

50524
51



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**FORMACIÓN, EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN
DEL COMPLEJO DE INCLUSIÓN
PIROXICAM/HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A :
GABRIEL HERNÁNDEZ JUÁREZ

DIRECTOR: M en C. BEATRIZ ESPINOSA FRANCO

MEXICO, D.F.

2003

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

**TESIS
CON
FALLA DE
ORIGEN**



FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"

JEFATURA DE LA CARRERA DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO BIÓLOGO

ASUNTO: ASIGNACIÓN DE SINODALES.

ESTIMADOS MAESTROS :

La Dirección de la Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza", ha nombrado a ustedes como Sinodales del Examen Profesional del (la) señor (ita):

HERNÁNDEZ JUÁREZ GABRIEL

Para obtener el Título de Químico Farmacéutico Biólogo.

Les agradeceré se sirvan revisar el trabajo escrito intitulado: **Formación, evaluación y caracterización del complejo de inclusión Piroxicam / hidroxipropil- β -ciclodextrina.**

Y asistir en la fecha que después se les hará saber al Examen de Recepción Profesional.

PRESIDENTE Q.F.B. MAURO ARRIETA SÁNCHEZ
VOCAL M. en C. BEÁTRIZ ESPINOSA FRANCO
SECRETARIO Q.F.B. MARTHA JULIETA OLIVEROS GARCÍA
SUPLENTE Q.F.B. IRMA ALEJANDRE RAZO
SUPLENTE Q.F.B. MA. ISABEL GARDUÑO POSADA

Beatriz Espinosa Franco

Martha Julieta Oliveros García

Irma Alejandre Razo

Ma. Isabel Garduño Posada

ATENTAMENTE.
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
México, D.F., a 17 de septiembre de 2002.

Q.F.B. ROBERTO CRUZ GONZÁLEZ MELÉNDEZ.
JEFE DE LA CARRERA

c c p Departamento de Control de Egresados
c c p Interesado

Con amor para mi Papá por su apoyo incondicional, por su lucha constante para que pudiéramos realizar mis estudios.

A mi Mamá por su cariño porque estuvo conmigo en todo momento y porque la quiero muchísimo.

Este trabajo Mami es especialmente para tí, por ser la luz de mi vida.

Con gran cariño a mi hermano porque siempre me ha brindado su apoyo incondicional

GABRIEL

*Al Lic. René Iñigo Castillo
y Diamanda Pérez de Anda
porque a través de los años
he contado con su invaluable
cariño y apoyo, porque gracias
a su ejemplo he descubierto
el camino correcto.*

*A: M. en C. Beatriz Espinoza Franco
por su gran apoyo para la realización
de este proyecto.*

*A mis compañeros y amigos de la Facultad,
gracias por su apoyo.
Gracias a todos y cada una de las personas
que estuvieron presentes en mi formación.*

GABRIEL HERNANDEZ JUAREZ

CONTENIDO

INTRODUCCION	
CAPITULO 1. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE MATERIAS PRIMAS	1
1.1 PROPIEDADES DEL PIROXICAM	1
1.1.1 CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS	1
1.1.2 ANTECEDENTES	2
1.1.3 INDICACIONES TERAPEUTICAS	3
1.1.4 FARMACODINAMIA Y FARMACOCINETICA	3
1.1.5 REACCIONES ADVERSAS E INTERACCIONES	3
1.1.6 POSOLOGIA Y VIAS DE ADMINISTRACION	4
1.1.7 CONTRAINDICACIONES	4
1.2 GENERALIDADES DE LAS CICLODEXTRINAS	5
1.3 PROPIEDADES DE LA HIDROXI-PROPILO- β -CICLODEXTRINA	6
1.3.1 CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS	6
1.3.2 ASPECTOS IMPORTANTES DE LA HIDROXI-PROPILO- β -CICLODEXTRINA	7
1.3.3 TOXICIDAD	8
CAPITULO 2. FORMACION DE COMPLEJOS DE INCLUSION	10
2.1 DEFINICIONES	10
2.2 REQUERIMIENTOS PARA LA FORMACION DE COMPLEJOS	11
2.2.1 GEOMETRIA MOLECULAR	12
2.2.2 POLARIDAD	13
2.2.3 MEDIO DE PREPARACION	13
2.2.4 FUERZAS DE INTERACCION	15
2.3 METODOS DE PREPARACION DE COMPLEJOS DE INCLUSION	17
2.3.1 PREPARACION EN SOLUCION	17
2.3.2 PREPARACION POR COPRECIPITACION	18
2.3.3 PREPARACION POR AMASADO	18
2.3.4 PREPARACION EN FASE SOLIDA	18
2.3.5 PREPARACION POR SPRAY DRYING O FREEZE DRYING	19
2.4 ESTABILIDAD DEL COMPLEJO	20
2.4.1 DIAGRAMAS DE SOLUBILIDAD	21
2.4.2 CALCULO DE LA CONSTANTE DE ESTABILIDAD	24
2.5 METODOS PARA DETERMINAR LA FORMACION DE COMPLEJOS	27
2.5.1 ANALISIS POR ULTRAVIOLETA	27
2.5.2 METODOS TERMICOS	28
2.5.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO	28
2.5.4 METODOS DIVERSOS	29
2.5.4.1 CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA	29
2.5.4.2 DIFRACCION DE RAYOS X	29
2.5.4.3 RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR	30
CAPITULO 3. APLICACIONES GENERALES DE LA HIDROXI-PROPILO- β -CICLODEXTRINA	31
3.1 APLICACION FARMACEUTICA	31
3.1.1 AUMENTO DE LA SOLUBILIDAD Y BIODISPONIBILIDAD	32
3.1.2 EFECTO DE LA ESTABILIDAD FISICA Y QUIMICA	33
3.1.3 REDUCCION DE EFECTOS BIOLÓGICOS ADVERSOS	34
3.1.4 MANUFACTURA DE TABLETAS	34
3.2 APLICACION COSMETICA Y ALIMENTICIA	35
3.3 PESTICIDAS	35
3.4 BIOTECNOLOGIA	36

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

F

4	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	37
5	OBJETIVOS	38
6	HIPOTESIS	39
7	MATERIAL	40
8	EQUIPO	41
9	METODOLOGIA	42
9 1	VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE PIROXICAM EN SOLUCION.....	43
9 2	DETERMINACION DE LA SOLUBILIDAD DE PIROXICAM EN METANOL.....	43
9 3	PREPARACION DE LAS MUESTRAS EN AMPOLLETAS.....	44
9 4	PREPARACION DEL COMPLEJO DE INCLUSION PIROXICAM E HIDROXIPROPIL- β - CICLODEXTRINA POR EL METODO DE COPRECIPITADO.....	44
9 5	PREPARACION DEL COMPLEJO DE INCLUSION PIROXICAM E HIDROXIPROPIL- β - CICLODEXTRINA POR EL METODO DE AMASADO.....	45
9 6	PREPARACION DEL COMPLEJO DE INCLUSION PIROXICAM E HIDROXIPROPIL- β - CICLODEXTRINA POR EL METODO DE MEZCLA FISICA.....	45
9 7	CARACTERIZACION DE MATERIAS PRIMAS Y DEL COMPLEJO DE INCLUSION.....	45
9 7 1	ANALISIS POR ULTRAVIOLETA	45
9 7 2	CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE BARRIDO.....	46
9 7 3	ANALISIS POR INFRARROJO	46
9 8	DETERMINACION DE LA CONSTANTE DE FORMACION DEL COMPLEJO DE INCLUSION.....	47
9 8 1	PREPARACION DE UNA SOLUCION SATURADA DE HP- β -CD.....	47
9 8 2	EVALUACION DE LA SOLUBILIDAD DEL COMPLEJO EN METANOL.....	47
9 9	EVALUACION DE LA SOLUBILIDAD DEL PIROXICAM EN SOLUCIONES BUFFER PH2, PH4, Y PH7.....	47
9 10	EVALUACION DE LA SOLUBILIDAD DEL COMPLEJO DE INCLUSION EN SOLUCIONES BUFFER PH2, PH4, Y PH7.....	48
10	RESULTADOS.....	49
11	CONCLUSIONES	75
12	RECOMENDACIONES.....	76
13	BIBLIOGRAFIA.....	77
14	APENDICE I.....	81
15	APENDICE II.....	82
16	APENDICE III.....	83

F

INDICE DE TABLAS

TABLA 1	Aspectos diversos de la β -Ciclodextrina e Hidroxipropil- β -Ciclodextrina .
TABLA 2	Evaluación de la linealidad del sistema.
TABLA 3	Evaluación de la precisión del sistema
TABLA 4	Evaluación de la reproducibilidad del método.
TABLA 5	Análisis de varianza para evaluar la reproducibilidad del método.
TABLA 6	Datos de solubilidad de Piroxicam en metanol.
TABLA 7	Datos de solubilidad para determinar la constante de complejación.
TABLA 8	Datos de solubilidad del complejo de inclusión Piroxicam/ Hidroxipropil- β -Ciclodextrina .
TABLA 9	Datos de solubilidad de Piroxicam a pH2, pH4 y pH7.
TABLA 10	Datos de solubilidad del complejo de inclusión Piroxicam/ Hidroxipropil- β -Ciclodextrina a pH2, pH4 y pH7.

INDICE DE FIGURAS

- FIGURA 1. Estructura química del piroxicam
- FIGURA 2. Estructura de la α , β , y γ Ciclodextrinas
- FIGURA 3. Estructura química de la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina
- FIGURA 4. Representación del proceso de inclusión molecular
- FIGURA 5. Representación del proceso de complejación en solución
- FIGURA 6. Representación del proceso de inclusión en fase sólida.
- FIGURA 7. Diagrama de solubilidad de fase típico
- FIGURA 8. Diagrama de solubilidad de fase de Piroxicam en metanol
- FIGURA 9. Espectro UV del piroxicam
- FIGURA 10. Espectro UV de la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina
- FIGURA 11. Espectro UV del complejo formado por el método de mezcla física 1:1
- FIGURA 12. Espectro UV del complejo formado por el método de mezcla física 1:3
- FIGURA 13. Espectro UV del complejo formado por el método de mezcla física 1:4
- FIGURA 14. Espectro de IR HP- β -CD en KBr
- FIGURA 15. Espectro de IR Piroxicam en KBr
- FIGURA 16. Espectro de IR del complejo formado por el método de mezcla física 1:1 en KBr
- FIGURA 17. Espectro de IR del complejo formado por el método de mezcla física 1:3 en KBr
- FIGURA 18. Espectro de IR del complejo formado por el método de mezcla física 1:4 en KBr
- FIGURA 19. Termograma de la HP- β -CD
- FIGURA 20. Termograma Piroxicam
- FIGURA 21. Termograma del complejo formado por el método de mezcla física 1:1
- FIGURA 22. Termograma del complejo formado por el método de mezcla física 1:3

-
-
- FIGURA 23. Termograma del complejo formado por el método de mezcla física 1:4
- FIGURA 24. Espectro UV del complejo formado por el método de coprecipitado 1:3
- FIGURA 25 Espectro de IR HP- β -CD en Nujol
- FIGURA 26. Espectro de IR Piroxicam en Nujol
- FIGURA 27. Espectro de IR del complejo formado por el método de coprecipitado 1:1 en Nujol
- FIGURA 28. Espectro de IR del complejo formado por el método de coprecipitado 1:3 en Nujol
- FIGURA 29. Espectro de IR del complejo formado por el método de coprecipitado 1:4 en Nujol
- FIGURA 30. Termograma del complejo formado por el método de coprecipitado 1:1
- FIGURA 31. Termograma del complejo formado por el método de coprecipitado 1:3
- FIGURA 32. Termograma del complejo formado por el método de coprecipitado 1:4
- FIGURA 33. Espectro de UV del complejo formado por el método de amasado 1:3
- FIGURA 34 Espectro de IR HP- β -CD
- FIGURA 35. Espectro de IR Piroxicam
- FIGURA 36. Espectro de IR del complejo formado por el método de amasado 1:1
- FIGURA 37. Espectro de IR del complejo formado por el método de amasado 1:3
- FIGURA 38 Espectro de IR del complejo formado por el método de amasado 1:4
- FIGURA 39 Termograma del complejo formado por el método de amasado 1:1
- FIGURA 40 Termograma del complejo formado por el método de amasado 1:3
- FIGURA 41. Termograma del complejo formado por el método de amasado 1:4
- FIGURA 42. Espectro UV del complejo formado por el método de mezcla física 1:3
- FIGURA 43. Espectro de IR del complejo formado por el método de mezcla física 1:3
- FIGURA 44. Termograma del complejo formado por el método de mezcla física 1:3

FIGURA 45. Diagrama de solubilidad de fase para la determinación de la constante de complejación.

FIGURA 46. Diagrama de solubilidad de fase del complejo por mezcla física de Piroxicam/Hidroxiopropil- β -Ciclodextrina.

FIGURA 47. Diagrama de solubilidad de fase comparativo entre Piroxicam y el complejo de inclusión.

FIGURA 48. Diagrama de solubilidad de fase de Piroxicam a pH2, pH4 y pH7.

FIGURA 49. Diagrama de solubilidad de fase del complejo de inclusión a pH2, pH4 y pH7.

ABREVIATURAS

HPβCD	Hidroxipropil-Beta-ciclodextrina
USP	United States Pharmacopeia
BP	British Pharmacopeia
CLAR	Cromatografía Líquida de Alta Resolución (equivalente en inglés de HPLC)
GLC	Gas Liquid Chromatographic
DSC	Diferencial Scanning Calorimetry
CDB	Calorimetría Diferencial de Barrido (equivalente en español de DSC)
IR	Infrarrojo
UV	Ultravioleta
ANOVA	Análisis estadístico de la Varianza
Fobs	Valor crítico teórico del estadígrafo de contraste F de Fisher
Fcrit	Valor experimental del estadígrafo de contraste F de Fisher
C.V	Coefficiente de variación

INTRODUCCION

El número de patentes de acuerdo a nuevas investigaciones dedicadas a la aplicación industrial de las Ciclodextrinas se va incrementando día con día, de tales investigaciones, cerca de la mitad corresponde a la industria farmacéutica y sus aplicaciones dentro de la misma, principalmente en investigación sobre la combinación o formación de complejos de fármacos con Ciclodextrinas, debido a su gran potencial de aplicación, ayudando a resolver problemas de solubilidad.

De tal manera es posible incrementar la solubilidad en agua, y también la velocidad de disolución de fármacos con bajo índice de solubilidad, para así aumentar la biodisponibilidad y se puedan alcanzar niveles más altos en el plasma sanguíneo, de modo que se brinde la posibilidad de reducir al máximo la dosis empleada e incrementar su actividad terapéutica.

El Piroxicam es un fármaco antiinflamatorio no esterooidal, insoluble en agua. Es un potente antiinflamatorio y agente analgésico con una vida media en plasma sanguíneo de alrededor de 45 horas en humanos. En dosis repetidas de 20mg/día las concentraciones en plasma alcanzan la meseta en el rango de 5 a 7mg/L después de 5 a 7 días.

El objetivo del presente trabajo es formar un complejo de inclusión con Piroxicam-Hidroxi-Propil- β -Ciclodextrina para incrementar la solubilidad del Piroxicam, ya que por sus características farmacocinéticas es administrado por períodos prolongados para afecciones tales como artritis reumatoide. De tal manera se formó un complejo de inclusión de Piroxicam-Hidroxi-Propil- β -Ciclodextrina, al que se pretende conferir una mayor solubilidad, a fin de reducir su irritabilidad en la mucosa intestinal.

Empleando el método de complejación de mezcla física, en la proporción estequiométrica de 1:3, es posible la obtención de un complejo de inclusión estable en medio sólido, lo que favorece su manejo.

Es importante señalar que se realizó una comparación de solubilidad para el complejo y el fármaco sin complejar, donde se obtuvieron los valores de 64.9632mg/10mL para el complejo

de inclusión Piroxicam/Hidroxiopropil- β -Ciclodextrina y 40.6902mg/10mL para el fármaco solo, observándose un notable incremento en la solubilidad del Piroxicam, representado por cambios significativos en los espectros correspondientes de diferentes técnicas analíticas utilizadas.

De esta manera es posible, que debido al incremento en la solubilidad del Piroxicam en el complejo de inclusión, haya una disminución en la irritabilidad gástrica provocada por el principio activo, lo que sería una ventaja para aquellos pacientes que utilicen el medicamento por periodos prolongados.

CAPITULO 1 PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE MATERIAS PRIMAS

1.1 PROPIEDADES DEL PIROXICAM

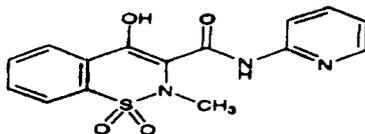


Figura 1. Estructura química de piroxicam.

1.1.1 CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS

- a) **Nombre común.** Piroxicam
- b) **Nombre químico.** 4-Hidroxy-2-metil-N-2-piridinil-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamida 1,1-dioxido; 3,4-dihidro-2-metil-4-oxo-N-2-piridil-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamida 1,1-dioxido.
- c) **Fórmula condensada.** C₁₅H₁₃N₃O₄S
- d) **Peso molecular.** 331.36g/mol
- e) **Punto de fusión.** 198°C a 200°C
- f) **Apariencia.** Polvo cristalino incoloro o ligeramente amarillo, inoloro, y de sabor amargo.
- g) **Solubilidad.** El Piroxicam es insoluble en agua y ciclohexano, parcialmente soluble en éter diisopropílico y tolueno; ligeramente soluble en alcoholes alifáticos como metanol, etanol

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

e isopropanol; soluble en algunos disolventes tales como dimetilformamida (1g/10mL), dimetilsulfóxido (1g/10mL), así como en cloroformo (1g/20mL), y algo menos soluble en dioxano (1g/40mL), acetona (1g/50mL) y acetato de etilo (1g/80mL).

h) Espectros de IR. Las principales bandas se observan en las regiones de 1635 o 1625cm⁻¹ donde se puede observar la banda que corresponde a la carbonil amina; a los 1525cm⁻¹ la banda correspondiente a la amina secundaria; a los 1440cm⁻¹ los grupos metilo y dobles enlaces carbono-carbono; a los 1155-1070cm⁻¹ o 1050-1070cm⁻¹ los correspondientes a una sulfona; y por último a los 770 y 730 o 740cm⁻¹ las bandas características de un fenilo orto di sustituido.

i) Espectro UV. El espectro de ultravioleta del Piroxicam está caracterizado por dos máximos en ácido clorhídrico 0.1M. a 242nm (ϵ >9700) y 339nm (ϵ >22500), y tres en metanol, a 256nm (ϵ >12700), 290nm (10000) y 358nm (ϵ >14600).⁽³⁾

1.1.2 ANTECEDENTES

Clasificación farmacológica: analgésico antiinflamatorio no esteroide (AINES).

Clasificación terapéutica: analgésico no narcótico, antipirético, antiinflamatorio.

El Piroxicam, es eficiente en el tratamiento de artritis reumatoide y otros desórdenes inflamatorios en humanos como la osteoartritis. Este fármaco es altamente potente, tiene una vida media de aproximadamente 45 horas en humanos, lo cual lo hace idóneo para una única administración al día. No se han detectado hasta el momento efectos secundarios relacionados con el sistema Nervioso Central y/o cardiovasculares .⁽¹⁾

El piroxicam se emplea como un efectivo analgésico y agente antiinflamatorio en artritis reumatoide, osteoartritis, anquilosis espondilítica, además de aliviar el dolor en desordenes del músculo esquelético, esto se ha demostrado por ser un efectivo analgésico en fracturas, en usos dentales y dolores de post-parto y post-operatorios. ⁽²⁾

1.1.3 INDICACIONES TERAPEUTICAS

Se ha demostrado por estudios clínicos, que el Piroxicam es efectivo en la disminución de la inflamación en pacientes con artritis reumatoidea, así como con osteoartritis. Es el fármaco alternativo en el tratamiento de espondilitis anquilosante y en pacientes aquejados de gota. Útil en el tratamiento de cualquier algia del aparato locomotor de origen inflamatorio (mialgias, tendinitis, bursitis, artralgias, etc.).⁽⁴⁾

1.1.4 FARMACODINAMIA Y FARMACOCINETICA

FARMACODINAMICA

El piroxicam presenta acciones analgésica, antipirética y antiinflamatoria: se desconoce su mecanismo exacto de acción, aunque se piensa que inhibe la síntesis de prostaglandinas.

FARMACOCINETICA

- **Absorción:** Se absorbe rápidamente desde vía gastrointestinal. Su máximo efecto se observa en 3 a 5 horas después de la dosis. Los alimentos retardan su absorción.
- **Distribución:** El Piroxicam se une extensamente a las proteínas plasmáticas.
- **Metabolismo:** Se metaboliza principalmente en el hígado.
- **Excreción:** Se excreta por orina. Su vida media prolongada (cerca de 50 horas) permite dosificarlo una vez al día.

1.1.5 REACCIONES ADVERSAS E INTERACCIONES

Como la mayoría de los antiinflamatorios no esteroideos, las reacciones más frecuentes que se observan son las que afectan el sistema gastrointestinal, tales como náusea, úlcera péptica, sangrado gastrointestinal y dolor abdominal. Estas reacciones adversas se observan en el 16% de los pacientes que ingieren en forma crónica el fármaco.

Estudios de farmacovigilancia comparativos han señalado que los efectos colaterales observados con el Piroxicam son menores que los producidos por la indometacina, fenilbutazona y ácido acetilsalicílico en el tracto gastrointestinal. Rara vez se ha observado úlcera péptica en tratamientos cortos, siendo bien tolerada por el paciente en dosis tan altas como 30 mg diarios de Piroxicam.

Otras reacciones adversas menos frecuentes observadas en tratamientos prolongados con Piroxicam incluyen: cefaleas, mareos, somnolencias, rash cutáneo, prurito, vértigo y edema.⁽²⁾

1.1.6 POSOLOGIA Y VIAS DE ADMINISTRACION

La dosis inicial para pacientes adultos con artritis reumatoidea y espondilitis anquilosante es de 20 mg diarios por vía oral. En la mayoría de los enfermos, la administración de esta dosis es adecuada para tratamientos prolongados, aunque en algunos casos se requieren hasta 30 mg al día. Dosis más altas están asociadas con reacciones adversas gastrointestinales. En la gota aguda, son recomendables de 40 mg al día por vía oral en una sola toma durante 5 a 7 días.

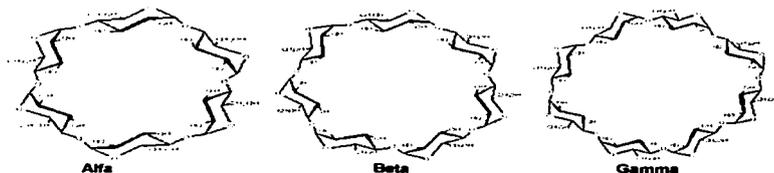
1.1.7 CONTRAINDICACIONES

No debe administrarse en pacientes con úlcera péptica, con alergia al ácido acetilsalicílico u otros antiinflamatorios no esteroideos.^(1,2)

1.2 GENERALIDADES DE LAS CICLODEXTRINAS

Ciclodextrinas

Las Ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos formados por 6,7 y 8 unidades de D-glucosa llamadas α , β , y γ Ciclodextrinas respectivamente (Fig. 2), las cuales recientemente han sido reconocidas como excipientes de uso farmacéutico. La estructura molecular de estos derivados de la glucosa es en el exterior muy hidrofílica y relativamente hidrofóbica en la cavidad interior. De acuerdo a las características ya mencionadas estas moléculas son capaces de formar compuestos de inclusión con una gran variedad de moléculas en medios tanto líquidos como sólidos.



Alfa, beta y gamma ciclodextrinas.

Figura 2. Estructuras de la α , β , y γ Ciclodextrinas.

Estos complejos no covalentes, ofrecen una gran variedad de ventajas desde el punto de vista fisicoquímico, incluyendo el incremento de la solubilidad en agua de los fármacos y su estabilidad en solución.^(5,6)

1.3 PROPIEDADES DE LA HIDROXIPROPIL- β - CICLODEXTRINA

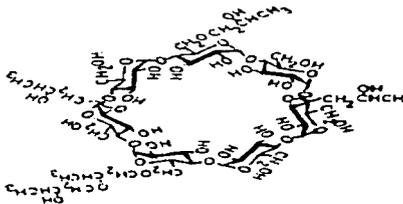


Figura 3. Estructura química de la hidroxipropil- β -ciclodextrina.

1.3.1 CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS

Nombre químico: 2-Hidroxipropil-Beta-Ciclodextrina

Peso molecular: 1193g/mol

Fórmula condensada: C₄₅H₇₇O₃₆

Obtención: Por hidroxilación de la β -Ciclodextrina y con ello formar la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina. La sustitución puede darse en las posiciones 1,2 o 3.

Apariencia: Es un polvo blanco amorfo.

Solubilidad: Más de 500mg/mL en agua a temperatura ambiente en proporción de más del 75% v/v puede ser usado. Soluble en etanol en una solución del 50-60%.

La solubilidad en disolventes orgánicos como metanol y etanol se ve favorecida al formar complejos con algunos fármacos.

Dosis máxima: No es tóxica después de una administración oral, en dosis menores a 500mg/Kg y por vía intravenosa en soluciones al 5% durante 4 días.^(7,8)

1.3.2 ASPECTOS IMPORTANTES DE LA HP- β -CD

La Hidroxipropil- β -Ciclodextrina es un polvo blanco amorfo. Las preparaciones con alto nivel de sustitución^(9,10) son semisólidos y necesitan un procedimiento conocido como freeze drying o tratamiento con disolventes orgánicos para transformarlo a polvo. Las preparaciones con Hidroxipropil- β -Ciclodextrina son muy solubles en agua; pueden ser preparadas en soluciones por arriba del 75% v/v.

Es un polvo amorfo, blanco muy soluble en agua; es soluble en etanol en una solución al 50-60%. Las Ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos producidos por la degradación enzimática del almidón mediante la acción de la enzima ciclodextrin-glucosil transferasa, la cual es producida por algunas especies de Bacilos, especialmente *Bacillus macerans*.^(3,5)

De acuerdo a las condiciones de reacción, las ciclodextrinas contienen seis, siete u ocho unidades de glucosa unidas por enlaces α -1,4 se conocen como α , β y γ respectivamente. De las tres Ciclodextrinas, la β -Ciclodextrina es la más estudiada, pues se ha encontrado que es posible incluir dentro de ella moléculas de diferente tamaño formando compuestos con mayor estabilidad.

La solubilidad de la β -Ciclodextrina es sólo 1.85 g/100mL (a temperatura ambiente) aumentando de manera proporcional con la temperatura, seguida de una fácil recrystalización al enfriamiento. En presencia de moléculas orgánicas, la solubilidad de la β -Ciclodextrina

decrece, debido a la formación del complejo. Las ciclodextrinas son poco reactivas, pues no tienen grupos terminales reducibles. Son resistentes a las soluciones alcalinas, tanto como la celulosa.⁽⁵⁾

La HP- β -CD es un derivado de la Ciclodextrina y recientemente ha sido incorporado a formulaciones que son usadas en animales y humanos. Este compuesto presenta pocas reacciones adversas reportadas hasta el momento. Al formar complejos con este compuesto se incrementa la solubilidad del fármaco de manera lineal. Puede formar complejos con fármacos de peso molecular alto, debido a los grupos sustituidos ya que las propiedades que se proporcionarán dependerán del fármaco de que se trate. Se ha observado que la estabilidad de un complejo es proporcional al carácter hidrofóbico de sus sustituyentes, la presencia de grupos metilo o etilo incrementan ésta debido a su baja polaridad. La HP- β -CD posee cavidades en las cuales dado el peso molecular del Piroxicam este puede entrar y formar el complejo, dadas las interacciones y la polaridad de ambos esto es posible.⁽¹¹⁾

1.3.3 TOXICIDAD

Administrado por vía parenteral a humanos en dosis de 0.5 g/kg/día, IV como solución en agua al 5% y por vía oral una dosis de 100mg en tableta sublingual. Después de la administración no se observaron efectos adversos significativos por ninguna de las vías de administración.⁽¹²⁾

La HP- β -CD no es tóxica después de una administración oral, parenteral ó intravenosa para diferentes especies. La solución de HP- β -CD no irrita los ojos de los conejos al aplicarse sobre estos, no irrita la piel de los humanos, ni afecta el cerebro al ser inyectado en los animales objeto de estudio.

La dosis máxima administrada de HP- β -CD en humanos fue de 500mg/Kg en forma continua en una solución acuosa al 5% para un individuo en 4 días de tratamiento (Tabla 1). No se reportaron efectos adversos durante estos cuatro días, ni aún durante la observación del individuo después de un determinado tiempo.^(7,12,13)

Tabla 1. Aspectos diversos de la β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina.

CICLODEXTRINA	β -CICLODEXTRINA	HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA
PESO MOLECULAR	1135g/mol	1193g/mol
SOLUBILIDAD	En presencia de moléculas orgánicas, su solubilidad decrece considerablemente, debido a la formación de un complejo. Soluble 1.85g/100ml, a temperatura ambiente, aumentando de manera proporcional con la temperatura.	Muy soluble en agua (500mg/mL) a temperatura ambiente. La solubilidad en alcoholes alifáticos se ve favorecida al formar complejos de inclusión
DOSIS MÁXIMA	200,400 y 600mg/Kg	500mg/Kg V.O. Solución 5% X 4 Días I.V.
ADMINISTRACION	Subcutánea, intraperitoneal e intravenosa.	Oral e Intravenosa
TOXICIDAD	Necrosis renal, en el caso de ser administrada parenteralmente por periodos prolongados, posee un alto grado de toxicidad.	No tiene significancia por ninguna de las vías mencionadas.
REACCIONES ADVERSAS	No se han reportado	No se han reportado hasta el momento (no irrita los ojos de animales de experimentación, la piel de humanos, ni afecta al cerebro al ser inyectado en los animales estudiados).
NIVEL DE TOLERANCIA	A corto plazo, con daño en la mucosa intestinal y poca tolerabilidad en el tracto gastrointestinal.	Bien tolerado a corto y largo plazo, con un depreciable daño a la mucosa intestinal y bien tolerado en el tracto gastrointestinal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPITULO 2. FORMACION DE COMPLEJOS DE INCLUSION CON HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA.

2.1 DEFINICIONES

Para poder comprender claramente la relación que se establece entre las moléculas que participan en la formación de un complejo de inclusión, es necesario aclarar el lenguaje a emplear.

El proceso de inclusión, es el resultado de la capacidad de un compuesto con ciertas características estructurales y estéricas, así como de polaridad, para "englobar" de manera especial a un segundo componente. El compuesto que es incluido (sustrato) está situado en la cavidad de la molécula ocluyente (ligando) sin afectar significativamente la estructura de éste. A la especie formada, se le llama complejo de inclusión o complejo molecular. Los términos formación de complejo, complejación, asociación molecular o enlace se consideran sinónimos. Este complejo surge a partir de las dos especies unidas mediante un enlace no covalente y presenta una estequiometría sustrato-ligando definida. De acuerdo a este tipo de interacción, una característica importante de un complejo de inclusión es la posibilidad de establecer un equilibrio de disociación-asociación cuando se encuentre en solución.

Se llama sustrato, a la especie cuyas propiedades físicas o químicas serán observadas experimentalmente. El ligando es la molécula que interactúa con la primera y cuya concentración será la variable independiente en el proceso experimental de formación del complejo⁽¹⁴⁾. Este tipo de nomenclatura será únicamente operacional y no tiene implicación acerca de la naturaleza de la interacción o de las propiedades del complejo.

Una característica importante del ligando, es la capacidad para formar una estructura con espacios libres, cuyas dimensiones permitirán la inclusión de otra molécula.^(15,16)

La formación de los complejos no depende de la afinidad química o de la presencia de ciertos grupos, pero sí de un arreglo espacial adecuado. La Hidroxipropil- β -Ciclodextrina

presenta esta característica, y por lo tanto puede interactuar con una gran variedad de moléculas.

De acuerdo con las características que presentan los complejos se han clasificado de diferentes formas. Dependiendo de la estructura del ligando y el espacio libre de éste, puede tener la forma de una rejilla, de un canal o una capa. Otro criterio de clasificación puede ser el número de moléculas que participan en la formación del complejo, dividiéndose en polimoleculares y monomoleculares. De los primeros los más conocidos son los formados con urea, los complejos monomoleculares más conocidos son los formados con Ciclodextrinas, que presentan una estructura cristalina estable.

2.2 REQUERIMIENTOS PARA LA FORMACION DE COMPLEJOS

Existe una serie de factores técnicos que van a limitar la formación de complejos.

Muchos fármacos no pueden ser complejados, o el proceso trae consigo efectos no satisfactorios. En otros casos, la cantidad del fármaco en el complejo es muy baja, lo que representa una desventaja cuando se desea formular en tabletas. También es una limitante el hecho de que los compuestos inorgánicos no pueden complejarse, a excepción de algunos ácidos en su forma no disociada.

Sin embargo, los requisitos principales que deben cumplirse son los relacionados a las propiedades del fármaco, las cuales van a determinar la estabilidad y demás propiedades del complejo formado. Estos requisitos son:

- a) La solubilidad del fármaco debe ser menor a 10mg/mL
- b) El punto de fusión debe ser menor a 250°C
- c) La estructura debe estar formada por no más de cinco anillos condensados y
- d) El peso molecular debe encontrarse entre 100 y 400 g/mol. Con moléculas más pequeñas el contenido de fármaco es muy bajo, y las de mayor peso no caben en la Hidroxipropil-β-Ciclodextrina.⁽¹⁷⁾

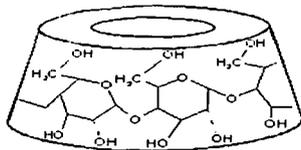


Figura 4. Proceso de inclusión molecular

A continuación se abordarán con detalle algunas condiciones adicionales a las ya mencionadas.

2.2.1 GEOMETRIA MOLECULAR

La Hidroxipropil- β -Ciclodextrina es capaz de formar compuestos o complejos de inclusión, únicamente con moléculas que presenten un tamaño adecuado y compatible con las dimensiones de su cavidad (Fig. 4).

Las características geométricas de una molécula, son el factor decisivo para determinar que tipo de moléculas pueden penetrar en la cavidad de la HP- β -CD.

Las moléculas incluidas en la HP- β -CD, están orientadas de tal forma, que se procure a el máximo contacto entre la parte hidrofóbica de dicha molécula y la cavidad apolar de la HP- β -CD. La parte hidrofílica del sustrato permanece tanto como sea posible fuera de la fase del complejo; esto asegura un máximo contacto entre el disolvente y los grupos OH de la cavidad. Es posible la formación de complejos con moléculas significativamente más grandes que la cavidad de la ciclodextrina, sólo que únicamente ciertos grupos penetran en ella.⁽¹⁸⁾

A pesar de que la geometría de las moléculas es un factor determinante en la formación de complejos, se ha encontrado que con moléculas de similar tamaño no se forman complejos de estabilidad similar, esto se debe a que las características iónicas de una molécula también son determinantes.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la actualidad con la ayuda de la computación, considerando únicamente las características estructurales, es posible predecir el arreglo espacial final de un complejo, lo que permite saber de antemano si existe la posibilidad de su formación. Esto evita realizar investigaciones que consumen más tiempo, y no siempre resulta posible formar un complejo. En investigaciones recientes se han empleado sistemas computacionales de modelización^(9,19,20), principalmente en estudios con Naproxén; estos han permitido determinar la estructura final del complejo, los resultados han sido tan satisfactorios y verídicos como los reportados con RMN-H.

2.2.2 POLARIDAD

El grado de complejación depende de la polaridad de la molécula a incluir, generalmente con moléculas que son fuertemente hidrofílicas y con un alto grado de hidratación o grupos ionizables, no es posible o sólo de forma parcial. De esto se deduce que sólo las moléculas que presentan una menor polaridad que el agua pueden ser satisfactoriamente complejadas con ciclodextrinas.

Es importante destacar el efecto de la presencia de ciertos grupos funcionales en el complejo. Se ha observado que la estabilidad de un complejo, es proporcional al carácter hidrofóbico de sus substituyentes. La presencia de grupos metilo o etilo incrementan la estabilidad del complejo debido a su baja polaridad. Se sugiere que las especies iónicas deben estar en su forma no ionizada, ya que usualmente se favorece la formación de los complejos.⁽¹⁸⁾

2.2.3. MEDIO DE PREPARACION

En algunos casos, no es necesaria la presencia de disolventes para formar un complejo de inclusión, basta con mezclar los polvos de la sustancia con la HP- β -CD, también en estado sólido. La complejación se realiza de preferencia en presencia de algún medio líquido, el cual resulta un proceso relativamente rápido, sin embargo se ha observado que sustancias muy solubles en agua son débilmente complejadas; sólo las parcialmente solubles sufren la complejación.^(10,13,21,22)

Para alcanzar un equilibrio en solución, se necesitan periodos de tiempo muy largos o la sustancia a incluirse debe ser previamente disuelta en algún disolvente orgánico; es aquí donde el empleo de cualquier disolvente se ve restringido. Se recomienda emplear disolventes de bajo peso molecular, tales como metanol, etilenglicol, glicerina, etc., la gran mayoría de los disolventes orgánicos no pueden ser empleados, pues existe la posibilidad de que se formen complejos estables con la HP- β -CD, como con piridina o tolueno.

En algunos casos los residuos de disolvente no pueden ser removidos, pues forman parte integral del producto apareciendo como un complejo disolvente-HP- β -CD. Un ejemplo de esto es el etanol, ya que muchos complejos de fármacos con CD se preparan en éste medio, del 0.01% al 2% del disolvente puede ser formado en forma de complejo.

Generalmente no es deseable el empleo de disolventes orgánicos, pero en muchos casos es inevitable. Las moléculas poco solubles en agua, no pueden ser complejadas a ninguna concentración o tiempo sin el empleo de un disolvente orgánico. La presencia de disolventes deshidratantes (etanol, acetona) favorecen el aislamiento del producto cristalino. La filtración y el secado del complejo aislado es más rápido y el producto obtenido es un polvo fino. Sin el empleo de estos disolventes, la filtración en muchos casos es lenta y después del secado se forman hojuelas duras, que es necesario pulverizar mecánicamente.

Otro factor importante a considerar es el pH del medio, ya que de éste dependerá el grado de ionización de una molécula, reflejado en la estabilidad del complejo. En un estudio realizado con diferentes antiinflamatorios no esteroideos ⁽²³⁾ se emplearon medios de preparación con diferente pH, se observó que la constante de máxima estabilidad de estos complejos se encuentra cercana al valor del pKa de cada uno de los principios activos empleados, igualmente, el pH va a determinar el grado de cristalización y por lo tanto la posibilidad de separar el complejo de su medio de preparación.

2.2.4 FUERZAS DE INTERACCION

Una vez que se han alcanzado los requerimientos mencionados, es necesario que exista entre ambas moléculas (HP- β -CD: sustrato) la presencia de fuerzas que establezcan o hagan posible que la interacción entre ambas persista.

En la mayoría de los estudios realizados al respecto se ha considerado la formación del complejo en medio líquido, lo que no implica que las fuerzas de interacción no puedan establecerse en otro medio.

El proceso de inclusión, consiste esencialmente, de una sustitución de las moléculas de agua por un sustrato de menor polaridad ⁽¹⁴⁾. Este proceso se ve energéticamente favorecido por las características hidrofóbicas de la cavidad de la HP- β -CD (fig. 5). Numerosas investigaciones han tratado de explicar cuales son las fuerzas involucradas, y han llegado a la conclusión de que es el resultado de varios efectos, que contribuyen en mayor proporción uno u otro, dependiendo de las características del sustrato. Estos efectos son:

- a) Sustitución de las moléculas de agua por la molécula de sustrato, favorecida energéticamente por una interacción apolar-apolar.
- b) Interacciones electrostáticas de Van der Waals entre el ligando y el sustrato, y en algunos casos el establecimiento de puentes de hidrógeno.
- c) Contribución de la energía liberada en la relajación del anillo de la HP- β -CD.

Todos estos factores pueden estar involucrados, pero la contribución de cada uno de ellos puede variar de acuerdo al medio de preparación.

El tipo de interacciones que se establecen son muy débiles; la energía de un puente de hidrógeno es de 10 Kcal/mol, y las interacciones de Van der Waals representan sólo 1

Kcal/mol. Pero, si es posible que se establezca un arreglo espacial específico, las moléculas involucradas pueden establecer múltiples puntos de interacción de este tipo y la especie formada puede alcanzar una adecuada estabilidad comparable a las formadas por enlaces covalentes.

También se ha sugerido que la cavidad de la HP- β -CD actúa como una base de Lewis ^(10,22) que contiene una alta densidad electrónica, por lo que la estabilidad del complejo aumenta proporcionalmente a la basicidad del sustrato.

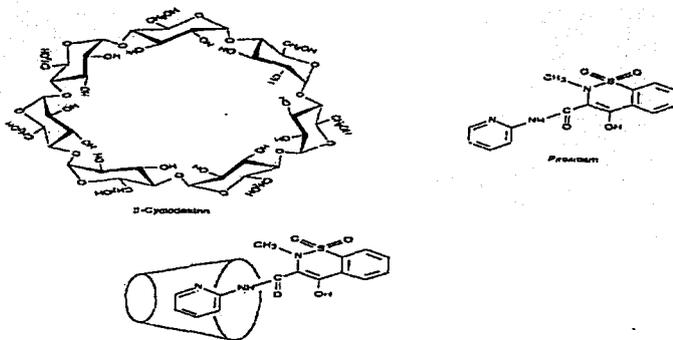


Figura 5. Representación del proceso de complejación en solución.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.3 METODOS DE PREPARACION DE COMPLEJOS DE INCLUSION.

No se han definido métodos generales para la preparación de todos los complejos de inclusión, ya que la elección de éste dependerá de las características de la molécula a incluir, de los requerimientos y alcances de una preparación en el laboratorio y a escala industrial. A continuación se explicarán de manera general los métodos más usuales y los puntos a considerar en uno u otro.

2.3.1. PREPARACION EN SOLUCION

El método más sencillo para preparar complejos de inclusión y que se aplica a moléculas solubles en agua, consiste en adicionar la sustancia, a incluir en una solución de HP- β -CD la cual, debe estar a temperatura media (30 a 40°C), agitando constantemente. Dado que la estabilidad del complejo depende en gran medida de la temperatura, no es conveniente emplear temperaturas mayores de 80°C, ya que hay un aumento considerable en la solubilidad de la HP- β -CD conforme aumenta la temperatura. Dicha solución puede presentar un pH neutro, ácido o alcalino, dependiendo de las características de la molécula a incluir, de manera que pueda encontrarse en su forma no ionizada. La mezcla así preparada se deja agitar intensamente por un período de 2 a 4 horas para alcanzar un estado de equilibrio. Posteriormente se enfría lentamente para separar el producto por cristalización y filtración.

La cantidad de sustrato complejado no se puede incrementar repitiendo el proceso antes de separar el producto de las aguas madres; es decir recalentando y reenfriando.

Este método no es aplicable cuando el complejo formado es muy soluble, pues resulta imposible distinguir y/o separar el verdadero complejo de inclusión de una mezcla física.^(7,8)

2.3.2 PREPARACION POR COPRECIPITACION

Cuando se desea incluir un principio activo muy soluble en agua el método de coprecipitación es un procedimiento alternativo ^(17,24). Este consiste en adicionar una solución del fármaco preparada en un disolvente orgánico adecuado (que disuelva completamente al fármaco) a una solución acuosa de HP-β-CD, guardando la relación molar. Esta solución se agita hasta la precipitación espontánea del producto (5 a 24 horas) o se evapora al vacío. Con este método no deben emplearse altas concentraciones de fármaco e HP-β-CD ya que es posible la precipitación de los cristales puros.

2.3.3 PREPARACION POR AMASADO

Cuando el fármaco a complejar es poco soluble en agua, se recomienda preparar el complejo mediante amasado. En este caso se emplea una mínima cantidad de agua sin el empleo de ningún disolvente o empleando una pequeña cantidad de etanol para suspender la sustancia a complejar ^(9,17). Al emplear este proceso de preparación se evita la presencia de moléculas de agua dentro de la cavidad de la Ciclodextrina y se busca una mejor complejación. La pasta que se forma por éste proceso, es amasada mecánicamente por un período de 2 a 4 horas, después se deja secar para ser pulverizada nuevamente y obtener un polvo. Algunas veces se recomienda lavar el producto con algún solvente orgánico para remover el fármaco libre que haya quedado adsorbido al complejo. Este método es de fácil aplicación a nivel industrial y hace posible obtener un complejo puro.⁽⁶⁾

2.3.4 PREPARACION EN FASE SOLIDA

Cuando el fármaco a complejar es altamente susceptible a la hidrólisis, los métodos que se han mencionado no son aplicables. Se ha demostrado que es posible la interacción de la HP-β-CD con algunos fármacos realizando únicamente un proceso de molienda en seco o simple mezclado físico ^(17,25).

Estos procedimientos son muy similares: se mezclan las cantidades estequiométricas establecidas y se realiza (dependiendo del proceso que se desea seguir) un proceso de mezclado por volteo, vibración, etc., o una molienda de la mezcla en un equipo adecuado (Fig.6). Estos procedimientos se limitan a sustancias altamente reactivas. (26)

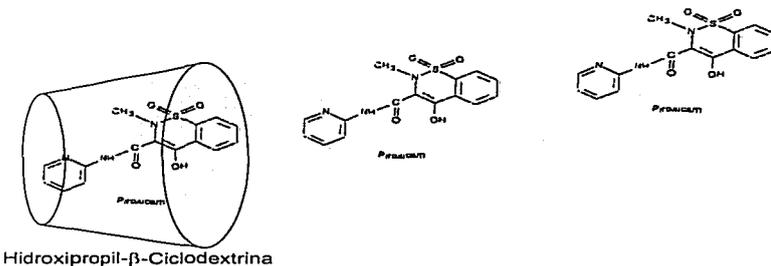


Figura 6. Representación del proceso de inclusión en fase sólida.

2.3.5 SPRAY DRYING O FREEZE DRYING

Otro método de preparación en solución o alternativo (17,18, 27) consiste en mezclar una solución del principio activo en agua o en una mezcla agua-solvente (preferentemente miscible en agua) a una solución acuosa de HP-βCD. La mezcla se agita hasta formar una solución completa (transparente). Algunos investigadores (9) han sugerido periodos de agitación prolongados de hasta 24 horas, sin embargo también han reportado que basta formar una solución y proceder con el siguiente paso (18), y se obtienen complejos de iguales características empleando un mismo fármaco.

A la mezcla obtenida se le somete a un proceso de secado por atomización (spray drying) o liofilización (freeze drying) para obtener el producto final. Kurozumi, et al. (25,18) sugieren el

lavado del producto inmediatamente después de obtenerlo, con un solvente adecuado y frío para eliminar la cantidad de fármaco que pueda quedar sin complejarse.

Para todos los métodos de preparación de complejos en los cuales se emplee un solvente orgánico, es conveniente contar con una técnica de análisis que permita detectar la presencia de solvente residual en el producto final.

2.4 ESTABILIDAD DEL COMPLEJO

Cuando se encuentran relacionadas más de una especie molecular en un sistema, se establece un equilibrio entre estas, que está definido por una constante, cuyo valor refleja la asociación-disociación de las especies involucradas, e indica cual o cuales especies prevalecen en el estado de equilibrio.

En el caso de los complejos formados con HP- β -CD, cualquier efecto que se origine en un principio activo a consecuencia de su inclusión (aumento de la solubilidad y biodisponibilidad, modificación de la estabilidad, etc.) depende directamente de la constante de estabilidad (K). A su vez esta se encuentra en función de las especies en solución y la relación estequiométrica que establezcan entre sí.⁽²⁸⁾

En soluciones diluidas generalmente prevalece una estequiometría 1:1, sin embargo a altas concentraciones o con ciertos fármacos es posible que se establezcan otros equilibrios tales como :



Al reportar el valor de la constante y para que esto no sea ambiguo, debe indicarse la temperatura y el pH, ya que se ve afectada por ambos factores. Un aumento en la temperatura tiene como consecuencia un decremento en el valor de la constante (K), así mismo el pH determinará la presencia de las especies en su forma ionizada o no ionizada dependiendo de la naturaleza de la molécula, favoreciendo o no la formación y estabilidad del complejo.^(28,29)

2.4.1 DIAGRAMAS DE SOLUBILIDAD

El método de solubilidad, es una de las técnicas existentes para determinar la constante de estabilidad de un complejo. Si consideramos que en el equilibrio la solubilidad de un fármaco puro en un solvente dado y a una temperatura constante, es un valor característico de dicha sustancia, y por lo tanto se utiliza como criterio de identidad y pureza.

Para determinar experimentalmente esta solubilidad, se colocan sucesivas y crecientes cantidades del fármaco en ampollitas de vidrio a las que se adiciona un volumen constante de disolvente, en el cual es sólo ligeramente soluble. Se someten los sistemas a una agitación prolongada y a temperatura constante. Se analizan las soluciones sobrenadantes y se calcula el contenido total de soluto. Se traza un diagrama de solubilidad de fase, representando la cantidad de fármaco encontrado en solución por unidad de volumen en función de la cantidad de fármaco añadido. La gráfica implica que a lo largo del segmento ascendente todo el fármaco se encuentra disuelto, siendo así la pendiente igual a 1. La solución llega a la saturación, por lo que una adición posterior no incrementa la concentración de la solución y la pendiente se vuelve casi cero.

La extrapolación al eje Y determina la solubilidad máxima del fármaco. Es importante determinar con exactitud este valor, pues se emplea para determinar del valor de la constante.^(28,30)

La mayoría de los trabajos realizados para establecer la constante de estabilidad de un complejo se han hecho empleando este método ^(27,31,32) basándose en el hecho de que, si el

fármaco en cuestión presenta una mayor solubilidad en presencia de HP- β -CD, esta cantidad adicional será efecto de un segundo componente o debido a la formación de un complejo.

El procedimiento experimental para obtener el valor de la constante consiste en determinar la solubilidad molar total en función de la concentración molar total de HP- β -CD a una temperatura y fuerza iónica constante. Esto se realiza preparando varias ampollas que contengan una cantidad igual de fármaco en considerable exceso a su solubilidad, se les adiciona un volumen fijo de solvente el cual contiene diferentes concentraciones de HP- β -CD que se irán incrementando. El sistema se lleva al equilibrio por agitación en un baño de agua a temperatura constante. Después se analiza la fase en solución para determinar la concentración total del fármaco sin importar el estado molecular en que se encuentre el fármaco.^(5,6)

Se grafican las concentraciones obtenidas en cada ampolla en función de su correspondiente concentración de HP- β -CD, de esta forma se obtienen diferentes tipos de diagramas, que determinan un comportamiento diferente. (FIG 6).

El diagrama más simple muestra un incremento lineal de ST (concentración de fármaco complejoado) en función de LT (concentración total de HP- β -CD). La premisa básica es que un incremento en la solubilidad es una consecuencia de la formación de uno o más complejos solubles. La presencia de sólido puro (fármaco adicionado en exceso) en todo el rango de estudio, asegura que el potencial químico, la actividad del fármaco libre (S) en solución y la concentración es una constante. Si esto se cumple, se observa un comportamiento lineal de primer orden en función de LT. Este tipo de diagrama se toma como una evidencia de una estequiometría 1:1. (Fig. 7)

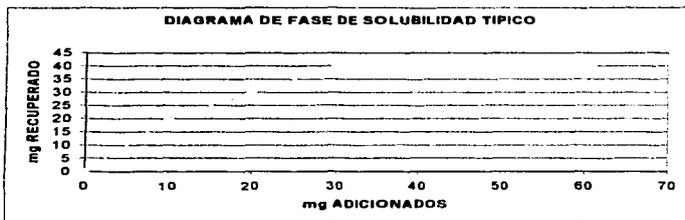


Fig 7. Diagrama de solubilidad de fase típico.

Con algunos fármacos se observan desviaciones a este comportamiento cuando la solubilidad del fármaco se incrementa más rápidamente que la concentración de HP- β -CD o viceversa, a estos diagramas se les denomina de tipo Ap (positivo) y An (negativo) respectivamente. Cuando se observa este comportamiento, la estequiometría substrato-ligando no es constante.^(28,29)

Otro tipo de diagrama, es el que refleja un incremento lineal en la solubilidad del fármaco a medida que aumenta la concentración de HP- β -CD, por la formación de un complejo soluble que alcanza un límite, dando lugar a la formación de una meseta. Una posterior adición de HP- β -CD no incrementa la solubilidad o el complejo formado comienza a precipitar, observándose un decremento en la concentración de la solución casi hasta el punto equiparable a la concentración del fármaco libre. Este tipo de diagrama se denomina de tipo Bs o de solubilidad limitada.^(28,33)

En cualquiera de los diagramas se emplea únicamente la porción lineal de estos para calcular el valor de la constante.

2.4.2 CALCULO DE LA CONSTANTE DE ESTABILIDAD

Tomando en consideración el tipo de diagrama obtenido en el estudio por solubilidad de fase, se asume la formación de un complejo con estequiometría 1:1, las expresiones de balance de masa, considerando las especies presentes durante la experimentación son:

a) para el fármaco

$$St=(S)+(SL) \quad (1)$$

b) para la HP- β -CD

$$Lt=(L)+(SL) \quad (2)$$

Se ha indicado que el cálculo de la pendiente se realiza considerando la parte lineal de los diagramas de solubilidad, empleando los valores de la pendiente y el intercepto. El cálculo de la pendiente se obtiene como sigue: la concentración del fármaco en una solución saturada (S) que ha sido previamente determinado sin la presencia de HP- β -CD, es sustraída de la concentración total de fármaco (St) y se divide entre la concentración total de HP- β -CD (Lt). Al interpretar un diagrama de solubilidad debe recordarse que la solubilidad inherente a la complejación será siempre constante, por lo que el aumento en la solubilidad del fármaco será debida a la formación de un complejo.

Las concentraciones totales quedan entonces definidas por:

$$St=S+SL \quad (3)$$

$$Lt=L+SL \quad (4)$$

Donde:

St= Concentración total del fármaco.

S= Concentración de fármaco libre.

Lt= Concentración total de HP-β-CD.

SL= Concentración de fármaco complejoado.

De acuerdo a la definición de constante de equilibrio para una estequiometría 1:1

$$K_{eq} = \frac{(SL)}{(S)(L)} \quad (5)$$

Despejando para obtener (SL):

$$(SL) = K_{eq}(S)(L) \quad (6)$$

Sustituyendo (6) en (3) y (4)

$$(St) = (S) + K_{eq}(S)(L) \quad (7)$$

$$Lt = (L) + K_{eq}(S)(L) \quad (8)$$

Por definición:

$$m = \frac{Y_2 - Y_1}{X_2 - X_1}$$

De la parte recta del diagrama de solubilidad, considerando Y2 como la concentración máxima (St) y Y1 como la concentración del fármaco en una solución saturada sin presencia de HP-β-CD que es igual a la obtenida al valor obtenido por el intercepto (S), a X2 como la concentración total de HP-β-CD y X1 como cero (concentración correspondiente al intercepto con el eje Y), la pendiente quedará definida como:

$$m = \frac{St - S}{Lt} \quad (9)$$

Sustituyendo las ecuaciones (6) y (8) en la anterior

$$m = K_{eq}(S)(L)/(L + K_{eq}(S)(L))$$

$$m = K_{eq}(S)(L)/(L[1 + K_{eq}(S)])$$

$$m = K_{eq}(S)/1 + K_{eq}(S)$$

Expresado en función de la constante de equilibrio:

$$m \cdot (1 + K_{eq}(S)) = K_{eq}(S)$$

$$m + K_{eq}(S)(m) = K_{eq}(S)$$

$$m + K_{eq}(S)(m) - K_{eq}(S) = 0$$

$$m + K_{eq}(S)(m) - (S) = 0$$

$$m = K_{eq}(S)(m) - (S)$$

$$K_{eq} = m / (S)(m) - (S)$$

$$K_{eq} = m / (S)(1 - m)$$

Sobre esta ecuación se sustituyen los valores correspondientes y se calcula el valor de la constante.

Existen otros métodos que pueden emplearse para determinar la constante de estabilidad basándose en el aumento o disminución de la intensidad de la propiedad medida como puede ser variaciones en el espectro de UV ⁽²²⁾, el espectro de emisión o excitación fluorescente ⁽³¹⁾, modificación en la conductividad eléctrica ⁽³²⁾ o en las propiedades térmicas ⁽³⁴⁾, cada una de estas plantea supuestos diferentes, por lo que con frecuencia se obtienen valores de la constante de estabilidad con un rango muy amplio de discrepancia que sólo en pocas ocasiones pueden ser comparadas.

2.5 METODOS PARA DETERMINAR LA FORMACION DE COMPLEJOS DE INCLUSION

No resulta convincente el afirmar a priori la formación de un complejo de inclusión basándose en la realización de determinado proceso para obtener un polvo fino. Frecuentemente es posible encontrarse ante compuestos que no pueden ser complejados o que lo son en solución pero no en estado sólido. También es posible que el producto obtenido del proceso de preparación en solución sea solamente una mezcla finamente dispersada de sustrato e HP- β -CD, en otros casos es una mezcla de sustrato no complejado e HP- β -CD hidratada sin complejar; por lo tanto es necesario determinar la cantidad de sustrato complejado en el producto obtenido basándose en los cambios que se presenten en las propiedades de la sustancia complejada. Dentro de dichos cambios los más fácilmente observables son los que ocurren en los espectros de UV y fluorescencia, así como cambios en las propiedades cromatográficas, de reactividad, etc. Estos cambios se toman como indicativos de una complejación.^(28,35)

2.5.1 ANALISIS POR ULTRAVIOLETA

La determinación cuantitativa del contenido de sustrato puede realizarse empleando las técnicas analíticas comunes como UV, CLAR o CGL. En el caso de UV, puede inferirse una complejación mediante cambios en la longitud de onda de máxima absorbancia o en el coeficiente de extinción.

La región de UV es de 200-400nm, se determina el espectro de absorción midiendo la absorbancia o transmitancia de una solución en función de la longitud de onda o frecuencia de luz donde $a=A/bc^*$

*A=absorbancia C=concentración en g/L. a=absortividad en μgcm^{-1} b=longitud de la cubeta en cm

Para la determinación del contenido de sustrato es aconsejable que el complejo se disuelva en etanol al 50% y diluirlo posteriormente en etanol, en el cual la HP- β -CD es insoluble. Para complejos muy estables o poco solubles se recomienda disolver el producto en 5 mL de dimetilformamida y entonces diluir con etanol al 50%.

Por esta técnica la cantidad de sustrato que es cuantificado puede estar total o parcialmente complejado o sin complejar, para aclararlo se debe recurrir al empleo de las técnicas termoanalíticas.

Generalmente los cambios que aparecen en los espectros de UV son pequeños pero significativos. Usualmente se observa un ensanchamiento de la banda de absorción, así como un cambio considerable en la intensidad de la absorción con aumento en la concentración de HP- β -CD. ^(28,36,37)

2.5.2 METODOS TERMICOS

Las técnicas termoanalíticas (DSC,TG,DTA) son un recurso muy útil para evaluar la verdadera complejación, debido a que estas técnicas están basadas en determinar los cambios que ocurren en un compuesto sometido a un programa de temperatura, es de esperar que cuando un fármaco se encuentre complejado, el comportamiento normal ante las condiciones evaluadas va a verse modificado.

Empleando calorimetría diferencial de barrido (DSC) se ha observado que después de realizar los procedimientos de complejación, los termogramas característicos de diferentes compuestos se han visto drásticamente modificados, pues existe la completa desaparición de los picos asignados a la evaporación, fusión, descomposición, etc. permaneciendo únicamente las características de la HP- β -CD. Este comportamiento se atribuye a una verdadera complejación. ^(28,35,37,38,39)

2.5.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO

Se emplea generalmente para la caracterización de sustancias orgánicas sólidas, sin embargo no es del todo adecuado para asegurar la formación de un complejo sino sólo complementaria de otras técnicas. Las bandas características de la β -Ciclodextrina sólo cambian ligeramente cuando se encuentran formando un complejo, y la fracción de la molécula incluida es menor al 25%. Sin embargo cuando ya se ha evaluado la complejación

por alguna otra técnica el cambio en la intensidad y la frecuencia de las bandas asignadas a los grupos funcionales principales en el área de la huella digital se toma como un hecho que confirma la formación de un complejo de inclusión.^(28,35,36)

2.5.4 METODOS DIVERSOS

2.5.4.1 CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

Puede ser empleada adicionalmente para verificar la formación de complejos, pues es posible observar un cambio en los valores de R_f , los cuales son generalmente disminuidos, claro que esto dependerá de la mezcla de elusión y del fármaco analizado.⁽¹⁹⁾

2.5.4.2. DIFRACCION DE RAYOS X

Cuando la molécula que se ha complejado es sólida, es posible caracterizar sus propiedades cristalinas antes y después de haberla complejado, comparando los difractogramas de las materias primas por separado. Generalmente la estructura cristalina de las materias primas empleadas cambia considerablemente, formándose polvos amorfos, por lo que los picos característicos desaparecen o su intensidad disminuye.⁽⁴⁰⁾

Al emplear ésta técnica es necesario que las muestras estén completamente secas, pues en el caso de moléculas pequeñas la estructura cristalina que se obtiene de la formación del complejo puede ser idéntica a la que se obtenga con una Ciclodextrina hidratada. Se le considera como el mejor método para determinar la formación de un complejo, siendo posible establecer la orientación y geometría del producto, sin embargo, es un trabajo complicado para ser empleado como una técnica rutinaria, pues es tardada y de alto costo, requiriendo de preparación especial para manejar correctamente el equipo y saber interpretar adecuadamente los resultados.^(41,42)

2.5.4.3. RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

Es una técnica empleada ampliamente ya que permite no sólo corroborar la formación de un complejo, sino además es posible determinar con mayor exactitud la relación estequiométrica que se establece así como un modelo representativo de la complejación ⁽³⁵⁾. La técnica se basa en la modificación en las señales de la HP- β -CD y de los fármacos protonados. Si la inclusión ocurre, los protones localizados dentro o cerca de la cavidad de la HP- β -CD serán fuertemente protegidos o enmascarados. Se ha empleado para examinar el tipo de interacción de sustratos con características aromáticas (ácido benzoico sustituido, fenoles sustituidos, derivados de ácidos carboxílicos aromáticos como el ácido acetilsalicílico). Se demostró que es posible que moléculas más grandes que la cavidad de la HP- β -CD puedan ser parcialmente incluidas si los grupos funcionales presentes exhiben un tamaño o arreglo adecuado. ⁽⁴³⁾ Dentro de la cavidad de la HP- β -CD, se observan claras modificaciones en el comportamiento de las moléculas debido a interacción de los protones de las moléculas involucradas.

CAPITULO 3. APLICACIONES GENERALES DE LA HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA

3.1 APLICACIONES FARMACEUTICAS

El aumento en el empleo de la β -CD en la industria farmacéutica se debe a su gran potencial de aplicación, debido a la resolución de problemas difíciles a un costo considerablemente bajo. Es importante señalar que diez de cada 100 fármacos que son administrados oralmente pueden ser complejados, modificándose sus propiedades físicas y/o químicas.^(13,15,44)

Las principales ventajas podrían enumerarse como sigue:

- ↘ Permite que los principios activos líquidos se conviertan en una forma cristalina, los cuales pueden ser adecuadamente formulados en tabletas.
- ↘ Se enmascaran olores y sabores desagradables (incluso desaparecen), además la incompatibilidad fármaco-excipientes se ve disminuida.
- ↘ Hay una notable mejora en la estabilidad física y química de compuestos muy volátiles y que son estabilizados contra su pérdida por volatilización, también principios activos que son hidrolizables u oxidables o que sufren descomposición por efecto de la luz.
- ↘ Una muy importante, es que incrementan la solubilidad en agua, así como la velocidad de disolución de fármacos poco solubles, con lo que aumenta la biodisponibilidad y se alcanzan niveles sanguíneos más altos, existiendo la posibilidad de reducir la dosis. La absorción percutánea y rectal se mejora al reducirse el carácter hidrofóbico del fármaco.
- ↘ Es posible utilizar a la β -CD como desintegrante o bien como excipiente para compresión directa
- ↘ A los fármacos relativamente insolubles, se les puede incrementar la solubilidad y velocidad de disolución. Dependiendo de la constante de formación del complejo formado puede o no favorecerse la absorción.^(45,46)

3.1.1 AUMENTO EN LA SOLUBILIDAD Y LA BIODISPONIBILIDAD

Al formar un complejo de inclusión con un fármaco poco soluble, las moléculas de este son aisladas una de otra y son dispersadas dentro de la matriz de oligosacáridos, la cual se desintegra fácilmente bajo condiciones fisiológicas. El complejo obtenido es más hidrofílico que el fármaco por sí mismo, esto facilita la humectación y la desintegración de la estructura cristalina, favoreciendo una disolución más rápida del principio activo. En consecuencia es posible que se alcancen altas concentraciones con principios activos poco solubles, ya que el medio de disolución no necesita desintegrar la estructura cristalina del fármaco sino sólo la del complejo. ^(5,6)

Un aumento en la solubilidad puede aumentar la biodisponibilidad de un principio activo administrado oralmente, sólo si la velocidad de disolución es el paso determinante del nivel de absorción, en el caso de que la velocidad de absorción no sea el paso limitante, la complejación con la HP- β -CD no favorecerá un aumento en la absorción. Si la velocidad de absorción permanece constante, al aumentar la solubilidad, los niveles plasmáticos se incrementarán proporcionalmente.

La concentración plasmática obtenida después de la administración del fármaco depende de la concentración en el fluido gastrointestinal, lo que a la vez está controlado por la velocidad de disolución, la solubilidad y la constante de equilibrio del complejo. Cuando el valor de la constante de equilibrio del complejo es pequeña, el grado de disociación es suficientemente alto como para asegurar una alta concentración de fármaco libre a nivel gastrointestinal, dando como resultado un rápido incremento en la concentración plasmática máxima. Al incrementar el valor de la constante, el grado de disociación decrece, por lo que la concentración del fármaco a nivel gastrointestinal es baja. Sin embargo se ha observado que en cualquier caso siempre existe un cambio en la respuesta biológica en comparación con el fármaco sin complejar. ⁽²⁶⁾

Lo anterior se ha observado principalmente con los antiinflamatorios no esteroideos, que son el grupo de medicamentos que más se han estudiado al respecto. Los fármacos como Ibuprofén, Ketoprofén y Flurbiprofén, mostraron una mayor velocidad de disolución y una mayor biodisponibilidad cuando ésta se evaluó en animales tales como conejos y perros. ⁽³⁴⁾

Algunos antibióticos como el Cloranfenicol al ser complejados con β -CD, presentaron una mayor velocidad de disolución, lo cual se atribuye a una mayor solubilidad del complejo, y la formación de una estructura amorfa que facilita la humectación. ^(30,47) Con estos cambios es posible sugerir un aumento en la biodisponibilidad.

En algunos estudios de biodisponibilidad realizados in vitro e in vivo empleando principios activos complejados y administrados en una base oleosa por vía tópica (ungüento) o rectal (supositorios), se observó una velocidad de liberación de los fármacos más rápida, y al cuantificarse en el fluido biológico o en un compartimento aceptor, la concentración encontrada fue mayor en comparación con el fármaco administrado en su forma libre. También se comprobó que cuando se adiciona la β -CD por separado, no existe cambio en el comportamiento del fármaco.

Los resultados sugieren que la complejación con β -Ciclodextrina es un medio efectivo para incrementar la biodisponibilidad, siendo posible con esto el empleo de una dosis menor, que traiga consigo menores efectos secundarios. ^(48,49,50)

3.1.2 EFECTO EN LA ESTABILIDAD FISICA Y QUIMICA

Muchos fármacos que pueden tener gran potencial de aplicación, son descartados debido a su inestabilidad extrema, que disminuye su potencial terapéutico o dificulta su administración como forma farmacéutica estable. Algunos estudios se han dedicado a evaluar el efecto de la complejación con HP- β -CD para resolver el problema de inestabilidad debida principalmente al efecto de la temperatura, volatilización, sublimación, oxidación e hidrólisis o por interacción con otros componentes de la formulación.

Se ha encontrado que después de la complejación se reduce considerablemente la velocidad de descomposición, incrementándose el valor de la constante de estabilidad y el tiempo de vida media, sin cambio en las características organolépticas de los fármacos.^(51,52,53,54)

3.1.3 REDUCCION DE EFECTOS BIOLOGICOS ADVERSOS

Debido a que la complejación con HP- β -CD modifica las propiedades físicas y químicas del fármaco, es de esperar que los efectos biológicos también se modifiquen.

En los antiinflamatorios no esteroideos se ha reducido la irritabilidad gástrica, provocada por consumo prolongado y la baja solubilidad.⁽⁴⁵⁾ Se ha reducido la irritabilidad oftálmica debida al empleo de disolventes orgánicos en el proceso de complejación y así disolver completamente el principio activo. También se ha inhibido el efecto hemolítico y el sabor amargo de algunos fármacos.^(52,55)

3.1.4 MANUFACTURA DE TABLETAS

Una aplicación relativamente reciente que se le ha dado a la β -CD es su empleo como excipiente de tabletas principalmente fabricadas por compresión directa. Se ha aplicado principalmente para la fabricación de tabletas conteniendo Diazepam, Fenobarbital, Prednisolona, Espironolactona y progesterona. Cada formulación con β -Ciclodextrina se comparó con formulaciones conteniendo lactosa spray-dried, todas las tabletas mostraron adecuadas propiedades mecánicas de dureza y friabilidad, también se observó que la friabilidad de las tabletas decrece cuando la concentración de β -CD aumenta; la velocidad de disolución de las tabletas fabricadas con β -CD por compresión directa es considerablemente mayor que las tabletas con lactosa spray-dried; adicionalmente la compactabilidad de la β -CD es mayor, necesitándose una fuerza menor para obtener una tableta con características adecuadas empleando bajas concentraciones de lubricante o desintegrante.

Los resultados de estos estudios muestran que la β -CD puede ser empleada como excipiente por compresión directa y obtener tabletas con propiedades mecánicas adecuadas y una mayor velocidad de disolución, con la posibilidad de mejorar la biodisponibilidad.^(45,46)

3.2 APLICACIONES COSMETICA Y ALIMENTICIA

La aplicación de la β -CD en la industria cosmética y alimenticia está encaminada a la complejación de los saborizantes y esencias con el fin de estandarizar su composición y mejorar la estabilidad al evitar la adsorción de agua. El empleo de β -Ciclodextrinas ha mejorado las características de los alimentos en sabor, consistencia y estabilidad. Es posible reducir la irritación ocular de un shampoo que sea debido a una fragancia. Es posible también disminuir el olor bucal, adicionando β -Ciclodextrina a un dentrífico. Puede sustituirse el empleo de almidón por β -Ciclodextrina en la fabricación de talcos, evitando el crecimiento de microorganismos y el empleo de conservadores, favorecido por el empleo de almidón, a la vez se incrementa la estabilidad del fármaco o esencia utilizada.^(12,55,56)

3.3 PESTICIDAS

Generalmente los insecticidas son altamente hidrofóbicos, y se ha observado que pueden aumentar su grado y velocidad de disolución cuando son complejados con β -CD. Consecuentemente se encuentran más disponibles a las especies vegetales siendo posible reducir las cantidades requeridas para alcanzar la actividad deseada lo que resulta benéfico en la protección del ambiente. Generalmente los insecticidas tienen un olor desagradable, pero el polvo del complejo que se obtiene es inodoro, sin perder su actividad.

Se ha comprobado que la estabilidad de los complejos con insecticidas aumenta considerablemente, retrasando su descomposición por oxidación, calentamiento o fotólisis, esto hace posible su combinación con otros componentes de la formulación con los que pueden ser incompatibles; adicionalmente es posible manejarlos sin riesgo de contaminación durante la fabricación, controlando la liberación del pesticida.^(10,15,57)

3.4 BIOTECNOLOGIA

En los procesos microbiológicos y enzimáticos de interés farmacéutico (conversión de esteroides, producción de prednisona, etc.) se ha observado que la presencia de β -CD favorece la presencia de una mayor cantidad de sustrato disuelto, con lo que hay un incremento de hasta 300% en el rendimiento del proceso; obteniéndose un producto más homogéneo y de mejor calidad.

En los procesos de obtención de piel ha sido posible mejorar el empleo de antibióticos para prevenir la contaminación por hongos que antes de ser adicionada con β -CD tenían poco efecto debido a su baja solubilidad o inestabilidad, la cual se mejora con la inclusión.

Es adecuado decir que en los procesos biotecnológicos la β -CD actúa como un controlador del proceso, liberando la sustancia complejada a medida que aquella que queda libre se va agotando, esto hace posible que el proceso sea más efectivo y redituable.^(55,56)

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente la utilización de la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina en el ámbito farmacéutico hace posible incrementar la solubilidad en agua, y también la velocidad de disolución de fármacos con bajo índice de solubilidad, para así aumentar la biodisponibilidad y se puedan alcanzar niveles más altos en el plasma sanguíneo, de modo que se brinde la posibilidad de reducir al máximo la dosis empleada e incrementar su actividad terapéutica.

El Piroxicam es un analgésico antiinflamatorio no esteroide (AINES), eficiente en el tratamiento de artritis reumatoide y otros desórdenes inflamatorios en humanos como la osteoartritis, insoluble en agua por lo que presenta problemas de absorción.

Al existir actualmente un medicamento complejoado con β -Ciclodextrina, podemos mencionar que desafortunadamente presenta un ligero nivel de toxicidad, sin embargo si consideramos que la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina, un nuevo derivado de las Ciclodextrinas tiene un nivel de toxicidad menor y todas aquellas características que la hacen idónea para la formación de complejos de inclusión, se plantea la siguiente pregunta:

¿Será posible la formación de un complejo de inclusión de Hidroxipropil- β -Ciclodextrina/Piroxicam que incremente su solubilidad en agua?

5. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Formar, evaluar y caracterizar el complejo de inclusión de Piroxicam-Hidroxi-Propil- β -Ciclodextrina, utilizando diferentes métodos de complejación por técnicas analíticas tales como: Ultravioleta (UV), Infrarrojo (IR) y Calorimetría diferencial de barrido (DSC).

OBJETIVOS PARTICULARES

- Caracterizar las propiedades físicas de la H-P- β -Ciclodextrina, Piroxicam y complejos obtenidos mediante técnicas tales como UV, IR, y DSC.
- Determinar las condiciones óptimas de formación del complejo, utilizando los métodos de mezcla física, amasado y coprecipitado y evaluar cual de ellos favorece en mayor proporción la formación del complejo de inclusión.
- Evaluar la formación del complejo mediante técnicas de carácter analítico tales como UV, IR, y DSC, a su vez determinar cual de ellos favorece en mayor proporción la solubilidad del fármaco.
- Evaluar la solubilidad de fase del fármaco complejado con respecto a la solubilidad del fármaco sin complejar.

6. HIPOTESIS

Considerando las propiedades fisicoquímicas y moleculares del Piroxicam, tales como su geometría, peso molecular, punto de fusión y solubilidad es posible la formación de un complejo de inclusión con H-P- β -Ciclodextrina y con ello incrementar notablemente la solubilidad del fármaco en agua.

7. MATERIAL

- Ampolletas de vidrio transparente de 10 mL (Vitro)
- Pipetas volumétricas de 1,5, y 10mL (Pyrex y Kimax)
- Bureta de 25mL (Pyrex)
- Pinzas para bureta
- Soporte universal
- Tubos para centrifuga
- Vasos de precipitado de 50,100 y 250mL
- Matraces volumétricos de 10,25,50 y 100mL (Pyrex y Kimax)
- Termómetro de -10°C a 200°C
- Tubos de ensaye
- Gradilla
- Jeringa de 10mL
- Mortero con pistilo
- Agitadores de vidrio

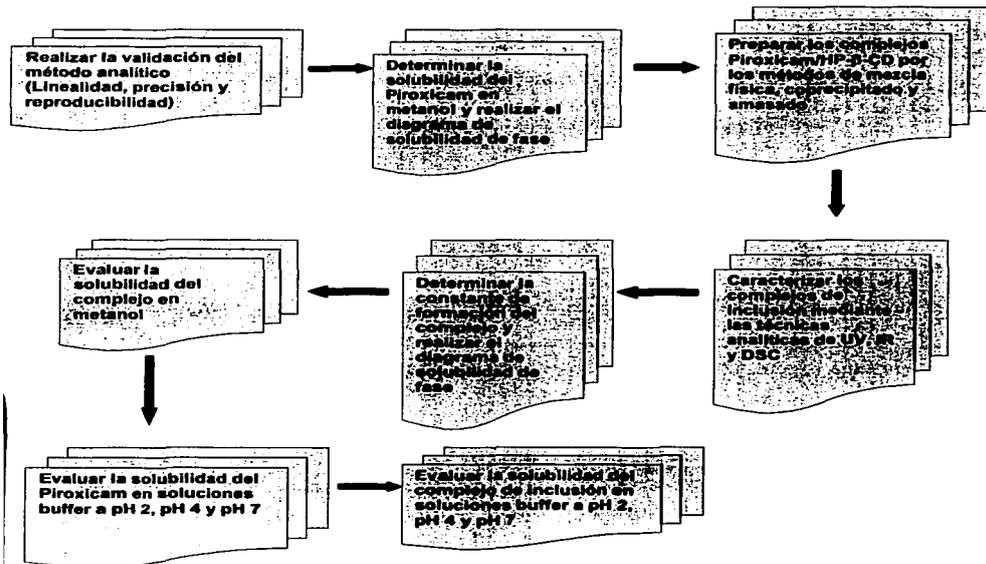
8. EQUIPO

- Espectrofotómetro UV/VIS Perkin Elmer Lamda 2
- Espectrofotómetro de IR Perkin Elmer
- Calorímetro diferencial de barrido Perkin Elmer DSC 7
- Disolutor de liberación prolongada ELECSA
- Balanza analítica OHAUS
- Balanza analítica Sartorius 1602MP

REACTIVOS	PROVEEDOR	GRADO
Piroxicam	NUTRER S.A. de C.V.	100.6 %
Hidroxiopropil- β -Ciclodextrina	HELM de México	98.4 %
Alcohol metílico	J.T. Baker	Reactivo
Alcohol etílico	J.T. Baker	Reactivo
Acido clorhídrico	J.T. Baker	Reactivo
Agua destilada	Planta piloto (FES Zaragoza)	

9. METODOLOGIA

DIAGRAMA DE FLUJO



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

9.1 VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE PIROXICAM EN SOLUCION.

LINEALIDAD DEL SISTEMA

Se realizó una curva estándar de Piroxicam con concentraciones de 30,60,90,120 y 160 $\mu\text{g/mL}$ por triplicado empleando metanol-agua (1:10) como disolvente. Las soluciones se leyeron al ultravioleta en un intervalo de 200-400nm, en celdas de 1cm de longitud de paso.

PRECISION DEL SISTEMA

Se preparó por sextuplicado, una solución de 60 $\mu\text{g/mL}$ de Piroxicam estándar en metanol-agua (1:10), leyendo las muestras en un rango de 200 a 400nm en celdas de 1cm de longitud de paso, empleando una solución 1:10 alcohol agua como blanco de referencia.

REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

Se realizó el procedimiento anterior participando dos analistas en dos días diferentes.

9.2 DETERMINACION DE LA SOLUBILIDAD DE PIROXICAM EN METANOL.

Se pesaron cantidades de 10,20,30,40,50, y 60 mg de Piroxicam por triplicado, colocándose en ampollas de vidrio. Se adicionaron 10 mL de metanol a cada una y se sellaron por calentamiento.

Las 18 ampollas se colocaron en el sistema de agitación (disolutor ELECSA de liberación prolongada) a 50 rpm en un baño de agua a 25°C durante un periodo de 36 horas. El contenido de cada ampolla se centrifugó a 3000rpm durante 5 minutos. Del sobrenadante se tomó 1 mL aforándose a 25mL con metanol, de esta solución se tomó 1 mL para diluir a 10 mL con agua destilada, lo anterior se realizó en todas las diluciones para obtener concentraciones de 4,8,12,16,20 y 24 $\mu\text{g/mL}$, lo que representa una proporción (1:10). Cada

una de las muestras se leyó al ultravioleta en un rango de 200 a 400nm empleando una solución 1:10 alcohol-agua como blanco, en celdas de 1cm de longitud de paso. El procedimiento anterior se realizó por triplicado.

9.3 PREPARACION DE LAS MUESTRAS EN AMPOLLETAS

En seis diferentes ampollitas se colocaron 20mg de Piroxicam materia prima, se adicionaron 1,2.5,4,5,6.5 y 10 mL de solución saturada de HP- β -CD respectivamente, aforándose al final a un volumen de 10mL con metanol. (Lo mencionado anteriormente se realizó por triplicado).

Las 18 ampollitas resultantes se colocaron en el sistema de agitación a 50 rpm en un baño de agua a 25°C durante 36 horas. Al término se centrifugaron las muestras a 3000 rpm durante 5 minutos. Del sobrenadante se tomó 1mL y se diluyó a 25 mL con metanol, de esta solución se tomó 1mL aforando a 10mL con agua destilada.

Se leyeron cada una de las muestras al ultravioleta en un rango de 200 a 400nm, empleando una solución 1:10 alcohol metílico agua respectivamente como blanco, en celdas de 1cm de longitud de paso.

9.4 PREPARACION DEL COMPLEJO DE INCLUSION PIROXICAM E HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA POR EL METODO DE COPRECIPITADO.

Se preparó una mezcla (1:1) por triplicado con un gramo de Piroxicam y un gramo de HP- β -CD, se disolvió en 5mL de etanol al 50%. Después se evaporó el disolvente a 50°C durante un periodo aproximado de 12 horas, para luego ser pulverizado en un mortero durante 30 minutos.

9.5 PREPARACION DEL COMPLEJO DE INCLUSION PIROXICAM E HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA POR EL METODO DE AMASADO.

Se mezcló un gramo de Piroxicam con un gramo de HP- β -CD (1:1), se adicionó una cantidad de 5mL de una solución de alcohol etílico al 50%, para posteriormente se mezcló hasta obtener una especie de pasta homogénea. La mezcla se transfirió a un mortero y se amasó durante 15 minutos, se secó en la estufa a 50°C por aproximadamente 6 horas y se pulverizó durante 30 minutos el sólido obtenido.

9.6 PREPARACION DEL COMPLEJO DE INCLUSION PIROXICAM E HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA POR EL METODO DE MEZCLA FISICA.

Se colocaron en un mortero 9g de Piroxicam materia prima y 81g de HP- β -CD. Dichas cantidades se colocaron y maceraron en un mortero por 30 minutos, se pasaron a través de una malla del No. 80 y 100. Se continuó mezclando el producto obtenido por espacio de 15 minutos, de manera manual y constante hasta obtener una mezcla homogénea.

9.7 CARACTERIZACION DE MATERIAS PRIMAS Y DEL COMPLEJO DE INCLUSION.

9.7.1 ANALISIS POR ULTRAVIOLETA

Para el Piroxicam como materia prima se preparó por triplicado una solución a concentración de 16 μ g/mL, en metanol-agua (1:10). De la misma manera se prepararon las soluciones para un estándar USP. Todas las muestras se leyeron al Ultravioleta en un rango de 200 a 400nm, empleando metanol-agua (1:10) como blanco de referencia, en celdas de 1cm de longitud de paso.

Para la HP- β -CD se preparó por triplicado una solución a concentración de 0.1g/mL. Se leyeron cada una de las soluciones al Ultravioleta en un rango de 200 a 400nm, empleando metanol-agua (1:10) como blanco de referencia en celdas de 1cm de longitud de paso.

Para la mezcla física proporción (1:3) Piroxicam e HP- β -CD respectivamente se preparó por sextuplicado una solución a una concentración equivalente de 16 $\mu\text{g/mL}$ de Piroxicam. Se pesó la cantidad equivalente a 20 mg de Piroxicam, se disolvieron en 10 mL de alcohol metílico y se agitó por 15 minutos. Posteriormente se centrifugó por 5 minutos a 3000 rpm, de aquí se realizaron las diluciones pertinentes para obtener la concentración indicada (16 $\mu\text{g/mL}$).

9.7.2 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE BARRIDO

Se pesaron 3.973mg de Piroxicam en portamuestras de aluminio y se evaluó la conducta térmica en un rango de 50 a 240°C a una tasa de calentamiento de 15°C/minuto, bajo atmósfera de nitrógeno a un flujo de 20mL/minuto. Se realizó el enfriamiento bajo las mismas condiciones.

Para la HP- β -CD se pesaron 5.898mg en portamuestras de aluminio y se realizó el calentamiento en un intervalo de 50 a 240°C a una tasa de calentamiento de 15°C/minuto, bajo una atmósfera de nitrógeno a un flujo de 20mL/minuto.

En el caso de la mezclas de complejación se pesó la cantidad equivalente a 20 mg de Piroxicam, se determinó la conducta térmica de 50 a 240°C a una tasa de calentamiento de 15°C/minuto bajo una atmósfera de nitrógeno a un flujo de 20mL/minuto.

9.7.3 ANALISIS POR INFRARROJO

Se realizaron los espectros de infrarrojo del Piroxicam y de la HP- β -CD en pastillas de bromuro de potasio, a una concentración del 1%.

Igualmente de las mezclas obtenidas por los diferentes métodos de complejación realizados.

9.8 DETERMINACION DE LA CONSTANTE DE FORMACION DEL COMPLEJO DE INCLUSION.

9.8.1 PREPARACION DE UNA SOLUCION SATURADA DE HP- β -CD

Se pesaron 10g de HP- β -CD y se adicionaron 50mL de alcohol metílico, se colocaron en el sonicador durante 10 minutos y posteriormente se aforó a 100mL con alcohol metílico, colocándose nuevamente en el sonicador por 10 minutos más para obtener una solución homogénea.

9.8.2 EVALUACION DE LA SOLUBILIDAD DEL COMPLEJO EN METANOL.

Se pesaron diferentes cantidades de la mezcla de complejación, equivalentes a 10,20,30,40,50 y 60mg de Piroxicam, por triplicado, las cuales fueron colocadas en ampollitas de vidrio. Se adicionaron 10mL de alcohol metílico a cada una y se sellaron. Las ampollitas se colocaron en el sistema de agitación a 50rpm en un baño de agua a 25°C durante 36 horas. El contenido de las ampollitas se centrifugó a 3000rpm durante 5 minutos, del filtrado se tomó 1mL aforándose a 25 mL con metanol, solución de la que se tomó 1mL para diluirse en 10mL con agua destilada, lo anterior se realizó en todas las diluciones.

Cada una de las muestras se leyó al ultravioleta en un rango de 200 a 400nm, empleando una solución 1:10 de metanol-agua respectivamente como blanco, en celdas de 1cm de longitud de paso. El procedimiento anterior se realizó en tres ocasiones diferentes.

9.9 EVALUACION DE LA SOLUBILIDAD DEL PIROXICAM EN SOLUCIONES BUFFER pH2, pH4, y pH7.

Se pesaron 20mg de Piroxicam por triplicado, se colocaron en ampollitas de vidrio, posteriormente se adicionaron 10mL de solución buffer pH2, pH4, y pH7 (es decir tres ampollitas por cada pH), las ampollitas se sellaron por calentamiento. Los tubos se colocaron en el sistema de agitación (Disolutor de liberación prolongada ELECSA), a 50rpm,

en un baño de agua a 37°C por espacio de 6 horas. El contenido de cada tubo se centrifugó a 3000rpm durante 5 minutos, del sobrenadante se tomó 1mL y se afora a 25mL con metanol, solución de la cual se tomó 1mL y se afora a 10mL con agua destilada . Las muestras se leyeron al Ultravioleta en un rango de 200 a 400nm empleando como blanco de referencia metanol-agua (1:10) en celdas de 1cm de longitud de paso.

9.10 EVALUACION DE LA SOLUBILIDAD DEL COMPLEJO DE INCLUSION EN SOLUCIONES BUFFER pH2, pH4, y pH7

Se pesaron cantidades de mezcla del complejo de inclusión equivalentes a 20mg de Piroxicam por triplicado, se colocaron en ampolletas de vidrio, posteriormente se adicionaron 10mL de solución buffer pH2, pH4, y pH7 (es decir tres ampolletas por cada pH), las ampolletas se sellaron por calentamiento. Los tubos se colocaron en el sistema de agitación (Disolutor de liberación prolongada ELECSA), a 50rpm, en un baño de agua a 37°C por espacio de 6 horas. El contenido de cada tubo se centrifugó a 3000rpm durante 5 minutos, del sobrenadante se tomó 1mL y se afora a 25mL con metanol, solución de la cual se tomó 1mL y se afora a 10mL con agua destilada. Las muestras se leyeron al Ultravioleta en un rango de 200 a 400nm empleando como blanco de referencia metanol-agua (1:10) en celdas de 1cm de longitud de paso.

10. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

VALIDACION DEL METODO ANALITICO

La Validación del método empleado, se llevo a cabo para asegurar que la respuesta medida era únicamente debida a la molécula correspondiente al Piroxicam y no así a interferencias ocasionadas por el método o sistema.

LINEALIDAD DEL SISTEMA

CRITERIOS DE ACEPTACION

Coefficiente de determinación debe ser mayor o igual a 0.98

La pendiente debe tener tendencia a 1

El coeficiente de variación debe ser menor o igual al 3%

La ordenada al origen de la relación lineal debe tender a 0.

Tabla 2. Evaluación de la linealidad del sistema.

<i>Concentración</i>	<i>Replica</i>	<i>Replica</i>	<i>Replica</i>
$\mu\text{g/mL}$	1	2	3
	<i>ABS</i>	<i>ABS</i>	<i>ABS</i>
30	0.1919	0.1949	0.1947
60	0.3901	0.3995	0.3944
90	0.5761	0.5877	0.5928
120	0.7873	0.7924	0.7969
160	1.0306	1.0480	1.0554

Ordenada al origen=0.001

Intervalo de confianza para la ordenada al origen = 0.001 a 0.0088

T obs=0.2239 t crit=2.1604

R=0.9996

R2=0.9994

CV = 1.2933

Como puede observarse los valores experimentales, se encuentran dentro de los criterios de aceptación por lo que se concluye que el sistema se comporta linealmente.

PRECISION DEL SISTEMA

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

- **El coeficiente de variación debe ser menor o igual al 3%**
- **La media del % recuperado debe estar entre 97 y 103%**

Tabla 3. Evaluación de la precisión del sistema.

La concentración de la solución de referencia fue de 60 mcg/mL

ABSORBANCIA	% RECUPERADO
0.3909	99.298
0.3995	101.690
0.3944	100.392
0.3838	97.693
0.3874	98.610
0.3879	98.991
MEDIA	99.447
CV	1.4074

Los valores del porcentaje de recobro y el coeficiente de variación (Tabla 3), están dentro de los criterios de aceptación, por lo que se concluye que el sistema es preciso.

REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

- El coeficiente de variación debe ser menor o igual al 3%

Tabla 4. Evaluación de la reproducibilidad del método.

% RECUPERADO POR EL ANALISTA		
DIA	1	2
1	97.633	97.821
	98.610	97.720
	98.991	97.058
2	99.018	99.806
	99.603	99.756
	99.620	101.231

Coefficiente de variación = 1,2299

Los valores obtenidos se encuentran dentro de los límites de aceptación, por lo que el método es reproducible.

Se realizó un análisis de varianza para conocer la fuente de variación y el criterio de aceptación es el siguiente:

Si la F calculada es menor o igual que la F tablas el método es reproducible por los analistas.

Si la F calculada es menor o igual que la F tablas el método es reproducible en diferentes días por un mismo analista.

Tabla 5. Análisis de varianza para evaluar la reproducibilidad del método.

Fuente de Variación	F _{calc}	F _{tab}
Analista	0,033	18.5
Día	4.46	16.8

p<0.05

De acuerdo con los datos obtenidos (Tabla 5), no existe diferencia significativa entre diferentes días ni entre analistas, por lo que el método es reproducible en diferentes días y por diferentes analistas.

DETERMINACION DE LA SOLUBILIDAD DEL PIROXICAM EN METANOL.

Se reportan los datos obtenidos en el análisis para determinar la solubilidad del Piroxicam en metanol expresado en mg/10mL de solución considerando las diluciones realizadas para su análisis por UV. Se obtuvieron los valores de las medias y la desviación estándar para cada tres muestras. No se observó diferencia estadísticamente significativa por lo que se concluye que es reproducible. (Tabla 6).

Con las medias se realizó un gráfico de solubilidad de fase (Fig.8), graficando los mg recuperados en solución (Y) contra los mg adicionados a cada ampollita (X). El valor de la solubilidad se obtuvo extrapolando el punto donde se forma la meseta al eje Y que corresponde a $S_o = 40.6902$ mg/10mL de solución de metanol. Este valor será empleado en la ecuación correspondiente para determinar el valor de la constante de complejación.

TESIS CON
FALLA DE ... N

Tabla 6. Datos de solubilidad del Piroxicam en metanol.

PRINCIPIO ACTIVO		mg ADICIONADOS DE PIROXICAM					
		10	20	30	40	50	60
mg DE PIROXICAM RECUPERADOS EN SOLUCIÓN							
1		10.6788	21.1671	29.2042	40.8355	40.7241	41.8196
		10.7957	22.0689	29.2042	40.7427	40.7241	39.8196
		10.6505	22.122	29.472	39.8779	40.9389	40.7082
	MEDIA	10.7081493	21.781552	29.2931952	40.483059	40.7955745	40.7742726
	DESV.STD.	0.07697352	0.5366403	0.1546144	0.52812382	0.12401484	1.00206619
	CV	0.7181	2.4635	0.5277	1.3044	0.3039	2.4574
2		11.4432	22.3183	30.8063	40	40.8567	41.7506
		11.4432	22.6976	31.0998	40.183	41.8567	42.3421
		11.7855	22.7055	31.1936	40.122	40.8419	40.8885
	MEDIA	11.5561808	22.573074	31.2999005	40.1015945	41.1150439	41.6561151
	DESV.STD.	0.197627	0.2213047	0.5598595	0.09317904	0.64831552	0.73098582
	CV	1.7099	0.9803	1.7885	0.2321	1.5767	1.7546
3		10.4285	20.7957	30.7267	40.5305	41.7241	39.3421
		10.874	20.6366	30.6127	39.7877	42.1114	39.7055
		10.8571	20.4694	31.305	40.5988	40.7241	39.5153
	MEDIA	10.7178664	20.63347	30.8789855	40.3006765	41.5157337	39.5339978
	DESV.STD.	0.25247238	0.1631668	0.37119316	0.4466378	0.71584479	0.18922378
	CV	2.3549	0.7904	1.2017	1.1081	1.7241	0.4783

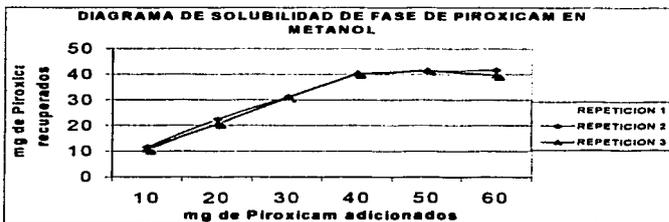


Figura 8. Diagrama de solubilidad de fase de Piroxicam en metanol.

TERMINADO CON FALLA DE CONTROL

METODO DE MEZCLA FISICA

Las condiciones bajo las cuales se formó el complejo por éste método, se describen con detalle en la metodología.

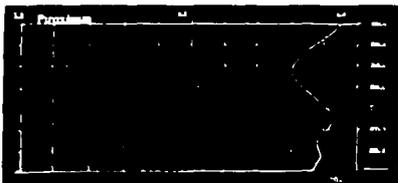


Figura 9. Espectro UV Piroxicam (16µg/mL).



Figura 11. Espectro UV mezcla física 1:1 (16µg/mL).



Figura 13. Espectro UV mezcla física 1:4 (16µg/mL).



Figura 15. Espectro de IR Piroxicam (16µg/mL) KBr.

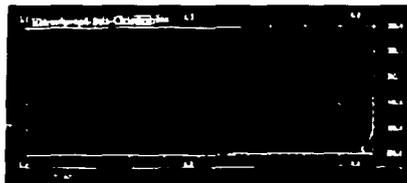


Figura 10. Espectro UV HP-β-CD (0.1µg/mL).



Figura 12. Espectro UV mezcla física 1:3 (16µg/mL).



Figura 14. Espectro de IR HP-β-CD (0.1µg/mL) KBr.



Figura 16. Espectro de IR mezcla física 1:1 Piroxicam/HP-β-CD (16µg/mL) KBr.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figura 17. Espectro de IR mezcla física 1:3 Piroxicam/HP- β -CD (16 μ g/mL) KBr



Figura 18 Espectro de IR mezcla física 1:4 Piroxicam/HP- β -CD (16 μ g/mL) KBr



Figura 19. Espectro DSC HP- β -CD (0.1g/mL).



Figura 20. Espectro DSC piroxicam (16 μ g/mL).



Figura 21 Espectro DSC mezcla física 1:1 (16 μ g/mL).



Figura 22. Espectro DSC mezcla física 1:3 (16 μ g/mL).



Figura 23. Espectro DSC mezcla física 1:4 (16 μ g/mL).

METODO DE COPRECIPITADO

Las condiciones bajo las cuales se formó el complejo por éste método, se describen con detalle en la metodología.



Figura 24. Espectro UV coprecipitado 1:3 (16µg/mL.)



Figura 25 Espectro de IR HP-β-CD (0.1g/mL) Nujol.



Figura 26. Espectro de IR Piroxicam (16µM/L) Nujol.



Figura 27. Espectro de IR coprecipitado 1:1 (16µM/L) Nujol.



Figura 28. Espectro de IR coprecipitado 1:3 (16µM/L) Nujol.



Figura 29. Espectro de IR coprecipitado 1:4 (16µM/L) Nujol.

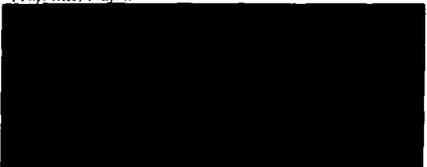


Figura 30. Espectro DSC coprecipitado 1:1 (16µ mL).

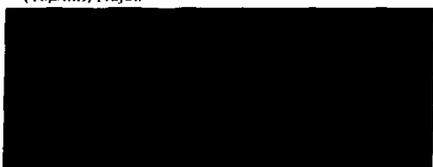


Figura 31. Espectro DSC coprecipitado 1:3 (16µ/mL).



Figura 32. Espectro DSC coprecipitado 1:4
(16 μ /mL).

METODO DE AMASADO

Las condiciones bajo las cuales se formó el complejo por éste método, se describen con detalle en la metodología.



Figura 33. Espectro de UV amasado 1:3 (16µg/mL)



Figura 35. Espectro de IR Piroxicam (16µg/mL) Nujol.



Figura 37. Espectro de IR amasado 1:3 (16µg/mL) Nujol.



Figura 39. Espectro DSC amasado 1:1 (16µg mL).



Figura 34 Espectro de IR HP-β-CD (0.1g/mL) Nujol.



Figura 36. Espectro de IR amasado 1:1 (16µg/mL) Nujol.



Figura 38 Espectro de IR amasado 1:4 (16µg/mL) Nujol.



Figura 40. Espectro DSC amasado 1:3 (16µg/mL).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figura 41. Espectro DSC amasado 1:4
(16µg/mL).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CARACTERIZACION DEL COMPLEJO DE INCLUSION PIROXICAM-HP- β -CD

Los resultados son representados por los espectros correspondientes a las técnicas analíticas de Ultravioleta, Infrarrojo y Calorimetría Diferencial de Barrido para cada método y especie analizada.

Se pueden apreciar diferencias significativas en cuanto a la absorbancia que muestran las materias primas por separado (Piroxicam e Hidroxipropil- β -Ciclodextrina), que una vez que han sido complejadas.

Para el análisis correspondiente a Ultravioleta en metanol-agua, se puede observar un máximo de absorbancia a 358.2 nm (Fig. 9), lo que refiere la bibliografía de acuerdo a esta técnica analítica.

Por otro lado, la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina no absorbe a esa longitud de onda (Fig. 10), por lo que de ninguna manera interfiere en la determinación del Piroxicam en el complejo de inclusión.

De acuerdo al espectro correspondiente a la técnica de complejación de mezcla física (1:3), muestra una clara modificación (Fig.12) encontrándose la HP- β -CD y el fármaco bajo las mismas concentraciones (16 μ g/mL), desapareciendo una señal característica alrededor de los 290nm, además de un notable cambio en la intensidad de absorción a los 358.2nm, debido a que una fracción del Piroxicam aún absorbe a esa longitud de onda y una mayor proporción se encuentra ya incluida en la ciclodextrina, dichos cambios son indicativos de la formación de un complejo de inclusión entre las especies participantes. Característica que es notable desde la proporción (1:1) (Fig. 11).

Los espectros de UV que corresponden a las técnicas de complejación por coprecipitado y amasado (Fig.24,33) en las proporciones de (1:3) no muestran modificaciones de consideración en su absorbancia que de hecho es la que corresponde al Piroxicam. De tal

forma que, al no haber un cambio en la longitud de onda los métodos antes mencionados no llevan a cabo ningún proceso de inclusión.

En los espectros que corresponden a espectrofotometría de infrarrojo, podemos mencionar en primer lugar el que corresponde al Piroxicam (Fig.15), el cual muestra las bandas características a una frecuencia de 1630cm^{-1} debido a la presencia de una carbonil amina; a 1525cm^{-1} la banda correspondiente a una amina secundaria; a los 1434cm^{-1} los grupos metilo y dobles enlaces carbono-carbono; a los $1155\text{-}1070\text{cm}^{-1}$ los correspondientes a una sulfona; y por último a los 770 y 730cm^{-1} la señal de un fenilo orto di sustituido.

El espectro correspondiente a la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina (Fig.14), presenta señales a los 3420cm^{-1} característica de los polímeros; en la banda aproximada a los 2900cm^{-1} asignada a los grupos hidroxilo, primarios y secundarios; finalmente a los 1420cm^{-1} la región que pertenece a los alquiles.

En el espectro que corresponde al complejo de inclusión por el método de mezcla física en la relación 1:3 (Fig. 17), se observa que la banda característica de 1434cm^{-1} correspondiente al grupo metilo y al doble enlace carbono-carbono así como la señal característica de los de la carbonil-amina a 1630 , disminuye su intensidad de manera considerable. Estos cambios son atribuidos a que posiblemente se intercalaron las moléculas del Piroxicam con la HP- β -CD formando enlaces covalentes.

Los cambios antes mencionados se atribuyen a que se registran con mayor intensidad las señales que corresponden a la molécula de la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina, debido a que formó enlaces con la molécula de Piroxicam.

Los espectros de infrarrojo resultado del método de coprecipitado (Fig. 27,28,29), no muestran cambios en la intensidad y frecuencia de los grupos funcionales principales, además de que la señal de la HP- β -CD no sufre cambio alguno. De tal manera se considera este método como no formador de enlaces entre las especies participantes.

Para el método de amasado (Fig.36,37,38), el análisis hecho por espectrofotometría de infrarrojo nos indica que no ocurre la inclusión del Piroxicam en la cavidad de la ciclodextrina pues los cambios en las bandas que conforman el área de la huella digital no se ven modificadas de manera significativa.

En el análisis por DSC, el Piroxicam presenta una endoterma a 203°C (Fig 20), mientras que la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina, muestra una endoterma de descomposición a 83°C (Fig 19).

En la mezcla de complejación por el método de mezcla física, en la proporción de 1:3 (Fig. 22) la endoterma de fusión del Piroxicam, se hace poco significativa de acuerdo a la proporción de complejación que se incrementa desde la relación estequiométrica (1:1) hasta (1:4) (Fig. 21,22,23), mientras que la endoterma que corresponde a la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina permanece. Un comportamiento de éste tipo representa la mejor evidencia de que el complejo se ha formado, pues cualquier modificación al comportamiento calorimétrico normal de la molécula se debe a su inclusión en la cavidad de la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina.

En las endoterma que corresponden al método de coprecipitado podemos observar que en las distintas proporciones en que fue formado el complejo (1:1) a (1:4), (Fig. 30,31,32), no se observa ningún fenómeno de cambio para con el fármaco, pues presenta la misma señal a los 200°C que corresponde únicamente al principio activo y no así a la ciclodextrina cuya endoterma no aparece registrada. De tal manera podemos decir que por éste método no se lleva a cabo la complejación.

Para el método de amasado (Fig. 39,40,41) el resultado de la complejación fue el mismo que para el realizado por coprecipitado notándose la ausencia de la endoterma correspondiente a la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina y apareciendo sólo la que corresponde al fármaco puro alrededor de los 200°C.

SOLUBILIDAD DEL PIROXICAM EN PRESENCIA DE HP- β -CD

Las muestras producto de los diferentes métodos fueron sometidas a las mismas condiciones de tiempo de agitación, velocidad de agitación, temperatura, etc. Con el fin de determinar que método resultaba más adecuado para la formación del complejo de inclusión. Las muestras preparadas por los diversos métodos de complejación se analizaron por UV en una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$. El rango en el que fueron leídas fue de 200 a 400nm en celdas de 1cm de longitud de paso.

Tomando como base los cambios mostrados en las características espectrales, se eligió el método de mezcla física como el mejor y más indicado para propiciar la complejación, además del rendimiento que se obtuvo durante el proceso que fue del 98%. Los métodos de coprecipitado y amasado tuvieron un rendimiento menor (88.77 y 80.69% respectivamente), además de que las características espectrales de las diferentes técnicas analíticas no fueron satisfactorias o indicativas de alguna inclusión molecular.

Cuando se sometió a ambos componentes al proceso o método de mezcla física, se observó un cambio en las características del espectro, lo que es indicativo de complejación. (Fig. 42,43,44) desde la proporción 1:1 acentuándose dichas modificaciones espectrales conforme la proporción de HP- β -CD se incrementaba.

Con tales resultados se puede comprobar la relación estequiométrica 1:3 Piroxicam/HP- β -CD, como la idónea para lograr la formación de un complejo de inclusión.

De tal manera la solubilidad alcanzada por el Piroxicam en presencia de la HP- β -CD es de 4.8239×10^{-5} M.

La solubilidad máxima del fármaco sin complejar es de 40.6902 mg/10mL, y la solubilidad determinada del fármaco complejado es de 64.9632 mg/10mL.

A continuación se muestran los espectros correspondientes a la técnica analítica de UV resultado de la mezcla física de Piroxicam y la HP- β -CD. (Fig. 42,43,44)

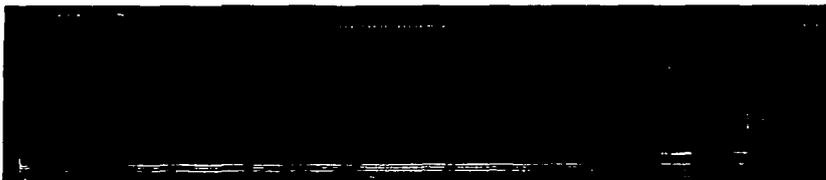


Figura 42. Espectro UV mezcla física 1:3
(16 μ /mL).



Figura 43. Espectro de IR mezcla física 1:3
(16 μ /mL).

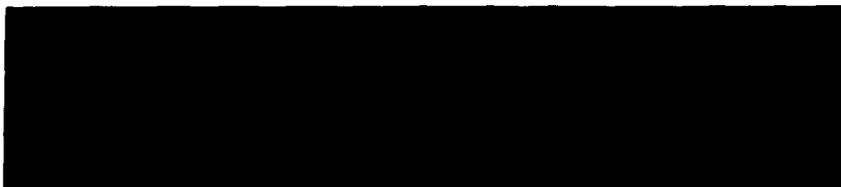


Figura 44. Espectro DSC mezcla física 1:3
Piroxicam/HP- β -CD (16 μ /mL)

DETERMINACION DE LA CONSTANTE DE FORMACION DEL COMPLEJO DE INCLUSION PIROXICAM-HP- β -CD

En los espectros de UV que se obtuvieron al determinar la constante de complejación (FIG.7) puede observarse de manera muy clara la modificación del espectro con respecto al que corresponde a el ingrediente activo Piroxicam (FIG.9), lo que evidencia que en presencia de HP- β -CD ocurre la formación del complejo de inclusión por el método de mezcla física.

Los resultados obtenidos en el análisis para la determinación de la constante de formación se muestran en la (Tabla 7). Para cada triplicado de muestras se calculó el valor promedio y desviación estándar, de los cuales se reportan los resultados en mol $\times 10^{-5}$. El método es reproducible ya que el valor del coeficiente de variación (CV), es menor al 3%.

Con los valores promedio se trazó el gráfico para la solubilidad empleando la concentración de Piroxicam en solución (Y) contra la concentración de HP- β -CD (X) que fue adicionada a cada ampolleta (Fig. 45). De este diagrama se calculó el valor de la constante de estabilidad considerando la pendiente de la recta y la solubilidad de Piroxicam en el medio empleado que se determinó previamente. La fórmula $K=m/S_0(1-m)$ es la fórmula que se emplea para obtener un valor para K_{eq} del complejo de inclusión Piroxicam-HP- β -CD de 9.1424 M a 25°C en alcohol metílico.

El tipo de diagrama que se obtiene representa un comportamiento donde la solubilidad no se encuentra limitada.

Tabla 7. Datos de solubilidad para determinar la constante de complejación.

CONCENTRACION DE HPBCD ADICIONADA (molx10 ⁻⁴)		5.0251	12.5628	20.1005	25.1256	32.6633	50.2512
CONCENTRACION DE PIROXICAM (Mol x 10 ⁻⁵)							
REPLICAS							
1		4.7459	4.7459	4.7794	4.8015	4.8015	4.8464
		4.7012	4.7347	4.7571	4.824	4.8129	4.8687
		4.7459	4.7459	4.7571	4.8015	4.8129	4.8464
MEDIA		4.73095297	4.74216373	4.76452175	4.80998832	4.809097	4.85382196
DESV.STD.		0.02580756	0.00646632	0.01287491	0.01299038	0.00658179	0.01287491
CV		0.5453	0.1349	0.2686	0.2682	0.1351	0.2637
2		4.7571	4.7236	4.7459	4.7906	4.7906	4.8687
		4.7459	4.7347	4.7236	4.7794	4.8129	4.8687
		4.7236	4.7236	4.7236	4.7794	4.7882	4.8576
MEDIA		4.74217954	4.72729711	4.73102187	4.78313042	4.809097	4.86499718
DESV.STD.		0.01705374	0.00640859	0.01287491	0.00646632	0.02235002	0.00640859
CV		0.3584	0.1353	0.2705	0.1338	0.4637	0.1315
3		4.7236	4.7236	4.7459	4.8241	4.8015	4.8576
		4.7571	4.7347	4.7459	4.8015	4.8015	4.8576
		4.7012	4.7347	4.7236	4.8129	4.8241	4.8464
MEDIA		4.80902154	4.7309971	4.73845499	4.81282449	4.80502154	4.85386379
DESV.STD.		0.01304812	0.00640859	0.01287491	0.01130015	0.01304812	0.00646632
CV		0.2703	0.1352	0.2701	0.2347	0.2703	0.1318

NOTA. La cantidad adicionada de Piroxicam fue de 20mg/ampolleta.

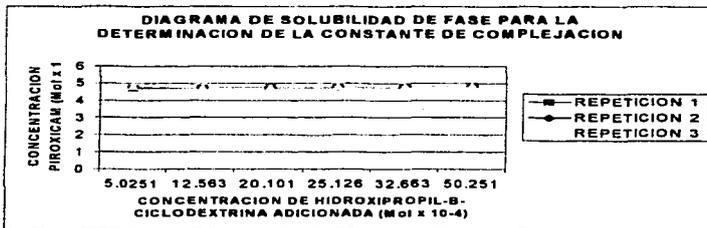


Figura 45. Diagrama de solubilidad de fase para la determinación de la constante de complejación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

EVALUACION DE LA SOLUBILIDAD DEL COMPLEJO DE INCLUSION PIROXICAM/HP- β -CD EN METANOL.

Se muestran los resultados obtenidos (Tabla 8), donde se calcularon los valores promedio, la desviación estándar y coeficientes de variación respectivos entre las tres distintas replicas, por lo que de acuerdo a su valor podemos afirmar que se encuentra dentro de los límites de especificación.

A si mismo se construyó un diagrama de solubilidad de fase con los datos de las medias obtenidas producto de las replicas, donde se grafico la cantidad de Piroxicam adicionada en su equivalente en forma de complejo y que esta representado por el eje (X), contra la cantidad de Piroxicam recuperado y que representa el eje (Y), (Fig.46). De esta gráfica se calculó el valor de la solubilidad máxima que presento el fármaco, extrapolando de la meseta formada debido a la saturación al eje (Y). El valor obtenido fue $S_o=64.9632\text{mg/mL}$ observando un notable incremento en la solubilidad comparado con el fármaco sin complejar.

El valor obtenido y que corresponde a la constante (9.1424M a 25°C), refiere que el complejo es estable en su fase sólida y posee un mayor grado de solubilidad, que se irá incrementando mientras el valor este más cercano a 1.

Tabla 8. Datos de solubilidad del complejo de inclusión Piroxicam/HP- β -CD

COMPLEJO mg EQUIVALENTES	10	20	30	40	50	60
mg_RECUPERADOS EN SOLUCIÓN						
1	9.3674	18.5287	33.5862	40.6436	52.7701	62.7586
	9.8759	18.5287	32.8621	40.1839	52.9885	63.1724
	9.6612	19.1839	33.6276	40.977	53.3333	62.8965
MEDIA	9.63257222	18.744575	33.3567722	40.600197	53.0301269	62.94227
DESV.STD.	0.25527331	0.3782799	0.43050842	0.3982226	0.28395417	0.2107
CV	2.6493	2.0176	1.2905	0.9807	0.5353	0.3347
2	9.7648	20.2298	33.931	40	53.5632	65.1034
	9.7674	20.1839	34.3448	40.5977	53.7241	66.2068
	9.6311	19.7701	34.2758	40.6341	54.5977	66.6206
MEDIA	9.720891	20.0602	34.18339	40.409551	53.9597593	65.97382
DESV.STD.	0.077953	0.2532	0.22169	0.3560555	0.55666507	0.784285
CV	0.8013	1.2622	0.6482	0.8809	1.0315	1.1886
3	9.9782	20.1839	32.2413	40	53.3333	66.2068
	9.769	20.1839	31.3103	39.908	54.3678	65.1034
	9.6482	19.954	31.3103	40	54.5977	66.6206
MEDIA	9.797521	20.106974	31.6176073	39.96931	54.09679	65.97382
DESV.STD.	0.166962	0.1327328	0.5375131	0.053116	0.673517	0.784285
CV	1.7034	0.6599	1.7	0.1328	1.2449	1.1886

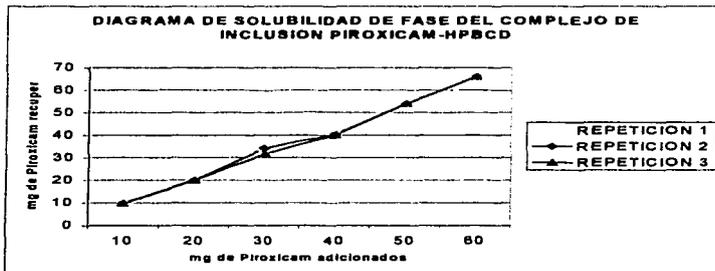


Figura 46 . Diagrama de solubilidad de fase del complejo por mezcla física Piroxicam-HP- β -CD.
So=64.96329876mg/10mL

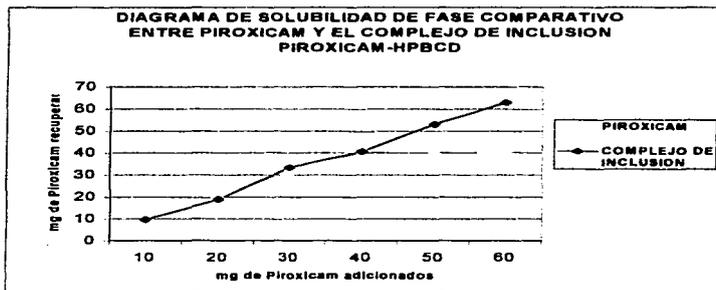


Figura 47. Diagrama de solubilidad de fase comparativo entre Piroxicam y el complejo de inclusión Piroxicam/HP- β -CD.

Piroxicam

So=40.690219

Complejo de inclusión Piroxicam/HP- β -CD

So=64.963298

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Podemos observar de acuerdo a este diagrama de solubilidad de fase comparativo que para el caso de Piroxicam el comportamiento es constante, mientras que para el complejo de inclusión existe un incremento de solubilidad sin llegar a la saturación. (Fig. 47)

Dicho comportamiento se fundamenta en el supuesto de que la solubilidad del fármaco en un solvente dado es una constante y que cualquier aumento en la solubilidad será debido a la formación de un complejo de inclusión, sin afectar la naturaleza misma del fármaco, ya que sólo interacciona de manera parcial.

EVALUACION DE LA SOLUBILIDAD DE PIROXICAM Y COMPLEJO DE INCLUSION HP- β -CD EN SOLUCION BUFFER A pH 2, pH 4 y pH 7.

Se evaluó la solubilidad del Piroxicam y del complejo de inclusión Piroxicam/HP- β -CD a diferentes valores de pH por espacio de 6 horas, y de esa manera observar los resultados y compararlos entre sí.

Los resultados que se obtuvieron (Tablas 9,10) son mostrados a continuación:

Tabla 9. Datos de solubilidad del Piroxicam a pH 2, pH 4 y pH 7.

mg recuperados Piroxicam	Hora 1	Hora 2	Hora 3	Hora 4	Hora 5	Hora 6
pH 2	17.1428	18.5714	18.5714	18.5714	18.6642	19.442
	17.1635	19.3821	18.6842	19.3821	19.2857	19.4988
	17.1969	18.4785	18.4785	19.1892	19.3821	19.442
MEDIA	17.164391	18.80633	18.571212	19.044407	19.107999	19.460915
DESV.STD.	0.0220638	0.4970509	0.09285	0.4235016	0.3896442	0.0327935
CV	0.1281	2.6427	0.4999	2.2237	2.0389	0.168
pH 4	3.7714	4	4.2857	6.8571	6.5714	7.4285
	3.7271	4.5714	4.8571	6.8571	7.1428	7.4285
	3.8571	4.5714	4.8571	7.7142	7.1428	7.7142
MEDIA	3.7848167	4.3723959	4.6586343	7.1316598	6.9470159	7.5225379
DESV.STD.	0.0660896	0.3298979	0.3298979	0.4948469	0.3298979	0.164949
CV	1.7438	0.0754535	0.0708173	0.0693903	0.0474898	0.0219282
pH7	5.8704	6.1571	6.8571	7.7142	7.7142	9.1428
	5.7142	6.2857	6.5714	8	7.7142	9.4285
	5.8306	6.2857	6.5714	7.7142	9.1428	9.4285
MEDIA	5.7380033	6.2425376	6.6652856	7.8083138	8.1636994	9.3322882
DESV.STD.	0.0827964	0.0742472	0.164949	0.1650067	0.8248026	0.164949
CV	1.4412	1.1886	0.0247488	0.0211257	0.10103	0.0176758

Nota. La cantidad adicionada de Piroxicam fue de 20mg por tubo.

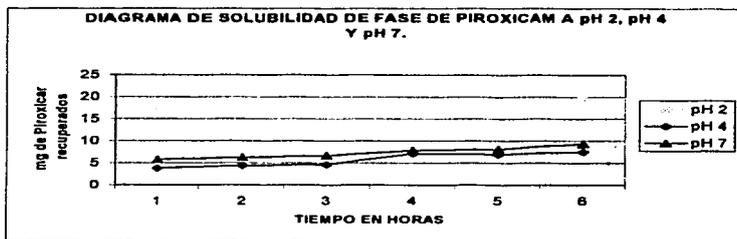


Figura 48. Diagrama de solubilidad de fase del Piroxicam a pH 2, pH 4 y pH 7.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 10. Datos de solubilidad del complejo de inclusión Piroxicam/HP- β -CD a pH 2, pH 4 y pH 7

mg recuperados Piroxicam	Hora 1	Hora 2	Hora 3	Hora 4	Hora 5	Hora 6
pH 2	16.5714 16.7142 16.4285	17.3846 17.4285 18	18.2857 18 18.8561	19.2857 19.4285 19.0714	19.6326 19.4285 19.9	19.512 19.7142 19.149
MEDIA	16.570956	17.602151	18.377171	19.261307	19.652753	19.700096
DESV.STD.	0.14285	0.343309	0.4356585	0.179739	0.2364571	0.1940578
CV	0.8617	1.9503	2.3714	0.9329	1.2028	0.9843
pH 4	4.769 4.7492 4.9815	4.6323 4.5714 4.7087	5.6693 5.6971 5.4285	5.8913 5.9316 6.1037	6.9714 6.9285 8.7346	11.4285 11.059 11.9693
MEDIA	4.8321007	4.6371268	5.596988	5.9748275	8.8775661	11.382823
DESV.STD.	0.1287838	0.0687957	0.1477066	0.1128098	0.1261691	0.3074034
CV	2.6634	1.4815	2.6389	1.8879	1.4204	2.7005
pH7	10.5714 10.392 10.8571	11.8917 11.9436 12.0602	11.9931 11.8571 11.8714	12.2857 12 12.1052	12.4285 12.6597 12.5176	12.5714 12.4285 12.8941
MEDIA	10.601707	11.96496	11.805887	12.534906	12.129727	12.629839
DESV.STD.	0.2391711	0.0862954	0.215233	0.1166081	0.1444944	0.2385159
CV	2.2552	0.7204	1.8228	0.9302	1.1904	1.8883

Nota. La cantidad adicionada de Piroxicam fue de 20mg por tubo.

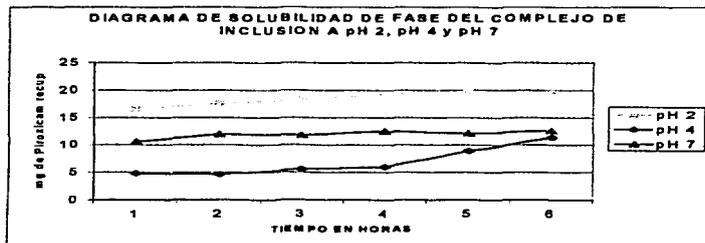


Figura 49. Diagrama de solubilidad de fase del complejo de inclusión Piroxicam/HP- β -CD a pH 2, pH 4, y pH 7.

TESIS CON
FALLA DE DEFENSA

De acuerdo al análisis de resultados para el estudio anterior a pH 2, pH 4 y pH 7, muestran claramente que al formarse el complejo de inclusión con la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina, la solubilidad se ve notablemente incrementada en medio ácido, es importante señalar que la cantidad de fármaco adicionado para este proceso fue constante (20mg), y lo que se pretendió era ver si conforme el tiempo transcurría se encontraba mayor cantidad de fármaco disuelto, y a que pH se disolvía más fácilmente el complejo de inclusión en comparación con el fármaco libre.

Se pudo observar que hasta el tiempo límite de 6 horas, las cantidades de fármaco que se encontraba disuelto no se incrementaba de manera considerable (Fig. 48), de tal manera, no se continuo realizando el muestreo, debido al antecedente de que el fármaco a esos valores de pH es sólo ligeramente soluble.

Para el complejo de inclusión Piroxicam/HP- β -CD la cantidad de fármaco disuelto se incremento a pH 2, pH 4 y pH 7 (Fig. 49), por tal motivo se afirma que si se ve favorecida la solubilidad a los valores de pH ya mencionados, sobre todo en los dos primeros ya que corresponden a la primera porción del Intestino (duodeno), siendo esta fracción donde generalmente se absorbe el medicamento.

11. CONCLUSIONES

La técnica de solubilidad de fase permitió determinar, de manera adecuada las condiciones temperatura, velocidad de agitación, tiempo de agitación, etc., además de cantidades para la preparación de los diversos complejos. Lo anterior se realizó con el fin de obtener la información requerida para la reproducción de este procedimiento con el fin de optimizar costos de proceso.

Empleando el método de complejación de mezcla física, en la proporción estequiométrica de 1:3, es posible la obtención de un complejo de inclusión estable en medio sólido, lo que favorece su manejo.

Las técnicas analíticas de IR, UV y DSC permiten corroborar la formación del complejo de inclusión de Piroxicam/Hidroxiopropil- β -CD por medio de los cambios mostrados en los termogramas y espectros correspondientes.

El complejo de inclusión formado favorece de manera considerable la solubilidad del Piroxicam, ya que la solubilidad del principio activo en cuestión es de 40.6902 mg/10mL y la solubilidad resultante del complejo de inclusión es de 64.9632 mg/10mL, lo anterior representa un 59.65% incrementado, lo que a su vez seguramente permitirá disminuir la irritabilidad gástrica y un tratamiento o administración prolongados.

Se observa que a pH2, pH4 y pH7 se obtiene una mayor solubilidad del fármaco en su forma complejada, comparado con la solubilidad del activo solo ya que se muestra un notable incremento sobre todo a pH4 y pH7.

12. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de estabilidad del complejo de inclusión y de la molécula sin complejar, con la finalidad de conocer si el proceso de complejación favorece la estabilidad aunado a un incremento de la solubilidad del fármaco.
2. Elaborar una forma farmacéutica (tabletas) de la forma complejada y no complejada de tal manera que pueda llevarse a cabo un estudio comparativo de perfiles de disolución con el fin de evaluar la cinética de liberación del fármaco complejado y así determinar cual fue el efecto al utilizar el complejo de inclusión en dicha forma farmacéutica.
3. Proponer formulaciones de distintas formas farmacéuticas para la forma complejada del Piroxicam y realizar los estudios necesarios.
4. Estudiar la posibilidad de una formulación para un inyectable.
5. Evaluar la biodisponibilidad del Principio activo solo y su forma complejada in vivo.

13. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Acerbi D., Bovis G., Biopharmaceutical Optimisation of β -Ciclodextrin Inclusión Compounds. **Drug Inv.** (1990);2 (Suppl. 4): 29-36.
2. Rhoda Lee C. Piroxicam- β -Cyclodextrin. A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Potential in Rheumatic Diseases and Pain States. **Drugs.** (1994); 48(6):907-928
3. Florey. Analytical Profiles of drug substances Academic Press Inc. England. (1979);(15):509-525
4. Litter M. Farmacología Experimental y Clínica. 7ªed. El Ateneo.Argentina.(1986).
5. Szejtli J., Ciclodextrin in Drug Formulations. **Pharm. Tech.** (1991); 9: 24-36.
6. Fromming K-H., Szejtli J. Ciclodextrins in Pharmacy, Klumer Academic Publisher Netherlands. (1994).
7. Loftsson T., Guomundsdottir K., The Influence of Water-Soluble Polymers and pH on Hydroxypropyl- β -Ciclodextrin Complexation of Drugs. **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (1996);22 (5): 401-405
8. Ozdemir N.,Ordus. Improvement of Dissolution Properties of Furosemide by Complexation with β Cyclodextrin. **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (1998);24(1):19-25
9. Backesfield T. Interaction of NSA with Ciclodextrin and Hydroxipropyl Cyclodextrin Derivatives. **Inter. Jour. Pharm.** (1991);74: 85-93.
10. Jones S.P. Cyclodextrin in the Pharmaceutical sciences. Part II. Preparation, structure and properties of Cyclodextrin and Cyclodextrin inclusión compounds. **Acta. Pharm. Tech.** (1984);30 (3):213-223.
11. Pradeau D. Análisis Químico Farmacéutico de Medicamentos 1ª. Ed. Limusa. México. (1998).117-124
12. Liu F., Kildsig D.O., Mitra A. Complexation of Acil/o/ β /Ciclodextrin derivatives with steroids/effects of chain length and substitution degree. **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (1992);8 (15): 1599-1612.
13. Duchene D.,Wovessidjewe D. Pharmaceutical uses of Cyclodextrins and derivates. **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (1990);16(17):2487-2499
14. Rubinstein M.H. Pharmaceutical Technology. John Wiley. England. (1989).156-159

-
-
15. Ducheme D. The Current State of β -Cyclodextrin In Pharmaceutics. **Acta Pharm. Tech.** (1990);36 (1):1-6
 16. Avendaño L. C. Introducción a la Química Farmacéutica. Interamericana. España. (1993).
 17. Szejtli J. Cyclodextrin in drug formulations. Part I. **Pharm. Tech.** (1991);8:34-42
 18. Lin S. Indometacin and Cyclodextrin complexes. **Inter. J. Pharm.** (1991);63:211-219.
 19. Otero Espinar F., Angiano I. Interaction of Naproxen with β -Cyclodextrin in solution and in the solid state. **Int. J. Pharm.** (1992);79: 179-157.
 20. Orienti Isabella, Fini A. Inclusión Complexes Between non steroidal antiinflammatory drugs and β /Cyclodextrin. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** (1991);37(2):110-112.
 21. Fromming K-H., Szejtli J. Cyclodextrins in pharmacy. Klumer Academic Publisher. Netherlands. (1994).
 22. Bentineti G., Mura P. Solubilization and interaction of Naproxen with Cyclodextrin in aqueous solution and in the solid state. **Farmaco.** (1988);44(2):195-213.
 23. Kurosumi M., Nagai T. Inclusion compounds of non steroidal antiinflammatory and other slightly water soluble drugs with α and β /Cyclodextrins in powdered form. **Chem. Pharm. Bull.** (1975);23 (12): 3062-3068.
 24. Becirevic-Lacan M., Jalsenjak J., Dissolution Characteristics of Nifedipine Complexes with β -CD. **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (1996);22 (12): 1231-1236.
 25. Torricelli C., Martini A. Stability studies on steroidal drug/ β /Cyclodextrin in ground mixture. **Inter. J. Pharm.** (1992);75:147-153.
 26. Connors K. A. Binding constants. John Willey and Sons. USA. (1988).
 27. Nim York, P. Spirinolactone Cyclodextrin complexes> phase solubility and ultrafiltration studies. **Inter. J. Pharm.** (1991);73:9-15
 28. Connors K. A. Curso de Análisis Farmacéutico. Edit. Reverté, S.A.España. (1981); 358-372.
 29. Henwood, S.Q., Villiers M.M. Solubility and dissolution properties of generic Rifampicin raw material. **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (2000);26(1):403-408
 30. Nazzi G. Formation of inclusion complex between the non-steroidal anti-inflammatory drug (RS)-2-(4-isobutylphenyl)-1-propionhidroxamic acid and β -Cyclodextrin. **Acta Pharm. Technol.** (1988);34(1):17-21

-
-
31. Nambu N. Bioavailability of powdered inclusion compounds of nonsteroidal antiinflammatory drugs with β -Cyclodextrin. **Chem. Pharm. Bull.** (1978);26(10): 2952-2956.
32. Vromans H., Anko C. Mechanism of dissolution of drug Cyclodextrin complexes a pragmatic approach. **Acta. Pharm. Technol.** (1989);35 (4): 250-255.
33. McDonald C., Palmer L., The Solubilities of Esters of 4- Hidroxybenzoic Acid, Determined Separately and Together, in Aqueous Solutions of 2- Hidroxypropyl- β -Ciclodextrin. **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (1996);22 (9,10):1025-1029
34. Szejtli J. Cyclodextrin in drug formulations. Part II. **Pharm., Technol.** (1991);9:24-36
35. Marques C., Hadgraft J. Studies of Cyclodextrin Inclusion Complexes. 1. The Salbutamol-Cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC. **Int. Jour. Pharm.** (1990);63:259-266
36. Avendaño Pedregal C. Métodos espectroscópicos en el análisis farmacéutico. Ed. Médica Panamericana. México. (1990):923-933
37. Marques C., Hadgraft J. Studies of cyclodextrin inclusion complexes.1. The Salbutamol-Cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC. **Int. J. Pharm.** (1990);63:259-266
38. Nakai Y. Study of interaction of clobazabam with cyclodextrins in solution and solid state. **Chem. Pharm. Bull.** (1990); 38 (3): 728-732.
39. Venkataram S., Khohlokwane M., Wallis H., Differential Scanning Calorimetry as a Quick Scanning Technique for Solid State Stability Studies. **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (1995);21 (7): 847-855
40. Nagarsenkar M., Shenai H., Influence of Hydroxypropyl β -Ciclodextrin on Solubility and Dissolution Profile of Ketoprofen in Its Solid Dispersions. **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (1996);22 (9,10).987-992
41. Nakai. Y. Study of the interaccion of Clobazabam with Cyclodextrins in solution and in the solid state. **Chem. Pharm. Bull.** (1990);38 (3):728-732.
42. Sanghavi N., Choudhari K., Inclusion Complexation of Lorazepam With β -Ciclodextrin **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (1993);19(6):701-712
43. Marques C., Hadgraft J. Studies of Cyclodextrin Inclusion Complexes II. Molecular Modeling and HMNR Evidence for the Salbutamol- β -Cyclodextrin Complex. **Inter. Jour. Pharm.** (1990);63:267-274
44. Sanghavi N., Choudhari K., Inclusion Complexation of Drugs With β -Ciclodextrin **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (1993);19(6):701-712

-
-
45. Elshaboury M.H. Physical properties and dissolution profiles of tablets directly compressed with β /Cyclodextrin. **Inter. J. Pharm.** (1990);63:95-100
46. Shangraw R. Characterization of the Tableting properties of β -Cyclodextrin and the effects of processing variables on inclusion complex formation, compactability and dissolution. **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (1991);18. (17) 1831-1851
47. Aly A., Rahman A. Evaluation of cloramphenicol/ β /Cyclodextrin inclusion complex. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** (1991);37 (1):34-37
48. Vila/Jato J.L. Spirinolactone/ β /Cyclodextrin complex oral bioavailability in humans. **Acta. Pharm. Tech.** (1986);32 (2):82/85
49. Glomont F. Improvement in availability and stability if dermocorticoid by inclusion in β /Cyclodextrin. **Inter. J. Pharm.** (1988);46:49/55
50. Otero/Espinar F. Oral bioavailability of naproxen/ β /Cyclodextrin inclusion compound. **Inter. J. Pharm.** (1991);75:37-44
51. Fuioka J. Biopharmaceutical study of inclusion complex. 1. Pharmaceutical advantages of Cyclodextrin complex by bencyclan fumarate. **Chem. Pharm. Bull.** (1983);31 (7): 2416-2423
52. Nakai Y. The dispersed states of medicinal molecules in ground mixtures with α or β Cyclodextrin. **Chem. Pharm. Bull.** (1984);32 (2):681-691
53. Uekama K. Improvement of some pharmaceutical properties of clofibrate by Cyclodextrin complexation. **Acta. Pharm. Helv.** (1983);58 (2):338-342
54. Vikmon M. Stabilization of Mydeton with β /Cyclodextrin. **Acta. Pharm. Tech.** (1986);32 (1): 29-32
55. Rajewski R. A., Stella J. V. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins.2. In vivo Drug Delivery. **J. Pharm. Sci.** (1996);(85(11):1142-1168
56. Szejtli J. Medicinal Applications of Cyclodextrins. Medicinal Research Reviews. (1994);14(3):353-386
57. Kildsig D., Liu F., Mitra A., Complexation of 6-Acyl-0- β -Ciclodextrin Derivatives With Steroids-Effects of Chain Length and substitution Degree. **Drug. Dev. Ind. Pharm.** (1992);18(15):1599-1612

14. APENDICE I

Caracterización del Piroxicam

DETERMINACION	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
DESCRIPCION	Polvo blanco o ligeramente amarillo	Cumple
SOLUBILIDAD	Insoluble en agua, parcialmente soluble en éter diisopropílico, ligeramente soluble en alcoholes alifáticos, soluble en dimetilformamida	Cumple
IDENTIFICACION	Reacción positiva (+)	Cumple
PUNTO DE FUSION	198-200°C	198°C
RESIDUO DE IGNICION	0.3% Max.	0.06%
METALES PESADOS	0.005% Max.	<0.005%
CONTENIDO DE AGUA	0.5% Max.	0.18%
IMPUREZAS VOLATILES ORGANICAS	0.01% Max.	Cumple
VALORACION	97-103%	100.6%

15. APENDICE II

CERTIFICADO DE ANALISIS DE PIROXICAM.

TECHNOCO CO., LTD.

P. O. BOX 9-403 TAIPEI, TAIWAN.
9 FL., NO. 1-2 NANKING WEST ROAD
TAIPEI, TAIWAN.
E-Mail: technoco@lpts6.seed.net.tw

TEL: 886-2-25605020
FAX:886-2-25110985
25232258

CERTIFICATE OF ANALYSIS

APR. 16, 2001

PRODUCT : PIROXICAM USP 24 (MICRONIZED)
BATCH NO. : 2001007
QUANTITY : 130 GM

<u>ITEM</u>	<u>SPECIFICATION</u>	<u>RESULT</u>
APPEARANCE	YELLOWISH POWDER	THE SAME
IDENTIFICATION	POSITIVE	POSITIVE
RESIDUE ON IGNITION	0.3% MAX.	0.06%
HEAVY METALS	0.005% MAX.	<0.005%
WATER CONTENT	0.5% MAX.	0.18%
ORGANIC VOLATILE IMPURITIES	0.01% MAX.	CONFORM
ASSAY	97.0% - 103.0%	100.6%

16. APENDICE III

Linealidad del sistema

Calcular r , r^2 , m y b .

Si m es diferente de 1 y b diferente de 0 se calcula lo siguiente:

Cálculo de e_i / Sumatoria de $(y_i - \hat{y}_i)$

Ajuste del modelo de regresión por el método de mínimos cuadrados

$$Y = mx + b + e_i$$

$$Y = mx + b$$

Graficar cantidad adicionada (X) contra cantidad recuperada (Y)

Evaluación estadística de la ordenada al origen en el método

$$H_0 / B_0 = 0$$

$$H_a / B_0 \neq 0$$

Estadígrafo de contraste: **t de student**

$$T_{\text{calc.}} = \frac{b - B_0}{\text{Sy/x} \sqrt{1/n + (x^2/(n-1)S_x^2)}}$$

$$gl = n - 2$$

$$\text{Sy/x} = \sqrt{1/n + (x^2/(n-1)S_x^2)}$$

Criterio de aceptación

$$T_{\text{calc}} < t_{\text{tab}} \quad 1 - (\alpha/2) \quad \alpha = 0.05$$

Intervalo de confianza

$$M \pm t(1 - (\alpha/2)) \left(\frac{(n-2)S_y}{\sqrt{(n-1)S_x}} \right)$$

Cálculo de ANDEVA para la regresión lineal

H_0 y no depende de X

H_a y si depende de X

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Fcalc.
Regresión	$g.l. = 1$	SCR	$MCR = SCR/g.l.$	$MCR/MCER$
Error	$g.l. = n - 2$	SCER	$MCER = SCER/g.l.$	

$$SCR = m(\sum xy) + b(\sum x) - (\sum y)^2/n$$

$$SCER = (\sum y^2) - m(\sum xy) - b(\sum y)$$

Criterio de aceptación

$$F_{calc} < F_{tab} \quad 1-\alpha/2 \quad \alpha=0.05$$

Coefficiente de variación

$$C.V. = \frac{(S_y/x)}{x} \times 100$$

PRECISION

Calcular el coeficiente de variación

$$CV. = S_y/x \times 100$$

REPRODUCIBILIDAD

ANDEVA

- a) **H₀** No hay efecto del analista
H_a Si hay efecto del analista

- b) **H₀** No hay efecto del día
H_a Si hay efecto del día

a) **Ho** No hay efecto de la interacción analista \ día

Ha Si hay efecto de la interacción analista \ día

Fuente de Error	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Fcalc
Analista	(a-1)---x	SCA	SCA/x	MCAIMCAD
Día	(b-1)---y	SCD	SCD/y	MCDIMCAD
Analista\día	(a-1)(b-1)---z	SCAD	SCAD/z	MCADIMCE
Error exp.	Ab(c-1)---w	SCE	SCE/w	

$$SCA = (\sum y_{2i..} - \sum y_{2...})^2 / abc$$

$$SCD = (\sum y_{2.j} - \sum y_{2...})^2 / abc$$

$$SCAD = (\sum y_{2ij.} - \sum y_{2i..} - \sum y_{2.j} + \sum y_{2...})^2 / abc$$

$$SCE = (\sum y_{2ijk} - \sum y_{2ij.})^2 / abc$$

Criterio de aceptación con $\alpha=0.05$

$$F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}} (1-\alpha/2)$$

$$F_A < F_{\text{tab}} (1-\alpha/2) \text{ g.l. } x/y$$

$$F_D < F_{\text{tab}} (1-\alpha/2) \text{ g.l. } y/x$$

$$F_{AD} < F_{\text{tab}} (1-\alpha/2) \text{ g.l. } z/w$$