.1039/C5CP00288E

Fowles, D. J., Connaughton, B. J., Carter, J. W., Mitchell, J. B. O., & Palmer, D. S. (2025). Physics-Based Solubility Prediction for Organic Molecules. *Chemical Reviews*, *125*(15), 7057-7098. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.4c00855

Gaohua, L., Miao, X., & Dou, L. (2021). *Full article: Crosstalk of physiological pH and chemical pKa under the umbrella of physiologically based pharmacokinetic modeling of drug absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity*. https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17425255.2021.1951223?utm_source=chatgpt.com

Golla, U., Patel, S., Shah, N., Talamo, S., Bhalodia, R., Claxton, D., Dovat, S., & Sharma, A. (2024). From Deworming to Cancer Therapy: Benzimidazoles in Hematological Malignancies. *Cancers*, *16*(20), 3454. https://doi.org/10.3390/cancers16203454

GONG, Y., GRANT, D. J. W., & BRITTAIN, H. G. (2007). Principles of Solubility. En P. Augustijns & M. E. Brewster (Eds.), *Solvent Systems and Their Selection in Pharmaceutics and Biopharmaceutics* (pp. 1-27). Springer. https://doi.org/10.1007/978-0-387-69154-1_1

Gupta, J., & Devi, A. (2019). Solubility EnhancementTechniques forPoorly Soluble Pharmaceuticals: A Review. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, *7*(02), 09-16. https://doi.org/10.30750/ijpbr.7.2.2

Hancock, B. C., & Zografi, G. (1997). Characteristics and Significance of the Amorphous State in Pharmaceutical Systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *86*(1), 1-12. https://doi.org/10.1021/js9601896

Henriquez-Camacho, C., Gotuzzo, E., Echevarria, J., White Jr, A. C., Terashima, A., Samalvides, F., Pérez-Molina, J. A., & Plana, M. N. (2016). Ivermectin versus albendazole or thiabendazole for Strongyloides stercoralis infection. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, *2016*(1), CD007745. https://doi.org/10.1002/14651858.CD007745.pub3

Hilfiker, R. (2006). *Polymorphism: In the Pharmaceutical Industry | Wiley*. Wiley.Com. https://www.wiley.com/en-us/Polymorphism%3A+In+the+Pharmaceutical+Industry-p-9783527607723

Hurtado Y de la Peña, M., Alvarado, Y., Domínguez, A., & Arroyo, A. (2003). Comparison of Dissolution Profiles for Albendazole Tablets Using USP Apparatus 2 and 4. *Drug development and industrial pharmacy*, *29*, 777-784. https://doi.org/10.1081/DDC-120021777

Kalepu, S., & Nekkanti, V. (2015). Insoluble drug delivery strategies: Review of recent advances and business prospects. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, *5*(5), 442-453. https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.07.003

Kashid, S. M., Jin, G. Y., Bagchi, S., & Kim, Y. S. (2015). Cosolvent Effects on Solute–Solvent Hydrogen-Bond Dynamics: Ultrafast 2D IR Investigations. *The Journal of Physical Chemistry B*, *119*(49), 15334-15343. https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.5b08643

Könczöl, Á., & Dargó, G. (2018). Brief overview of solubility methods: Recent trends in equilibrium solubility measurement and predictive models. *Drug Discovery Today: Technologies*, *27*, 3-10. https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2018.06.001

KR, V., Yalavarthi, P. R., Vadlamudi, H. C., Kalluri, J. K. Y., & Rasheed, A. (2017). Process, Physicochemical Characterization and In-Vitro Assessment of Albendazole Microcrystals. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, *7*(3), 419-425. https://doi.org/10.15171/apb.2017.050

Liang, Z., Chen, M., Yan, Y., Chen, D., & Xie, S. (2022). Nanocrystal Suspensions for Enhancing the Oral Absorption of Albendazole. *Nanomaterials*, *12*(17), 3032. https://doi.org/10.3390/nano12173032

Lipinski, C. A. (2004). Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*, *1*(4), 337-341. https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007

M. Alshahrani, S., & Shakeel, F. (2020). Solubility Data and Computational Modeling of Baricitinib in Various (DMSO + Water) Mixtures. *Molecules*, *25*(9), 2124. https://doi.org/10.3390/molecules25092124

Manallack, D. T. (2007). The pKa Distribution of Drugs: Application to Drug Discovery. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, *1*, 25.

Martins, F. T., Neves, P. P., Ellena, J., Camí, G. E., Brusau, E. V., & Narda, G. E. (2009). Intermolecular contacts influencing the conformational and geometric features of the pharmaceutically preferred mebendazole polymorph C. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *98*(7), 2336-2344. https://doi.org/10.1002/jps.21593

Meng, F., & Ibrahim, F. (2025). Calculating pH-solubility profile and pHmax for monoprotic salts of poorly water-soluble weak bases. *International Journal of Pharmaceutics*, *673*, 125338. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2025.125338

Meyer, E. E., Rosenberg, K. J., & Israelachvili, J. (2006). Recent progress in understanding hydrophobic interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(43), 15739-15746. https://doi.org/10.1073/pnas.0606422103

Montes, I., Lai, C., & Sanabria, D. (2003). Like Dissolves Like: A Guided Inquiry Experiment for Organic Chemistry. *Journal of Chemical Education*, *80*(4), 447. https://doi.org/10.1021/ed080p447

Noyes, A., & Whitney, R. (1897). *THE RATE OF SOLUTION OF SOLID SUBSTANCES IN THEIR OWN SOLUTIONS. | Journal of the American Chemical Society*. https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja02086a003

Partridge, F. A., Forman, R., Bataille, C. J. R., Wynne, G. M., Nick, M., Russell, A. J., Else, K. J., & Sattelle, D. B. (2020). Anthelmintic drug discovery: Target identification, screening methods and the role of open science. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, *16*(1), 1203-1224. https://doi.org/10.3762/bjoc.16.105

Peiffer, D. G. (1980). The molecular factors affecting the solubility parameter. *Journal of Applied Polymer Science*, *25*(3), 369-380. https://doi.org/10.1002/app.1980.070250304

Pranzo, M. B., Cruickshank, D., Coruzzi, M., Caira, M. R., & Et., A. (2010). Enantiotropically Related Albendazole Polymorphs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. https://doi.org/10.1002/jps.22072

Quiroz, D. I. V. (2022). *Ley de solubilidad de Henry*. Unidades de Apoyo para el Aprendizaje - CUAIEED - UNAM. https://uapa.cuaieed.unam.mx/node/1034

Saal, C., & Petereit, A. C. (2012). Optimizing solubility: Kinetic versus thermodynamic solubility temptations and risks. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *47*(3), 589-595. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2012.07.019

Sachan, M. (2019). *What is solvation energy?* Quora. https://www.quora.com/What-is-solvation-energy

Santos, O. M. M., Reis, M. E. D., Jacon, J. T., Lino, M. E. D. S., Simões, J. S., & Doriguetto, A. C. (2014). Polymorphism: An evaluation of the potential risk to the quality of drug products from the Farmácia Popular Rede Própria. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *50*(1), 1-24. https://doi.org/10.1590/S1984-82502011000100002

Savjani, K. T., Gajjar, A. K., & Savjani, J. K. (2012). Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. *International Scholarly Research Notices*, *2012*(1), 195727. https://doi.org/10.5402/2012/195727

Sean. (2022). The Dielectric Constant in Solubility and Solvent Systems. *FTLOScience*. https://ftloscience.com/solubility-solvent-systems/

Shah, H., Shah, K., Gajera, B., Dave, R. H., & Taft, D. R. (2023). Developing a Formulation Strategy Coupled with PBPK Modeling and Simulation for the Weakly Basic Drug Albendazole. *Pharmaceutics*, *15*(4), 1040. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15041040

Shakeel, F., Haq, N., Alshehri, S., Alenazi, M., Alwhaibi, A., & Alsarra, I. A. (2023). Solubility and Thermodynamic Analysis of Isotretinoin in Different (DMSO + Water) Mixtures. *Molecules*, *28*(20), 7110. https://doi.org/10.3390/molecules28207110

Singh, N., Singh, A. P., & Singh, A. P. (2021). Solubility: An overview. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry and Analysis*, *7*(4), 166-171. https://doi.org/10.18231/j.ijpca.2020.027

Singhvi, G., Sonavane, S., Gupta, A., Gampa, G., & Goyal, M. (2013). Design of a Modified Kinetic Solubility Determination Method at Laboratory Level for Early Drug Discovery. *Asian Journal of Chemistry*, *25*(1), 237-239. https://doi.org/10.14233/ajchem.2013.12916

Takács-Novák, K., Urac, M., Horváth, P., Völgyi, G., Anderson, B. D., & Avdeef, A. (2017). Equilibrium solubility measurement of compounds with low dissolution rate by Higuchi's Facilitated Dissolution Method. A validation study. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *106*, 133-141. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.05.064

Takagi, T., Ramachandran, C., Bermejo, M., Yamashita, S., Yu, L. X., & Amidon, G. L. (2006). A Provisional Biopharmaceutical Classification of the Top 200 Oral Drug Products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan. *Molecular Pharmaceutics*, *3*(6), 631-643. https://doi.org/10.1021/mp0600182

Tassios, D. P. (1993). Intermolecular Forces. En D. P. Tassios (Ed.), *Applied Chemical Engineering Thermodynamics* (pp. 217-235). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-01645-9_7

Torres, N., Landau, L., Bamonte, E., & Di, M. (2005). Fuerzas intermoleculares y propiedades físicas de compuestos orgánicos: Una estrategia didáctica. *Educación Química*.

Torres, N., Landau, L., Baumgartner, E., & Monteserin, H. (2010). Fuerzas intermoleculares y su relación con propiedades físicas: Búsqueda de obstáculos que dificultan su aprendizaje significativo. *Educación química*, *21*(3), 212-218.

Trento, C. (2023). *Constante dieléctrica: Materiales comunes y soluciones*. https://www.samaterials.es/dielectric-constant-common-materials-and-solutions.html

Vemula, V. R., Lagishetty, V., & Lingala, S. (2010). *Solubility echancement techniques*. https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=99e8818e061c4769e09c45e36d900ab59b616460

Verdier, S., & Andersen, S. I. (2005). Internal pressure and solubility parameter as a function of pressure. *Fluid Phase Equilibria*, *231*(2), 125-137. https://doi.org/10.1016/j.fluid.2005.01.009

Vertzoni, M., Alsenz, J., Augustijns, P., Bauer-Brandl, A., Bergström, C., Brouwers, J., Müllerz, A., Perlovich, G., Saal, C., Sugano, K., & Reppas, C. (2022). UNGAP best practice for improving solubility data quality of orally administered drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *168*, 106043. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.106043

Veseli, A., Kristl, A., & Žakelj, S. (2020). *Proof-of-concept for a miniaturized shake-flask biopharmaceutical solubility determination by sonic mixing*.

Veseli, A., Žakelj, S., & Kristl, A. (2019). A review of methods for solubility determination in biopharmaceutical drug characterization. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, *45*(11), 1717-1724. https://doi.org/10.1080/03639045.2019.1665062

Wiedenbeck, E., Gebauer, D., & Cölfen. (2020). *Potentiometric Titration Method for the Determination of Solubility Limits and pKa Values of Weak Organic Acids in Water | Analytical Chemistry*. https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.0c00247?utm_source=chatgpt.com

Xin, L. (2022, octubre 30). *2.6: Fuerza Intermolecular y Propiedades Físicas de Compuestos Orgánicos*. LibreTexts Español. https://espanol.libretexts.org/Bookshelves/Quimica/Qu%C3%ADmica_Org%C3%A1nica/Qu%C3%ADmica_Org%C3%A1nica_I_(Liu)/02%3A_Fundamental_de_Estructuras_Org%C3%A1nicas/2.06%3A_Fuerza_Intermolecular_y_Propiedades_F%C3%ADsicas_de_Compuestos_Org%C3%A1nicos

Yeh, M.-K., Chang, L.-C., & Chiou, A. H.-J. (2009). Improving Tenoxicam Solubility and Bioavailability by Cosolvent System. *AAPS PharmSciTech*, *10*(1), 166-171. https://doi.org/10.1208/s12249-009-9189-2

Yu, L. (2001). Amorphous pharmaceutical solids: Preparation, characterization and stabilization. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *48*(1), 27-42. https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00098-9

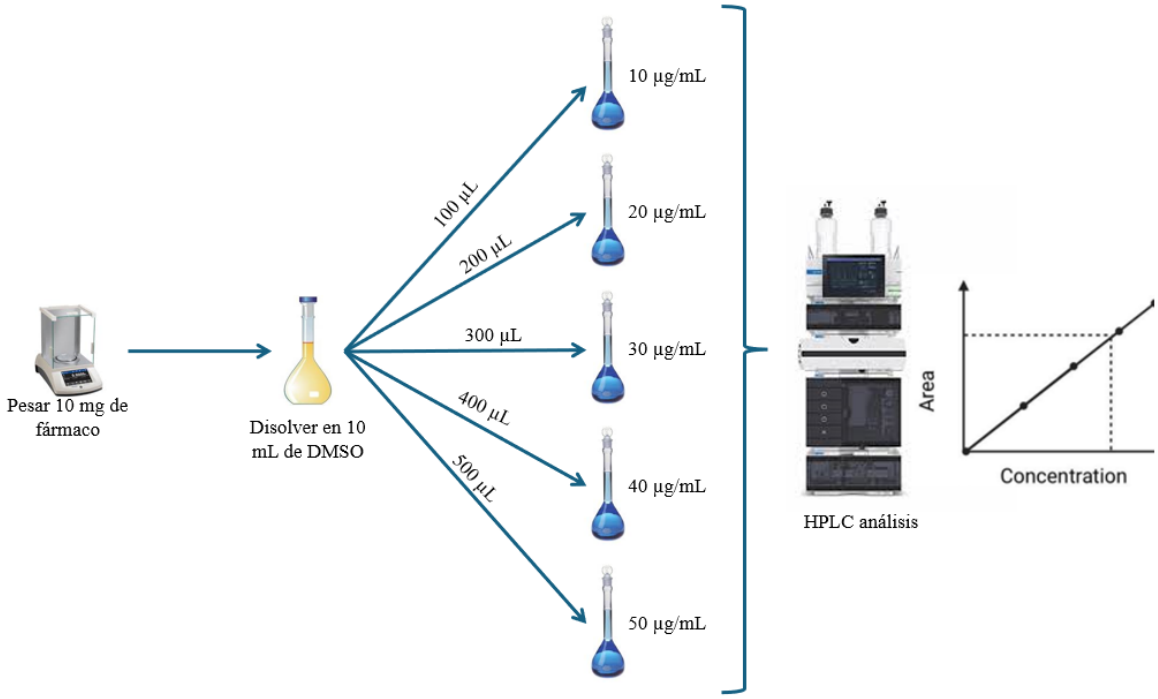
Zhang, L., Zhu, H., Mathiowetz, A., & Gao, H. (2011). Deep understanding of structure–solubility relationship for a diverse set of organic compounds using matched molecular pairs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *19*(19), 5763-5770. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.08.036

Zheng, M., Han, J., Ma, J., Liang, J., & Zhao, H. (2019). Solubilidad y solvatación preferente del flubendazol disuelto en mezclas acuosas de cosolventes de 1,4-dioxano, dimetilsulfóxido, N,N-dimetilformamida e isopropanol. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, *135*, 225-232. https://doi.org/10.1016/j.jct.2019.04.001

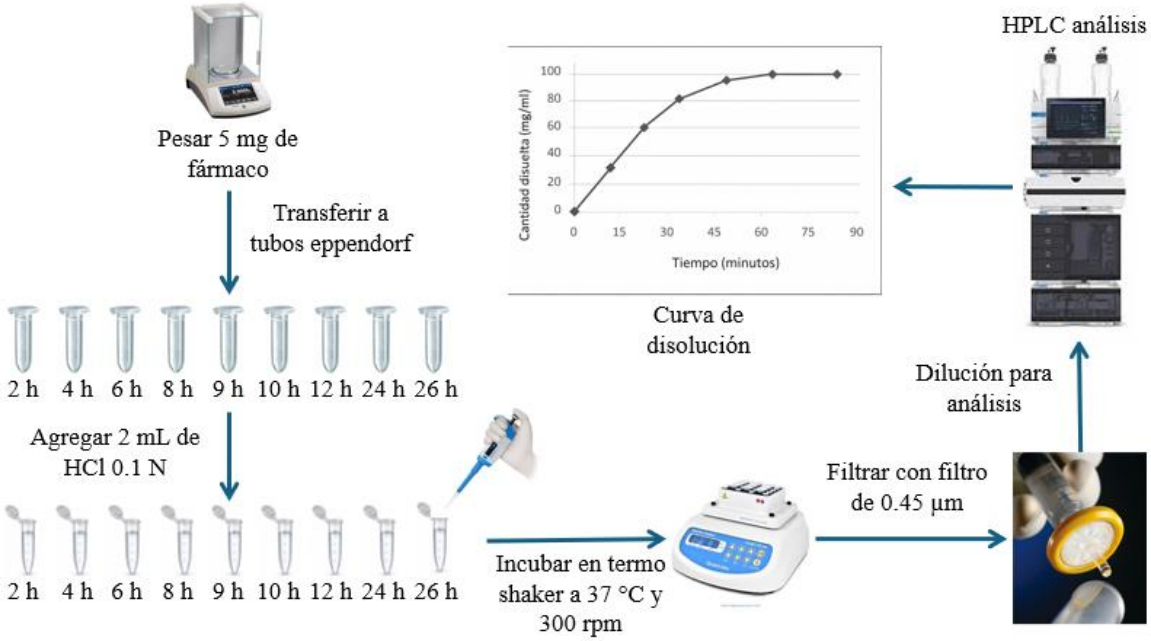
Zhuang, B., Ramanauskaite, G., Koa, Z. Y., & Wang, Z.-G. (2021). Like dissolves like: A first-principles theory for predicting liquid miscibility and mixture dielectric constant. *Science Advances*, *7*(7), eabe7275. https://doi.org/10.1126/sciadv.abe7275

ANEXOS

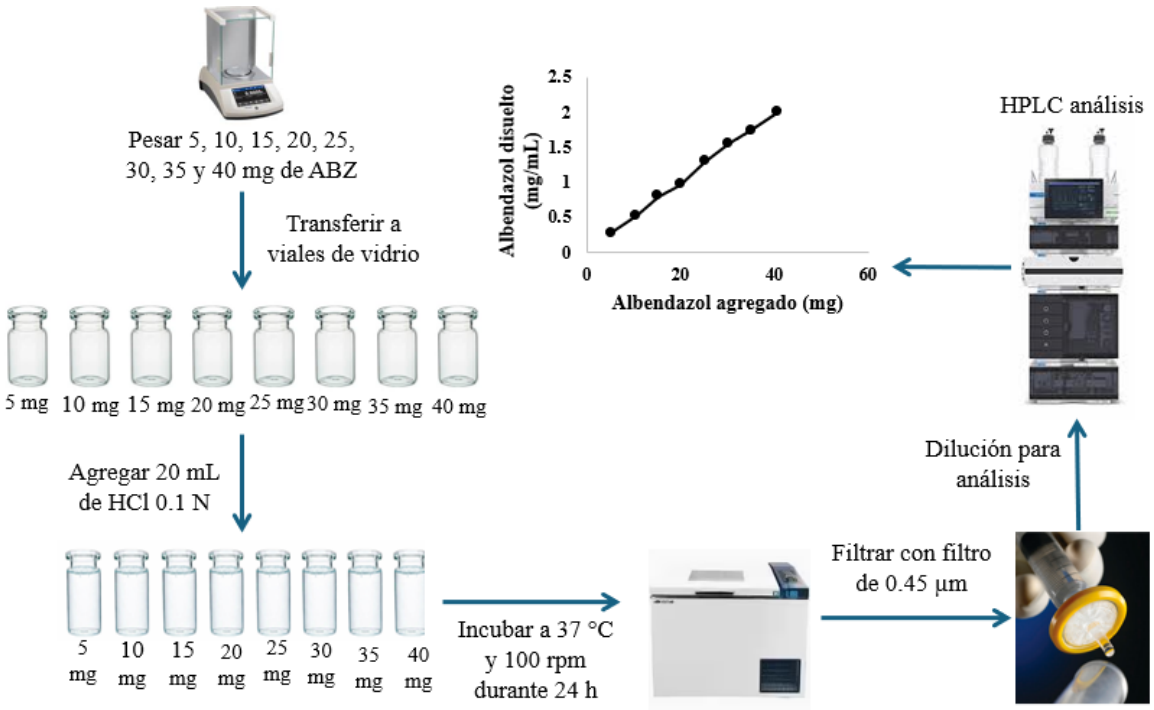
Anexo 1. Elaboración de curvas de calibración



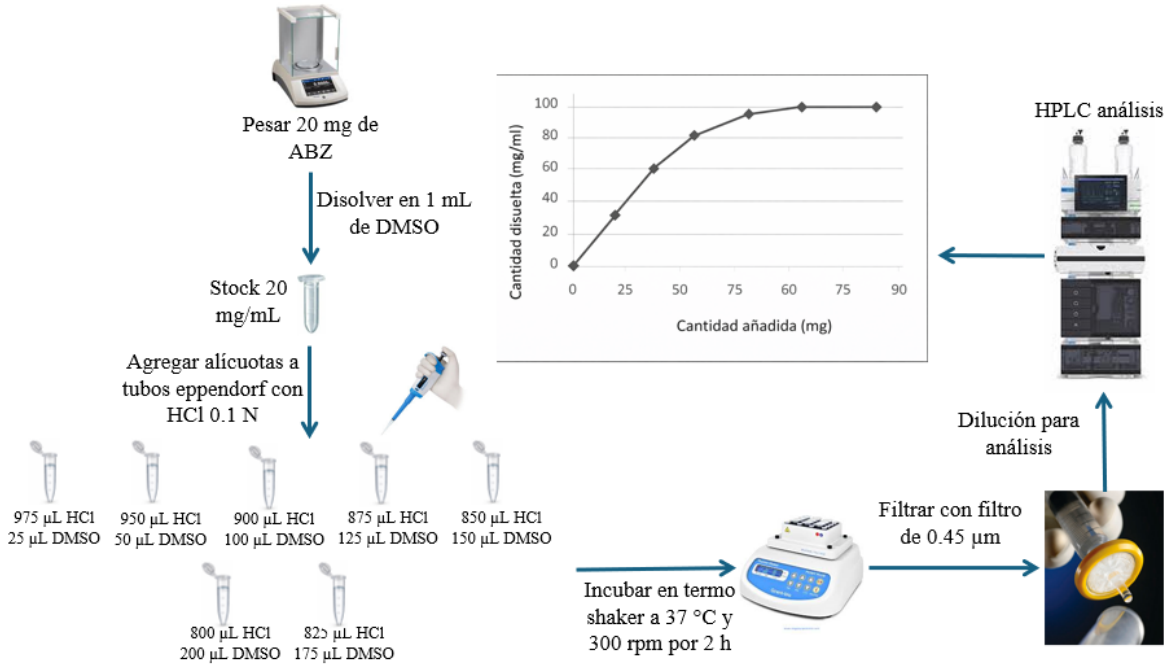
Anexo 2. Diseño general del método miniaturizado tipo shake flask



Anexo 3. Diseño experimental ensayo de solubilidad convencional



Anexo 4. Diseño experimental del método miniaturizado cinético para ABZ



Anexo 5. Diseño experimental del método miniaturizado cinético para MBZ

