



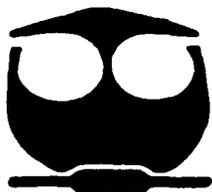
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIOS DE LIBERACION DEL TRIMETOPRIM POR SU
INCORPORACION EN CICLODEXTRINAS CON
MATRICES CARBOMERICAS.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
MARIA TERESA ALONSO BENITEZ



MEXICO, D. F.



2002

**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente: María del Socorro Alpizar Ramos

Vocal: Honoria Fuentes Sixtos

Secretario: María Josefa Bernad Bernad

1er suplente: Ernestina Hernández García

2do suplente: Joaquín González Robledo

Laboratorio de Tecnología Farmacéutica

Departamento de Farmacia

Facultad de Química

UNAM



Asesora del tema: **Dra. María Josefa Bernad Bernad**



Supervisor técnico: **Dr. Héctor Sumano López**



Sustentante: **María Teresa Alonso Benítez**

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por el don de la vida que ha sido mi mejor regalo.

A mis Padres, por mi ser fortaleza, la fuente de mi educación, por su amor, por creer en mi.

A mí amado Esposo, por su paciencia, sus regaños y su amor que terminaron siendo la fuente de inspiración que me llevó a alcanzar la meta que me había propuesto: Concluir mi carrera profesional.

A la Dra. María Josefa Bernad (Fina), por todo su apoyo y dedicación para concluir juntas con este trabajo, por su maravillosa amistad.

Al Dr. Héctor Sumano, por todo lo que haces y has hecho por mi, no hay regalo suficiente que pueda expresarte mi agradecimiento.

A las Profesoras Honoria Fuentes y Socorro Alpízar por dedicar su valioso tiempo en la revisión de este trabajo.

A mi Familia, por apoyarme y quererme tanto, por aguantarme.

A la Familia Mancilla, por todas sus atenciones y apoyo.

A la USAI y al Laboratorio de Tecnología Farmacéutica (Don Dany, Doña Vicky, Don José*) por todos los servicios prestados.

DEDICATORIAS

A Dios, por no dejarme sola nunca.

A mis Padres:

Papá, tus esfuerzos, sufrimientos y la dedicación de tu vida a la mía no han sido en balde, sabes que este trabajo es tan tuyo como mío, te amo.

Mamá, nunca podré tener amiga mejor y cariño más grande que el tuyo, gracias por todo, también te amo (a mi manera).

A Priscila, querida hermana, nunca olvides que no hay límites para alcanzar tus metas y que siempre estaremos ahí para ti, ama tus estudios, tu vida y a ti misma, gracias por quererme tanto y enseñarme lo maravilloso que es tener un hermano.

Victor, mi amor no tenía nombre hasta que llegaste a mi vida como un rayo de sol que ilumina un día nublado. Gracias por tu apoyo, tus regaños y consejos, sigamos creciendo juntos cada día como hasta ahora, te amo.

Bebé, aunque aun no tienes nombre y aun no puedo mirarte, me has dado una gran lección de vida, nos espera un largo camino, te esperamos con ansias.

Fina, no puedo expresar con palabras todo lo que te estimo, gracias por todo tu apoyo, por enseñarme que "Las estrellas son parte de un Universo y que si te lo propones, es posible alcanzarlas". Por tu amistad.

A mis primos, Alejandro, Blanca[†], Eduardo, Israel y Miguel por ser como mis hermanos, por cuidarme y por su apoyo incondicional.

ÍNDICE GENERAL

1	Agradecimientos y dedicatorias	S/n
2	Índice	S/n
3	Abreviaturas	S/n
4	Resumen	S/n
5	Introducción	2
6	Antecedentes	4
6.1	Trimetoprim	4
6.2	Química Supramolecular	7
6.3	Ciclodextrinas	9
6.4	Complejos de Inclusión	20
6.4.1	Preparación de Complejos de Inclusión con CD's	22
6.4.2	Métodos de preparación de los CI	23
6.4.3	Análisis de los Complejos de Inclusión (caracterización)	24
6.4.4	Mecanismo de complejación	26
6.5	Solubilidad y Velocidad de disolución	32
6.6	Liberación controlada	36
6.6.1	Carbopol	48
7	Planteamiento del problema y objetivo	51
8	Parte experimental	53
9	Resultados y discusión	59
9.1	Resultados	59
9.1.1	Formación de los Complejos de Inclusión en disolución	59
9.1.2	Pruebas de solubilidad	62
9.1.3	Caracterización de CI y MF con HP-CD	64
9.1.3.1	Espectroscopía de Infrarrojo	64
9.1.3.2	Difracción de polvos con Rayos X	66
9.1.3.3	Análisis térmico por DSC	69
9.1.3.4	Resonancia Magnética Nuclear (NOESY)	71
9.1.3.5	Velocidades de disolución	72
9.1.4	Formación de los polvos de liberación controlada con Carbopol	77
9.1.4.1	Velocidades de disolución de las formulaciones de liberación controlada	77
9.1.4.2	Reología	79
9.2	Discusión	80
10	Conclusiones y perspectivas	91
11	Bibliografía	94

ABREVIATURAS

NOMBRE	ABREVIATURA
Alfa	α
Amasado	Amas
Beta	β
Calorimetría Diferencial de Barrido	DSC
Ciclodextrina	CD
Complejación	C
Complejo de inclusión	CI
Gamma	γ
Infrarrojo	IR
Resonancia Magnética Nuclear	RMN
Sulfametoxazol	Sulfa
Trimetoprim	Trime

ESTUDIOS DE LIBERACIÓN DEL TRIMETOPRIM POR SU INCORPORACIÓN EN CICLODEXTRINAS CON MATRICES CARBOMÉRICAS

4. RESUMEN

El Trimetoprim es un fármaco ampliamente administrado para aliviar enfermedades principalmente en las vías respiratorias de aves de corral en Medicina Veterinaria. Dicho fármaco es administrado en combinación de alguna Sulfanilamida como el Sulfametoxazol para obtener un efecto sinérgico que permite una acción más eficaz sobre los microorganismos causantes de dicha enfermedad, sin embargo, se ha reportado que los productos comerciales no son tan eficaces como dicen ser ya que el Trimetoprim es eliminado rápidamente de su cuerpo; aunado a esto, este fármaco presenta problemas con su velocidad de disolución, de tal forma que no logra alcanzar la concentración plasmática adecuada para ejercer su efecto y mucho menos para lograr el efecto sinérgico junto con la Sulfanilamida (en donde se necesita una relación molar de Sulfanilamida/Trimetoprim 16:1 a nivel plasmático). Al analizar estos problemas se ha planteado la necesidad de elaborar una formulación de liberación controlada para que el Trimetoprim alcance y mantenga la concentración deseada y que su velocidad de disolución, una vez liberada de la forma farmacéutica se vea lo suficientemente incrementada para ser eficiente en el organismo del ave.

En los últimos años, se ha incrementado el uso de Ciclodextrinas como agentes capaces de incrementar la solubilidad de fármacos poco solubles debido a sus propiedades anfífilas, ya que son moléculas cíclicas de oligosacáridos unidas entre sí por enlaces α -1,4 glucosídicos, teniendo como consecuencia estructural la formación de un cono truncado que en su exterior posee grupos hidroxilo que lo hacen polar y su interior es de carácter no polar haciéndolas capaces de modificar la solubilidad y velocidad de disolución de moléculas como el Trimetoprim.

Por otra parte, se desea obtener un efecto de liberación controlada para mantener una concentración de Trimetoprim determinada dentro de un tinaco que provee de agua a los pollos, para esto se ha propuesto el uso de Carbopol 974P como el agente que controla la liberación del Trimetoprim, ya que es ampliamente usado en formulaciones para la administración por vía oral y ha demostrado ser altamente eficaz cuando se utiliza para este fin.

Por lo tanto se han llevado a cabo los estudios de solubilización de Trimetoprim con diferentes Ciclodextrinas (α -, β -, γ -, HP- β -CD) aprovechando su capacidad de formar complejos de inclusión. Para esto, se realizaron estudios para la determinación de las isotermas de unión, con las cuales se encontró la k_{eq} para cada una de ellas, de donde se eligió aquella que presentaba una constante de inclusión mayor (HP-Ciclodextrina).

Una vez que se determinó cual era la mejor CD, se llevó a cabo la formación de complejos de inclusión en sólido, los cuales fueron caracterizados por medio de estudios con espectroscopia IR, difracción de Rayos X de polvos y con estudios de velocidades de disolución y solubilidad comparando siempre el efecto de tener solo Trimetoprim, una mezcla física o el complejo de inclusión en sólido en diferentes proporciones para elegir aquella que incrementara en mayor proporción la velocidad de disolución del Trimetoprim, incluyendo además pruebas de solubilidad para conocer la cantidad de Trimetoprim disuelta a las condiciones establecidas.

A partir de la relación 1: 10, el comportamiento en las velocidades de disolución se hace muy similar, por lo que se han llevado a cabo estudios utilizando dicha relación como la mejor, de tal forma que se procedió al establecimiento de la formulación para la elaboración de un polvo de liberación controlada con Carbopol 974P, donde se observó que a mayor concentración de Carbopol, la liberación del principio activo era más lenta y del cual, se ha elegido la formulación más conveniente a nuestros intereses

considerando la concentración que debe haber en el tinaco en función de la dosis que el pollo debe de tomar al día para conseguir una formulación eficiente

Salvo los estudios en los que se mencionaron las técnicas específicas, la mayor parte de estos, se han llevado a cabo utilizando la espectroscopia UV-Visible.

5. INTRODUCCIÓN

La mayor parte de los medicamentos utilizados en humanos son tomados como modelo para el desarrollo y producción de los utilizados en animales, sin embargo, en algunos casos no se obtiene el efecto deseado, debido a que no se comportan farmacocinéticamente de forma similar, además gran parte de las sustancias con actividad farmacológica presentan propiedades fisicoquímicas no adecuadas en cuanto a sus características en la forma farmacéutica (olor, sabor, estabilidad, isomería, incompatibilidad, etc.) y muchas veces se intenta solucionar esto por medio de la formulación, por lo que se recurre a la síntesis de profármacos, adición de excipientes tales como tensoactivos o polímeros tipo Polivinilpirrolidona (PVP), Polietilenglicol (PEG), Carboximetilcelulosa, Ciclodextrinas, etc. Un ejemplo de esto es la administración oral del Sulfametoxazol y Trimetoprim para el tratamiento de enfermedades en vías respiratorias en aves de corral, en el que se espera encontrar un efecto sinergista gracias a la presencia del Trimetoprim.

En este caso particular, diferentes estudios realizados han comprobado que en el caso de las aves de corral (pollos), el Trimetoprim es eliminado tan rápidamente que no alcanza la concentración adecuada para provocar el efecto deseado y aunado a esto, su velocidad de disolución es muy lenta por lo cual la ingesta de Trimetoprim no es la adecuada.

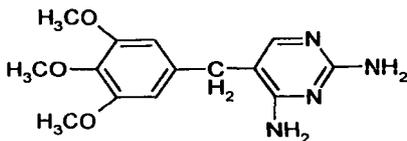
Es por esta razón que en este trabajo se aplican algunos conocimientos de la Química Supramolecular (área interdisciplinaria relativamente nueva) definida como la

Química mas allá de la molécula, en la que se estudian sistemas moleculares complejos que resultan de la asociación de dos o más moléculas unidas mediante interacciones no covalentes. Las Ciclodextrinas han cobrado gran importancia debido a que son moléculas naturales no tóxicas que gracias a su estructura molecular son capaces de formar complejos actuando como especies anfitrionas modificando algunas propiedades fisicoquímicas de las moléculas huésped, por ejemplo, estabilización de moléculas sensibles a la luz o al Oxígeno, mejoramiento de la solubilidad de algunas moléculas, optimización de procesos de disolución, disminución del grado de descomposición, polimerización o de reacciones autocatalíticas entre otras sin afectar las propiedades farmacológicas de los principios activos. Se pretende así mejorar la solubilidad y la velocidad de disolución ya que son los pasos primordiales para que exista la absorción del fármaco y posteriormente realice el efecto deseado.

Sin embargo, también es necesario garantizar la administración adecuada para obtener el efecto sinérgico deseado por lo cual debe establecerse un sistema de liberación que permita la dosificación del Trimetoprim proponiéndose así el uso de hidrogeles carboméricos para conseguir una liberación controlada.

6. ANTECEDENTES

6.1 TRIMETOPRIM



Nombre químico:	2,4-diamino-5-(3,4,5-trimetoxibencil)-pirimidina ¹
Peso Molecular	290.32 g/mol
Fórmula condensada	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃
Apariencia	Polvo cristalino de color amarillo claro, aromático.
Máximo de absorción	287 nm en solución de Etanol y NaOH al 0,4%.
Coefficiente de extinción molar (ε)	7.4 E -3
Absortividad molar	25.5
Solubilidad en agua a 25° C	0.04 g/mL (0.0014 M)
pKa aparente	6.6

Tabla 1 Principales características del Trimetoprim ¹

Espectro antibacteriano: Casi todos los microorganismos gramnegativos y grampositivos son sensibles, aunque en ocasiones puede surgir resistencia si se utiliza cada uno de forma independiente.

Mecanismo de acción: La actividad antimicrobiana de la combinación de Trimetoprim-Sulfametoxazol es consecuencia de su acción en la segunda fase de la vía enzimática en la síntesis del ácido tetrahidrofólico, evitando que exista una reducción

del dihidrofolato en tetrahidrofolato (Fig. 1), siendo esta última, la forma de folato esencial para las reacciones de transferencia de un solo carbono.

Aplicaciones terapéuticas: ²El Trimetoprim combinado con Sulfametoxazol en humanos, es usado para el tratamiento de infecciones en las vías urinarias e infecciones bacterianas de vías respiratorias y del tubo digestivo en general, mientras que en aves de corral se utiliza para el tratamiento de infecciones bacterianas de vías respiratorias y del tubo digestivo entre otras enfermedades infecciosas. ³

El Sulfametoxazol y el Trimetoprim han sido ampliamente utilizados (en su mayoría combinados) en Medicina humana y Veterinaria. En humanos, la interacción sinérgica entre la Sulfonamida y el Trimetoprim es predecible con base en sus mecanismos de acción (Fig. 1). En el caso de bacterias diferentes, la más eficaz para el máximo número de microorganismos es 20 partes de Sulfametoxazol por una parte de Trimetoprim. De este modo, la combinación se prepara para que alcance una concentración *in vivo* de Sulfametoxazol 20 veces mayor que la de Trimetoprim. Por tal razón son importantes las propiedades farmacocinéticas de la sulfonamida escogida para combinar con Trimetoprim porque se busca una constancia relativa de las cifras de ambos compuestos en el cuerpo.² Sin embargo, la mayor parte de los estudios que se han llevado a cabo para determinar las propiedades farmacocinéticas, metabolismo y de excreción renal en humanos y diferentes especies animales indican que para Trimetoprim, el valor de tiempo de vida media varía de forma importante, ya que mientras que en humanos el tiempo de vida media es de 11 h, en aves de corral (pollos) es de 1.2 – 3.4 h. Presenta además problemas de absorción, ya que en humanos se absorbe el 60% del fármaco mientras que en las aves de corral se absorbe solo el 40% del mismo.⁴ Mientras que con las sulfonamidas no se han mostrado problemas en las aves de corral en cuanto a su farmacocinética y su absorción.⁵⁻⁷

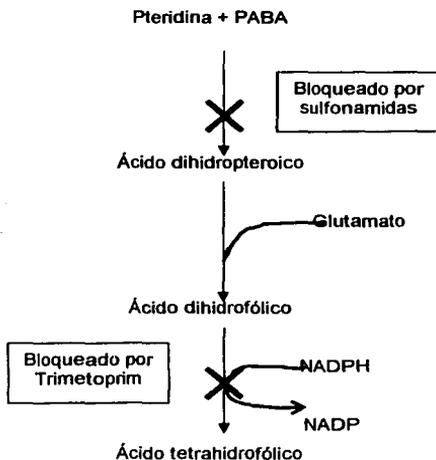


Figura 1 Mecanismo de acción de las Sulfanilamidas y el Trimetoprim

Así, cuando se habla de que los medicamentos de uso humano son utilizados como modelo para diseñar y elaborar los utilizados en animales, nos damos cuenta de que en realidad, en la mayor parte de los casos, se usan las mismas proporciones de los fármacos sin tomar en cuenta si son alcanzadas o no las concentraciones plasmáticas necesarias *in vivo*⁴, si son absorbidos o si son eliminados de forma rápida y segura. Aunado a esto, no siempre se toman en cuenta las características fisicoquímicas de los fármacos ya que a pesar de que las vías de administración no varían demasiado, cuando se trata de aves de corral en una granja por ejemplo, el o los fármacos deben administrarse en el alimento (como premezclas) o en los tinacos de agua que irrigan todos los bebederos por lo que la dosis administrada esta en función de la cantidad de alimento o agua que el ave desee ingerir; en el caso que ocupa el tema de esta tesis encontramos problemas de solubilidad y de actividad

farmacocinética del Trimetoprim, que se cree, son parte del problema que presentan las formulaciones comerciales y por lo que no se obtiene el efecto necesario, es decir, las aves no presentan la mejoría deseada ante las infecciones en vías respiratorias.

En los siguientes capítulos, se presentan los principios fundamentales que han sido considerados para obtener una formulación que nos permita salvaguardar los problemas mencionados tomando como consideración primordial en todo momento que el enfoque del estudio es de la liberación del Trimetoprim dentro del tinaco que provee de agua a las aves.

6.2 QUÍMICA SUPRAMOLECULAR

La Química es una ciencia experimental para la cual la creación de nuevas moléculas y la síntesis de compuestos ya existentes constituyen un campo de actividad extremadamente importante. Más del 90% de los compuestos actuales son sintéticos. La forma más común de obtener un producto consiste en mezclar en solución homogénea dos compuestos capaces de reaccionar. Generalmente, el producto buscado no es el único que se forma ya que pueden aparecer simultáneamente otros productos indeseables (secundarios), que "contaminan" el compuesto esperado. Por esto, se ha tratado de abordar este problema desde otro punto de vista en el cual se intenta favorecer el encuentro de dos moléculas mediante una tercera para que se lleve a cabo la reacción deseada como en el caso de las reacciones mediadas por enzimas naturales.⁸

En 1894, Emil Fischer estudiando la especificidad de la reacción de una enzima con un sustrato, llega a la conclusión de que para reconocerse y reaccionar ambas especies deben acoplarse como sucede con una llave y una cerradura. Así se establecían las bases de una nueva Química, la de las interacciones no covalentes

entre dos o más especies químicas, la llamada Química Supramolecular. Su objetivo es el estudio de las interacciones entre dos o más moléculas en la que una actúa como anfitrión (receptor) y otra como huésped (sustrato). Esta rama de la Química es relativamente nueva e interdisciplinaria e intenta explicar muchos procesos químicos basados en las interacciones intermoleculares, incluso aquellos que ocurren en los sistemas biológicos.

En la Química convencional, las moléculas son compactas y se resisten a la interpenetración, todas las funciones están orientadas hacia el exterior de la molécula (o grupos reactivos); los diferentes átomos que forman cada molécula están unidos entre sí por enlaces covalentes (comparten pares de electrones). La reacción química entre dos moléculas consiste en una ruptura y reorganización de estos enlaces covalentes sin que haya habido interpenetración de las moléculas. Sin embargo, en la Química Supramolecular, el enlace entre el anfitrión y el huésped no es covalente, si no que intervienen varios tipos de interacciones débiles llamadas fuerzas intermoleculares. El reconocimiento de un sustrato por parte del receptor implica una doble complementariedad, la de su geometría (dimensiones, forma) y la de sus posiciones de enlace (naturaleza, número, carga, etc.). Dentro de estas características, quizás la más importante sea la forma tridimensional que la molécula adopta, ya que es necesario que se forme en el centro un hueco (dado por la geometría misma de la molécula) cuyas paredes contienen las posiciones que servirán de interacción para enlazar al huésped. Así, éste último está encerrado en la molécula anfitriona y es inaccesible al mundo exterior como si estuviera en una jaula, por lo que también se les conoce como criptandos (del griego *kryptos* = escondite o del latín *cripta* = cavidad o cueva); encontramos también macromoléculas cíclicas como la Valinomicina y moléculas sintéticas como los éteres corona, que debido a su forma, obtienen gran plasticidad arquitectónica y funcional que les permite una gran cantidad de variantes estructurales; si el sustrato es demasiado pequeño, no es retenido pero si es demasiado grande, no

puede ser incluido. Por las razones anteriormente mencionadas, puede decirse entonces que dichas moléculas son fuertemente selectivas para formar complejos.⁹

Existen dos tipos de receptores, los llamados endoreceptores en los que la formación de los complejos se llevan a cabo en la cavidad interior del receptor donde puede hospedarse el sustrato o huésped y los llamados exoreceptores en los que las moléculas se asocian al receptor superficie a superficie.⁹

Existen gran cantidad de compuestos naturales capaces de formar complejos moleculares, entre ellos las Ciclodextrinas, que son de gran interés en la elaboración del presente trabajo.

6.3 CICLODEXTRINAS

Las Ciclodextrinas fueron descubiertas en 1891 por Villiers, quien las aisló como producto de degradación parcial del almidón, a partir de un cultivo de *Bacillus amilobácter* en la que descubrió dos clases diferentes llamándolas celulosina. Entre 1903 y 1911, Schardinger consiguió aislar al *Bacillus macerans*, que entre otros, produce las enzimas generadoras de las Ciclodextrinas, las cicloglicosiltransferasas (CGT asa). Hasta la mitad de los años treinta, se informaron varios trabajos sobre estas dextrinas cíclicas especialmente acerca de la llamada α -CD relativos a su tamaño, estabilidad, clasificación y algunos otros aspectos.¹⁰

La posibilidad de las Ciclodextrinas de formar complejos de inclusión llevó, en la década de los años cincuenta, a un estudio sistemático sobre la formación de los mismos. Fue hasta los años setenta cuando se estudió la posibilidad de formar complejos de inclusión, preparándolos como derivados y usándolos como modelos

enzimáticos. Inicialmente se hablaba de complejos de inclusión refiriéndose al estado sólido y posteriormente se inició su estudio en disolución acuosa.

Una Ciclodextrina (también llamada dextrina de Schardinger, cicloamilosa o cicloglucano) ¹¹ es un oligosacárido cíclico formado por la acción de la CGT-asa sobre la α -D-glucosa presente en el almidón.

Se encuentran unidas por un enlace α -1,4 glucosídico; la consecuencia estructural de este tipo de enlace es la formación de un cono truncado que le confiere a la molécula una forma toroidal. En el exterior cuenta con grupos hidroxilo que lo hacen polar, sin embargo, en el interior de la cavidad es relativamente no polar contra el exterior (propiedades anfífilicas), por esta razón es que han sido estudiadas como moléculas anfitrionas ya que las moléculas huésped pueden ser capaces de entrar en la cavidad de la molécula formando un enlace no covalente anfitrión-huésped también llamado complejo de inclusión. ¹² Asimismo es importante el tamaño de la cavidad que posee cada Ciclodextrina, ya que si el sustrato es demasiado pequeño no es retenido y si es demasiado grande no puede ser incluido ⁸ (Fig.2)

La preparación de las Ciclodextrinas se subdivide en las siguientes fases: a) Se cultiva el microorganismo que produce la enzima CGT asa; b) se separa la enzima del medio, se concentra y purifica; c) se lleva a cabo la conversión enzimática del almidón prehidrolizado obteniendo una mezcla de dextrinas cíclicas y no cíclicas y d) finalmente se lleva a cabo la separación de las Ciclodextrinas de la mezcla purificándose por cristalización. ¹¹

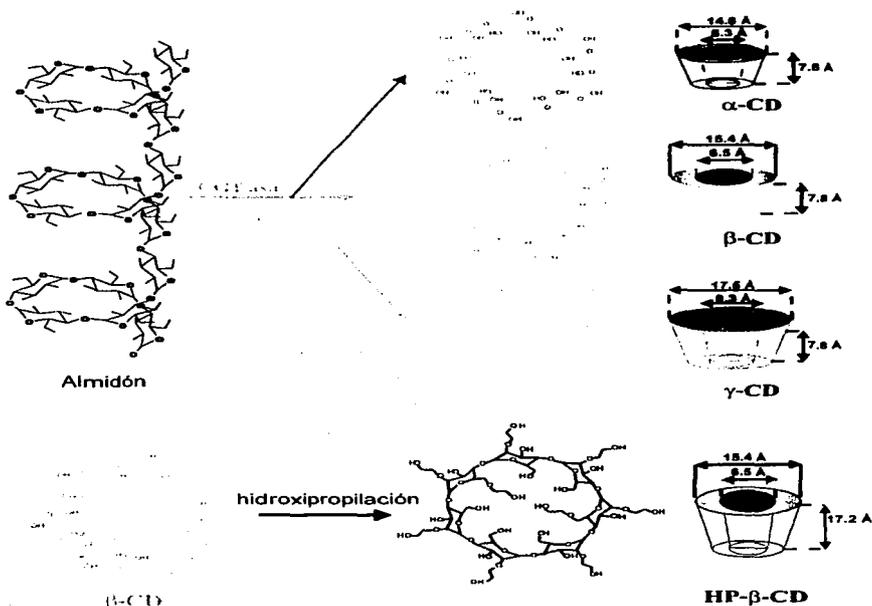


Figura 2 Origen, estructura y dimensiones de las Ciclodextrinas más importantes

Existen tres Ciclodextrinas naturales llamadas α , β y γ -CD's, algunas de ellas han sido manipuladas químicamente obteniendo CD's que poseen propiedades de afinidad para moléculas huésped más grandes o específicas, además de que disminuyen el grado de toxicidad de las CD's naturales. Entre los derivados de las CD encontramos cuatro grandes grupos que son: a) Metiladas, como la dimetil- β -CD; b) Hidroalquiladas como la Hidroxipropil- β -CD que es la más utilizada debido a su gran poder solubilizador para gran diversidad de moléculas, c) Ramificadas como la glucosil- β -CD, que son muy utilizadas para solubilizar fármacos muy poco solubles y d) Ciclodextrinas poliméricas, que son productos que contienen dos o más moléculas de

CD unidas covalentemente por lo que presentan un alto peso molecular que pueden ser solubles en agua, insolubles, moderadamente hinchables, o fuertemente hinchables y son comúnmente utilizadas en cromatografía de afinidad por ejemplo. ¹¹En la tabla 2 se muestran algunas de sus propiedades más importantes.

PROPIEDADES	α -CD	β -CD	γ -CD	HP- β -CD
Peso molecular (g/mol)	973	1135	1297	1531
Número de glucosas	6	7	8	7
Volumen interior (A)	174	262	427	
Solubilidad en agua (g/100mL)	27	1.85	23.2	>50
Moléculas de agua incluidas	6	11	17	11
Momento bipolar (D)	2.233	2.311	3.544	4.304
pK _a	12.3	12.2	12.1	12.2

Tabla 2 Principales propiedades de las Ciclodextrinas

Se cree que las interacciones Ciclodextrina-huésped están dadas por Fuerzas de Van der Waals, puentes de Hidrógeno, expulsión de agua del interior de la cavidad de la CD, liberación de la tensión del anillo de la CD con la complejación, efectos de solvatación e interacciones electrostáticas¹⁰. Algunos de los principales factores que gobiernan la complejación son:

- **Tamaño de la CD:** Sin duda, es uno de los más importantes estructuralmente hablando porque determina si se forma o no el complejo con un huésped particular de acuerdo a su tamaño. Como las fuerzas que manejan la complejación son la combinación de la reducción entre el área superficial de la cavidad-agua y el huésped-agua (como se explicará detalladamente en el

capítulo 6.4), la situación ideal para la complejación es un ajuste apropiado de la porción no polar del huésped dentro de la cavidad no polar de la Ciclodextrina. El huésped puede remover una cantidad máxima de agua de la cavidad y de la superficie de la Ciclodextrina. Si el huésped es demasiado grande, no puede ser incorporado o es solo parcialmente incorporado en la cavidad de la Ciclodextrina. Si el huésped es mucho más pequeño que la cavidad de la Ciclodextrina, no es capaz de reemplazar toda el agua de la misma y por tanto no se forma un complejo de inclusión estable.

- **Tamaño del huésped:** La modificación más simple del huésped es la homologación (incremento del número de grupos metileno por adición al huésped) que invariablemente produce un incremento en la complejación con cualquier Ciclodextrina, ya sea que el huésped sea grande o pequeño, neutral o iónico. Incrementando la longitud de la cadena alifática se incrementa la fuerza de complejación por el incremento del grado con el cual el anfitrión expulsa el agua.
- **Efectos estéricos:** Basado en el número de sustituyentes por unidad de glucosa (0-3) o el número de sustituyentes por molécula de Ciclodextrina. Por ejemplo, los estudios realizados por Palmieri et al.¹³ o los realizados por Blanco et al. en el que se estudia el efecto de los métodos de preparación de los complejos de inclusión con diferentes Ciclodextrinas (sustituidas o no) y en donde los resultados mostraron que la Dimetil- β -Ciclodextrina tuvo mayor efecto complejante con respecto a la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina para el Naproxeno debido al impedimento estérico.¹⁴
- **Efectos electrónicos:** Donde la presencia de sustituyentes polares y no polares en la mayor parte de los casos, favorecen la complejación. La presencia de una carga formal en una molécula es un mayor factor en la determinación de la capacidad para formar un complejo. Como las Ciclodextrinas son más solubles en agua, los huéspedes no cargados invariablemente se complejan con mayor fuerza que los huéspedes cargados. Esto es debido a que la constante de complejación es esencialmente una constante de equilibrio de la partición del

huésped entre el complejo y el agua o la solución acuosa, es de esperarse entonces una relación estrecha de la polaridad del huésped. Los huéspedes altamente polares así como los huéspedes cargados, se encuentran en mayor proporción particionados preferentemente en agua y por tanto, presentan constantes de estabilidad del complejación muy bajas.

- **Complejación de Orden Múltiple:** Cuando las moléculas tienen múltiples sitios no polares y suficientemente lejos unos de otros, son capaces de complejarse con mas de una molécula de Ciclodextrina. Si las regiones no polares son muy cercanas, la presencia de la Ciclodextrina inhibe por impedimento estérico la capacidad de interacción de una segunda molécula de Ciclodextrina.

6.3.1 APLICACIONES

Debido a que las Ciclodextrinas son capaces de formar complejos de inclusión con gran variedad de moléculas en medio líquido o sólido, se ha observado que los complejos pueden desplegar propiedades sumamente interesantes en comparación con la molécula inicial.¹⁵

Las ventajas que se obtienen de las modificaciones en los fármacos debido a la formación de los complejos de inclusión se dividen en:

1) Modificación de las propiedades físicoquímicas de las moléculas huésped

Fijación de sustancias muy volátiles. Física y químicamente, los compuestos volátiles pueden adquirir estabilidad, evitando pérdidas por evaporación como muestra Tanaka et al. en un estudio realizado para fijar diferentes fragancias en la piel como el acetato de bencilo, el eugenol, el mentol y el alcanfor, entre otros, utilizando HP- β -CD en lugar de agentes tensoactivos como el aceite de castor polioxietilen-hidrogenado

60EOI (HCO60), obteniendo como resultado mejoras en la permanencia y liberación de las fragancias y con un efecto irritante menor que el que se presenta usualmente con el uso de tensoactivos como el HCO60.^{11,16}

Incremento de la solubilidad de gran cantidad de moléculas. Para que un fármaco pueda ejercer su acción necesita seguir el siguiente proceso:



Donde F es el fármaco, k_d es la constante de disolución y k_a es la constante de absorción, por lo tanto, se tiene que la disolución es el factor limitante para que se lleve a cabo la absorción, siempre y cuando k_d sea menor que k_a . De tal forma que fármacos que son poco solubles o que tienen una velocidad de disolución muy lenta, son modificados utilizando para ello generalmente la adición de agentes tensoactivos, micronización de partículas, etc. En el caso de las CD's, se ha observado que modifican generalmente en forma favorable las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas de los fármacos estudiados, por ejemplo, Szejtli ha reportado que la solubilidad de fármacos complejados con CD's incrementan su solubilidad y que dependen de dos propiedades fundamentales del fármaco en estudio: el tamaño molecular y la solubilidad en ausencia de la CD.^{11,17-19}

Revisando la dependencia de la solubilización en las propiedades de los complejos de inclusión y del huésped, pueden mencionarse aquellas que se ven afectadas como las propiedades del anfitrión (de las que ya se ha hablado), las propiedades del huésped y la solubilización máxima, ya que involucra la estabilidad y solubilidad del complejo formado, la solubilidad del huésped y su poder de solubilización, esto es, la estequiometría de complejación y la constante de estabilidad

(o constantes), la solubilidad del complejo (o complejos) y finalmente la solubilidad de la Ciclodextrina por sí misma. Como la mayor porción de un complejo con Ciclodextrina es la molécula misma y ésta es la que se encuentra en contacto en primera instancia con el agua, la mayor parte del complejo tiene una solubilidad similar a la de los compuestos sin complejar. Así, se espera que la máxima solubilidad sea del mismo orden que el de la Ciclodextrina sola. Como resultado, la Ciclodextrinas modificadas que son más solubles resultan mejores agentes solubilizantes que sus precursores naturales.¹⁴

El grado con el cual el huésped es solubilizado depende de las condiciones en las que se encuentre. Como el tamaño es el factor limitante, en muchos de los casos, solo una molécula es incorporada dentro de la cavidad de las Ciclodextrinas. Sin embargo, muchas moléculas de Ciclodextrinas pueden interactuar con una sola molécula de anfitrión.

El descubrimiento de las Ciclodextrinas es responsable del incremento de la importancia de la formación de los complejos de inclusión para mejorar la solubilización y estabilización de compuestos orgánicos.²⁰

Las β Ciclodextrinas por ejemplo, son excelentes solubilizadoras debido a su carácter microcristalino el cual puede ser transferido a fármacos cristalinos en combinaciones sólidas. Como agente fuerte o débilmente complejante que depende de los sustituyentes (naturaleza, grado de sustitución, etc) en la molécula distintiva (alargamiento u obstrucción de la cavidad macrocíclica, etc) como ocurre con el Ketoprofeno y el Ibuprofeno.^{21, 22}

También son capaces de incrementar la solubilidad de fármacos poco solubles en agua, por ejemplo, Esclusa, et al. caracterizaron la disolución *in vitro* del Ketoconazol que es un antifúngico de amplio espectro derivado del Imidazol con una solubilidad limitada por un pH de 2.94 a 6.51 y que sufre inhibición por los jugos gástricos, que cuando forma complejos de inclusión con β -CD y HP- β -CD se encuentra un incremento significativo de la solubilidad del Ketoconazol.²³

En combinación con polímeros como el PVP, HPMC y CMC, en algunos fármacos como la Acetozolamida y el Prazepam existe un efecto de incremento en la solubilidad, sin embargo, para Sulfametoxazol, como es altamente soluble, el efecto de solubilización no es apreciable aun cuando se presenta la formación de complejos de inclusión con HP- β -CD.²⁴

Se ha reportado también el incremento de la solubilidad de conservadores como el Cloruro de Benzalconio, Clorbutanol, Propilparabeno, Metilparabeno, Hidrocortisona, etc. Aunque para estos casos, la solubilidad se incrementó pero su capacidad como conservadores disminuyó considerablemente.²⁵

Puede conseguirse también la **estabilización** física de suspensiones o de fármacos como la Prostaglandina e Indometacina en medios ácidos o básicos, además de que pueden utilizarse como **enmascarentes** de sabores y aromas o como **agentes incrementadores** del sabor^{11,26,27}

2) Modificación de la actividad Química de las moléculas

Son **estabilizadoras** de sustancias sensibles a la **fotodegradación** como reporta Louka, et al. quienes realizaron un estudio de formación de complejos de

inclusión con CD'S entre Riboflavina y HP- β -CD encontrando una relación 1:1 y una constante de fotodegradación (k_0) menor a la encontrada en ausencia de CD's, que demostró el efecto estabilizante de la misma disminuyendo la velocidad de fotodegradación de la Riboflavina de 0.024 min^{-1} a 0.013 min^{-1} en presencia de una $[\text{Riboflavina}] = 1.7 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ y una $[\text{HP-}\beta\text{-CD}] = 5.1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ obtenido una curva que disminuye asintóticamente con la adición de la CD con un efecto conocido como "reacción o comportamiento de saturación" que es característico de reacciones donde primero ocurre la formación del complejo siendo este mismo el paso determinante que describe la reacción.²⁸

Algunos fármacos obtienen un efecto **protector** a la oxidación, **resistencia** a la acción de ácidos gástricos, además de verse **disminuido** el grado de descomposición y/o polimerización, además de impedir que se lleven a cabo reacciones autocatalíticas.¹¹ Se ha reportado también que son capaces de **disminuir** las **incompatibilidades** entre componentes en la formulación de medicamentos.²⁷

3) Modificación de propiedades biomédicas.

En soluciones líquidas de fármacos, como inyecciones y gotas para los ojos, son capaces de disminuir efectos adversos, irritaciones locales y reacciones hemolíticas.

4) Modificación favorable de algunas formulaciones de fármacos.

Casi todas las aplicaciones de las CD's en formulaciones farmacéuticas, involucran la complejación. En la mayor parte de los casos, el complejo es usado como una sustancia cristalina para la liberación de formas farmacéuticas sólidas o para sistemas de liberación en base líquida para soluciones acuosas.¹¹

Puede ser usado además como agente desintegrante en tabletas puesto que se hinchan rápidamente permitiendo la rápida liberación del fármaco.^{11,29,30} O como agentes que regulan la liberación controlada de fármacos como menciona A. Gazzaniga³¹ en estudios realizados con Celulosa Microcristalina y β -CD donde se sugirió la posibilidad de usarla como excipiente para compresión directa ya que se ha demostrado que la compactibilidad de las β -CD es más grande que la de otros excipientes comúnmente usados, con excepción de la Celulosa Microcristalina debido a que la adición de ésta al producto de mezcla física o amasado de β -CD con Cloramfenicol, ha dado como resultado el incremento proporcional en la fuerza de compresión de las tabletas, acompañado por el incremento en el tiempo de desintegración. Para saber si dichas propiedades están dadas por la formación de complejos de inclusión, se realizaron estudios de caracterización por IR, obteniendo como conclusión, que no ocurre la formación de complejos de inclusión entre la β -CD y la Celulosa Microcristalina durante todo el proceso de fabricación, además de que se asegura que la β -CD sirve simplemente como un agente de unión proveyendo de adhesión a las tabletas con Celulosa Microcristalina.^{19,26,30-35}

Como CD's poliméricas¹¹ se ha reportado su capacidad de funcionar como agente desintegrante con resultados similares a los obtenidos por el Ac-Di-Sol. Recientemente, se ha propuesto el uso de CD's como excipientes o materiales acarreadores en la fabricación de tabletas.

6.3.2 VÍAS DE ADMINISTRACIÓN MÁS UTILIZADAS CON CICLODEXTRINAS

- Parenteral: para fármacos insolubles o poco solubles
- Intravenosa: intramuscular, intratecal, intracerebral y epidural, casi siempre con respuestas que favorecen la farmacocinética de los fármacos aplicados, disminuyendo su irritabilidad en algunos casos.
- Oral: en donde los usos varían desde el incremento de la biodisponibilidad de los fármacos hasta la modificación de los sitios o los perfiles de liberación de algún fármaco. ^{11,27,36}

6.4 COMPLEJOS DE INCLUSIÓN

Un complejo de Inclusión es una forma característica de complejo químico en el cual una molécula es incluida en otra molécula o estructura de moléculas. Esta combinación es caracterizada por la ausencia de enlaces químicos ordinarios (covalentes o iónicos); el criterio esencial es simplemente que la molécula huésped es susceptible de incluirse por su tamaño y polaridad en una molécula anfitriona que cuenta con una cavidad interna de carácter hidrofóbico regularmente. La estereoquímica y posiblemente la polaridad junto con otras características de las moléculas huésped y anfitrionas determinan el tipo de inclusión que puede ocurrir.

La clasificación más utilizada para reconocer los tipos de complejos de inclusión está basada en la organización de los CI por su estructura y propiedades de la siguiente forma:

1. Complejos de inclusión Polimoleculares divididas en: a) Espacios en forma de canales y b) Espacios en forma de caja
2. Complejos de inclusión Monomoleculares
3. Complejos de inclusión Macromolecular.

Los complejos de inclusión Polimoleculares consisten de una estructura anfitrión compuesta de gran cantidad de moléculas orientadas en forma de un arreglo de rejillas flexibles. Las moléculas individuales del anfitrión enrejado, son unidas por puentes de hidrógeno formando canales o estructuras de cajas que envuelven a la molécula huésped. Por ejemplo: la urea, tiourea, y varios ácidos coléicos, así como los caltratos, que están formados por complejos de inclusión de hidroquinona y tienen forma de caja.³⁷

Los complejos de inclusión de la segunda clasificación llamados compuestos de inclusión Monomoleculares interactúan generalmente con la molécula huésped. Entre ellas se encuentran las Ciclodextrinas, compuestos bis-N,N'-alquilbenzidinas, antibióticos y ciertas proteínas.³⁷

Entre los complejos de inclusión macromolecular, se encuentran las zeolitas, sin embargo, también tenemos dextranos, poliacrilamida y geles de agarosa, sílice y otras sustancias.³⁷

Para el estudio de esta tesis, nos enfocaremos exclusivamente en los complejos de inclusión monomoleculares y específicamente en las Ciclodextrinas.

Se sabe que generalmente, los fármacos más pequeños muestran la más grande afinidad para formar complejos con las Ciclodextrinas y que compuestos con una

solubilidad muy baja en agua han mostrado un incremento importante en función de la concentración de Ciclodextrina.

Investigaciones de la aparente formación entre complejos de Ciclodextrina y varias moléculas de fármacos han hecho grandes contribuciones para resolver las relaciones estequiométricas y los mecanismos de formación de estos complejos.³⁷

6.4.1. PREPARACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN CON CD'S

Las condiciones para la formación de complejos son:

- ◆ **Compatibilidad geométrica:** Las CD's son capaces de formar complejos de inclusión con compuestos que tienen un tamaño compatible con las dimensiones de su cavidad.
- ◆ **Polaridad, carga:** En general, solo moléculas menos polares que el agua pueden ser complejadas.
- ◆ **Medio de disolución:** Aun cuando no es necesaria la presencia de un disolvente, los complejos de inclusión se forman rápidamente en disolución; generalmente no es necesaria la presencia de solventes no polares pero en casos en los que el soluto es muy poco polar, es completamente necesario. La solubilidad y la estabilidad de los complejos pueden verse influenciados por la presencia de sales inorgánicas. La formación de complejos en disolución es termodinámicamente espontánea, porque se obtiene una mayor estabilidad del complejo debida a la solvofobicidad que es una de las más importantes fuerzas estabilizadoras y que solo existe en solución.

6.4.2. MÉTODOS DE PREPARACIÓN DE LOS CI

El término "estabilidad del complejo" se refiere al equilibrio de disociación /asociación del anfitrión y el huésped.

- ♣ En solución: El procedimiento más común es colocar la Ciclodextrina en el medio de disolución correspondiente junto con el soluto, dependiendo de la naturaleza de la molécula hospedada.
- ♣ En suspensión: Como las Ciclodextrinas no necesitan disolverse completamente, la agitación del soluto en una suspensión acuosa para formar el complejo puede completarse en un periodo de 2 – 24 h.
- ♣ Por amasado: En este caso, se usa la menor cantidad de agua posible para que la Ciclodextrina no se disuelva formando una pasta en la que se adiciona el soluto, para posteriormente moler la mezcla durante un tiempo en el que se forma el complejo. (Generalmente se realiza en un mortero)
- ♣ Por fusión: En donde se funde el soluto y se mezcla con la Ciclodextrina previamente pulverizada finamente.
- ♣ Por spray drying y por freeze-drying. ^{11,38}

El método de formación de complejos depende principalmente de la eficacia con la que se obtiene el complejo de inclusión, que se determina con las pruebas de caracterización, como por ejemplo, Esclusa, et al. en sus pruebas de caracterización y disolución *in vitro* de Ketoconazol, encontraron que era más efectivo el método de Spray drying contra el de amasado, ya que existía una formación verdadera de complejo que favorecía la velocidad de disolución del Ketoconazol. ²³

6.4.3. ANÁLISIS DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN (CARACTERIZACIÓN)

Para saber si se han formado o no los CI, es necesario llevar a cabo estudios de caracterización en los que puede determinarse si se ha formado el complejo, si tenemos solo una dispersión de la CD:huésped, o si tenemos una mezcla de muestra complejada y no complejada. Por esto, es común determinar:

- a) El contenido del soluto en el producto
- b) Si el soluto esta incluido realmente en la cavidad de la Ciclodextrina
- c) La cantidad o proporción de soluto complejado y no complejado.

Generalmente se utilizan las siguiente técnicas:

- ✦ **Espectrofotometría UV:** Si la complejación ocasiona un cambio en el espectro de absorción de la molécula huésped. Generalmente los cambios espectrales observados son similares a los efectos causados por los cambios en la polaridad de un solvente, sugiriendo que el cromóforo del huésped es transferido del medio acuoso a la cavidad no polar de la Ciclodextrina. Estos cambios pueden ser debidos a la perturbación en los niveles de energía electrónica ocasionada por la interacción entre la Ciclodextrina, por los efectos de solvatación del agua excluida o por combinación de ambos efectos. Este método es el que se utilizará para el desarrollo de esta tesis. ^{11,25,38,39}
- ✦ **NMR:** De sólidos o líquidos que permite mostrar evidencia de que el huésped se encuentra dentro de la cavidad de la Ciclodextrina, ya que indica la dirección de penetración de la molécula huésped dentro de la CD, además de indicar la geometría que posee el complejo formado. ^{11,39}

- ✦ **HPLC:** Ya que el complejo puede tener tiempos de retención diferentes a la molécula huésped y a la Ciclodextrina, puede ser cuantitativo en algunos casos. ^{11,25,39}
- ✦ **Titulación potenciométrica:** Si la molécula huésped tiene propiedades prototrópicas.
- ✦ **Análisis térmico:** Por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) que es un método termoanalítico en el que se mide la cantidad de calor que absorbe la muestra, ²⁹ que nos ayudan a determinar si existen cambios en la molécula huésped o en la CD como diferencia en los puntos de fusión, evaporación, descomposición, oxidación o alguna transición polimórfica. Se utiliza siempre y cuando se tengan sólidos. ^{11,38-41}
- ✦ **Espectroscopia de Infrarrojo:** En el que se observa pequeñas modificaciones sobre los espectros en las que pueden presentarse enmascaramiento de una o más señales y es utilizado propiamente para muestras en estado sólido. ^{11,39}
- ✦ **Difracción de Rayos-X de polvos:** En el que se observan cambios en los difractogramas donde aparecen o desaparecen picos característicos al de la muestra patrón. ^{11,38,39}
- ✦ **Solubilidad y velocidad de disolución:** En donde se observan los cambios sufridos en la solubilidad y/o de la velocidad de disolución del complejo contra el soluto indicando la formación del complejo. ^{11,38,39}

Entre las técnicas más novedosas encontramos el uso de electroforesis capilar para determinar por ejemplo, la constante de inclusión del complejo formado como el de β -CD y Nicotina. ⁴²

Los más comúnmente utilizados para el estudio de los complejos de inclusión en líquidos son: UV y NMR, mientras que en sólidos se utilizan IR, y DSC con mayor frecuencia. ³⁷

6.4.4. MECANISMO DE COMPLEJACIÓN

En solución acuosa, las cavidades ligeramente no polares están llenas de moléculas de agua, éstas son energéticamente desfavorables para el sistema. Por esta razón, las moléculas de agua pueden ser reemplazadas por una molécula huésped apropiada y que regularmente es menos polar que el agua. Cuando los complejos son disueltos, se establece un equilibrio entre las especies asociadas y las no asociadas y que puede ser expresado por la constante de estabilidad del complejo.¹⁷

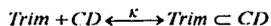
El mecanismo de complejación comprende los siguientes pasos elementales:

- ♣ Las moléculas de agua escapan de la cavidad de la Ciclodextrina
- ♣ El anillo de la Ciclodextrina se relaja debido a la conformación energética del mismo
- ♣ El huésped se interna en el anillo de la Ciclodextrina en donde el complejo se estabiliza por diferentes tipos de interacciones.

Un ejemplo de esto fue descrito por Cramer et al. Para la formación de complejos de inclusión de α -CD con tintes del tipo azo que consiste en seis pasos, cinco de los cuales ya han sido descritos y considera además como paso inicial la aproximación del huésped a la molécula de Ciclodextrina.³⁷

Para la preparación y uso de los complejos de inclusión es esencial entender el mecanismo de asociación molecular durante la complejación y por lo mismo, la K_{est} (constante de estabilidad) y la estequiometría del mismo. En los equilibrios de las Ciclodextrinas, la estequiometría más común del complejo puede ser 1:1, 1:2 o 2:1 (Huésped:Anfitrión). Cabe destacar que se trata de un equilibrio dinámico.

Como ejemplo tenemos el equilibrio que pertenece al estudio de esta tesis:



Existen gran cantidad de procedimientos para determinar la K_{est} que realizan aproximaciones teóricas y prácticas, incluyendo el asumir la baja solubilidad de algunos compuestos, enlaces de saturación, proporciones de concentración y en ocasiones la formación de dímeros. Por estas razones, se utilizan modelos no lineales que pueden trabajar de las siguientes tres formas: a) Linearizando por Series de Taylor; b) Por el método Escalonado descendente; c) o por Regresiones lineales por el método de los cuadrados residuales de los parámetros relevantes.²⁸

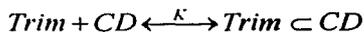
Uno de los métodos de análisis más comunes para la determinación de la K_{est} cuando se trabaja con Ciclodextrinas por espectroscopia directa, es el de las isotermas de unión, que es ampliamente utilizada con el fin de determinar la relación existente entre las Ciclodextrinas y el Trimetoprim (para este caso en particular), indicando de acuerdo a su forma, la cantidad de moléculas de CD y de Trimetoprim necesarias para formar el complejo de inclusión. El modelo utilizado fue obtenido a partir de un desarrollo matemático que toma en cuenta la relación estequiométrica existente entre algunas de las Ciclodextrinas y el Trimetoprim, es decir, para una relación 1:1 y tomando como consideración inicial que la absorbancia de la muestra está dada de acuerdo a la Ley de Lambert y Beer tenemos que:

$$\text{Abs}_1 = \varepsilon_{\text{Trim}}[\text{Trim}]_t \quad (1)$$

Sin embargo, como la muestra está compuesta de Trimetoprim y CD, y se presume además la presencia del complejo de inclusión, la absorbancia total estaría dada por

$$\text{Abs}_T = \epsilon_{\text{Trim}}[\text{Trim}]_t + \epsilon_{\text{Cl}} [\text{TrimC}\subset\text{D}] \quad (2)$$

Así, el equilibrio que se tiene es:



$$K = \frac{[\text{Trim} \subset \text{CD}]}{[\text{Trim}][\text{CD}]} \quad (3)$$

Donde K es la constante de inclusión, $[\text{Trim} \subset \text{CD}]$ es el complejo de inclusión formado entre la CD y el Trimetoprim, $[\text{Trim}]_t$ es la concentración de Trimetoprim libre y $[\text{CD}]_t$ es la concentración de CD libre en el sistema.²⁷

Por lo que de (3)

$$[\text{TrimC}\subset\text{D}] = K [\text{Trim}]_t [\text{CD}]_t \quad (4)$$

Si deseamos obtener el efecto de absorbancia debida al complejo de inclusión formado partiendo de (2) y (1)

$$\Delta \text{Abs} = \epsilon_{\text{Trim}}[\text{Trim}]_t + \epsilon_{\text{Cl}} [\text{TrimC}\subset\text{D}] - \epsilon_{\text{Trim}}[\text{Trim}]_t \quad (5)$$

$$\text{Y si } [\text{Trim}]_t = [\text{Trim}]_t + K [\text{Trim}]_t [\text{CD}]_t, \text{ entonces} \quad (6)$$

Sustituyendo (6) en (5)

$$\Delta \text{Abs} = \epsilon_{\text{Trim}}[\text{Trim}]_t + \epsilon_{\text{Cl}} [\text{TrimC}\subset\text{D}] - \epsilon_{\text{Trim}}[\text{Trim}]_t - \epsilon_{\text{Trim}}[\text{TrimC}\subset\text{D}]$$

Factorizando

$$\Delta Abs = [Trim CCD] (\epsilon_{CI} - \epsilon_{Trim}) \text{ donde } (\epsilon_{CI} - \epsilon_{Trim}) = \Delta \epsilon$$

Así tenemos que

$$\Delta Abs = K \Delta \epsilon [Trim]_t [CD]_t \quad (7)$$

Factorizando de (6)

$$[Trim]_t = [Trim]_t (1 + K[CD]_t)$$

Donde

$$[Trim]_t = \frac{[Trim]_t}{1 + K[CD]_t} \quad (8)$$

Que se sustituye en (7) para poner la ecuación en función de la $[Trim]_t$

Debemos considerar además que

$$[CD]_t = [CD]_t + [Trim CCD] \quad (9)$$

Por lo tanto, si la $[Trim]_t \gg [CD]_t$,

De (9) la $[CD]_t = [CD]_t$, por lo que

$$\Delta Abs = \frac{K \Delta \epsilon [Trim]_t [CD]_t}{1 + k [CD]_t}$$

Que si observamos como una ecuación de $y(x)$

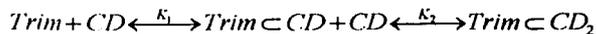
$$y = \frac{K \Delta \varepsilon [Trim]_f x}{1 + kx} \quad (10)$$

En la que $x = [CD]_f$

Cuando la relación estequiométrica es 1:2 y partiendo del desarrollo anterior tenemos:

$$Abs_T = \varepsilon_{Trim} [Trim]_f + \varepsilon_{Cl} [Trim \subset CD] + \varepsilon_{Cl2} [Trim \subset CD_2] \quad (11)$$

El equilibrio que se establece es



Donde

$$K_1 = \frac{[Trim \subset CD]}{[CD]_f + [Trim]_f} \quad (12)$$

$$K_2 = \frac{[Trim \subset CD_2]}{[CD]_f + [Trim \subset CD]} \quad (13)$$

De (12)

$$[Trim \subset CD] = K_1 [Trim]_f [CD]_f \quad (14)$$

De (13)

$$[Trim \subset CD_2] = K_2 [Trim \subset CD] [CD]_f \quad (15)$$

Sustituyendo (14) en (15)

$$[\text{Trim} \subset \text{CD}_2] = K_2 [K_1 [\text{Trim}]_i [\text{CD}]_i] [\text{CD}]_i \quad (16)$$

Considerando que la $[\text{Trim}]_i$ es

$$[\text{Trim}]_i = [\text{Trim}]_j + [\text{Trim} \subset \text{CD}] + [\text{Trim} \subset \text{CD}_2] \quad (17)$$

Sustituyendo (14) y (16) en (17) y factorizando,

$$[\text{Trim}]_i = [\text{Trim}]_j (1 + K_1 [\text{CD}]_i (1 + K_2 [\text{CD}]_i)) \quad (18)$$

Despejando de (18)

$$[\text{Trim}]_j = \frac{[\text{Trim}]_i}{[1 + K_1 [\text{CD}]_i (1 + K_2 [\text{CD}]_i)]} \quad (19)$$

Así, el

$$\Delta \text{Abs} = [\text{Trim} \subset \text{CD}] (\varepsilon_{\text{Cl}} - \varepsilon_{\text{Trim}}) + [\text{Trim} \subset \text{CD}_2] (\varepsilon_{\text{Cl} 2} - \varepsilon_{\text{Trim}})$$

Donde $(\varepsilon_{\text{Cl}} - \varepsilon_{\text{Trim}}) = \Delta \varepsilon_1$ y $(\varepsilon_{\text{Cl} 2} - \varepsilon_{\text{Trim}}) = \Delta \varepsilon_2$

Por lo que

$$\Delta \text{Abs} = [\text{Trim} \subset \text{CD}] \Delta \varepsilon_1 + [\text{Trim} \subset \text{CD}_2] \Delta \varepsilon_2 \quad (20)$$

Sustituyendo (14) y (16) en (20) y poniendo la ecuación en función de $[\text{Trim}]_i$ con (19) se obtiene

$$\Delta Abs = \frac{K[Trim]_1[CD] (\Delta \epsilon_1 + \Delta \epsilon_2 K_2 [CD]_1)}{[1 + K_1[CD]] (1 + K_2[CD]_1)} \quad (21)$$

Que puede convertirse también en una ecuación del tipo y(x).

6.5 SOLUBILIDAD Y VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN

La solubilidad es la máxima cantidad que se disuelve de soluto en el disolvente. El grado de solubilidad de diferentes sustancias varía desde cantidades casi imperceptibles hasta cantidades relativamente grandes, pero para cualquier soluto dado la solubilidad tiene un valor constante a temperatura constante.⁴³

La solubilidad de un compuesto depende tanto de las propiedades físicas como químicas del soluto y del solvente, así como factores como la temperatura, el pH de la solución, la presión, etc.

Una solución **insaturada** o subsaturada es aquella que contiene el soluto disuelto por debajo de la concentración de saturación a una temperatura determinada. Una solución **saturada** es aquella que contiene a una temperatura dada, tanto soluto como puede disolverse y la solución **sobresaturada** es aquella que contiene más cantidad del soluto disuelto que el que normalmente contiene a una temperatura determinada.^{44,45}

En general, los compuestos de carácter químico análogo, son más fácilmente solubles entre sí que los de carácter diferente. Cuando entre dos sustancias existe semejanza química, la solución de ambos guarda un agrupamiento no muy distinto de aquél de las sustancias puras y ambas se toleran entre sí en solución. Por otra parte,

SOLUBILIDAD Y VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN

cuando la naturaleza química de las dos sustancias es considerablemente diferente, no se toleran y hay poca tendencia a la disolución. Entre estos dos casos extremos hay un número considerable de estados intermedios, lo cual explica el amplio intervalo de solubilidad de las diversas sustancias.⁴⁵

La **velocidad de disolución** se define como la cantidad de sustancia que se disuelve por unidad de tiempo en condiciones preestablecidas de temperatura, presión, velocidad de agitación y superficie de intercambio sólido-líquido. Para conseguir la disolución de un soluto en un solvente dado, es condición imprescindible la existencia de una interacción soluto-disolvente que junto con la difusión, son los procesos que están en función de la constante de velocidad.⁴⁶

La mayoría de los factores que influyen en la velocidad de disolución de una sustancia sólida en un líquido no reactivo pueden identificarse a partir de la ecuación de Noyes y Whitney:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{DA(C_s - C)}{h} \quad (22)$$

Donde dm/dt es la cantidad de principio activo disuelto por unidad de tiempo, D es el coeficiente de difusión a través de una capa estática de líquido, h es el espesor de dicha capa, C_s es el coeficiente de solubilidad, C es la concentración de fármaco disuelta a un tiempo t y A es el área superficial.⁴⁶

La disolución de sólidos depende de factores fisicoquímicos que aportan ya sea cambios en las características del soluto, o bien modificaciones en el medio donde se efectúa la disolución, en particular en el espesor de la capa a través de la cual se

SOLUBILIDAD Y VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN

realiza el intercambio de materia entre las partículas a disolver y el disolvente y en la composición de este último.

Los factores que determinan la velocidad de disolución pueden dividirse para su estudio en:

- A. Factores que dependen del **medio de disolución** como a) la intensidad de la agitación, b) temperatura y c) composición del medio, que involucra la influencia del pH, la viscosidad, presencia de adsorbentes, tensión superficial, sales u otros compuestos.
- B. Factores que dependen del **sólido** a disolver como a) la solubilidad que depende de la naturaleza química, polimorfismo e impurezas y b) de la superficie libre que depende del tamaño, forma de las partículas y la porosidad.

Para el estudio de esta tesis, solo se consideraron los factores que dependen del sólido debido a que los factores que dependen del medio de disolución han sido controlados.

Una vez que se conocen estos factores es posible formular algunas consideraciones prácticas para establecer algunos métodos que permitan acrecentar la solubilidad y por consiguiente la velocidad de disolución. Para lograrlo se podría variar la naturaleza química del producto y obtener derivados más solubles, como sucede con las sales y ácidos y bases débiles; emplear tensoactivos; utilizar sustancias amorfas o estados polimórficos de mayor solubilidad; disminuir el tamaño de partículas mediante la pulverización, etc.⁴⁷

SOLUBILIDAD Y VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN

Sin embargo, a continuación se describirá un sistema particular que permite en general, obtener velocidades de disolución superiores a las del sólido normal. Este método conduce a la formación de complejos que a veces presentan solubilidades mayores que el fármaco.

El sistema a estudiar será el que se llevó a cabo con la solubilización de un fármaco (denominado huésped) por complejación con CD's. El efecto del complejo de inclusión puede ser dividido por lo menos en tres componentes principales: Su efecto en la solubilidad del huésped, su efecto en la solubilidad del complejo y su efecto en la interacción del anfitrión con el huésped. Como no siempre es posible aislar estos factores, resulta difícil describir específicamente el efecto particular del complejo de inclusión en su capacidad de solubilizar un huésped particular, éste puede describirse como la constante de complejación, que indica la efectividad del anfitrión como un agente solubilizante dependiente de una combinación de los factores anteriores.

El proceso de complejación es factor clave para la solubilización, sin embargo no es el único que afecta el proceso. La velocidad de disolución y la máxima cantidad de anfitrión soluble, son también factores adicionales dependientes de dicho proceso. Debido a esto, la solubilidad de la Ciclodextrina, del huésped y del complejo determinan la magnitud de la solubilización.

Para estudiar los efectos de solubilización se utiliza el siguiente modelo matemático conocido como modelo de Higuchi-Connors y que está dado por la siguiente ecuación: ⁴⁸

$$S_t = S_o + \frac{K S_o [CD]}{1 + K S_o} \quad (23)$$

Donde S_t es la solubilidad total del complejo y el huésped, S_o indica la solubilidad del Sustrato cuando no se ha adicionado CD y K es la constante de solubilidad del sistema.

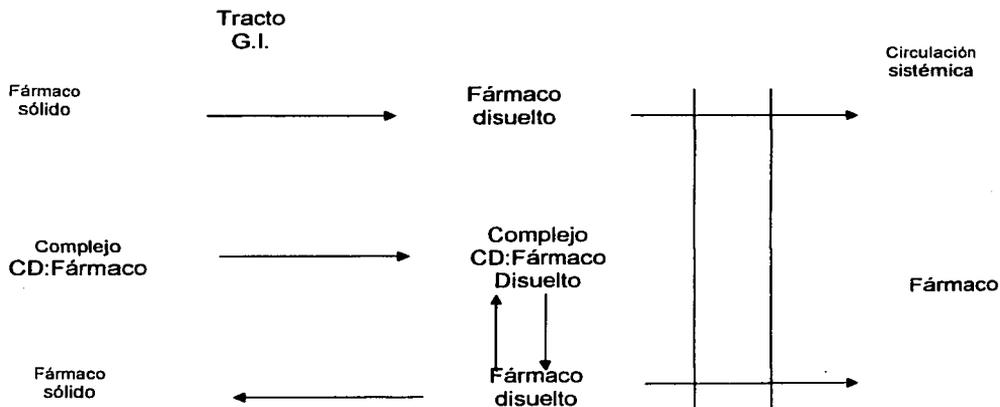


Figura 3 Representación esquemática del proceso de disolución-disociación-absorción del complejo CD:Fármaco

6.6 LIBERACIÓN CONTROLADA

Para lograr y mantener una concentración de fármaco en el cuerpo dentro de un rango terapéutico requerido para la medicación, con frecuencia es necesario tomar las formas farmacéuticas tradicionales varias veces al día. Esto da como resultado el siguiente patrón del nivel de un fármaco:

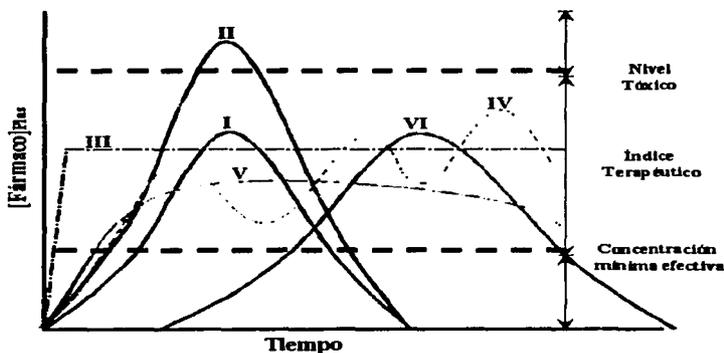


Figura 4 Perfiles de concentración plasmática de un fármaco en la circulación sistémica donde I) es una liberación convencional ó inmediata, II) liberación inmediata a doble dosis, III) liberación continua o por infusión i.v., IV) liberación repetida, V) liberación prolongada y VI) liberación retardada o diferida.

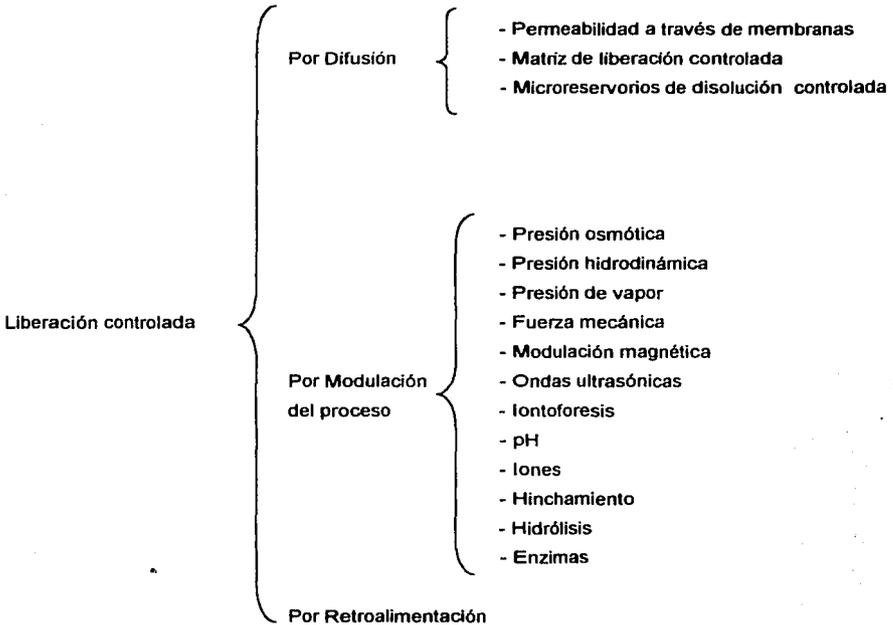
Los principales objetivos de un sistema de liberación controlada de un fármaco son asegurar la seguridad y la eficacia del mismo así como el bienestar del paciente. Han sido diseñados además, para proveer y mantener una cantidad terapéutica de un fármaco durante un tiempo determinado. Este objetivo idealizado constituye el más importante aspecto de liberación de un fármaco, llamado Ubicación espacial y liberación temporal de un fármaco (*Spatial placement and temporal delivery*). En años recientes, se han diseñado numerosos sistemas de liberación controlada, entre los sistemas más utilizados para controlar el grado de liberación de un fármaco encontramos los recubrimientos entéricos, las bombas osmóticas, profármacos, parches transdérmicos y sistemas matriciales principalmente en tabletas,^{49,50} la vía de administración oral ha permanecido como la más deseable para la administración de fármacos de liberación controlada.^{51,52}

LIBERACIÓN CONTROLADA

Para regular el grado de liberación de un fármaco, pueden ser utilizados diferentes sistemas de liberación que proveen de uno o más de los siguientes beneficios:

1. Administración controlada de una dosis terapéutica con un grado de liberación deseable
2. Mantenimiento de la concentración de un fármaco en el nivel terapéutico óptimo para un tratamiento de duración prolongada
3. Maximización de la relación eficacia-dosis
4. Reducción de efectos adversos
5. Minimización de la necesidad de tomar con frecuencia la dosis
6. Incremento de la complacencia del paciente.
7. Vectorización

De esta forma los avances tecnológicos en esta área se catalogan de la siguiente forma:



Dentro del problema que estamos tratando, varios autores clasifican nuestra formulación como un mecanismo de liberación controlada por difusión y otros la catalogan como un mecanismo de liberación por modulación del proceso de hinchamiento, sin embargo, para nosotros ambos mecanismos están presentes en la formulación por lo que a continuación se detallan:

A) **Por Difusión:** En los sistemas de permeabilidad matriciales, el fármaco es total o parcialmente incorporado en un compartimiento o reservorio. El reservorio del fármaco puede contener partículas del fármaco sólido, una dispersión de partículas sólidas del fármaco, o una solución concentrada del fármaco en un medio de dispersión sólido o líquido. El polímero a usar puede ser lipofílico o hidrofílico.⁵⁰(Fig.5)

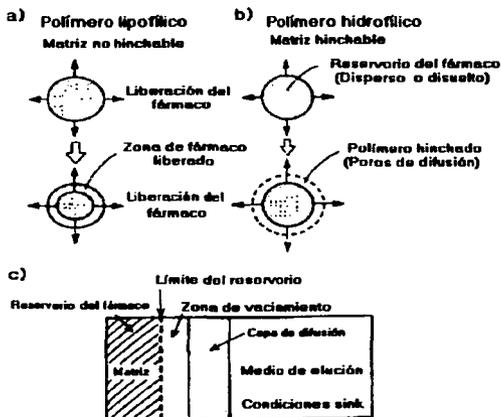


Figura 5 Ejemplos de diferentes tipos de liberación controlada a partir de a) un polímero lipofílico; b) un polímero hidrofílico y c) esquema explicativo del sistema de liberación a partir del sistema polimérico.

B) **Por Hinchamiento:** En este tipo de liberación, el fármaco es homogéneamente dispersado en una matriz hinchable con un polímero hidrofílico, por lo que la liberación es activada y modulada por la inducción de la hidratación en la matriz polimérica. Los sistemas de liberación no porosos (tabletas) proveen mecanismos activados por el solvente proveyendo un hinchamiento controlado que permite una lenta penetración del disolvente en la tableta por ejemplo. Para obtener una liberación de orden cero, el

fármaco se incorpora en un polímero que en contacto con el agua alcanza su T_g (temperatura de transición vítrea) provocando el hinchamiento de la tableta; dependiendo del grado de hinchamiento, se obtiene una liberación constante del fármaco. Peppas et al, diseñó el tipo de liberación de fármacos activados por el disolvente. Como ejemplo tenemos los productos de almidón entrecruzado en el que el fármaco es dispersado en el polímero formando una película no porosa, discos o esferas. Una vez que entran en contacto con el medio de disolución se observa una interfase correspondiente a la penetración del agua en el polímero. Existe entonces una relajación macromolecular obteniéndose una liberación de orden cero. ⁵³ (Fig. 6). El mecanismo de liberación de formas dosificadas con hidrocoloides incluyen la difusión, el transporte anormal y/o la erosión. ⁵⁴

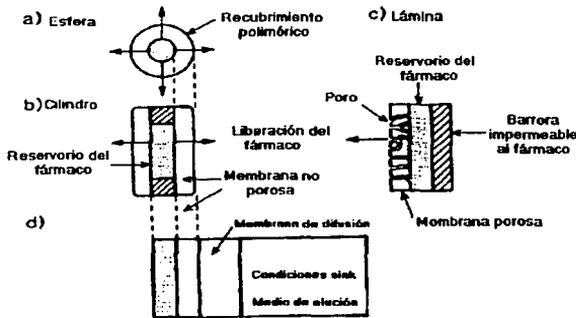


Figura 6 Liberación de un fármaco de un sistema de liberación controlada a partir de membranas permeables: a) esférica, b) cilíndrica, c) laminar y d) esquema de liberación de fármacos a través de matrices poliméricas y de difusión hidrodinámica.

Una matriz se define como una mezcla de componentes de uno o mas fármacos con un polímero o mezcla de polímeros. Para definir las características de la matriz, se estudia la naturaleza química del polímero, el estado físico del fármaco, las vías de

LIBERACIÓN CONTROLADA

administración y el modelo cinético de liberación (prefiriéndose las de orden cero) y los mecanismos de liberación controlada (difusión, erosión, hinchamiento, etc.).⁵⁵ (Tabla 3)

MATRICES MINERALES	MATRICES BIODEGRADABLES (No lipídicas)		MATRICES LIPÍDICAS
	MATRICES HIDROFÍLICAS	MATRICES INERTES	
Fármaco retenido en el soporte	Liberación por difusión. Hinchamiento ilimitado	Liberación controlada por difusión	Liberación por difusión
Fármaco adsorbido en el soporte	Liberación por hinchamiento. Hinchamiento limitado		Liberación por erosión

Tabla 3 Clasificación de sistemas matriciales

Los polímeros hidrofílicos se ven afectados por factores como el medio de disolución, la hidratación, la composición y la viscosidad del polímero, así como la solubilidad del fármaco, la proporción fármaco-polímero, las interacciones entre fármaco-polímero, entre otras. Para realizar la selección de un polímero hidrofílico se tienen que tener en cuenta las siguientes propiedades fisicoquímicas y biológicas del fármaco:⁵⁵

- ✓ **Dosis** (cantidad de fármaco administrado), principalmente por vía oral ya que generalmente es dos o tres veces mas grande que la de una forma farmacéutica convencional.
- ✓ **Solubilidad acuosa**, ya que se prefieren aquellos fármacos que no presentan problemas de solubilidad en agua.
- ✓ **Coefficiente de partición**, que explica la capacidad de un fármaco para pasar a través de la membrana e interactuar con su receptor.
- ✓ **El pKa**, que determina la forma en la que se encuentra el fármaco (ionizada-no ionizada) y afecta el coeficiente de partición.

- ✓ **Estabilidad del fármaco**, para evitar posibles degradaciones como pueden ocurrir en el tracto gastro-intestinal.
- ✓ **Peso molecular**, que determina la posibilidad de difundir a través del polímero.
- ✓ **Tiempo de vida media del fármaco**, ya que es difícil controlar este parámetro cuando son muy cortos o grandes. Tolerancia de 2-6 horas para este tipo de formulaciones.
- ✓ **Absorción**, se recomienda que se absorban rápido para que el sistema de liberación tenga el éxito deseado.
- ✓ **Índice terapéutico**, para obtener la concentración de fármaco adecuada en el paciente por el tiempo requerido.

A continuación se presentan algunos ejemplos en los que se utilizan polímeros hidrofílicos, en ellos se encontrarán sus ventajas y desventajas, así como algunos modelos a los cuáles se han ajustado los datos reportados.

Uno de los métodos más utilizados en la liberación controlada de fármacos es el uso de excipientes poliméricos hidrofílicos que pueden ser directamente comprimibles con el ingrediente activo en tabletas. Los polímeros hidrofílicos se hinchan en presencia de agua formando estructuras de hidrogel, de las cuales se liberan los fármacos por difusión. El grado de modulación de la liberación es obtenido por el uso de diferentes tipos de polímeros solos o en combinaciones. Por ejemplo; se llevo a cabo la optimización del grado de liberación del hidrocloreuro de propanolol de mezclas que contenían dos tipos de polímeros hidrofílicos: Hidroxipropil-metil-celulosa (HPMC) y Carboximetil Celulosa Sódica (CMCNa). La prueba se realizó haciendo mezclas en diferentes proporciones de los dos polímeros con el ingrediente activo para conocer los factores que influyen la liberación.⁵⁶

La compactación de una mezcla constituida por un fármaco y un polímero, fue propuesta por primera vez por Higuchi (1963), es de las técnicas más eficientes para

obtener tabletas de liberación controlada. A diferencia de los sistemas matriciales ofrece una mayor ventaja el fácil procedimiento de fabricación y manufactura a gran escala, las cinéticas de liberación están directamente influenciadas por la formulación y factores fisicoquímicos.⁵⁷

Alderman (1984) encontró que la liberación de un fármaco por un sistema matricial es producido por dos mecanismos simultáneos: erosión y atrición de las capas más externas, las menos consisten de una capa gelificada y de la disolución de principios activos en el medio líquido y difusión a través del polímero. La incidencia de la gran dependencia de la estructura física de los polímeros, su grado de entrecruzamiento, de cristalinidad y también en las posibles interacciones soluto-polímero hacen que la difusión de los fármacos sea posible por la vía del volumen libre entre cadenas de polímeros, por ejemplo.⁵⁷

En las matrices de tabletas tradicionales preparadas con polímeros hidrofílicos como la Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), en el cual no se tiene una estructura entrecruzada unida covalentemente, se forma una película gelatinosa en la superficie de la tableta que se hidrata. Entonces, a mayor concentración del polímero lineal, las cadenas se enredan formando un *entrecruzamiento virtual* y por lo tanto, la capa gelatinosa se hace más fuerte, en la que después de que se disuelve el polímero liberando el fármaco.⁵⁸

Otros sistemas de control de liberación de fármacos es a través de bases lipídicas. Estos sistemas de liberación están compuestos de partículas microscópicas que contienen el fármaco hidrofílico dentro de una matriz lipofílica que generalmente tienen gran estabilidad, como ocurre con el Metotrexato que es administrado por medio de un catéter directo al tumor, una vez que es encapsulado, se retarda su liberación y disminuye la cantidad de veces que se tiene que administrar al paciente.^{59,60}

También podemos encontrar matrices de polímeros hidrofóbicos como el Methocel, que muestran tener una mejor efecto de liberación controlada para ABT-089 (modulador colinérgico) que un polímero hidrofílico.⁶¹

Algunos sistemas erosionables como el copolímero de quitosán/etilcelulosa, es utilizado para otorgar propiedades mucoadhesivas a las tabletas obteniendo así la liberación del fármaco en mucosas como la boca, que facilitan la administración de fármacos ya que evitan la degradación gástrica y hepática principalmente.⁶²

Los polímeros también pueden utilizarse para controlar la permeabilidad del fármaco con el fin de mejorar su biodisponibilidad, para estos casos son muy utilizados los polímeros de celulosa para la liberación de acetato de hidrocortisona por ejemplo, en el que se ha demostrado que a través de un proceso de supersaturación del polímero, se controla e incrementa la biodisponibilidad de la hidrocortisona.⁶³

La existencia de períodos de liberación de orden cero en formas de dosificación por canales predichas teóricamente por Gurny et al. (1982) y demostrada experimentalmente por Potter et al. (1992) y Caraballo et al. (1993,1996) en tabletas, puede ser atribuido a la saturación del fármaco dentro de los poros de la matriz. Bajo estas condiciones, el grado de disolución llega a ser más lento que el grado de difusión y puede determinarse la cinética de liberación del proceso.⁵¹ En algunos casos, se utilizan teorías que pueden explicar los comportamientos como en el caso del concepto de percolación, en el cual, es posible predecir el comportamiento de un polímero de forma estadística para la liberación de un fármaco.⁶⁴ Por otro lado, se han investigado ampliamente los modelos de liberación controlada de sistemas matriciales de fármacos hidrosolubles. Entre estos, cabe destacar los propuestos por Higuchi usando matrices poliméricas con excipientes.⁵¹

Los polímeros sintéticos biodegradables han recibido gran atención en los últimos años debido a sus aplicaciones en la industria farmacéutica y en medicina, ya que se comportan como sistemas acarreadores, además debido a que sus procesos de síntesis son muy sencillos, por ejemplo, destaca el Poli(metilgioxilato), que presenta un proceso de liberación controlada y es altamente usado cuando se requiere la obtención de dispersiones sólidas.⁶⁵

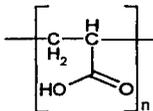
Los polisacáridos naturales y sus derivados representan un grupo de polímeros ampliamente usados en las formulaciones farmacéuticas y en la mayor parte de los casos, su presencia juega un rol fundamental en el grado de liberación de una forma farmacéutica. Entre ellos, los de mayor importancia son el Escleroglucano y sus derivados como el Gelano. Ambos son polisacáridos microbianos y dan la posibilidad de entrecruzarlos por lo que han sido ampliamente estudiados. Es bien conocida la habilidad peculiar del exopolisacárido microbiano Gelano de producir geles acuosos físicamente en presencia de cantidades relativamente pequeñas de sales univalentes que han sido explotadas en orden de obtener una nueva clase de polímeros mixtos con propiedades fisicoquímicas que involucran la formación de redes o mallas con estructura ordenada por lo que se consideran doblemente entrecruzados (co-crosslinking) y que mejora su propiedad de modular la liberación del fármaco. Esta cruz se obtiene por la activación de los grupos carboxílicos del Gelano con EDC (Hidrocloruro de 1-etil-3-(dimetilaminopropil)carbodiimida) soluble en agua por su reacción con los grupos hidroxilo vecinos de la cadena polisacárida.⁶⁶

Otro ejemplo de biopolímeros es la Amilosa que es esencialmente un polímero lineal de unidades de glucopiranososa con uniones α -D-(1,4). Las matrices de Amilosa sustituida permiten la liberación constante de un fármaco y utilizarlo para compresión directa por mezclado en seco de ambos componentes, como resultado del contacto con

el agua se obtiene un control del transporte del fármaco fuera de la matriz debido al relajamiento y estrés de las cadenas de Amilosa sustituida.⁶⁷

Ishikawa et al, han estudiado el efecto de tener mezclas de polímeros, en este caso uno orgánico Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y otro inorgánico Macrogol 6000 (PEG), en la liberación y biodisponibilidad de un fármaco poco soluble en agua como es la Nifedipina que es un potente antagonista del Calcio. De los experimentos presentados, se encontró un incremento en la solubilidad de la Nifedipina cuando se utilizaba la mezcla Nifedipina-HPMC ó cuando se tenía Nifedipina- PEG; sin embargo, a pesar de que las mezclas independientes eran capaces de solubilizar la Nifedipina, la mezcla Nifedipina-HPMC-PEG, demostró su capacidad de incrementar la biodisponibilidad del fármaco en conejos por que todas las formulaciones presentaban una liberación controlada. De esta forma, se ha intentado comprobar que el uso de mezclas poliméricas es más eficiente que el usar un solo polímero, debido a que se entremezclan sus características y existen varias posibilidades de liberación del fármaco.^{58,68}

6.6.1 CARBOPOL



Nombre químico:	Carbómero 974P. Sinónimo: Carbopol 974P
Apariencia	Polvo blanco, higroscópico con ligero olor característico.
Acidez (pH)	De una solución al 0.5% w/v es de 2.5-3.5
Temperatura de transición vítrea (Tg)	100-105° C
Punto de fusión	A 260° C después de 30 minutos
Solubilidad	Soluble en agua
Incompatibilidades	Con fenol, polímeros catiónicos, ácidos fuertes y altos niveles de electrolitos
Comentario	El indicativo P del Carbopol denota que tiene un grado farmacéutico aceptable para productos en contacto directo con las mucosas o para administración vía oral.

Tabla 4 Propiedades más importantes del Carbopol 974P ⁶⁹

Los carbómeros son polímeros sintéticos de alto peso molecular entrecruzados derivados del ácido acrílico. Su característica más importante quizá, consiste en su gran capacidad de hidratación, absorción de agua y que son fácilmente hinchables. Su naturaleza hidrofílica y su estructura entrecruzada, los hacen candidatos altamente potenciales para su uso en sistemas de liberación controlada de fármacos, además de que generan en la mayor parte de los casos mecanismos de liberación de orden cero.⁷⁰⁻

73

En los últimos años, las resinas carboméricas han tenido gran éxito como matrices para tabletas de liberación controlada. Este polímero ofrece una alternativa de perfiles de liberación, compatibles con una variedad de ingredientes activos y otros excipientes, confiriendo características deseables a la tableta y la conveniencia del uso

de métodos de fabricación y equipo estándar. Las resinas de Carbopol son ideales para procesos de compresión directa, ya que se comprimen muy bien y también tienen características de unión muy fuertes, entre ellos tenemos el Carbopol 974P que se incluye dentro de los carbómeros utilizados para la administración oral. Éste es un polímero sintético entrecruzado de alto peso molecular proveniente del Ácido acrílico, que es polimerizado en acetato de etilo y tratado ligeramente con Potasio (1-3%). (Fig. 6) Contiene entre el 56-68% de grupos carboxílicos (-COOH) en su composición. El peso molecular de las resinas carboméricas teóricamente estimado es de 700,000 a 4 billones.⁶⁹ Debido a sus propiedades, ha sido usada como matriz en gel en suspensiones y cremas para uso externo o como matriz bioadhesiva para formulaciones bucales, rectales y nasales. Como matriz para formulaciones de liberación controlada, ha sido estudiada para compresión directa junto con la Hidroxipropilmetilcelulosa en tabletas y para dispersiones sólidas.^{70,72,74}

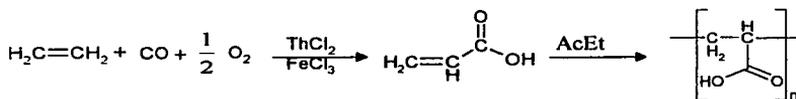


Figura 7 Reacción del etileno para la formación del ácido acrílico que es polimerizado en disolución en Acetato de etilo para obtener el Carbopol.

Encontramos además, que son ampliamente utilizados en formulaciones para compresión directa. Para esto, se han usado diferentes tipos de polímeros que logran el control de la liberación del fármaco de una forma farmacéutica para ser absorbidos por el cuerpo. Los carbómeros más conocidos y utilizados para este fin son las resinas del Carbopol 934P y el 971P, que poseen diferentes grados farmacéuticos orales. La razón del hinchamiento del polímero es debido al ambiente debido a altos valores de pH, debido a la ionización del grupo del ácido carboxílico del Carbopol 934P, ya que ocurre

una repulsión iónica en el polímero, el cual es manifestado a nivel macro como hinchamiento^{49,71,72}

O como ocurre en el caso del Carbopol Ultrez 10 en donde a un pH más básico, la cadena del polímero se encuentra completamente relajada debido al efecto del pH, lo cual facilita la formación de redes tridimensionales que permiten la liberación o la retención del fármaco.⁷⁵(Fig. 8)

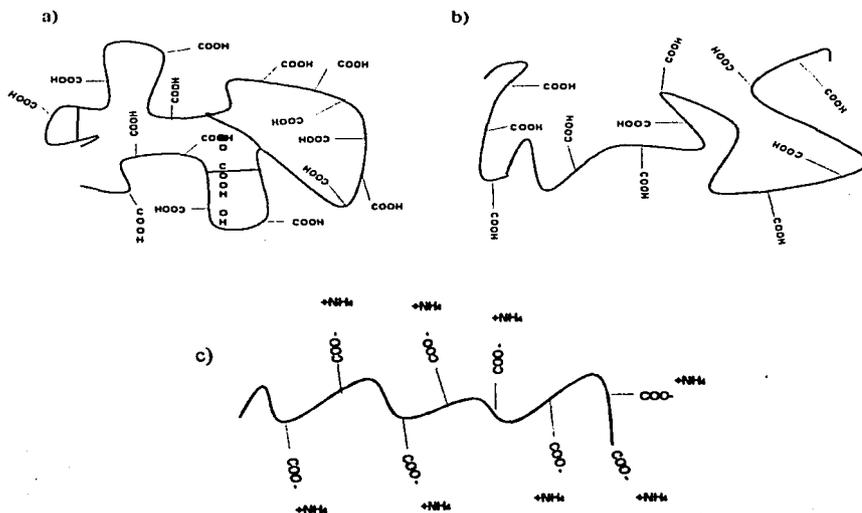


Figura 8 Efecto del pH en la estructura del Carbopol, a) A pH ácido la cadena se encuentra colapsada, b) a pH neutro, la cadena se encuentra relajada y c) a pH ligeramente básico las cadenas se encuentran completamente relajadas.

Lo que se requiere entonces es que las cadenas del Carbopol se relajen lo suficiente para permitir la liberación del fármaco a través de los poros que se forman como producto del hinchamiento del mismo. Como se trata de un polímero sintético, es eliminado del cuerpo sin sufrir degradación alguna, además, es importante mencionar que los efectos producidos por el Carbopol son más reproducibles que aquellos que puedan obtenerse de polímeros naturales, dado que su método de síntesis es más controlado, lo que permite conocer el porcentaje de polímero obtenido, la cantidad de monómero residual y la composición total del mismo (Peso molecular).⁵⁷

7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVO

Como se ha mencionado anteriormente, existen graves errores al elaborar formas farmacéuticas para uso veterinario ya que en la mayor parte de los casos, su diseño proviene de la extrapolación directa de los utilizados en humanos, por ejemplo, se han realizado estudios que validan la existencia de la sinergia *in vivo* en virtud de que tanto la sulfonamida elegida (Sulfametoxazol) como el Trimetoprim tienen un comportamiento farmacocinético muy similar², con tiempo de vida media de eliminación ($t_{1/2\beta}$) de 10 horas en humanos, en contraste con el $t_{1/2\beta}$ del Trimetoprim en pollo de engorda que fluctúa entre 1 y 2 horas,⁷⁶ haciendo que la actividad de los fármacos administrados no sea la deseada porque no ejercen su efecto terapéutico y evitando así que recuperen su salud o que se genere resistencia, así que cuando se administra una sulfonamida con Trimetoprim, mientras la primera ejerce el efecto esperado, puede suponerse que la segunda solo alcanzará la concentración plasmática adecuada en un tiempo inicial muy corto para que se lleve a cabo el efecto sinérgico y una vez que éste es eliminado, disminuya el efecto antibacteriano cerca de 20 veces.

Aunado a esto, el Trimetoprim presenta una velocidad de disolución en agua muy lenta, lo cual determina otro nuevo problema porque la administración es por vía oral utilizando tanques a los que se les adiciona el medicamento (Sulfa + Trime).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVO

En vista de lo anterior, se plantea como objetivo general el lograr una formulación que aumente considerablemente la velocidad de disolución del Trimetoprim, pero que a su vez y considerando el factor de dilución en tinaco, se logre una cinética de liberación controlada que permita mantener una concentración constante.

Los objetivos particulares propuestos son:

- ❖ Estudiar la formación de Complejos de Inclusión con las diferentes Ciclodextrinas.
- ❖ Estudiar los tipos de isotermas de unión que se forman en disolución con Ciclodextrinas y el Trimetoprim.
- ❖ Establecer el comportamiento de los complejos de inclusión formados en sólido con la Ciclodextrina elegida, además de llevar a cabo su caracterización.
- ❖ Determinar cuál es la proporción óptima de CD:Huésped en función de la cantidad de Trimetoprim solubilizado y de las velocidades de solubilización.
- ❖ Establecer diversas formulaciones para la elaboración de la tableta de liberación controlada utilizando como matriz Carbopol 974P
- ❖ Estudiar los efectos de la adición del Carbopol 974P a los complejos y mezclas físicas formadas comparando contra el Trimetoprim solo y/o con CD.
- ❖ Determinar la mejor relación de Carbopol-complejo o Carbopol-Mezcla Física para conseguir la liberación controlada
- ❖ Obtener una formulación final de liberación controlada que mantenga la concentración terapéutica de Trime en el tinaco a pesar del factor de dilución.

8. PARTE EXPERIMENTAL

8.1 MATERIAL

La mayor parte de los estudios que se realizaron se llevaron a cabo utilizando un espectrofotómetro UV-Visible Ocean Optics S-2000. Para la caracterización se utilizó un equipo de Infrarrojo OPUS; para Rayos X el equipo SIEMENS D5000; para Análisis Térmico el termoanalizador Mettler-Toledo con módulo de DSC 821^e y para RMN el equipo Unity Inova Varian a 300 MHz en H¹ y 75 en C¹³.

8.2 MÉTODOS

8.2.1 Estudios de formación de complejos con diferentes Ciclodextrinas en disolución.

- ◆ Elaboración de la curva de calibración de Trimetoprim en agua y en buffer de fosfatos pH= 7.5 en las siguientes concentraciones molares: 1e-6, 2e-6, 4e-6, 6e-6, 8e-6, 1e-5, 2e-5, 4e-5, 6e-5, 8e-5, 1e-4, 2e-4 y 4e-4, partiendo de una solución stock de 1e-3 M de Trimetoprim.
- ◆ A partir de la curva de calibración se eligió la concentración de 4e-5 M como la concentración óptima para observar los cambios (desplazamientos del máximo de absorción, aparición o desaparición de picos de máxima absorción, disminución o incremento de la intensidad de la curva, etc.) necesarios para determinar la relación existente entre el Trimetoprim y las diferentes Ciclodextrinas.
- ◆ Para cada Ciclodextrina (alfa, beta, gamma, HP y Ttrimetoprim 4e-5 M) se realizaron las curvas respectivas partiendo de una solución stock de CD 1e-2 M para obtener las siguientes concentraciones de CD: Concentración inicial =0, 1e-4, 5e-4, 1e-3, 2e-3, 4e-3, 6e-3, 8e-3, 1e-2, 2e-2, 4e-2 Y 6e-2. Aforar siempre con la solución de Trimetoprim 4e-5 M.

- ◆ Determinación espectrofotométrica UV-Vis de todas las muestras.
- ◆ Tratamiento matemático con el programa Origin 6 para encontrar el o los picos de máxima absorción en cada curva y determinación del comportamiento en cuanto a la formación de complejos y las relaciones obtenidas (1:1, 1:2, 2:1) utilizando un modelo matemático establecido en estudios previos, en general conocido como modelo de isoterma de unión. (Ecuación 10)
- ◆ En base a los resultados experimentales obtenidos, elegir la CD que incremente la solubilidad del Trimetoprim en mayor cantidad o proporción.

8.2.2 Elaboración del complejo Trimetoprim-HP- β -CD (Ciclodextrina electa) en sólido por la técnica de amasado.

- ◆ Macerar cada compuesto por separado con ayuda de un mortero de porcelana hasta lograr un tamaño de partícula menor a 100 μm .
- ◆ Asegurarse de esto tamizándolos de forma independiente con una malla que nos del tamaño deseado.
- ◆ Realizar las siguientes mezclas:

Cantidad de moles de HP- β -CD	Cantidad de moles de Trimetoprim
1	1
10	1
50	1
100	1

- ◆ Preparar 1 g de cada muestra. Anotar el volumen de agua y el tiempo requeridos para obtener el amasado.
- ◆ Colocar las muestras en viales bien etiquetados y mantenerlos en la estufa a 40 °C hasta eliminar completamente la humedad (por lo menos 48 horas).

- ◆ Determinar la Humedad Relativa y si es necesario, regresar las muestras a la estufa hasta obtener una $H_r = 0$.
- ◆ Realizar el mismo experimento (partiendo del punto 10.3.2) pero utilizando exclusivamente una acción de mezclado físico.
- ◆ Realizar las mediciones en IR de acuerdo a los manuales establecidos para tal fin, con 0.002 g de la muestra y ajustar el peso a 0.02 g con Bromuro de Potasio seco.
- ◆ Identificar las bandas más significativas e interpretar datos con ayuda del programa OPUS.

8.2.4 Realizar la prueba de solubilidad a todos los complejos y al principio activo sin complejar.

- ◆ Para esto, colocar en tubos de ensaye 3mL de solución buffer de fosfatos pH 7.5 la cantidad de muestra suficiente para que se sature la solución y se observe aún muestra suspendida (sin disolver). Hacer el estudio por triplicado.
- ◆ Colocar todos los tubos en un Baño de agua a 25 ° C, durante 48 horas con agitación.
- ◆ Al término del plazo establecido, observar si existe aún muestra sin disolver, en este caso, puede procederse como se indica en el siguiente punto, si no es así, debe colocarse más muestra y esperar otras 48 h bajo las mismas condiciones.
- ◆ Determinar la concentración de Trimetoprim presente en cada muestra utilizando la Espectroscopia UV-Vis y el programa Origin 6. Si es necesario, realizar las diluciones necesarias para estar dentro del límite establecido en la Ley de Lambert y Beer.
- ◆ En base a los resultados obtenidos, reportar la cantidad en mol/L de Trimetoprim disuelto y elegir aquél que incremente su solubilidad en mayor proporción. Esto involucra la comparación entre amasados vs. mezclas físicas.

8.2.5 Hacer estudios de Difracción de polvos en Rayos X con un equipo SIEMENS

D5000, con anticátodo de cobre, $\lambda = 1.5406$ Amstrongs y el software Diffra^{cc} AT (1993), versión 3.3 a 35 kV y 30 mA, con detector de centelleo; interpretar el estudio en función de la cantidad de Trimetoprim complejada.

8.2.6 Realizar un NOESY con ayuda de un equipo para RMN con frecuencia de 4000 MHz durante 12 horas en agua deuterada.

8.2.7 Realizar el estudio de velocidad de disolución de la siguiente forma:

- ◆ Colocar 2.5 mL de buffer de fosfatos pH= 7.5 o agua destilada en una celda de UV
- ◆ Adicionar el equivalente a 0.1 mg de Trimetoprim con diámetro menor a 100 μm .
- ◆ Colocar el equipo Ocean Optics S-2000 en el modo de cinética midiendo la Absorbancia desde el tiempo $t = 0$ hasta $t = 2$ h cada 30 segundos (o menos, dependiendo de la velocidad de disolución de las muestras) en agitación constante.
- ◆ Obtener las constantes cinéticas para cada complejo, mezcla física y Trimetoprim solo para comparar la variación de las mismas.

8.2.8 Reología

8.2.8.1 Tamaño de partícula

- ◆ Pesar cada una de las mallas, incluyendo la base. Registrar el peso de las mallas
- ◆ Colocar en forma ascendente las mallas 850, 425, 250, 150 y 75
- ◆ Tapar y sujetar la torre de mallas, agitar y golpear la torre durante 5 minutos
- ◆ Pesar cada malla individualmente y determinar la cantidad de muestra depositada en cada malla (peso de la malla con muestra - peso de la malla sin muestra).

- ◆ Reportar los resultados obtenidos como por ciento de peso retenido por cada malla.
- ◆ Repetir la determinación 3 veces. Graficar los resultados de No. De malla contra el % retenido.

8.2.8.2 Densidad aparente y densidad compactada

- ◆ Pesar 0.4 g de las materias primas, del complejo y de la mezcla física
- ◆ Vaciar la muestra en una probeta de 10 mL teniendo cuidado de no golpearla y medir el volumen de la muestra.
- ◆ Determinar la densidad aparente= peso de la muestra / volumen
- ◆ Colocar la probeta dentro de un anillo metálico que se encuentra a una distancia de 5 cm sobre la base de la probeta dejándola caer sobre una superficie plana sin rebasar la altura del anillo hasta que el volumen sea constante.
- ◆ Calcular la densidad compactada= peso de la muestra / volumen constante
- ◆ Calcular el % de compresibilidad= (densidad compactada - densidad aparente)/densidad compactada
- ◆ Interpretar el % de compresibilidad de acuerdo al manual ya establecido para ello.

8.2.8.3 Densidad verdadera

- ◆ Pesar el picnómetro vacío (P1)
- ◆ Dosificar en el picnómetro vaselina líquida hasta el aforo y pesar (P3)
- ◆ Vaciar la vaselina y adicionar un peso de la muestra.
- ◆ Pesar el picnómetro con la muestra
- ◆ Dosificar en el picnómetro vaselina líquida hasta la mitad. Dejar reposar durante 10 min. Posteriormente aforar con vaselina líquida y pesar (P5).
- ◆ Vaciar el contenido del picnómetro. Lavar y secar el picnómetro. Dosificar en el picnómetro hasta el aforo agua purificada (P2).
- ◆ Densidad verdadera= $(PV) \cdot (P4 - P1) / ((P3 - P1) - P5)$ donde PV es el peso específico de la vaselina= $P3 - P1 / P2 - P1$
- ◆ Porosidad= $1 - D_{aparente} / D_{verdadera}$

8.2.8.4 Velocidad de flujo

Determinar la velocidad de flujo con el flujómetro. Hacer la determinación 3 veces. Donde $V_f = m/t$, donde m = peso del vaso con muestra - peso del vaso vacío (en gramos), t = tiempo en segundos.

8.2.8.5 Angulo de reposo

- ◆ Con ayuda del anillo, sostener un embudo de tal forma que la distancia entre la superficie de la mesa y la punta del embudo sea de 10 cm.
- ◆ Colocar debajo una hoja milimétrica
- ◆ Pesar 0.5 g de la muestra. (para 3 determinaciones)
- ◆ Tapar la salida del embudo con papel aluminio
- ◆ Remover el papel aluminio de la salida del embudo y dejar fluir libremente la muestra.
- ◆ Medir la altura de la acumulación de la muestra con el vernier, teniendo cuidado de no modificar la formación de la muestra.
- ◆ Medir el diámetro formado por la acumulación de la muestra.

8.2.8.6 Determinar el ángulo de reposo y la fluidez de acuerdo al manual establecido.

Angulo de reposo = $1/\text{Tan}(h/r)$ donde h es la altura de la acumulación de la muestra y r el radio de acumulación

8.2.8 Realización de las formulaciones para la liberación controlada

Realizar las siguientes mezclas:

Cantidad de moles de MF:HP- β -CD 1:10	Cantidad de moles de Carbopol 974P
1	1
1	2
1	3

Mezclar por acción física por 5 minutos y realizar los estudios de liberación como indica el punto 8.2.1 pero solo en agua.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 RESULTADOS

9.1.1 FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN EN DISOLUCIÓN

Los gráficos 1 al 8 representan las Isotermas de Unión del Trimetoprim con la correspondiente Ciclodextrina en diferentes medios de disolución (agua de pH= 6.61 y buffer de pH=7.5), a temperatura ambiente. Los datos experimentales están representados con los símbolos, mientras que los ajustes no lineales se muestran con líneas. Las ecuaciones de ajuste (10 y 21) se muestran en el Capítulo 6.4.3 también denominado modelo de Bjerrum.

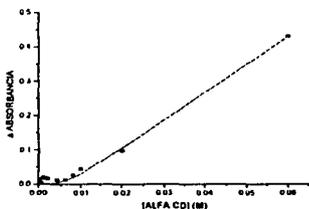


Gráfico 1 Alfa CD en agua

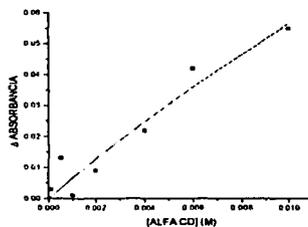


Gráfico 2 Alfa CD en buffer

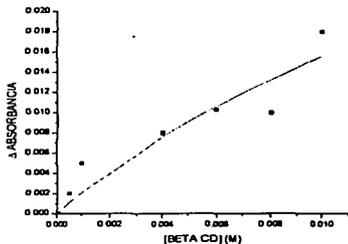


Gráfico 3 Beta CD en agua

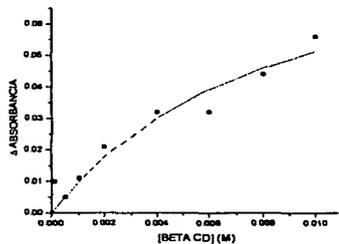


Gráfico 4 Beta CD en buffer

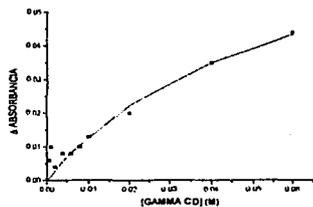


Gráfico 5 Gamma CD en agua

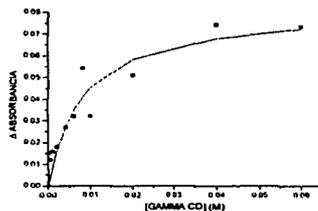


Gráfico 6 Gamma CD en buffer

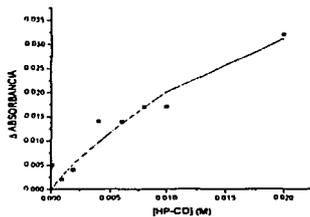


Gráfico 7 HP- Beta CD en agua

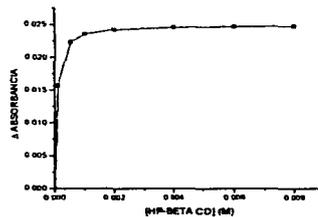


Gráfico 8 HP- Beta CD en buffer

A continuación se presenta la tabla 1 que resume las constantes encontradas para cada Isoterma de unión:

CD	CONSTANTE DE UNIÓN K	CONSTANTE DE UNIÓN K	$\Delta\epsilon$: En agua	$\Delta\epsilon$: En buffer
	En agua	En buffer		
Alfa	$440 \pm 20 \text{ M}^{-2}$	$48 \pm 4 \text{ M}^{-1}$	17500 ± 400	6197 ± 390
Beta	$9 \pm 0.8 \text{ M}^{-1}$	114 ± 10	8477 ± 676	2401 ± 126
Gamma	$18 \pm 2 \text{ M}^{-1}$	$127 \pm 22 \text{ M}^{-1}$	2062 ± 104	22029 ± 120
HP-Beta	$40 \pm 3 \text{ M}^{-1}$	$17020 \pm 0.00014 \text{ M}^{-1}$	1730 ± 99	623 ± 3

Tabla 1 Constantes obtenidas a través del modelo matemático de las Isotermas de unión

En todos los casos las constantes de unión son mayores en buffer que en agua y en ambos casos se pueden encontrar la siguiente tendencia: $H_p > \gamma > \beta > \alpha$. No puede compararse el caso de α en agua ya que se forma un complejo 1:2 y las unidades por lo tanto, son diferentes.

La tabla 2 muestra las relaciones estequiométricas encontradas dependiendo del modelo matemático de isoterma de unión al que mejor se ajustan.

CICLODEXTRINA	EN AGUA (Trime:CD)	EN BUFFER (Trime:CD)
Alfa	1:2	1:1
Beta	1:1	1:1
Gamma	1:1	1:1
HP-Beta	1:1	1:1

Tabla 2 Relación estequiométrica encontrada para las diferentes CD con Trimetoprim en agua y buffer

Los resultados muestran la importancia del pH en el proceso de complejación.

Las concentraciones de Trimetoprim en los medios de disolución, se eligieron a partir de las curvas de calibración representadas en los gráficos 9 y 10.

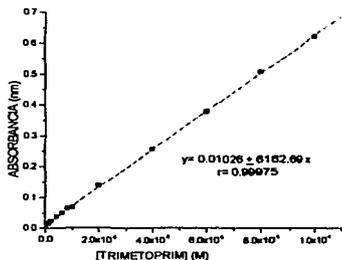


Gráfico 9 Curva de calibración en buffer para Trimetoprim

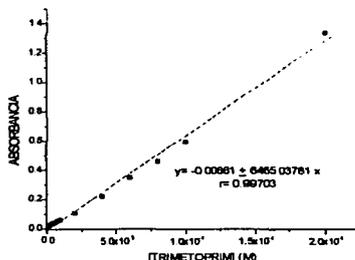


Gráfico 10 Curva de calibración en agua de Trimetoprim

9.1.2 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

9.1.2.1 SOLUBILIDAD EN DISOLUCIÓN

Antes de estudiar el comportamiento de los sólidos (Mezclas físicas y amasados), se realiza la prueba de solubilidad de Higuchi-Connors con el fin de conocer el efecto producido por la presencia de la CD en ambos medios de disolución.

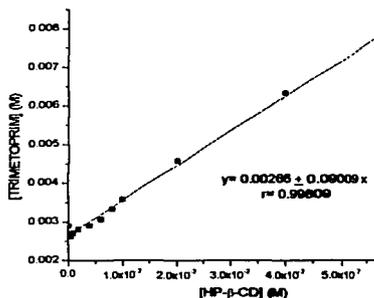


Gráfico 11 Solubilidad del Trimetoprim en buffer con HP-β-CD por el método de Higuchi

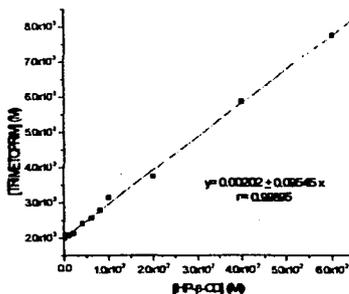


Gráfico 12 Solubilidad del Trimetoprim en agua con HP-β-CD por el método de Higuchi

De acuerdo a la ecuación de Higuchi:

$$S_t = S_0 + \frac{K S_0 (CD)}{1 + K S_0}$$

Que presenta la forma de una línea recta donde S_0 es la ordenada al origen y K se obtiene del despeje de la pendiente. En estas gráficas se puede ver que al incrementar la concentración de HP en disolución, se incrementa la concentración de Trimetoprim disuelto tanto en agua como en buffer.

9.1.2.2 SOLUBILIDAD EN SÓLIDO

Esta prueba se realizó a las muestras sólidas (MF y Amasados) para corroborar la tendencia obtenida en disolución y para saber como afecta el hecho de que la muestra sólida sea de MF o de Amasado y como afecta la cantidad de CD presente en el sólido.

RELACIÓN MOLAR	MEZCLAS FÍSICAS (M)	AMASADOS (M)
Trimetoprim	0.00221	
1:1	0.00292	0.00288
1:10	0.00568	0.00607
1:50	0.00145	0.00152
1:100	0.00090	0.00083

Tabla 3 Tabla comparativa de solubilidades por los dos métodos en buffer

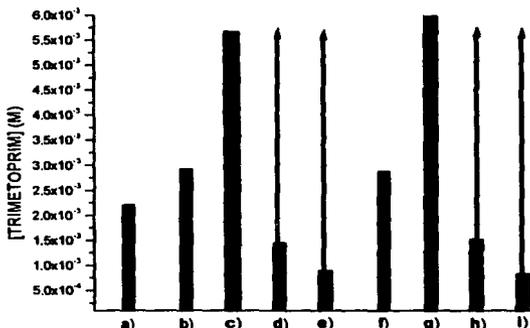


Gráfico 13 Comparación de solubilidades con: a) Trimetoprim, b) MF 1:1, c) MF 1:10, d) MF 1:50, e) MF 1:100, f) AMAS 1:1, g) AMAS 1:10, h) AMAS 1:50, i) AMAS 1:100. Tanto d), e), h) e i), no alcanzaron su punto de saturación por este método.

En los casos 1:50 y 1:100, tanto las MF como los amasados, no alcanzaron la saturación debido a que la cantidad de muestras obtenidas para el estudio no fueron suficientes. Cabe destacar que no hay gran variación entre los resultados obtenidos para las MF y los amasados.

9.1.3 CARACTERIZACIÓN DE CI Y MF CON HP-CD

9.1.3.1 ESPECTROMETRÍA DE IR

En esta prueba se identificarán las bandas más significativas debidas al Trime solo y a la CD sola, con el fin de determinar que señales aparecen o desaparecen tanto en las MF como en los amasados. Los gráficos 14 y 15 muestran los espectros obtenidos mientras que la tabla 4 muestra gráficamente las señales encontradas y comparadas que nos ayudarán a determinar si se forman complejos o no.

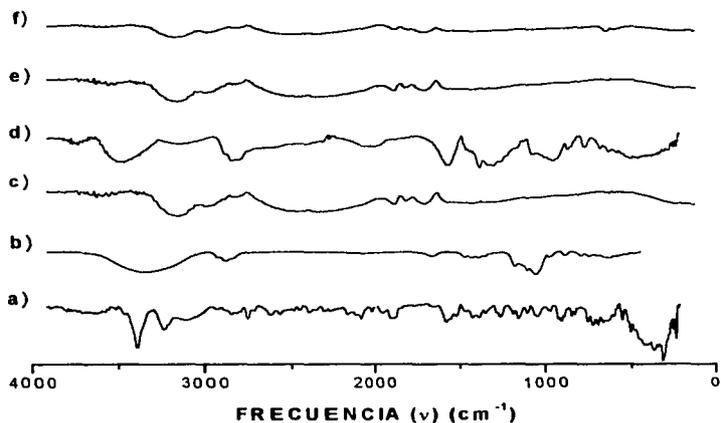


Gráfico 14 Espectros de Infrarrojo de: a) Trimetoprim, b) HP-β-CD, c) MF 1:1, d) MF 1:10, e) MF 1:50, f) MF 1:100

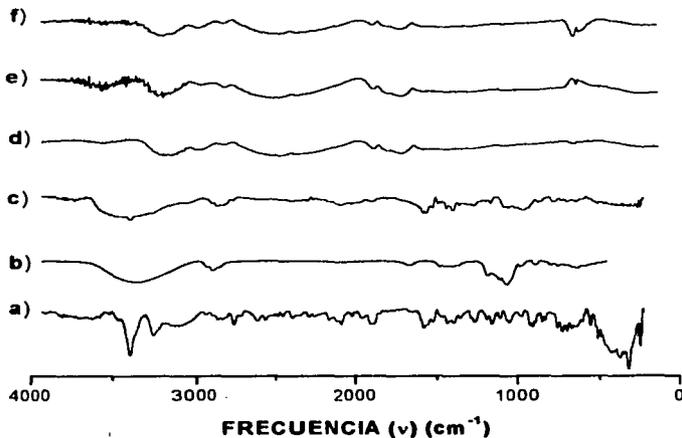


Gráfico 15 Espectros de Infrarrojo de: a) Trimetoprim, b) HP-β-CD, c) Amas1:1, d) Amas 1:10, e) Amas 1:50, f) Amas 1:100

LONGITUD DE ONDA	TRIM E	HP-β-CD	MF 1:1	MF 1:10	MF 1:50	MF 1:100	AMAS 1:1	AMAS 1:10	AMAS 1:50	AMAS 1:100
3600 HIDROXILO										
3500 AMINAS										
3400 AROMATICIDAD										
3100-3000 ALCANOS										
1700 CONFIRMACIÓN DE AROMÁTICOS										
1450 CONFIRMACIÓN DE ALCANOS										
1250 CONFIRMACIÓN DE AMINAS										
1100 CONFIRMACIÓN DE C-O										
750 CONFIRMACIÓN DE ALCANOS										

Tabla 4 Resumen comparativo de las señales más importantes en IR para el Trimetoprim, HP-β-CD, las mezclas físicas y los amasados

Las áreas rayadas de la tabla 4 indican las bandas que aparecen a determinada longitud de onda, el área de líneas verticales pertenece a las bandas debidas al Trimetoprim, el área de líneas perpendiculares pertenece a las bandas debidas al HP-β-CD.

9.1.3.2 DIFRACCIÓN DE POLVOS CON RAYOS X

En esta prueba se obtendrá el patrón de difracción de las muestras una vez que se ha formado la MF y el Amasado, comparando siempre contra los reactivos iniciales.

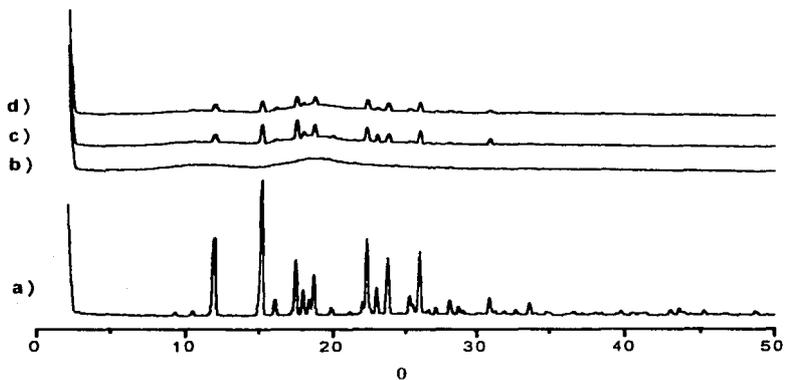


Gráfico 16 Difractograma de: a) Trimetoprim, b) HP- β -CD, c) MF 1:1 y d) AMAS 1:1

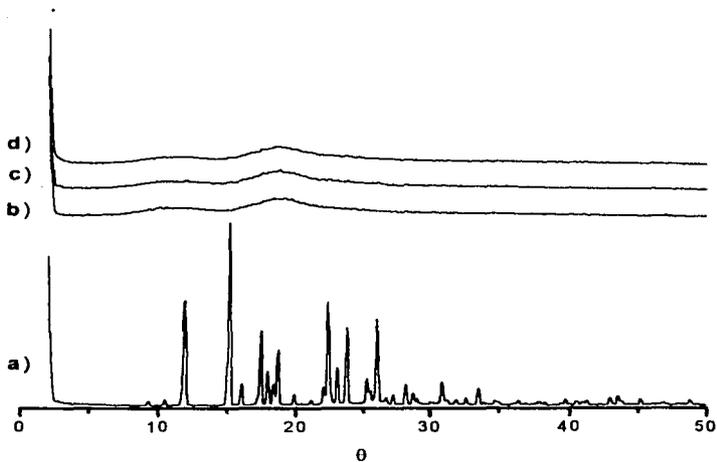


Gráfico 17 Difractograma de: a) Trimetoprim, b) HP- β -CD, c) MF 1:10 y d) AMAS 1:10

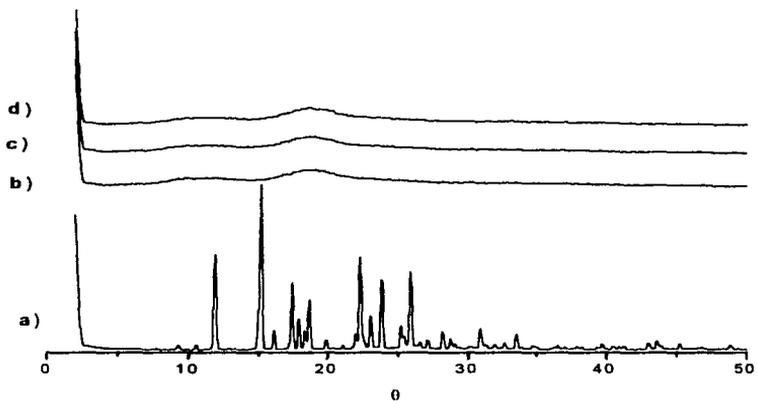


Gráfico 18 Difractograma de: a) Trimetoprim, b) HP- β -CD, c) MF 1:50 y d) AMAS 1:50

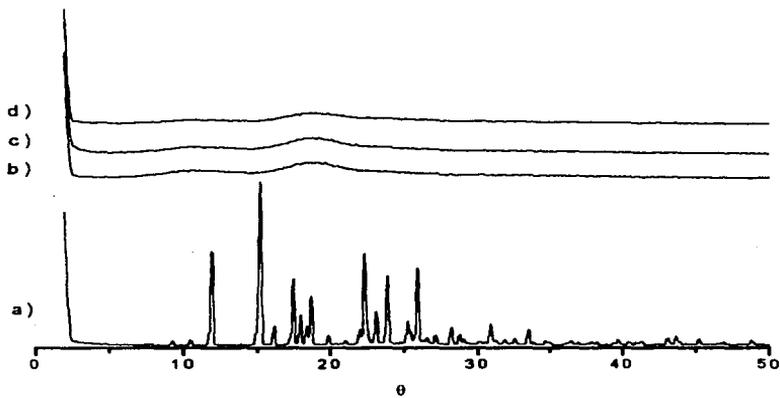


Gráfico 19 Difractograma de: a) Trimetoprim, b) HP- β -CD, c) MF 1:100 y d) AMAS 1:100

9.1.3.3 ANÁLISIS TÉRMICO POR CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

Con esta técnica, se desea observar los cambios del comportamiento térmico siguiendo la banda del Trime y se analizará el hecho de que las MF y/o los Amasados presenten puntos de fusión más altos o bajos que el Trime solo, o aparecen puntos de fusión completamente nuevos, así como la presencia de la banda de evaporación del agua contenida en el interior de las CD's.

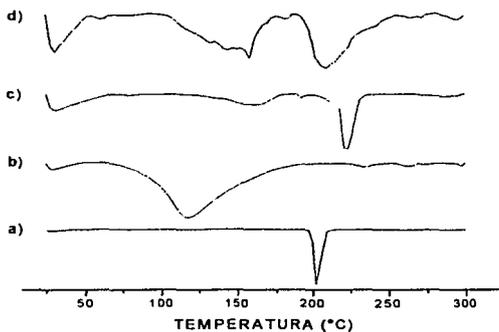


Gráfico 20 Termogramas de a) Trimetoprim, b) HP- β -CD, c) MF 1:1 y d) AMAS 1:1

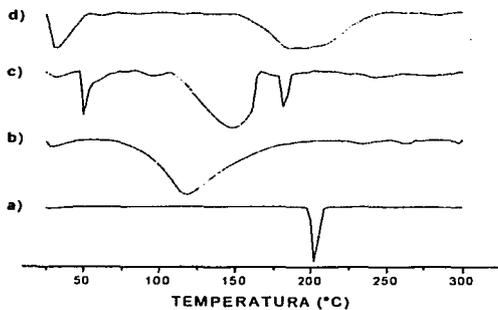


Gráfico 21 Termogramas de a) Trimetoprim, b) HP- β -CD, c) MF 1:10 y d) AMAS 1:10

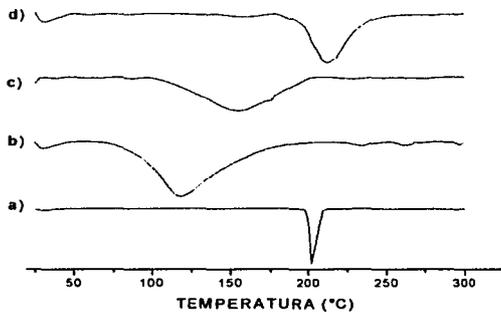


Gráfico 22 Termogramas de a) Trimetoprim, b) HP- β -CD, c) MF 1:50 y d) AMAS 1:50

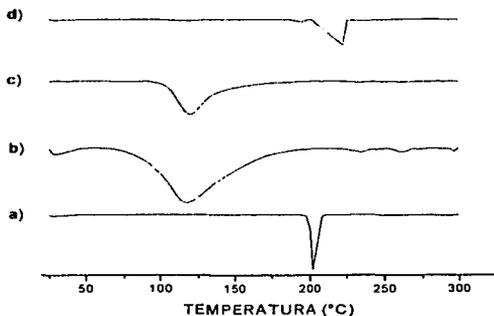


Gráfico 23 Termogramas de a) Trimetoprim, b) HP-β-CD, c) MF 1:100 y d) AMAS 1:100

9. 1.3.4 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (NOESY)

Se realizó el estudio de NOESY (2 dimensiones) para determinar la interacción del anfitrión con el huésped (CD:Trime).

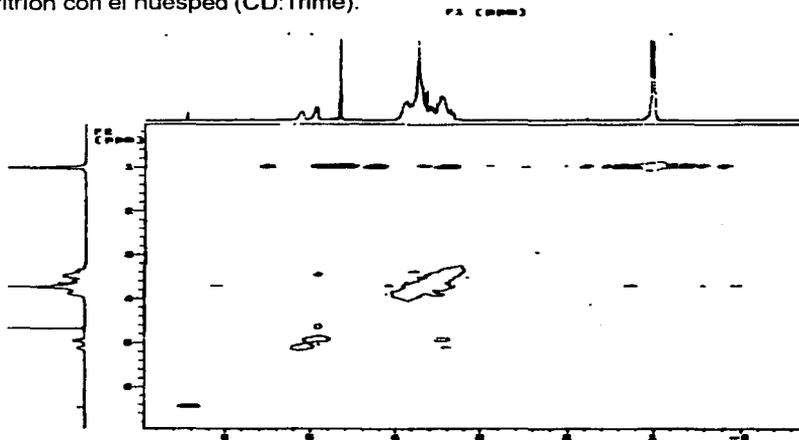


Figura 9 Interacción entre los grupos funcionales del Trime con la HP-CD

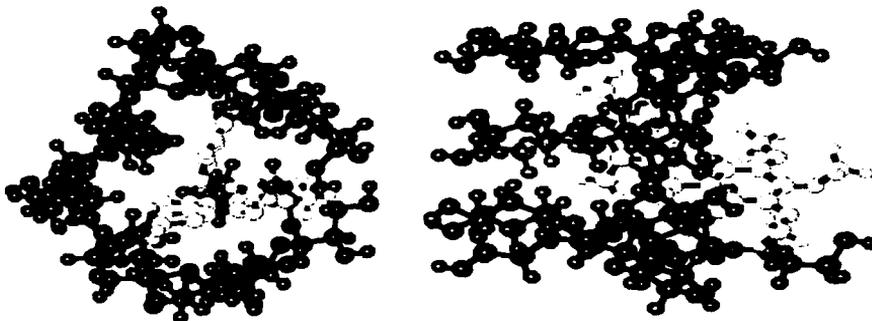


Figura 10 Complejo de inclusión Trime:HP-CD determinado teóricamente. Complejo visto de frente (izquierda), complejo visto de perfil (derecha).

9.1.3.5 VELOCIDADES DE DISOLUCIÓN

A continuación se presentan los gráficos 24 al 27 las cuales muestran las cinéticas de disolución obtenidas para cada sistema estudiado, en las que se comparan la velocidad de disolución del Trimetoprim solo contra las mezclas físicas y los amasados formados con la HP- β -CD, utilizando como medios de disolución agua destilada y buffer de fosfatos pH=7.5.

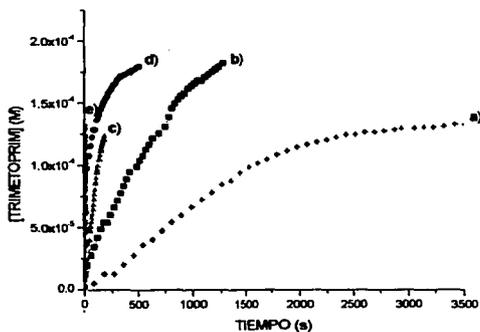


Gráfico 24 Mezclas físicas de Trimetoprim y HP-β-CD en agua, a) Trimetoprim, b) 1:1, c) 1:10, d) 1:50 y e) 1:100

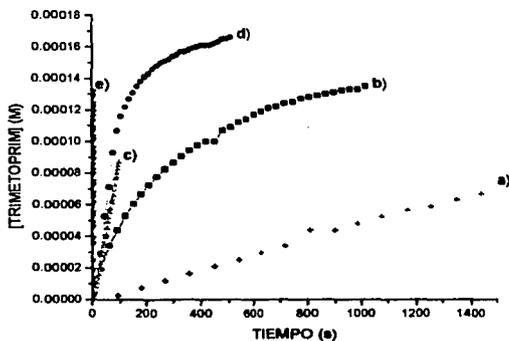


Gráfico 25 Mezclas físicas de Trimetoprim y HP-β-CD en buffer, a) Trimetoprim, b) 1:1, c) 1:10, d) 1:50 y e) 1:100

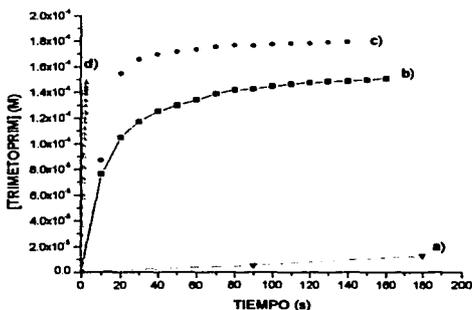


Gráfico 26 Velocidades de disolución en agua de, a) Trimetoprim, b) Amasado 1:1, c) Amasado 1:10, d) Amasado 1:50. No se muestra la relación 1:100 pues se acabó la muestra.

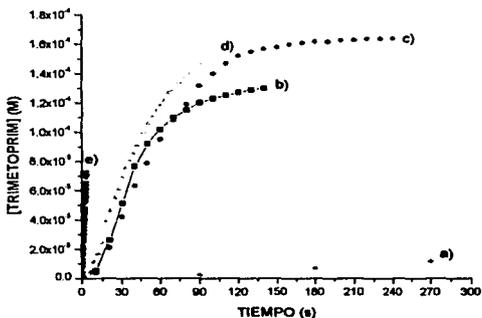


Gráfico 27 Velocidades de disolución en buffer de, a) Trimetoprim, b) Amasado 1:1, c) Amasado 1:10, d) Amasado 1:50, e) Amasado 1:100.

En los gráficos 28 al 35, se muestran las diferencias en velocidades de disolución de las mezclas físicas y los complejos formados en los medios ya mencionados para cada relación molar de Trimetoprim:CD

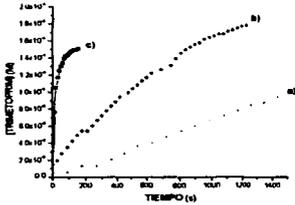


Gráfico 28 Relación 1:1 en agua, a) Trimetoprim, b) MF y c) Amasado

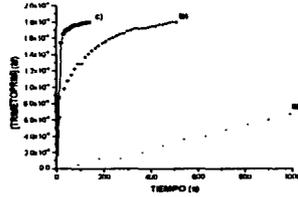


Gráfico 30 Relación 1:10 en agua, a) Trimetoprim, b) MF y c) Amasado

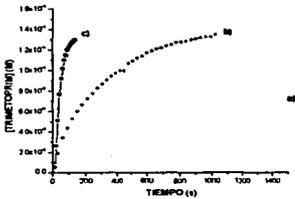


Gráfico 29 Relación 1:1 en buffer, a) Trimetoprim, b) MF y c) Amasado

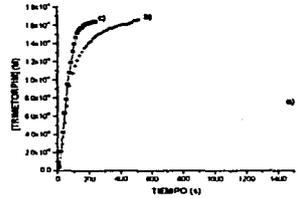


Gráfico 31 Relación 1:10 en buffer, a) Trimetoprim, b) MF y c) Amasado

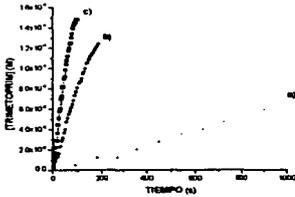


Gráfico 32 Relación 1:50 en agua, a) Trimetoprim, b) MF y c) Amasado

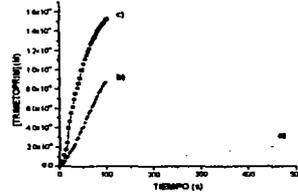


Gráfico 33 Relación 1:50 en buffer, a) Trimetoprim, b) MF y c) Amasado

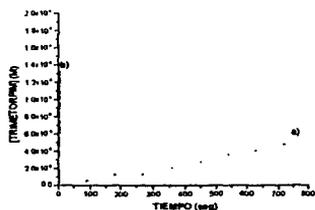


Gráfico 34 Relación 1:100 en agua, a) Trimetoprim y b) MF

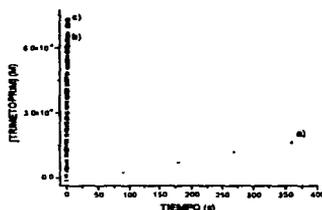


Gráfico 35 Relación 1:100 en buffer, a) Trimetoprim, b) MF y c) Amasado

Los gráficos 36 y 37 muestran las k_{dis} de disolución en agua y buffer provenientes de la tabla 5 con el fin de observar de forma gráfica las tendencias que se encuentren y para establecer las diferencias entre MF y amasados.

RELACION MOLAR	k_{dis} EN AGUA ($M \cdot s^{-1}$)	k_{dis} EN BUFFER ($M \cdot s^{-1}$)
MF 1:1	2.8 E-7	4.7 E-7
MF 1:10	9.4 E-7	1.7 E-6
MF 1:50	2.9 E-6	4.0 E-5
MF 1:100	5.0 E-5	5.0 E-5
COM1:1	8.7 E-6	2.5 E-6
COM 1:10	1.0 E-5	2.3 E-6
COM 1:50	2.5 E-6	2.7 E-6
COM 1:100	*	6.05 E-5
TRIMETOPRIM	9.3 E-8	5.2 E-8

Tabla 5 Constantes de velocidad obtenidas a partir de las diferentes relaciones molares de las mezclas físicas y de los complejos en agua y buffer, * esta muestra no se determinó porque se terminó

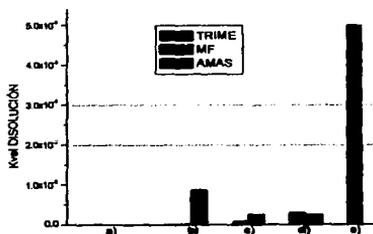


Gráfico 36 Gráfico comparativo de las constantes de velocidad de disolución en agua

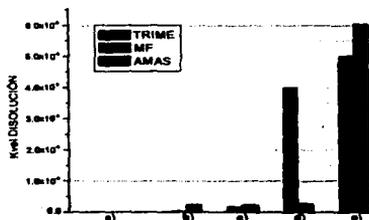


Gráfico 37 Gráfico comparativo de las constantes de velocidad de disolución en buffer

9.1.4 FORMACIÓN DE LOS POLVOS DE LIBERACIÓN CONTROLADA CON CARBOPOL

9.1.4.1 VELOCIDADES DE DISOLUCIÓN DE LAS FORMULACIONES DE LIBERACIÓN CONTROLADA

Con este estudio, se pretende observar el efecto de adición del Carbopol al sistema MF 1:10 con el fin de controlar la liberación del Trime. Para ello se compararán las K_{vel} de liberaciones mostradas en la tabla 7 y representadas en los gráficos 44 a 46.

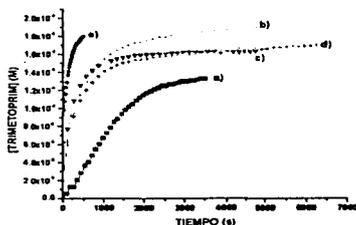


Gráfico 38 Velocidad de disolución de a) Trimetoprim, b) MF 1:10 + Carbopol 1:1, c) 1:2, d) 1:3 y e) MF 1:10 sola en agua.

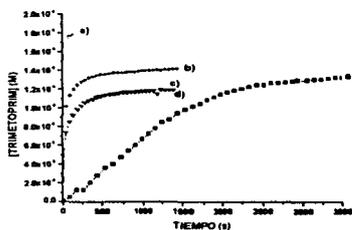


Gráfico 39 Velocidad de disolución de a) Trimetoprim, b) Amasado 1:10 + Carbopol 1:1, c) 1:2, d) 1:3 y e) Amasado 1:10 en agua.

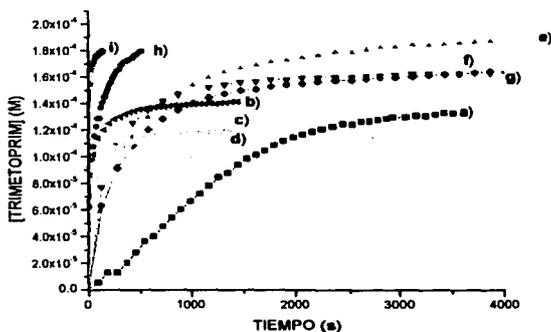


Gráfico 40 Velocidad de disolución en agua de todas las formulaciones comparadas, a) Trimetoprim, b) Amasado 1:10 + Carbopol 1:1, c) 1:2, d) 1:3, e) MF 1:10 + Carbopol 1:1, f) 1:2, g) 1:3, h) MF 1:10 e i) Amasado 1:10

RELACION MOLAR	k_{lib} EN AGUA (M^*s^{-1})
MF 1	6.38E-7
MF 2	3.9455E-7
MF 3	3.9959E-7
AMAS1	3.3155E-6
AMAS 2	2.3583E-6
AMAS 3	1.7523E-6
TRIME	9.248E-8

Tabla 6 Constantes de velocidad de disolución en agua de las formulaciones de liberación controlada

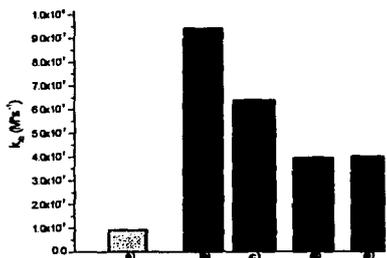


Gráfico 41 Gráfico comparativo de k_{lib} en agua de a) Trimetoprim, b) MF 1:10, c) MF 1, d) MF 2 y e) MF 3

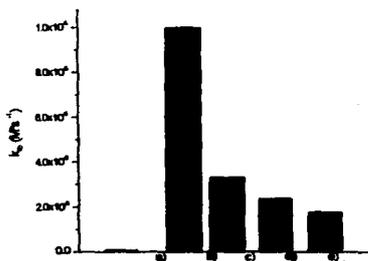


Gráfico 42 Gráfico comparativo de k_{lib} en agua de a) Trimetoprim, b) Amasado 1:10, c) Amasado 1, d) Amasado 2 y e) Amasado 3

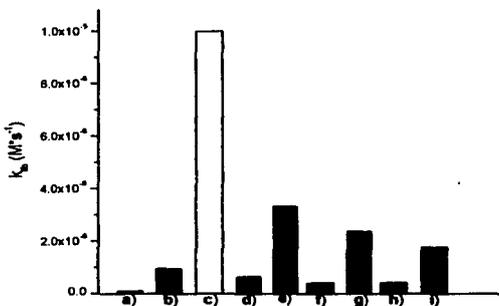


Gráfico 43 Comparación de las k_{HL} en agua de a) Trimetoprim, b) MF 1:10, c) AMAS 1:10, d) MF 1, e) AMAS 1, f) MF 2, g) AMAS 2, h) MF 3 e i) Amasado 3.

9.1.4.2 REOLOGÍA

Esta prueba se realizó con el fin de determinar las características reológicas de las materias primas y la MF para predecir su comportamiento cuando quiera realizarse la fabricación de un lote piloto que permita en estudios posteriores, estudiarse in vivo.

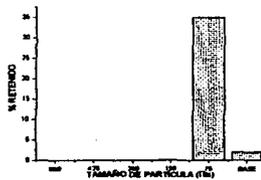


Gráfico 44 Distribución de tamaño de partícula de Trimetoprim

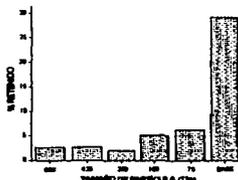


Gráfico 45 Distribución de tamaño de partícula del Carbopol 974P

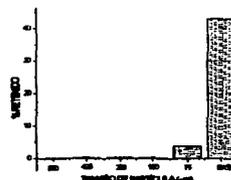


Gráfico 46 Distribución de tamaño de partícula de la Mezcla Física 1:10

NOMBRE	VELOCIDAD DE FLUJO (g/s)	ÁNGULO DE REPOSO (°)	DENSIDAD APARENTE (g/mL)	DENSIDAD COMPACTADA (g/mL)	% DE COMPRESIBILIDAD
Carbopol 974P	0.5546	0.0980	0.1346	0.2352	42.77
Trimetoprim	No fluye	No presenta	0.4301	0.6691	35.71
Mezcla Física 1:10	0.3074	0.1077	0.4410	0.6448	31.60

Tabla 7 Propiedades reológicas

9.2 DISCUSIÓN

9.2.1 FORMACIÓN DE COMPLEJOS EN DISOLUCIÓN

Para asegurar la formación de complejos Trim:CD se usó el método de espectroscopia de UV-Visible, aprovechando que el Trimetoprim absorbe en UV. Cuando éste se lleva a cabo, debe considerarse que las CD's, no absorben en este intervalo de longitudes de onda, por lo que los efectos de dichas moléculas sobre el Trimetoprim se observan una vez que hacemos un ΔAbs a la longitud de máxima absorción (λ_{max}) del Trimetoprim, es decir, a los ΔAbs obtenidos, al mezclar el Trimetoprim con las diferentes CD's se les resta el Trimetoprim cuando la $[CD] = 0$. Como la $[Trime]$ es contante para las diferentes $[CD]$, los datos encontrados que se explicarán a continuación, son debidos exclusivamente al efecto de la presencia del complejo Trime:CD, que absorbe en UV como se ha mencionado en el desarrollo de la ecuación de ajuste (10).

En los gráficos 1 y 2 se observan las isotermas obtenidas para α -CD; en 1 se encontró una relación estequiométrica 1:2 (Trime:CD), lo cual implica que se necesitan 2 CD's para incluir a una molécula de Trime porque no hay impedimentos estéricos, por lo que resultó poco adecuada ya que es una desventaja debido a que se necesita una cantidad mayor de CD para complejar el huésped. Además, no puede ser comparada con las demás constantes mostradas en la tabla 4, debido a que la relación

estequiométrica para este caso es diferente a las demás. En el gráfico 2, se observa que la relación estequiométrica es 1:1 (Trime:CD).

La diferencia mostrada en los diferentes medios de disolución con la misma CD nos indica que el pH va a tener un efecto en la estequiometría de inclusión ya que a pH ácido se pueden formar dímeros de Trime debido a su valor de pKa, mostrado en la tabla 1, que son más voluminosos que la molécula de Trime sola, por otra parte, es de esperarse que estos sistemas se vean influenciados por el pH debido a que el Trime tiene propiedades básicas, lo cual lo llevará a protonarse o desprotonarse dependiendo del pH del medio, dificultando la complejación del Trime protonado (medio ácido), ya que como se ha explicado en los antecedentes, el interior de todas las CD's es hidrofóbico. Si el Trime está protonado, no se complejará con la CD, es decir, preferirá estar disuelta en un medio en el que puede ser estabilizado por puentes de hidrógeno. Mc. Donald, et al,⁷⁷ han reportado que a pH mayores de 7 se incrementa la solubilidad del Trime complejado con HP-β-CD, pero que en combinación con el Sulfametoxazol, la solubilidad de ambos dependerá del pH del medio, es decir, a pH menor a 7, la Sulfa (que es ácida) será más soluble que el Trime debido a que éste estará protonado, por eso, se decidió trabajar a pH controlado de 7.5, es decir, para nuestro estudio es importante mantener el factor de pH constante, sin olvidar que se busca la administración del Trime en agua corriente (que en general no tiene un pH menor a 6.5) con Sulfametoxazol, asegurando así que la complejación de Trime:CD no se vea modificada y el Sulfametoxazol no vea modificada su solubilidad.⁷⁷

En los gráficos del 3 al 8, encontramos que la relación estequiométrica es 1:1, por lo que podemos comparar las constantes de inclusión de la tabla 4 en donde encontramos que la constante que muestra mayor complejación es HP-β-CD tanto en agua como en buffer por lo que se eligió como la mejor para llevar a cabo los demás estudios. El hecho de que sus constantes de inclusión sean más grandes implica que ya sea por tamaño, forma y polaridad de la molécula huésped (Trime) y la HP-β-CD

entre otras características (que ya se han mencionado en el capítulo 6.3), exista mayor afinidad del huésped por estar incluido en dicha CD. Esto es, se compleja más con HP dado que es la más larga y por lo tanto, las interacciones huésped:CD son mayores; le sigue la γ -CD la cual presenta una cavidad más ancha y probablemente hay más grupos del Trimetoprim que interaccionan con la CD. De igual modo, con la β -CD disminuye la interacción y probablemente la causa es que la cantidad de grupos que interaccionan con la CD es menor. Como la α -CD es muy pequeña solo una parte del Trime es complejada y necesita mayor cantidad de la misma para complejarlo.

9.2.2 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

9.2.2.1 SOLUBILIDAD EN DISOLUCIÓN

Esta prueba se realizó a partir del método de Higuchi-Connors⁴⁸ en cual se adicionaron diferentes cantidades de Trimetoprim a diferentes concentraciones de HP- β -CD tanto en agua como en buffer (gráficos 11 y 12) y en los que se encontró que la solubilidad del Trime:HP- β -CD es directamente proporcional a la concentración de CD adicionada, es decir, a mayor cantidad de CD adicionada, se solubiliza mayor cantidad de Trime; lo cual es lógico, ya que aumenta la concentración de huésped incluida y por lo tanto la concentración del huésped con características desfavorables de solubilidad, se solubiliza.

9.2.2.2 FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN EN SÓLIDO

Una vez que se comprobó experimentalmente que la mejor CD para formar complejos de inclusión en disolución con el Trime era la HP- β -CD, se estudió el comportamiento con respecto a la formación de los complejos de inclusión en sólido.

Para observar los efectos producidos al llevar a cabo la técnica de amasado, se realizaron varias pruebas de caracterización que a continuación se explicarán.

La solubilidad de los sólidos, ya sea mezcla física o amasados, se determinó saturando los medios de disolución como se explica en el punto 10.5 de la Metodología obteniendo los resultados mostrados en el gráfico 13 y en la tabla 6, donde observamos que a relaciones molares de HP- β -CD mayores, se obtiene mayor cantidad de Trime solubilizado y que la solubilidad casi no se ve afectada por la diferencia entre mezcla física y amasado. Comparando estos resultados con los obtenidos por el método de Higuchi en disolución (8.2.2), se confirma la tendencia encontrada, es decir, a mayor cantidad de CD agregada, mayor es la cantidad de Trime solubilizado.

Aun cuando parece que la cantidad de Trime solubilizado es muy similar, existe una consideración muy importante que deben tomarse en cuenta. Al colocar en exceso el sólido en el disolvente y esperar hasta alcanzar el equilibrio de disolución, lo que ocurre es que se va disolviendo la CD libre, el complejo CD:huésped formado en sólido y por lo mismo se consigue una $[CD]_{\text{libre}}$ mucho mayor en el medio que desplaza el equilibrio Trime sólido a Trime disuelto mejorando la solubilidad, por lo que éste se convierte en el factor que no permite se observen grandes cambios en la cantidad de Trime solubilizado, pero como veremos más adelante, la diferencia entre MF y amasado se hará más notoria al estudiar las velocidades de disolución.

En este punto cabe mencionar que en las relaciones molares 1:50 y 1:100 tanto en MF como en amasados, no lograron saturar el medio debido a que la cantidad de muestra no fue suficiente para ello, pero con la prueba en disolución de Higuchi y la tendencia aparente de los resultados obtenidos para el gráfico 13, se puede decir que en esta prueba existe una relación directamente proporcional a la cantidad de HP- β -CD adicionada probablemente.

9.2.3 CARACTERIZACIÓN DE CI Y MF CON HP-CD

9.2.3.1 ESPECTROSCOPIA DE IR

Para esta prueba de caracterización de sólidos, observemos los gráficos 14 y 15 y la tabla 7. Cuando buscamos las señales pertenecientes al Trimetoprim y a la HP- β -CD en las mezclas físicas, observamos las señales de ambos componentes.

Sin embargo, cuando se analizan los amasados, la señal más importante es la debida a los grupos amino del Trimetoprim (3500 y confirmación en 1250). En la relación 1:1, se logran observar estas bandas, pero en 1:10, 1:50 y 1:100 estas señales desaparecen, lo que puede sugerir que se han formado complejos de inclusión y que el sitio de unión es aparentemente por el lado de los grupos amino del Trime (Tabla 1).

El método utilizado para determinar los espectros de IR es debido a un proceso de reflectancia difusa que puede provocar el enmascaramiento de señales ya que en casi todos los casos tenemos mayor cantidad de CD que de Trime.

9.2.3.2 DIFRACCIÓN DE POLVOS CON RAYOS X

En los gráficos 16 a 19 observamos que los patrones de difracción de Rayos X de polvos muestran un patrón muy definido para Trime, ya que se trata de un polvo microcristalino, de ahí que los picos que se obtienen sean tan largos y delgados. En cambio en la HP- β -CD no se observan picos bien definidos, ya que no tiene una estructura cristalina bien definida debido a que cuando se realiza la reacción de hidroxipropilación de la β -CD, ésta no se lleva a cabo siempre en la misma posición ni en la misma cantidad, por lo que podría decirse que se tiene una mezcla de estructuras que hacen que los picos se ensachen.

Para observar los cambios de estructuras cristalinas tanto en las MF como en los amasados, se decidió compararlos contra los mencionados en el párrafo anterior en función de las relaciones molares realizadas. Así, encontramos para la relación 1:1 (gráfico 16) que en la MF se observan los picos del Trime y de la HP- β -CD, mientras que en el amasado 1:1 la diferencia es que, aun cuando se observan algunos picos del Trime la intensidad de los mismos es menor siendo la misma relación molar, con lo cual puede inferirse que existe alguna interacción que modifica la estructura cristalina del Trime y del HP- β -CD cuando se realiza la técnica de amasado.

En los gráficos 17 a 19 ya no es posible ver diferencia alguna debido a que la proporción de HP- β -CD con respecto al Trime es mucho mayor por lo que puede ser que se tape o que no se encuentre el Trime por sí mismo ya que está protegido por la CD en forma de complejo y por lo tanto ya no resulte confiable realizar una comparación bajo las condiciones en que se encuentran para esta técnica.

9.2.3.3 ANÁLISIS TÉRMICO POR CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO

Con esta técnica se desea ver los cambios en los puntos de fusión del Trime que pueden ser desde la disminución del mismo hasta la aparición de un pico con un punto de fusión diferente al de los compuestos iniciales.

Así, en el gráfico 20, se observa que en la MF hay un incremento del punto de fusión hacia la derecha y es definido, mientras que en el amasado la banda del Trime se ensancha, por lo que se puede decir que se ha formado un nuevo compuesto, ya que no es el punto de fusión característico del Trime. En el gráfico 21 para la MF el punto de fusión del Trime disminuye, mientras que en el amasado la banda que se observa ya no es nada definida aun cuando se tiene la misma relación molar, indicativo nuevamente de que se ha formado un nuevo compuesto. En el gráfico 22, el termograma debido a la MF no muestra el pico del Trime, debido quizás a que la

cantidad de CD en comparación con el Trime es demasiado grande (la impureza de la muestra es demasiado grande para que se observe el punto de fusión del Trime), el mezclado no fue lo suficientemente efectivo o el tiempo que se mantuvo la muestra después del mezclado fue suficiente para permitir el demezclado de la misma, mientras que en el amasado se observa un pico ligeramente ensanchado con un punto de fusión ligeramente mayor al del Trime que sugiere la formación de un nuevo compuesto. En el gráfico 23 ocurre algo similar para la MF y mientras que para el amasado, el punto de fusión es diferente al del Trime pero no tan definido como para asegurar que se trata de un nuevo compuesto.

De esta forma, damos mayor evidencia de la formación de un nuevo compuesto formado a partir de la técnica de amasado y que se confirmará que tiene características diferentes a las presentadas por las MF con las velocidades de disolución.

9.2.3.4 RESONANCIA MEGNÉTICA NUCLEAR (NOESY)

La figura 9 muestra el estudio del NOESY en el que se observan las interacciones a nivel molecular de la HP-CD con el Trime (ejes X y Y, respectivamente) ya que es un estudio bidimensional (centro de la figura 9), con el cual se puede afirmar que los grupos amino de la molécula del Trime son los que se incluyen dentro de la HP-CD como se había determinado con las pruebas de IR. La figura 10 muestra el complejo formado vista de frente y de perfil.

9.2.3.5 VELOCIDADES DE DISOLUCIÓN

Las tendencias generales para MF mostradas en los gráficos 24 y 25 muestran que a mayor proporción molar de CD, la velocidad de disolución es mayor. En los gráficos 26 y 27 se observan las diferencias dadas por el medio de disolución en los

amasados, en ambos, se puede hacer la misma observación que para las MF. Las tendencias que muestran los gráficos 28 al 35, muestran las velocidades de disolución comparando Trime, MF y Amasado de la misma relación molar, en todas se observa que la velocidad de disolución (de mayor a menor) es a) Amasado, b) MF y c) del Trime, independientemente de la relación molar que se tiene.

Otro punto a destacar es el hecho de que las velocidades de disolución de los amasados y las MF se igualan a partir de la relación molar 1:10. Esto es debido a que la cantidad de CD es tan grande en comparación de la Trime que aun cuando el complejo no se haya formado en la MF en sólido, como la CD se disuelve inmediatamente, permite la formación del complejo en disolución y esto incrementa la velocidad de disolución del Trime. Por esta razón, se eligió la MF 1:10 como la mejor, ya que la velocidad de disolución es lo suficientemente rápida para que se disuelva apropiadamente en el tinaco de agua que provee a los bebederos de los pollos, además de que la cantidad de CD a adicionar a una forma farmacéutica no es tan grande, lo que se vería reflejado en el costo y por último, pensando en un método de fabricación de una forma farmacéutica, se simplificaría su proceso debido a que para obtener la MF, solo se necesita la acción de mezclar, mientras que la técnica de amasado involucra una serie de pasos "extras" que hacen más caro el proceso. Cabe mencionar que en el gráfico 35 no aparece el estudio de velocidad de disolución del amasado en agua debido a que ya no se realizó por falta de muestra porque si se hacía una muestra nueva, los resultados no serían comparativos contra los demás resultados obtenidos para la misma muestra

Comparemos ahora las constantes de velocidad de la tabla 5 auxiliándonos de los gráficos 36 y 37. Las k_{dis} en agua, muestran que a mayor relación molar de CD, la k_{dis} se hace más grande, sin embargo, si observamos detenidamente el gráfico 37, se obtienen k_{dis} mayores en buffer que en agua debido al efecto del pH del que ya hemos hablado. Si comparamos los efectos debidos a si la muestra entre MF y Amasados

encontraremos que para todos los casos que los amasados tienen una K_{vel} mayor que el de las MF.

9.2.4 FORMACIÓN DE LOS POLVOS DE LIBERACIÓN CONTROLADA CON CARBOPOL

9.2.4.1 VELOCIDAD DE LIBERACIÓN

Se realizó el estudio de velocidad de liberación tanto de la mezcla física como del amasado 1:10 con las relaciones 1:1, 1:2 y 1:3 (MF o Amasado:Carbopol 974P). En el gráfico 38 observamos las relaciones 1:1, 1:2 y 1:3 de MF 1:10:Carbopol 974P y MF 1:10 sin Carbopol, mientras que en el gráfico 39 observamos las mismas relaciones pero con Amasado 1:10:Carbopol 974P y el Amasado 1:10 sin Carbopol. En el gráfico 40 se muestran comparadas todas las velocidades de liberación.

Se puede observar que al adicionar Carbopol al preparado se disminuye la velocidad de disolución, tanto en el caso de MF como amasado, cabe destacar que entre la relación 1:2 y 1:3 las diferencias no son prácticamente apreciables, quizá debido a la saturación de la solución que contiene el Carbopol en la relación 1:2 además de que debemos considerar que no hay efecto de dilución, por lo que deben probarse las formulaciones bajo dichas condiciones.

Si se pone solo Trime o MF o Amasados con cantidades de CD pequeñas, se consigue una velocidad de liberación más rápida que el Trimetoprim solo pero se necesita una cantidad de fármaco muy grande para conseguir las dosis terapéuticas.

Analizemos los casos que podemos encontrar:

- a) Trimetoprim disuelto: Como tiene una velocidad de disolución muy lenta, con el efecto de dilución en el tinaco, cada vez tendremos más diluido el fármaco.

- b) Trimetoprim sólido: Si se adiciona el Trime sólido, como se disuelve muy lentamente es necesario colocar una cantidad muy grande del mismo para que con el efecto de dilución conservemos las concentraciones terapéuticas.
- c) Trimetoprim más CD: Se disuelve más rápido pero como hay dilución se puede caer en el caso a)
- d) Trimetoprim con concentraciones de CD menores: Se puede caer en el caso b)
- e) Trimetoprim más Carbopol: En esta formulación, el agua humectará al Carbopol hasta formar un gel que modula el paso del agua al interior del mismo formando canales por los que ingresa el agua que disuelve al Trime con la CD y que saldrá con una velocidad menor. Si hay dilución, la cantidad de agua que entra al gel disolverá más Trime por lo que se obtiene una liberación controlada.

9.2.4.2 REOLOGÍA

Las propiedades reológicas de las materias primas y de la MF 1:10 se realizaron con el fin de predecir su comportamiento una vez que se realiza un proceso de fabricación, es decir, si la formulación final será un polvo, es importante que este tenga una buena velocidad de flujo, cuando se muestra un ángulo de reposo como los reportados en la tabla 7 que son mucho menores a 25°, se dice que es un ángulo de reposo bueno, es decir, la forma de las partículas de materia prima y de MF son lo suficientemente redondas para optimizar el espacio, por esta razón se acomodan mejor, por ejemplo, si deseamos producir cápsulas con nuestra formulación el llenado de las mismas se llevaría a cabo sin problemas, ya que sería un llenado homogéneo y con una velocidad de flujo adecuada, lo que lo hace buen candidato para no adicionar más excipientes. En el caso del % de compresibilidad, éste es pobre para todas las materias primas y la MF probada pese a que está reportado el Carbopol como un excipiente comúnmente utilizado en procesos de compresión directa. Este parámetro afectará siempre y cuando se requiera un comprimido; si se realizase un comprimido, obtendríamos una matriz de liberación controlada por la presencia del Carbopol.

Los gráficos 44, 45 y 46 muestran el tamaño de partícula de las materias primas y de la MF, en ellos encontramos que el tamaño de partícula que predomina es menor a 100 μm , esto es natural debido a que para realizar todas las pruebas nos aseguramos que el tamaño de partícula de todas las muestras utilizadas fueran uniformes, evitando así tener una variable más que modificara la velocidad de disolución y/o liberación de las mismas, ya que como sabemos, al disminuir el tamaño de partícula de una muestra, favorecemos la velocidad de disolución por que se tiene mayor superficie de contacto con el disolvente, cuando el tamaño de partícula es muy disperso, no se sabe si las velocidades de disolución encontradas son debidas realmente a los parámetros que se están midiendo o a la diversidad del tamaño de partícula del sistema mismo.

La decisión final de la forma farmacéutica de la formulación electa estará en función de la vía de administración que se prefiera. En el caso de las aves de corral se prefiere el uso de la vía oral como vía de administración debido a que los medicamentos se colocan el agua que beben o en el alimento que ingieren.

Siendo ésta la vía preferente, se piensa que la dosificación será directa a un tinaco de agua en el cual tenemos que considerar dos puntos críticos:

- 1) Presencia del efecto de dilución en el tinaco: que está en función de la cantidad de agua que beben las aves de corral en un tiempo determinado y las veces que se llena el mismo. (Formulación con Carbopol)
- 2) No existe efecto de dilución: para este caso no necesitamos la formulación con Carbopol debido a que la [Trime] en el tinaco será constante todo el tiempo.

Por estas razones es altamente recomendable tener un polvo que libere el fármaco en lugar de un comprimido, ya que se corre el riesgo que el comprimido obstruya el orificio de salida del agua, mientras que el polvo se encontrará, ya sea sobre la superficie del agua contenida por el tinaco o sedimentada en el fondo del mismo, o bien

se disolverá tan rápido que no habrá lugar a sedimentaciones excesivas que sean capaces de obstruirlo.

Otra opción que nos presenta el manejar la formulación en polvo, es la posibilidad de adicionarlo al alimento en donde la liberación se llevará a cabo *in vivo*.

10. CONCLUSIONES

La CD que muestra mejor complejación en disolución con el Trimetoprim es la HP- β -CD debido a que presenta un valor de K_{inc} mayor tanto en buffer como en agua. La complejación se ve incrementada en el siguiente orden: HP- β -CD > γ -CD > β -CD > α -CD.

En las MF y amasados se observa que al incrementar la cantidad de CD en las relaciones molares Trime:CD, aumenta la complejación, siendo ésta mayor en el caso de los amasados como se comprueba con los estudios de caracterización.

La solubilidad del Trimetoprim se incrementa al incrementar la cantidad de HP- β -CD, sin embargo no existe gran diferencia entre las solubilidades mostradas por MF y el amasado en las mismas relaciones molares.

La velocidad de disolución se incrementa a mayor cantidad de HP- β -CD, sin embargo las diferencias entre MF y amasados se hacen más notorias debido a que en el caso de los amasados, los complejos ya han sido formados por lo que el proceso de disolución se ve notoriamente incrementado modificando grandemente la velocidad de disolución del Trimetoprim. No así con las MF ya que en el momento en que se pone en

contacto con el agua, primero debe disolverse la CD, además tenemos Trimetoprim libre en el medio que se solubiliza lentamente y que ira complejándose en solución con la CD haciendo que la velocidad de disolución final sea mayor a la del Trimetoprim solo pero menor a la del amasado. Sin embargo a partir de la relación molar 1:10, las velocidades se hacen muy similares por lo que se usó esta relación como base para estudiar el sistema de liberación controlada.

El uso del Carbopol 974P para controlar la liberación del fármaco nos llevó a encontrar resultados favorables sobre el sistema. Una vez que logramos tener un Trime más hidrofílico por su complejación con la HP- β -CD, la liberación se dará por difusión una vez que el polímero se hinche lo suficiente para liberar tres especies: Trime libre, Trime complejado y CD libre. Estas especies serán capaces de mantener su equilibrio debido a que el medio en el que serán liberados a demostrado su capacidad para ello. (Ya sea agua potable o en su defecto para evitar problemas por el pH, al tinaco se le pueden adicionar las sales necesarias para tener un buffer de pH 7.5)

Para los estudios de ésta tesis, no consideraremos el efecto dado por la presencia del Sulfametoxazol por dos razones: a) la primera razón es fisicoquímica y tiene que ver con su solubilidad, ya que es altamente soluble y su velocidad de disolución es muy rápida, b) farmacocinéticamente hablando, como se ha explicado en los antecedentes, el único que presenta problemas de biodisponibilidad en las aves de corral es el Trime, por lo que se obvia el hecho de que el Sulfametoxazol presente mayores problemas en una formulación final, administrado con el Trime complejado. Sin embargo, en un estudio posterior podrían determinarse los efectos presentados debido a la presencia del Sulfametoxazol en la formulación final.

Finalmente se concluye que los resultados obtenidos facilitarán la elaboración de una forma farmacéutica en comprimido o tableta como presentación final, ya que conocemos los parámetros reológicos de los polvos, el tipo de liberación controlada que

CONCLUSIONES

se obtiene y el efecto de la adición de CD's sobre la misma, por lo que los siguientes pasos a estudiar tomando en cuenta las dosis terapéuticas serían, el escalamiento del proceso de fabricación y los estudios farmacológicos correspondientes a su realización *in vivo*.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Klaus, F. *Analytical profiles of drug substances* (Academic press, 1980).
2. Joel G. Hardman, Lee E. Limbird, Perry B. Molinoff, Raymond W. Ruddon & Gilman, A. G. *Goodman and Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica* (ed. Interamericana, M.-H.) (México, D.F., 1996).
3. Ster, E. R. *Prontuario de Especialidades Veterinarias Farmacéuticas, Biológicas y Nutricionales* (ed. C.V., E. P. S. A. d.) (México, D.F., 1996).
4. L.D. Lashev & Mihailov, R. Pharmacokinetics of Sulphamethoxazole and Trimethoprim administered intravenously and orally to Japanese quails. *Journal of Veterinary and Pharmacological Therapeutics* **17**, 327-330 (1994).
5. L. Lashev, V. Semerdziev, a. & Boichev, G. Pharmacokinetics of antibiotics and Sulphonamides in hens and cocks. Sex-related differences. *Acta Veterinaria Scandinavica* **87**, 288-291 (1991).
6. K.S. Reddy, S.K. Jain & Uppal, R. P. Pharmacokinetic studies of Sulphonamides in poultry. *Indian Journal of Animal Sciences* **58**, 437-439 (1998).
7. Furosawa, N. Absorbability of Sulphamonomethoxine and Sulphadimethoxine administered via food of laying hens. *Journal of Veterinary Medicine. Serie A* **45**, 267-269 (1998).
8. Hosseini, M. W. La Catálisis Supramolecular. *Mundo Científico* **89**, 245-254 (1989).
9. Lehn, J. M. Supramolecular Chemistry-Scope and Perspectives. *Molecules, Supramolecules, and Molecular Devices. Angew. Chem. Int. Ed. Eng* **27**, 89 (1988).
10. Bernad, M. J. B. Interacciones intermoleculares y aspectos termodinámicos de las reacciones de complejación entre ciclodextrinas y algunos antihelmínticos., 177 (1998).

11. O. Bekers, E.V. Uijtendaal, J.H. Beijnen, A. Bult & Underberg, W. J. M. Cyclodextrins in the pharmaceutical field. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **17**, 1503-1549 (1991).
12. Connors, K. A. The stability of cyclodextrin complexes in solution. *Chemical Review* **97**, 1325-1357 (1997).
13. Giovanni Filippo Palmieri & Pascal Wehrlé, S. M. Interactions between Lomidamine and Beta- or Hidroxipropil-beta- cyclodextrin. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **24**, 653-660 (1988).
14. José Blanco, José L. Vila-Jato, Francisco Otero & Anguiano, S. Influence of method of preparation on inclusion complexes of Naproxen with different cyclodextrins. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **17**, 943-957 (1991).
15. D. Duchène, C. Vaution & Glomot, F. Cyclodextrins, their value in pharmaceutical technology. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **12**, 2193-2215 (1986).
16. Muneo Tanaka et al. 2-Hydroxypropylated cyclodextrins as a sustained-release carrier for fragrance materials. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **44**, 416-420 (1996).
17. Szejtli, J. Cyclodextrins in Drug Formulations: Part 1. *Pharmaceutical Technology* **5**, 36-46 (1991).
18. Stephen K. Dordunoo & Burt, H. M. Solubility and stability of Taxol: effects of buffers and cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics* **133**, 191-201 (1996).
19. Thorsteinn Loftsson, Hafrún Friðriksdóttir, Sigríður Thórisdóttir & Stefánsson, E. The effect of Hydroxypropyl Methylcellulose on the release of Dexamethasone from aqueous 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin formulations. *International Journal of Pharmaceutics* **104**, 181-184 (1994).
20. Yakowsky, S. H. *Solubility and solubilization in Aqueous Media* (ed. Press, O. U.) (Londres, Inglaterra, 1999).
21. H. Ueda et al. Evaluation of Sulfobutyl Ether Beta-cyclodextrin as a solubilizing/stabilizing agent for several drugs. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **24**, 863-867 (1998).

22. Mura P et al. Interactions of Ketoprofen and Ibuprofen with Beta- cyclodextrins in solution and in the solid state. *International Journal of Pharmaceutics* **166**, 189-203 (1998).
23. M.T. Esclusa-Díaz, M. Guimaraens-Méndez, M.B. Pérez-Marcos, J.L. Vila-Jato & Torres-Labandeira, J. J. Characterization and in vitro dissolution behaviour of Ketoconazole/Beta- and 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin inclusion compounds. *International Journal of Pharmaceutics* **143**, 203-210 (1996).
24. T. Loftsson, T.K. Guómundsdóttir & Frióriksdóttir, H. The influence of water-soluble polymers and pH on Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin complexation of drugs. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **22**, 401-405 (1996).
25. T. Loftsson. Ó. Stefánsdóttir, H. Frióriksdóttir & Guómundsson, Ö. Interactions between preservatives and 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **18**, 1477-1484 (1992).
26. Tsuimin Tsai, Jen-Sen Wu, Hsiu-O Ho & Sheu, M.-T. Modification of physical characteristics of Microcrystalline Celulose by codrying with Beta-cyclodextrins. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **87**, 117-122 (1988).
27. Roger A. Rajewski & Stella, V. J. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. In Vivo drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **85**, 1142-1169 (1996).
28. Yannis L. Loukas, Vassiliki Vraka & Gregoriadis, G. Use of a nonlinear least-squares model for the kinetic determination of the stability constant of cyclodextrin inclusion complexes. *International Journal of Pharmaceutics* **144**, 225-231 (1996).
29. Szejtli, J. *Cyclodextrin Technology* (ed. J. E. D. Davies, U. o. L., U.K) (Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1988).
30. Ralph F. Shangraw, Girish S. Pande & Gala, P. Characterization of the tableting properties of Beta-cyclodextrin and the effects of processing variables on inclusion complex formation, compactibility and dissolution. *Drug development and Industrial Pharmacy* **18**, 1831-1851 (1992).

31. A. Gazzaniga et al. The use of Beta-cyclodextrin as a pelletization agent in the extrusion/spheronization process. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **24**, 869-873 (1998).
32. Francesco Castelli, Giovanni Puglisi, Gaetano Giammona & Ventura, C. A. Effect of the complexation of some nonsteroidal anti-inflammatory drugs with Beta-cyclodextrins on the interaction with Phosphatidylcholine liposomes. *International Journal of Pharmaceutics* **88**, 1-8 (1992).
33. Elshaboury, M. H. Physical properties and dissolution profiles of tablets directly compressed with Beta-cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics* **63**, 95-100 (1990).
34. Girish S. Pande & Shangraw, R. F. Characterization of Beta-cyclodextrin for direct compression tableting: II. The role of moisture in the compactability of Beta-cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics* **124**, 231-239 (1995).
35. Lj. Tasic, and, K. P.-H. & Revesz, P. S. Evaluation of compression behavior of Paracetamol tablets produced with Beta-cyclodextrin dispersions. Part II: Energy distribution study of tablets. *Drug development and Industrial Pharmacy* **23**, 1153-1158 (1997).
36. Frédérique Leroy-Lechat, Denis Woussidjewe, Jean-Paul Andreux, F. Puisieux & Duchéne, D. Evaluation of the cytotoxicity of cyclodextrins and hydroxypropylated derivatives. *International Journal of Pharmaceutics* **101**, 97-103 (1994).
37. Frank, S. G. Inclusion compounds. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **64**, 1585-1604 (1975).
38. J.R. Moyano, M. J. Arias, J.M. Ginés, J.I. Pérez & Rabasco, A. M. Dissolution behavior of Oxazepam in presence of cyclodextrins: Evaluation of Oxazepam-Dimeb binary sistem. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **23**, 379-385 (1997).
39. Sergio Cafaggi, Marisa Vallarino, Gabriele Caviglioli, Brunella Parodi & Bignardi, G. Study of the interaction of Dithranol with Heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)-beta-cyclodextrin in solution and in the solid state. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **50**, 257-264 (1998).

40. Mielcarek, J. Thermal methods for identification of inclusion complexes of Felodipine and Amilodipine with Beta-cyclodextrin and Hidroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Journal of Pharmaceutical Belgium* **52**, 219-222 (1997).
41. Angel Muñoz-Ruiz & Paronen, P. Particle and powder properties of cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics* **148**, 33-39 (1997).
42. Johan Berglund, Lena Cedergren & Andersson, S. B. Determination of the stability constant for the inclusion complex between Beta-cyclodextrin and nicotine using capillary electrophoresis. *International Journal of Pharmaceutics* **156**, 195-200 (1997).
43. Remington, J. P. *Farmacia. Remington* (Editorial Médica Panamericana, 1995).
44. Alfred Martin, P. D. *Physical Pharmacy* (Lea and Feriger, 1993).
45. Samuel Herbert Maron & Prutton, C. F. *Fundamentos de Fisicoquímica* (ed. Limusa) (1979).
46. Bernad, M. J. B. Optimización del proceso de disolución de Griseofulvina por su incorporación en dispersiones sólidas., (1992).
47. Cárcamo, E. C. *Cinética de disolución de medicamentos* (ed. Americanos, S. G. d. I. O. d. I. E.) (Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Washington, D.C, 1981).
48. J. Ramírez López, A. Cerezo Galán & Galán, I. C. R. Aspectos cinéticos de complejos de inclusión con ciclodextrinas. *Ciencia e Industria Farmacéutica* **6**, 325-332 (1987).
49. Gul Majid Khan & Jiab, Z. Formulation and in vitro evaluation of Ibuprofen-Carbopol 974P-NF controlled release matrix tablets III: influence of co-excipients on release rate of drug. *Journal of controlled release* **54**, 185-190 (1998).
50. N. Chidambaram, William Porter, Kolette Flood & Qui, Y. Formulation and characterization of new layered diffusional matrices for zero-order sustained release. *Journal of Controlled Release* **52**, 149-158 (1998).
51. M.L. González-Rodríguez, M.J. Fernández-Hervás, I. Caraballo & Rabasco, A. M. Design and evaluation of a new central core matrix tablet. *International Journal of Pharmaceutics* **146**, 175-180 (1997).

52. S. Indiran Pather, Irina Russell, and, J. A. S. & Neau., S. H. Sustained release Theopylline tablets by direct compression. Part 1: formulation and in vitro testing. *International Journal of Pharmaceutics* **164**, 1-10 (1998).
53. G. Henk et al. A new generation of starch products as excipient in pharmaceutical tablets. II. High surface area retrograded pregelatinized potato starch products in sustained-release tablets. *Journal of Controlled Release* **45**, 25-33 (1997).
54. Oliver L. Freichel & Lippold, B. C. A new oral erosion controlled drug delivery system with a late burst in the release profile. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **50**, 345-351 (2000).
55. T. Salsa, F. Veiga & Pina, M. E. Oral controlled-release dosage forms. I. Cellulose Ether polymers in hydrophilic matrices. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **23**, 929-938 (1997).
56. Adrian Bodea & Leucuta, S. E. Optimization of hydrophilic matrix tablets using a D-optimal design. *International Journal of Pharmaceutics* **153**, 247-255 (1997).
57. M.C. Ferrero et al. Drug release from a new family of graft copolymers of Methacrylate. I. *International Journal of Pharmaceutics* **149**, 233-240 (1997).
58. Tatsuya Ishikawa, Yoshiteru Watanabe, Kazuo Takayama, Hisashi Endo & Matsumoto, M. Effect of Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) on the release profiles and bioavailability of poorly water-soluble drug from tablets prepared using Macrogol and HPMC. *International Journal of Pharmaceutics* **202**, 173-178 (2000).
59. Etienne Chatelut, Peter Suh & Kim, S. Sustained-release Methotrexate for intracavitary chemotherapy. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **83**, 429-432 (1994).
60. Naomi Yagi et al. Preparation of sustained release granules of Bumetanide. *Chemical of Pharmaceutical Bulletin* **45**, 918-922 (1997).
61. Yihong Qiu et al. Design of sustained-release matrix systems for a highly water-soluble compound, ABT-089. *International Journal of Pharmaceutics* **157**, 43-52 (1997).

62. Carmen Remuñán-López, Ana Portero, José Luis Vila-Jato & Alonso, M. J. Design and evaluation of Chitosan/Etylcellulose mucoadhesive bilayered devices for bucal drug delivery. *Journal of Controlled Release* **55**, 143-152 (1998).
63. S.L. Raghavan, A. Trividic, and, A. F. D. & Hadgraft, J. Effect of cellulose polymers on supersaturation and in vitro membrane transport of Hydrocortisone Acetate. *International Journal of Pharmaceutics* **193**, 231-237 (2000).
64. I. Caraballo, L.M. Melgoza, J. Alvarez-Fuentes, M.C. Soriano & Rabasco, A. M. Design of controlled release inert matrices of Naltrexone Hydrochloride based on percolation concepts. *International Journal of Pharmaceutics* **181**, 23-30 (1999).
65. C. H. Brachais et al. Poly(methylglyoxylate), a biodegradable polymeric material for new drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics* **169**, 23-31 (1998).
66. T. Coviello et al. A novel co-crosslinked Polysaccharide: studies for a controlled delivery matrix. *Journal of Controlled Release* **55**, 57-66 (1988).
67. C. Chebli & Cartilier, L. Effect of some physical parameters on the sustained drug-release properties of substituted Amylose matrices. *International Journal of Pharmaceutics* **193**, 167-173 (2000).
68. Jürgen Siepmann, H. Kranz, N.A. Peppas & Bodmeier, R. Calculation of the required size and shape of Hydroxypropyl methylcellulose matrices to achieve desired drug release profiles. *International Journal of Pharmaceutics* **201**, 151-164 (2000).
69. Kibbe, A. H. *Hanbook of pharmaceutical excipients* (American Pharmaceutical Association, USA, 2000).
70. Guangwei Lu & Jun, H. W. Diffusion studies of Methotrexate in Carbopol and Polaxamer gels. *International Journal of Pharmaceutics* **160**, 1-9 (1998).
71. Gul Majid Khan & Zhu, J. B. Studies on drug release kinetics from Ibuprofen-carbomer hydrophilic matrix tablets: influence of co-excipients on release rate of the drug. *Journal of Controlled Release* **57**, 197-203 (1999).

72. N. García González et al. Influence of Glycerol concentration and Carbopol molecular weight on swelling and drug release characteristics of Metoclopramide hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics* **104**, 107-113 (1994).
73. Seymour, R. B. & Charles E. Carraher, J. *Introducción a la Química de los Polímeros* (Editorial Reverté, S.A, España, 1995).
74. Mitsuo Muramatsu et al. Application of Carbopol to controlled release preparations I. Carbopol as a novel coating material. *International Journal of Pharmaceutics* **199**, 77-83 (2000).
75. Gutierrez, S. I. G. Evaluación de la eficacia de una formulación para el afeitado en base carbomérica., 95 (2001).
76. Löscher W., Fabender C., Weissing M. & M, K. Drug plasm levels following administration of Trimethoprim and Sulphonamide combinations to broilers. *Journal of Veterinary Pharmacology Therapeutics* **13**, 309-319 (1990).
77. Charles McDonald & Faridah. Solubilities of Trimethoprim and Sulfamethoxazole at various pH values and crystallization of Trimethoprim from infusion fluids. *Journal of Parenteral Science and Technology* **45**, 147-151 (1991).