



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**EVALUACION DEL EFECTO DE LA FUERZA DE COMPRESION
EN LA FORMACION DE COMPLEJOS DE INCLUSION ENTRE
CICLODEXTRINAS Y PRAZICUANTEL**

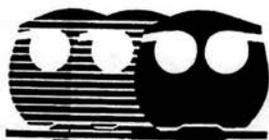
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

JORGE ESTEBAN MIRANDA CALDERON



MEXICO, D.F.



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA**

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente: **Profesora María del Socorro Alpizar Ramos**

Vocal: **Profesora Ernestina Hernández García**

Secretario: **Profesora María Josefa Bernad Bernad**

1er suplente: **Profesor Eduardo Jiménez Leyva**

2do suplente: **Profesor Juan Carlos Vilchis Chávez**

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de Tecnología Farmacéutica. Departamento de Farmacia.
Facultad de Química. UNAM

Asesora del tema: 
Dra. María Josefa Bernad Bernad

Sustentante: 
Jorge Esteban Miranda Calderón

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius
ΔH	Diferencia de Entalpía
ABC	Área Bajo la Curva
CD	Ciclodextrina
CI	Complejo de Inclusión
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
HP	Hidroxi-propil
IR	Infrarrojo
LCR	Líquido cefalorraquídeo
MF	Mezcla Física
MH	Molécula Huésped
OMS	Organización Mundial de la Salud
PVP	Polivinilpirrolidona
PZQ	Praziquantel
SBE	Sulfo-butil-éter
SLN	Nanopartículas Sólidas Lipídicas
SLC	Sistema de Liberación Controlada
SNC	Sistema Nervioso Central
TGI	Tracto gastrointestinal

ESTA TESIS ESTA DEDICADA...

A DIOS.

Por ser mi creador, quien me ha dado todo en la vida, quien me ama y me guía, quien se manifiesta en cada una de las cosas a mi alrededor, GRACIAS PADRE.

A MI MADRE.

Madre, nada de todo lo que pudiera escribir te diría cuan agradecido estoy de ser tu hijo, pero que este trabajo sea una pequeña prueba de mi amor hacia ti, por que todo lo que soy es gracias a ti, gracias por tu apoyo, por tu amor de madre en los momentos más difíciles de mi vida, gracias por eso... gracias por haberme dado la vida, TE QUIERO MUCHO MAMA.

A MI PADRE.

A ti papá, por que a pesar de todo me diste una educación y me enseñaste uno de los mejores valores de la vida, gracias por ser un ejemplo de honestidad, con mucho cariño te dedico este trabajo.

A MIS HERMANOS.

Adela, Ernestina, Mario y Catalina. Carnales saben que a todos ustedes los quiero por igual y no sé como agradecerles todo lo que fueron, son y serán para mí. Gracias por ser Padre y Madre durante mi infancia, gracias por apoyo, gracias por ser mis hermanos.

A MIS PRIMOS.

Julio, Fran, Miguel, Héctor, Juan. A ustedes que más que primos son mis hermanos, gracias por compartir esos momentos de nuestra infancia, gracias por estar conmigo.

A MIS SOBRINOS.

Fernando, Alin, Andrea, Bolívar, Lorena Y Jessica, a quienes quiero mucho.

A MIS TÍOS.

Especialmente a mi tío Miguel, mi tío Domingo y mi tío Martín, gracias por darnos un ejemplo de vida, de superación, de sacrificio, de humildad, de paciencia y obediencia. Gracias por todo lo que nos han enseñado y compartido con nosotros, gracias por ser algo más que solo tíos.

A MI FAMILIA

A toda mi familia en general, tíos, primos, sobrinos etc. a cada uno de ellos un especial agradecimiento por todo el cariño que me han demostrado durante mi vida.

A TI ELIZABETH.

A ti amorcito, Gracias por estar a mi lado, por ser esa mujer que me apoya, comprende y entiende, por ser una prueba más del amor de Dios, te doy gracias por llegar a ser lo más valioso de mi vida, TE AMO.

AGRADECIMIENTOS

A FINA.

Gracias por ampliar mi horizonte de superación, por tu ayuda en todo momento y por la confianza que depositas en mi persona.

A LOS FINITOS.

Por la amistad que me han mostrado y por todos los comentarios que siempre me hacen para ser una mejor persona.

A LOS CUATES.

Al Paco, Carmelo, Laica, Robertino, Leo, Ponciano, por los momentos que pasamos juntos durante la carrera.

A MIS AMIGAS.

Elvia, Elideth y Elsa, por apoyarme cuando lo necesite.

1	<u>RESUMEN.</u>	1
2	<u>ANTECEDENTES.</u>	2
	2.1 <i>CISTICERCOSIS.</i>	2
	2.1.2 CICLO BIOLÓGICO.	3
	2.1.4 DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO.	4
	2.2 <i>PRAZIQUANTEL.</i>	
	2.2.1 QUÍMICA.	5
	2.2.2 FARMACOCÍNÉTICA.	6
	2.2.3 ACCIÓN ANTIHELMÍNTICA.	7
	2.2.4 EFECTOS ADVERSOS.	7
	2.3 <i>CICLODEXTRINAS.</i>	
	2.3.1 QUÍMICA SUPRAMOLECULAR Y CICLODEXTRINAS.	9
	2.3.2. INTERACIONES HUÉSPED-CICLODEXTRINA.	12
	2.3.3. MÉTODOS DE FORMACIÓN.	14
	2.3.4. CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN.	17
	2.3.5. ADMINISTRACIÓN ORAL	20
	2.3.6. APLICACIONES DE LAS CICLODEXTRINAS	21
	2.3.7 ESTUDIOS CON CICLODEXTRINAS EN LA PRODUCCIÓN DE TABLETAS.	23
3	<u>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS.</u>	28
4	<u>PARTE EXPERIMENTAL.</u>	
	4.1 <i>MATERIALES.</i>	29
	4.2 <i>MÉTODOS.</i>	29
5	<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.</u>	
	5.1 <i>ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO.</i>	32
	5.2 <i>CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO.</i>	43
	5.3 <i>DIFRACCIÓN DE RAYOS X.</i>	55
6	<u>CONCLUSIONES.</u>	65
7	<u>BIBLIOGRAFIA.</u>	66

1. RESUMEN

La formación de complejos es una de las alternativas que existen para cambiar favorablemente las propiedades fisicoquímicas de moléculas con fines terapéuticos. La complejación puede ser definida como la asociación reversible de un sustrato y un ligando para formar nuevas especies. Las ciclodextrinas son el clásico ejemplo de la formación de complejos de inclusión. En estos complejos una molécula huésped es parcial o completamente incluida dentro de la cavidad de una molécula que actúa como hospedador, en este caso la ciclodextrina.

Se han descrito varios métodos para formar complejos de inclusión entre las ciclodextrinas y diferentes moléculas huéspedes, cada uno con sus variables, de cuyo control, depende el éxito de la formación del complejo de inclusión. Un ejemplo de ellos en particular, es el método de amasado, donde la fuerza aplicada durante el proceso es una variable que puede ser determinante, ya que favorece el intercambio de moléculas de agua de la cavidad de la ciclodextrina, por moléculas del huésped. Por tanto, mientras más energía se aporte al proceso, más se favorecerá el equilibrio hacia la complejación.

Debido a esto último, el objetivo de este trabajo fue investigar el efecto de la fuerza aplicada sobre los complejos de inclusión, así como a sus respectivas mezclas físicas entre ciclodextrinas y la molécula huésped. Para este fin se utilizó alfa y beta ciclodextrina como anfitrión y el praziquantel como fármaco huésped, el cual es un antihelmíntico utilizado para combatir las parasitosis causadas por Cestodos y Trematodos, además, este fármaco presenta propiedades fisicoquímicas desfavorables como su solubilidad y velocidad de disolución, mismas que pueden ser susceptibles de ser mejoradas por la formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas.

Se trabajaron tres diferentes relaciones molares PZQ-CD (1:1, 1:5 y 1:10) y a tres fuerzas de compresión (1, 2 y 4 Ton-fza) más la presión en condiciones normales de trabajo. Los resultados obtenidos muestran que se forman los complejos de inclusión mediante el método de amasado y la complejación se ve mejorada al ejercer las diferentes fuerzas de compresión aplicadas. Por otra parte, los resultados que se obtuvieron de las mezclas físicas donde se aplicó fuerza de compresión, son semejantes a los obtenidos en los complejos de inclusión realizados por el método de amasado, este hecho indica que se puede dar la complejación entre las ciclodextrinas y las moléculas huésped gracias a la energía dada por la fuerza de compresión. Por tanto el presente trabajo muestra una nueva alternativa para formar complejos de inclusión entre ciclodextrina y moléculas huésped tales como el praziquantel

2. ANTECEDENTES

2.1.-CISTICERCOSIS.

La cisticercosis ocasionada por la forma larvaria de *Taenia solium* (*Cysticercus cellulosae*) es un problema de salud pública que prevalece tanto en áreas urbanas como rurales, donde se asocia a las prácticas tradicionales de crianza de cerdos, malas condiciones sanitarias e higiénicas, ignorancia y pobreza.^{1,2} La cisticercosis se encuentra distribuida en África, Asia y Latinoamérica; en nuestro continente, México y Brasil son los países que informan las frecuencias más altas.³ La contribución que tiene la cisticercosis humana en las tasas de morbilidad y mortalidad es resultado del desarrollo del cisticerco en el Sistema Nervioso Central (SNC), lo que frecuentemente causa discapacidad física y en ocasiones la muerte. La cisticercosis humana, se desarrolla principalmente en el SNC, el ojo, músculo esquelético y tejido subcutáneo. Llama la atención que la mayoría de los estudios realizados en América Latina señalan que la neurocisticercosis es por mucho la más común, llegando a ser hasta un 78.6% de los casos reportados.³ Por ello la neurocisticercosis es la más estudiada debido a las alteraciones tan severas que se presentan.

Taenia solium pertenece al phylum Platyhelminthes, a la clase Cestoda y al orden Taeniidae.³ El gusano adulto parasita exclusivamente al ser humano, mientras que el metacestodo o cisticerco, se desarrolla en varios mamíferos, principalmente el cerdo y también en los seres humanos. Los gusanos pertenecientes a la clase de los Cestodos están constituidos principalmente por cabeza, cuello y estróbilo; en la porción anterior de estos gusanos se encuentra el escólex o cabeza del tamaño de un alfiler, en este se localizan los órganos de fijación (ventosas y rostelo). A partir de la porción distal del cuello y por gemación intensa, se empieza a producir divisiones que darán origen a los proglótidos. A medida que transcurre el tiempo, los proglótidos sufren diferenciación y los más cercanos al cuello se transforman en inmaduros, a maduros los de localización intermedia y grávidos aquellos localizados en la porción distal de la cadena estrobilar. Los proglótidos grávidos son más anchos y en ellos se ha realizado la fecundación, a pesar de que han reducido su tamaño o atrofiado sus órganos sexuales, el útero se ha desarrollado y estará repleto de larvas. La forma larvaria (*Cysticercus cellulosae*) es una vesícula ovoide de color blanquecino, mide de 3 a 10mm de largo, esta constituida por una membrana de grosor uniforme que se evagina y continua con el cuello y escólex, este último presenta

cuatro ventosas y rostelo con doble corona de ganchos. La vesícula contiene abundante líquido rico en proteínas, carbohidratos y lípidos.^{1,2}

2.1.1. CICLO BIOLÓGICO

El hombre desarrolla teniasis intestinal por la ingestión de cisticercos vivos inadecuadamente cocidos en la carne de cerdo, el cual es un intermediario natural (Figura 1). Cuando un individuo ingiere carne de cerdo contaminada con cisticerco, el escólex del parásito evagina en el intestino delgado, estimulado por la bilis y enzimas digestivas.³ Las ventosas se adhieren a la pared intestinal e inducen la protusión de ganchos que se sostienen en la mucosa intestinal, evitando de esta manera ser expulsado por peristaltismo y entonces desarrollarse a una *Taenia* adulta, la cual es capaz de dar lugar a la formación de millares de huevos que se alojan en los proglótidos. Cada proglótido grávido mide de 0.5-2cm y estos se liberan del estróbilo y se eliminan con el excremento.

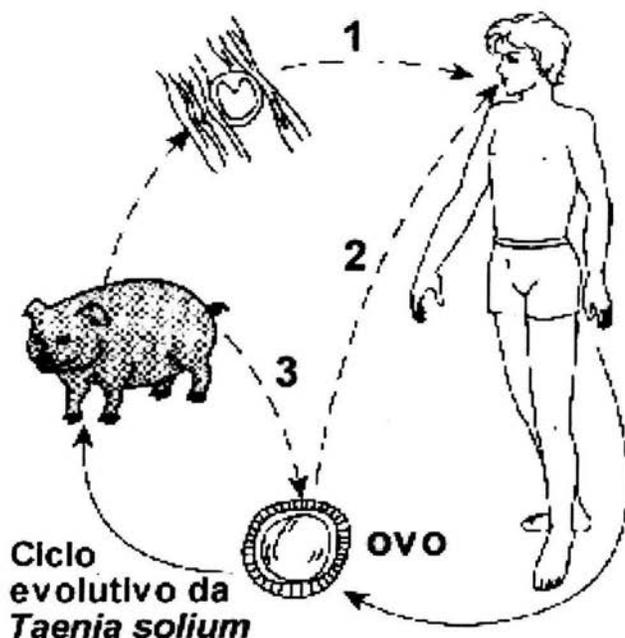


Figura 1. Ciclo biológico de *Taenia solium*

El portador puede permanecer infectado por varios años. Aproximadamente cuatro meses después de la infección, la tenia adulta libera diariamente con las heces del portador alrededor de 300 000 huevos con capacidad de infectar a seres humanos y a cerdos causando cisticercosis. Se considera que en general, se liberan de 2 a 5 segmentos de 2 a 3 veces por semana. Los cisticercos (metacestodos) se desarrollan en el músculo y el cerebro (neurocisticercosis). En las personas, la infección ocurre por la ingestión de alimentos o agua contaminados con excremento humano que contiene huevos; esto se facilita por la convivencia con un portador de *T. solium*.

2.1.2. DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

La teniasis generalmente es asintomática, ya que produce daño mínimo en la mucosa intestinal. El diagnóstico se realiza por la identificación de proglótidos expulsados en el excremento, los cuales deben ser observados al microscopio para la identificación de la especie, o bien, por el análisis de los huevos mediante técnicas coproparasitológicas de sedimentación y flotación, cuya sensibilidad no es mayor de 60%.¹ Una vez que se realiza el diagnóstico de una teniasis, es urgente administrar tratamiento al paciente para que elimine al parásito por el peligro que representa. En la actualidad el fármaco cestocida que ha demostrado ser de mayor utilidad, es el praziquantel, aunque inicialmente se ha utilizado para la esquistosomiasis.⁴ En el caso de la neurocisticercosis, además de fármacos cestocidas, se hace uso de fármacos paliativos para disminuir la inflamación, fármacos sintomáticos, procedimientos quirúrgicos para derivar el LCR y cirugía para extirpar a los parásitos intravasculares o subaracnoideos cuando puede accederse a éstos. Existen dos fármacos cestocidas que han demostrado ser útiles en casos de neurocisticercosis muscular y subcutánea; el praziquantel⁴ y el albendazol.⁵ El primero se utilizó originalmente para la esquistosomiasis humana, en cuyo caso proporciona alrededor de 95% de curación, por lo que respecta al tratamiento contra la neurocisticercosis, se consiguen mejoras de hasta el 68% de los casos, mientras que el segundo es un antihelmíntico de amplio espectro que se usa con gran eficacia en el tratamiento de infecciones intestinales ocasionadas por cestodos y nematodos. El praziquantel se comercializó para el tratamiento de la neurocisticercosis varios años antes que el albendazol,³ por tanto, se han llevado a cabo mayor número de estudios con este que con albendazol. El praziquantel se administra en dosis de 50mg/kg de peso en tres tomas diarias durante 14 días.¹⁻³

2.2.-PRAZIQUANTEL

Los fármacos antihelmínticos se utilizan para erradicar o reducir las cantidades de parásitos helmínticos en vías intestinales, tejidos, o bien, a nivel sistémico.⁶ El praziquantel es eficaz para el tratamiento de infestaciones causadas por esquistosomas de todas las especies y para la mayoría de otros trematodos y cestodos (contra gusanos adultos y en las etapas inmaduras).⁴ Es reconocido en todo el mundo como el fármaco de primera elección en el tratamiento de las formas más comunes de esquistosomiasis. Además está incluido en la lista modelo de la OMS, como uno de los fármacos esenciales.⁷ En México, el praziquantel es utilizado para combatir la cisticercosis.

2.2.1. QUIMICA.

El praziquantel es una isoquinoleína-pirazina acilada sintética (2-(ciclohexanilcarbnil)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazinol [2,1-a] isoquinolin-4-ina),⁸ fue sintetizado a principios de la década de los setenta⁴ (figura 2) después de que se descubrió que esta categoría de fármacos poseía actividad antihelmíntica, el levoisómero es el que genera la mayor parte de la actividad farmacológica.⁹ Es altamente lipofílico,¹⁰ lo que ocasiona una muy baja solubilidad en agua por lo que se requieren de altas dosis para alcanzar concentraciones adecuadas en los sitios específicos de acción.¹¹

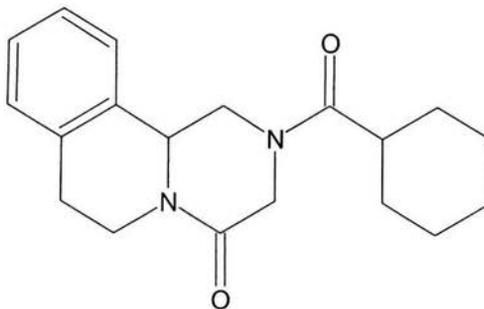


FIGURA 2.

Estructura química del Praziquantel.

Formula condensada (C₁₉H₂₄O₂N₂) P.M. = 312.41 g/mol.

Es un polvo blanco cristalino, higroscópico, de sabor amargo y olor característico, con punto de fusión de 150°C. Es inestable a la luz y debe almacenarse a temperaturas menores de 30°C. La solubilidad en diferentes solventes esta dada en la tabla 1.⁸ Al igual que la mayoría de las moléculas, la forma amorfa tiene mejor velocidad de disolución.

TABLA 1. *Solubilidad en diferentes solventes*

Solvente.	Solubilidad g/100mL.
Agua (25°C).	0.004
Etanol.	9.7
Cloroformo.	56.7.
Acetona.	80

2.2.2. FARMACOCINÉTICA.

Aunque es muy poco soluble se absorbe en alto grado, alcanzándose una biodisponibilidad de hasta el 80% después de su administración por vía oral. Se alcanzan concentraciones séricas de 0.2 a 2 µg/mL del fármaco inalterado en un lapso de 1 a 3 horas después de una dosis terapéutica.⁶ La farmacocinética del producto guarda relación con la dosis. En promedio 70% del praziquantel se metaboliza rápidamente a productos monohidroxilados,⁹ y dihidroxilados^{12,13} después del primer paso por el hígado, alcanzando concentraciones en plasma 100 veces mayores a las de praziquantel, dichos metabolitos son más hidrosolubles y son excretados por medio de los riñones al término de 24 horas, el resto de la dosis biotransformada se elimina por de bilis. Cerca del 80% se fija a proteínas plasmáticas. Las concentraciones de praziquantel en LCR alcanzan 14 a 20% de la cifra plasmática del fármaco, las concentraciones estimadas en bilis, leche materna y heces son del 10 a 20% de los valores plasmáticos. Su vida media es de aproximadamente (0.8-1.5) hrs. La biodisponibilidad del praziquantel disminuye por activación de inductores de la enzima CYP3A4,¹⁴ debido a la administración conjunta de fármacos tales como carbamazepina y el fenobarbital, por el contrario, la cimetidina¹⁵ y el jugo de toronja que disminuyen la actividad de esta enzima, aumentan la biodisponibilidad del praziquantel.

2.2.3. ACCION ANTIHELMÍNTICA.

La concentración terapéutica del praziquantel es de 0.3µg/mL. A pesar del bajo tiempo de vida media, el praziquantel es la sustancia activa y sus metabolitos son inactivos. Con base en estudios cristalográficos, Mctigue et al. propusieron que el blanco del praziquantel era la proteína Sj26 de *S. japonicum*, la cual es una enzima glutation-transferasa, sin embargo, dos años después se produjo evidencia concluyente de que el praziquantel no inhibía la actividad catalítica de tal enzima.¹⁶ Se ha sugerido en varias revisiones que el intercambio de calcio en los tegumentos de los gusanos es el evento principal de la actividad antihelmíntica, empero, los mecanismos que llevan a una homeostasis del calcio no esta claro. Un efecto directo sobre las ATPasas ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$) y ($\text{Ca}^{+2} - \text{Mg}^{+2}$) ha sido repetidamente excluido y no se ha desarrollado evidencia que demuestre lo contrario.¹⁷ Por otra parte, datos *in vivo* demostraron que la actividad del praziquantel se ve disminuida cuando se administró a animales inmunodeficientes, sin embargo, la actividad es restaurada cuando se administra anticuerpos dirigidos contra antígenos de superficie del gusano.¹⁶ De lo anterior se ha sugerido que el anticuerpo del huésped contra el parásito también resulta esencial para eliminar los parásitos tisulares.

En resumen, el mecanismo de acción del praziquantel aún no está definido totalmente, sin embargo, se acepta que el praziquantel aumenta la permeabilidad de la membrana a cationes monovalentes y divalentes, en especial al calcio, lo cual provoca la apertura de los conductos de Ca^{2+} , efectuándose así, un aumento en la permeabilidad de la membrana celular al calcio, lo que origina una concentración marcada, seguida de parálisis de la musculatura del parásito.^{6,16}

El tratamiento con praziquantel requiere de dosis de 50mg/kg/día, durante 14 días.³ Esta pauta posológica ocasiona curación evidente, eliminación de los síntomas, cambios en los quistes detectados por tomogramas cerebrales y la clarificación de LCR.

2.2.4. EFECTOS ADVERSOS

Poco después de la ingestión de praziquantel pueden surgir náuseas, cefalalgias, mareos y somnolencia, tales efectos son transitorios y dependen de la dosis.⁶ Además (últimamente) se han reportado una variación en la eficacia y en efectos adversos relacionados con el TGI, dolor abdominal, aumento de la permeabilidad intestinal, secreción de moco junto con hemorragia, alteración en el yeyuno, reacciones

anafilácticas, hipersensibilidad, náuseas, vómito, anorexia, diarrea sin o con sangrado, los cuales aparecen inmediatamente después del tratamiento.^{18,19}

En ocasiones se han documentado elevaciones mínimas en la concentración de enzimas hepáticas. También pueden presentarse efectos indirectos como fiebre, prurito, urticaria, erupciones, artralgias y mialgia y exantemas cutáneos, en ocasiones relacionados con aumento de eosinofilia varios días después de iniciar el tratamiento; es más probable que lo anterior se deba a la liberación de proteínas antigénicas de los gusanos muertos que a la acción propia del medicamento.^{16,18} En la neurocisticercosis, las reacciones inflamatorias al praziquantel pueden producir meningismo, convulsiones, cambios psíquicos y pleocitosis de LCR.³ Tales efectos suelen aparecer tardíamente, durar de dos a tres días y mejorar con la terapéutica sintomática apropiada, como sería la utilización de analgésicos y anticonvulsivos.

2.3.-CICLODEXTRINAS

2.3.1. QUÍMICA SUPRAMOLECULAR Y CICLODEXTRINAS.

En el estudio de la Química nos encontramos con una diversidad de reacciones en las que participan enlaces no covalentes, como por ejemplo, la asociación enzima-sustrato, la interacción antígeno-anticuerpo, los ácidos nucleicos, etc.²⁰ A las macromoléculas resultantes se les denomina supramoléculas²¹ y se forman como resultado de interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, interacciones ión-metal, interacciones hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals, etc. Así, de esta manera, surgen las bases para considerar una nueva rama de la Química, aquella de las interacciones no covalentes entre dos o más especies químicas, la denominada Química Supramolecular.²²

El objetivo de la Química Supramolecular es el estudio de las asociaciones intermoleculares entre dos o más especies químicas en la que una actúa como anfitrión (receptor) y otra como huésped (sustrato). La característica más importante de esta asociación es que el enlace entre el anfitrión y el huésped no es un enlace químico covalente, sino que intervienen varios tipos de interacciones moleculares, siendo la geometría y la naturaleza electrónica de ambas las características más importantes.²²

En el campo de la Química Inorgánica se han realizado diversos estudios²³⁻²⁵ para obtener macro ciclos específicos, como por ejemplo éteres corona, ciclofanos, calixarenos y tetrafenolatos. Así mismo, también se encuentran compuestos naturales con la capacidad de formar supramoléculas y que además poseen la propiedad de formar complejos moleculares por inclusión de moléculas de distintas características. Entre estos compuestos cabe destacar a las ciclodextrinas, las cuales han sido objeto de amplio estudio dentro del área farmacéutica²⁶⁻²⁸ debido a las propiedades favorables que resultan como consecuencia de la formación de una supramolécula, entre un principio activo y las ciclodextrinas.

Las ciclodextrinas fueron descubiertas por Villiers en 1891,²⁹ cuando observó que ocurría una cristalización dentro de un cultivo bacteriano, como producto de la degradación parcial del almidón a causa de *Bacillus macerans*. Sin embargo, fue entre 1903 y 1904 cuando Schardinger sugirió la naturaleza cíclica de las ciclodextrinas,³⁰ siendo hasta 1936 que se confirmó su estructura. Estas moléculas están constituidas por unidades de glucosa unidas por enlaces α -1-4, al mismo tiempo, se identificó la enzima responsable de su formación, la cual se denominó cicloglucosiltransferasa.^{29,30} Las ciclodextrinas más comunes son la α , β y γ -ciclodextrinas, las cuales están constituidas por

6,7 y 8 unidades de glucosa respectivamente.²⁶⁻²⁸ No se conocen ciclodextrinas con menos de seis unidades debido a impedimento estérico en la formación del ciclo.²⁷

En la década de los setenta solo se disponía de pequeñas cantidades y a un alto costo, lo cual limitó su uso como excipiente. Ya para 1980 los avances tecnológicos permitieron mejorar la producción de ciclodextrinas,³⁰ lo cual bajó su costo y aumentó su accesibilidad y con ello las investigaciones sobre las mismas.³¹ Las ciclodextrinas han sido objeto de atención en las últimas décadas por la industria alimenticia, metalúrgica, química, cosmética^{32,33} y farmacéutica,²⁶⁻²⁹ debido a su capacidad de formar complejos de inclusión. Dentro del campo farmacéutico, cabe mencionar que el uso de las ciclodextrinas, se basa en la peculiaridad que presenta su estructura molecular y las propiedades que resultan de la interacción con las moléculas que se mezclan, tales como, estabilidad, disminución de efectos secundarios, aumento de la solubilidad, aumento de la velocidad de disolución, aumento de la biodisponibilidad, enmascaramiento de sabores desagradables, entre otros.^{26,30}

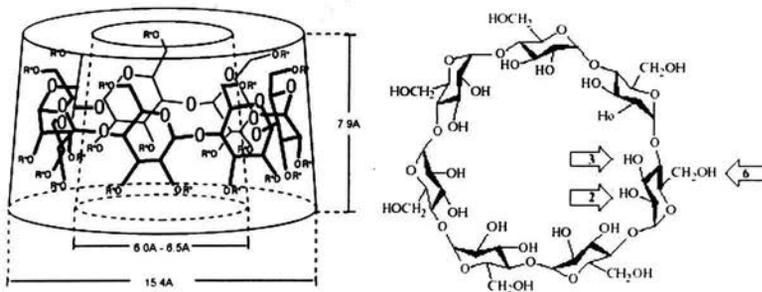


Figura 3. Representación y orientación espacial de los grupos hidroxilo en las ciclodextrinas.

Las ciclodextrinas son polvos blancos, homogéneos, no higroscópicos y con altos puntos de fusión,³⁰ son solubles en agua^{27,34} y en diferentes disolventes orgánicos tales como dimetil formamida, dimetil sulfóxido (DMSO) y piridina.³⁴ Estas moléculas poseen una disposición molecular que adopta una forma toroidal (Figura 3). Las principales características de la ciclodextrinas se resumen en la tabla 2. El acomodo de los grupos

funcionales (hidroxilo, éster y metilenos) de las moléculas de glucosa provoca que se forme un hueco con carácter hidrofóbico y un exterior con carácter hidrofílico.³⁵ Las moléculas de ciclodextrinas están dispuestas de tal manera que los grupos hidroxilos primarios de los carbonos 6, se orientan hacia la parte de menor diámetro, mientras que los hidroxilos secundarios de los carbonos 2 y 3 se orientan por la parte de mayor diámetro.^{34,35} En la parte interna de la ciclodextrina los enlaces C-H y el par de electrones libre del oxígeno forman puentes de hidrógeno, los cuales son responsables del comportamiento hidrofóbico en el interior de la ciclodextrina.³⁴ Esta propiedad le permite a las ciclodextrinas incluir una amplia variedad de moléculas hidrofóbicas y formar complejos de inclusión.

Propiedades	α -CD	β -CD	γ -CD	HP- β -CD
Peso Molecular (g/mol)	973	1135	1297	1531
Número de Glucosas	6	7	8	7
Volumen Interior (Å^3)	174	262	427	
Solubilidad en agua g/100 mL	14.5	1.85	23.2	>50
Solubilidad en DMSO g/100mL	27	35		
Moléculas de agua incluidas	6	11	17	$\cong 11$
pKa	12.3	12.2	12.1	$\cong 12.2$

Tabla 2. *Propiedades fisicoquímicas de las ciclodextrinas*

2.3.2. INTERACCIÓN CD-HUÉSPED.

Las CD pueden ser consideradas como cápsulas vacías de dimensiones moleculares en las que se pueden incluir moléculas de tamaño semejante y entonces formar lo que se conoce como complejo de inclusión.^{36,37} Sin embargo varios requisitos son necesarios para lograr la formación del complejo de inclusión (Figura 4). El reconocimiento molecular está basado en la relación estructura-selectividad, lo cual significa que depende de la complementariedad geométrica y electrónica,^{30,38-40} de esta manera, la formación del complejo de inclusión depende de las moléculas involucradas,^{39,41} así como de los parámetros que influyen en la fijación del huésped, tales como conformación, hidratación, propiedades electrónicas y factores estéricos.

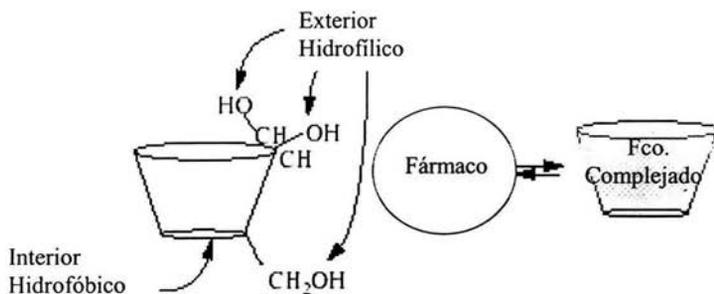


Figura 4. Modelo de complejación entre las ciclodextrinas y un fármaco hidrofóbico.

Mecanismo y energía de la inclusión.

La inclusión de una molécula huésped en la cavidad de la CD es esencialmente una sustitución de las moléculas de agua por las moléculas del huésped que son menos polares. Este suceso es energéticamente favorecido por la interacción de la molécula huésped relativamente no polar, con la cavidad hidrofóbica solvatada por moléculas de agua.^{27,42} En este proceso los cambios en los parámetros termodinámicos, que son los responsables de que el equilibrio se vea favorecido hacia la complejación tienen un papel importante.^{27,43} La complejación es el resultado de varios efectos que se pueden resumir de la siguiente manera:

- a) La sustitución de las interacciones polar-apolar energéticamente desfavorecidas entre las moléculas de agua incluidas y la cavidad de la CD, por las interacciones apolar-apolar energéticamente favorecidas entre la MH y la cavidad de la CD.
- b) Mayor estabilidad del anillo de la CD por la complejación.
- c) Aumento de las interacciones no covalentes; fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno, etc.

La cavidad de la ciclodextrina muestra cierto grado de hidrofobicidad en comparación con el agua. Las moléculas de agua incluidas en la CD no pueden adoptar su forma espacial más estable, por lo que tendrán un nivel de energía elevado. De ahí que una disminución en la energía, es causada por el incremento de las interacciones agua-agua en el exterior de la CD. La formación del complejo comprende los siguientes pasos elementales:

- 1) Las moléculas de agua escapan de la cavidad de la CD disminuyendo su estado energético.
- 2) La energía de conformación del anillo de la CD disminuye.
- 3) La MH se desprende de su capa de hidratación y también disminuye su nivel energético.
- 4) La MH se incluye en la cavidad vacía de la CD y el complejo es estabilizado por interacciones no covalentes.
- 5) Las moléculas de agua desplazadas son reacomodadas en la parte exterior de la CD, solvatando además la parte expuesta de la MH.

La energía de un enlace covalente es de aproximadamente 400 KJ/mol, mientras que la energía de un puente de hidrógeno es de tan solo 40 KJ/mol y las fuerzas de Van der Waals de 4 KJ/mol. Sin embargo la contribución simultánea de todas las interacciones presentes da como resultado una fuerza comparable con un enlace covalente. Esto ocurre en el caso de los complejos de inclusión.

Efecto del tipo de Ciclodextrina y la Molécula Huésped.

La capacidad de incluir una MH dentro de la cavidad de la CD es obviamente uno de los requisitos esenciales en la formación del CI. Esta característica está determinada principalmente por factores geométricos y estéricos.^{29,30} La importancia de la fijación ha

sido estudiada con muchos ejemplos de CI con halógenos, compuestos aromáticos polinucleados, ácidos grasos, etc.²⁹ Por ejemplo, las moléculas de Cl₂, Br₂ y I₂, forman un complejo estable con la parte más ancha de la α -CD, sin embargo la cavidad de la β -CD parece ser muy amplia para el Cl₂, lo cual conduce a un complejo poco estabilizado. Por su parte la γ -CD no forma complejos ni con Cl₂ ni con Br₂. El I₂ es el único halógeno que se fija a las tres CD formando complejos de inclusión estables. Por otra parte, para moléculas de ácidos grasos, la α -CD es la más apropiada, mientras que la β -CD y la γ -CD no lo son. En el caso del naftaleno, solo forma complejos con β -CD y γ -CD, así mismo, el antraceno solo forma CI con γ -CD. Mura et al.⁴⁴ estudiaron la influencia del tipo de ciclodextrina utilizando Ketoprofeno, β -CD y metil- β -CD. Para el caso de la β -CD los CI formados fueron menos eficientes que cuando se prepararon con metil- β -CD. Concluyeron que la CD era un factor mucho más importante para la complejación de esta molécula.⁴⁴ Este hecho se ve reflejado en la metilación de la ciclodextrina original, ya que esto ocasiona que aumente su volumen y por ende también su capacidad de complejación.

Influencia de la carga y la polaridad.

La carga y la polaridad también juegan un papel importante en la formación del CI, sin embargo son menos decisivas que la geometría. Así pues, podemos generalizar que moléculas altamente hidrofílicas, o especies fuertemente hidratadas, no son apropiadas para ninguna de la CD, por lo que solo moléculas menos polares que el agua pueden ser complejadas.^{45,46} La estabilidad del complejo es proporcional al carácter hidrofóbico de los sustituyentes de la MH. Así, se ha observado que la presencia de grupos metilo o etilo en la MH mejora la estabilidad del complejo.^{39,41,44} En el caso de los CI de α -CD-ácido benzoico, se ha reportado que éstos son 80 veces más estables que aquellos formados con el anión benzoato.²⁹ El mismo comportamiento se ha encontrado para el ácido cinámico y la β -CD.

2.3.3. MÉTODOS DE FORMACIÓN.

Varios métodos han sido propuestos para obtener CI, sin embargo, no hay una regla general o un método general, puesto que cada molécula es un caso particular y las condiciones óptimas dependen de la molécula huésped y la CD.⁴⁴ La preparación de complejos de inclusión de ciclodextrinas se ha conocido por ser un procedimiento simple, sin embargo, en muchos casos las condiciones de reacción han sido “hechas a la medida”

para un huésped en particular^{38-39,41,44} La formación del complejo puede ser en solución homogénea, o en una suspensión, bajo presión o por simple mezclado de componentes en ciertos casos en estado sólido, o por fusión constante al mismo tiempo del huésped potencial con ciclodextrina. Una tecnología general apropiada para los complejos de inclusión con todas las posibles sustancias huésped ciertamente no puede ser dada. A continuación se presentan los principales métodos de formación.

Complejación con técnicas húmedas.

Un método frecuente es disolver tanto el huésped como la CD en un solvente común a temperatura ambiente, o calentando y luego aislando el complejo removiendo el solvente por filtración, evaporación, liofilización o secado por aspersión. Las técnicas de complejación en disolución en muchos casos requieren un cosolvente miscible con el agua, que disuelva la sustancia huésped eficientemente. Los cosolventes aplicados más frecuentemente son el etanol y metanol, pero a veces también se hace uso de acetona.

- *Mezcla de disolventes.* Esta técnica consiste en disolver la ciclodextrina en agua y el fármaco en un disolvente que sea miscible con el agua para después mezclarlos y evaporarlos.
- *Adición del huésped sobre una solución de anfitrión.* Aquí se disuelve la ciclodextrina en el disolvente escogido y se va agregando poco a poco el fármaco hasta su disolución total sin llegar a la saturación.
- *Preparación en suspensión (coprecipitación),* se utiliza la misma técnica que en el método anterior solo que aquí sí se controla la cantidad de fármaco agregado. En este caso las ciclodextrinas no son disueltas, sino que se suspenden finamente en agua a temperatura ambiente con agitación vigorosa. La sustancia huésped para ser encapsulada es poco a poco disuelta en un solvente adecuado o directamente adicionado (sin usar ningún solvente) para el buen-agitado de la suspensión de CD.
- *Método de gota.* Esta tecnología es básicamente similar a la mencionada, pero la cantidad del huésped a complejar es disuelta por separado en un solvente apropiado y adicionando gota a gota dentro de la solución acuosa/etanólica de CD bajo continua agitación. La adición de la solución de sustancia huésped puede eventualmente causar una fina precipitación de la molécula huésped y requiere agitación intensiva continua por horas.

- *Complejación por percolación.* En este proceso se usan soluciones saturadas de CD (en muchos casos acuoso/etanólicas) para obtener sustancias a partir de extractos y/o de plantas. Por ejemplo, los ácidos amargos de frutas desecadas (lúpulo) fueron complejados exitosamente y fueron extraídos en caliente con soluciones acuosas de β -CD.
- *Neutralización.* Se coloca la ciclodextrina en su disolvente y se adiciona una solución alcalina, se le agrega el fármaco, se mezcla y se adiciona ácido hasta la formación de un precipitado que indica que el complejo de inclusión se ha formado y se filtra.

Posteriormente a la preparación de los complejos de inclusión, éstos son aislados de la solución mediante diferentes técnicas que se mencionan a continuación.

- ❖ *Atomización.* En esta técnica se utiliza un nebulizador, en el cual se adiciona la ciclodextrina y el fármaco disueltos en sus respectivos disolventes, se sonica la muestra y se coloca en el nebulizador para posteriormente secar.
- ❖ *Liofilización.* Se adiciona el fármaco a una solución de ciclodextrina esta mezcla se congela hasta -50° C y se somete a un proceso de liofilización dentro de un liofilizador.
- ❖ *Evaporación.* La ciclodextrina se disuelve en el disolvente apropiado, se agrega la cantidad necesaria de fármaco se mezcla se evapora el disolvente en rota-evaporador y se seca la mezcla obtenida.

Complejación con técnicas en seco.

- *Mezcla física.* En este caso únicamente se coloca la ciclodextrina y el fármaco dentro de una mezcladora durante un tiempo determinado.
- *Amasado.* En esta técnica se colocan la ciclodextrina y el fármaco dentro de un mortero, se humedece la mezcla con el disolvente apropiado y se amasa hasta incorporación total dejando evaporar el disolvente. Uno de los factores clave para el éxito de los procesos de complejación es elegir la relación ciclodextrina-agua durante el amasado. Así en este método, las ciclodextrinas son intensamente amasadas con una poca cantidad de agua y el huésped es adicionado directamente sin uso de ningún solvente. En continuo amasado, la humedad inicial del complejo hidratado CD-agua, llega a ser energéticamente menos favorable que el complejo

CD-huésped que se esta formando durante el continuo proceso mecano-químico de amasado. Por lo tanto la reacción corre hacia la inclusión. Debido a las diferentes estructuras cristalinas, las capas moleculares de los complejos de inclusión formados en la superficie pueden disociarse del cristal. Así, el cristal entero de CD se vuelve rápidamente desorganizado y transformado dentro del complejo huésped-CD.

- *Molienda.* Se colocan la ciclodextrina y el fármaco dentro de un molino y se deja moler durante el tiempo que se desee.
- *Fusión del huésped.* Aquí la técnica consiste en fundir el fármaco y después adicionarle la ciclodextrina correspondiente. Los complejos de inclusión pueden ser preparados por fusión del huésped y posterior mezclado con polvo fino de CD. En cada caso el huésped puede ser tomado en largos excesos y después remover este exceso con mucho cuidado lavando con un solvente de formación complejo-débil, pero preferentemente por el uso de sublimación en vacío.
- *Sellado térmico.* Está técnica consiste en colocar tanto la ciclodextrina como el fármaco dentro de un contenedor que se sella y se calienta a 100° C durante tiempo determinado.

La selección del método de preparación para una molécula dada requiere la evaluación cuidadosa, debido a que se debería tomar en cuenta no solo factores tales como simplicidad, bajo costo, alta producción, escalamiento, sino también la eficacia para obtener el producto. Los métodos de amasado y de molienda, son técnicas que necesitan operaciones cortas que involucran poco tiempo y son potencialmente industrializables, lo cual es de gran utilidad si necesitamos aumentar la solubilidad de moléculas por medio de ciclodextrinas.⁴⁴

2.3.4. CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN

Para la caracterización de los complejos de inclusión se hace uso de diferentes técnicas analíticas como son: térmicas, espectroscópicas, resonancia magnética nuclear entre otras. La mayoría de los autores hacen uso de tres herramientas principales, la espectroscopia de IR, la difracción de rayos X y la calorimetría diferencial de barrido. En el presente trabajo también se hizo uso de estas tres técnicas por lo que se describen detalladamente a continuación.

Espectroscopia de IR de reflectancia difusa. (EIR)^{47,48}

La espectroscopia de infrarrojo se refiere ampliamente al estudio de la interacción entre la materia y la radiación infrarroja, la cual tiene un rango de longitud de onda que va desde 700nm a los 20000 nm, pero generalmente las unidades de expresión son cm^{-1} lo cual se refiere a número de ondas por centímetro. Esta región del espectro se divide a su vez en tres regiones ($14000\text{-}4000$, $4000\text{-}400$ y $400\text{-}20 \text{ cm}^{-1}$), de las cuales la región entre $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ es la más empleada en la identificación de compuestos orgánicos.

Ciertos grupos funcionales como las aminas, los hidroxilos, los carbonilos, etc., exhiben bandas de absorción en frecuencias características. Un espectro de IR puede ser reconocido en fase sólida, fase líquida o vapor. Sin embargo, cuando se está analizando una muestra sólida la presión ejercida para preparar la pastilla con KBr puede alterar las características del sólido a analizar. El uso de la espectroscopia por reflectancia difusa es una alternativa para poder solventar este problema, ya que esta técnica solo requiere en algunos casos de ligera preparación.

Difracción de rayos X de polvos (XRD)⁴⁹

Los rayos X son radiaciones electromagnéticas entre los rayos ultravioleta y gamma en el espectro electromagnético. El rango de longitud de onda de la región de rayos X es considerado entre 0.01 y 100 \AA . Hay dos aplicaciones principales de los rayos X en la caracterización de materiales: espectrometría de rayos X y difracción de rayos X (XRD). La primera es usada para análisis químico. Por otra parte, la difracción es extensivamente usada para caracterizar sólidos farmacéuticos. En esta técnica, la muestra esta usualmente en forma de polvo, y es reconocida como una técnica poderosa para la identificación de fases de cristalización. La difracción es un fenómeno de dispersión. Cuando los rayos X inciden en sólidos cristalinos, ellos se dispersan en todas direcciones. A partir de que el patrón de difracción de rayos X de cada cristal de un compuesto es único, la técnica es altamente usada para la identificación y caracterización de fases sólidas. La técnica puede también revelar diferencias en la cristalinidad de compuestos. El patrón de XRD de un compuesto amorfo (no cristalino) consistirá de uno o más bandas anchas y difusas. La difracción de rayos X es una excelente técnica para estudiar interacciones de excipientes. En una mezcla sólida, el patrón de bandas de cada polvo es producido independientemente del otro constituyente. Así el patrón de difracción de una mezcla de polvos será la suma del patrón de difracción de los constituyentes individuales.

Si llega a existir la interacción fármaco-excipientes, esta producirá en un producto y este será caracterizado por la presencia de nuevos picos en el difractograma.⁵⁰ Sin embargo, si el producto es amorfo, este será evidente a partir del ancho de las bandas con respecto al patrón de bandas iniciales.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las técnicas de análisis térmico, en las cuales una propiedad física es monitoreada como una función de temperatura bajo condiciones controladas, son técnicas fundamentales para la caracterización de fármacos y productos farmacéuticos.⁵¹ Los métodos de análisis térmicos son complementarios a otras técnicas analíticas, tales como espectroscopia, cromatografía, etc. Estos métodos han encontrado buenas aplicaciones en la preformulación, procesamiento, y control de los productos farmacéuticos. Considerando el número de parámetros físicos de una sustancia que puede ser medida, el número de técnicas derivadas es muy grande. Para aplicaciones farmacéuticas, los métodos generalmente usados son calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA).^{31,51}

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) es usada para medir el flujo de calor dentro y fuera de la muestra, así como para determinar la temperatura del fenómeno térmico durante un cambio controlado de temperatura. El principio de DSC es como sigue: dos platillos son calentados conjuntamente, uno de los platillos contiene la muestra en una charola, el otro contiene un plato de referencia. Si no ocurren cambios en la muestra durante el calentamiento, ambos platillos estarán a la misma temperatura. Si ocurre un cambio tal como la fusión de la muestra, la energía liberada ocasiona que la temperatura permanezca constante en el plato de la muestra, mientras que la temperatura del plato de referencia continúa incrementando. Por consiguiente una diferencia de temperatura ocurre entre la muestra y la referencia. Un sistema controla la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia. Si cualquier diferencia de temperatura es detectada, el equipo libera la compensación de energía para mantener la misma temperatura en ambos platos. Para transiciones como la fusión, cristalización, sublimación, ebullición, etc., la integración de la curva proporciona la energía involucrada en la transición. Giordano et al.⁵² sugiere un método para calcular el cociente huésped/anfitrión. Ellos hicieron el análisis de DSC de dispersiones de diferentes composiciones con un exceso de la molécula huésped. La energía remanente en el pico de fusión de la molécula huésped permite el cálculo de la cantidad de fármaco libre. Después graficaron esta cantidad para las

diferentes composiciones versus la fracción total del huésped y compararon las graficas obtenidas con las graficas teóricas en los radios molares 1:1 1:2 y 1:3. En muchos casos los picos de la sustancia desaparecen y no se observa un nuevo pico. Con hidrocortisona butirato,⁵³ un nuevo pico que corresponde al complejo ha sido observado. Para este fármaco, la complejación incrementa en el orden α -CD, β -CD, γ -CD, y dimetil- β -CD.

2.3.5. ADMINISTRACIÓN ORAL

La viabilidad comercial de una formulación oral basada en ciclodextrinas ha sido establecida con la mercadotecnia de productos en Europa y Japón. Es generalmente reconocido que la absorción gastrointestinal de las ciclodextrinas en una forma intacta es limitada debido a su volumen y naturaleza hidrofílica. Las ciclodextrinas pueden actuar como moléculas acarreadoras que transportan y facilitan la disolución del fármaco desde la forma farmacéutica hasta los fluidos intestinales, interaccionando con las mucosas y permaneciendo en el tracto gastrointestinal para facilitar y aumentar la absorción. Solo una cantidad insignificante de β -CD puede ser absorbida por el tracto gastrointestinal en ratas.^{28,54,55} El efecto de la bilis en la absorción intestinal de las ciclodextrinas en ratas fue examinado *in situ* por técnica de perfusión-recirculación. Solo muy pequeñas cantidades de β - y γ -ciclodextrinas se absorbieron por el segmento intestinal cuando el ducto biliar fue ligado. Así pues, cuando las ciclodextrinas se administraron oralmente a una dosis de 500 mg/kg a ratas *in vivo*, las cantidades de ciclodextrinas intactas excretadas en la orina fueron 1.95, 0.45, y 0.38 % de la dosis para α , β y γ -ciclodextrinas, respectivamente

El destino de las ciclodextrinas en el tracto gastrointestinal difiere con base en la resistencia a hidrólisis y degradación enzimática. La α -ciclodextrina y β -ciclodextrina son prácticamente resistentes al ácido estomacal o saliva y amilasa pancreática y son muy bien hidrolizadas en el colon, mientras que la γ -CD es lentamente digerida al parejo en el intestino alto. El metabolismo primario produce maltodextrinas acíclicas, las cuales son los principales metabolitos, que después son absorbidas y finalmente excretadas como CO_2 y H_2O .⁵⁵

Los efectos de las ciclodextrinas en otros tipos de células solo fueron estudiados usando fibroblastos de piel de humanos, células intestinales, borde de las membranas vesicales, células P388 murina leucina, y células bacterianas de *E. coli*. Todos estos estudios demostraron que el fenómeno envolvente de la CD induce citotoxicidad no específica para el tipo de célula y se determinaron primeramente por una pérdida de

componentes celulares directamente solubilizados a causa de las ciclodextrinas. Todos los estudios de toxicidad demostraron que la administración oral de las ciclodextrinas fue prácticamente no tóxica, debido a la falta de absorción a través al tracto gastrointestinal. No se observó mortalidad en animales de prueba, inclusive recibiendo altas dosis orales de las ciclodextrinas. Efectos tóxicos no significativos se observaron en ratas que comieron 10% de β -CD en la dieta por 90 días. Únicamente se describieron efectos notorios en el incremento en el peso fecal, en el cual se consideró ser una respuesta genérica para una pobre digestión de carbohidratos. Además, algunos de los problemas descritos fueron tal vez debido a la inhibición de la amilasa por β -CD.

2.3.6. APLICACIONES DE LAS CICLODEXTRINAS.

El uso de las ciclodextrinas en el área farmacéutica ha sido demostrado a través de los años por diversos estudios, entre los que se pueden citar: disminución de la volatilidad, aumento de la estabilidad, resistencia a la hidrólisis, etc.²⁶⁻²⁸ Las ciclodextrinas también han sido usadas para modificar el tiempo de liberación del fármaco durante el tránsito gastrointestinal así como disminuir la irritación local y enmascaramiento de sabores desagradables.⁵⁶

Un ejemplo del uso de las ciclodextrinas para mejorar la velocidad de disolución y la biodisponibilidad fue reportada por Panini et al.^{57,58} quienes usaron HP- β -CD para incrementar la biodisponibilidad del ácido ursodeoxicólico. Se prepararon tabletas conteniendo el complejo, almidón y celulosa microcristalina, las tabletas exhibieron tiempos de desintegración los cuales fueron equivalentes a las tabletas comerciales, mientras que los perfiles de disolución fueron diferentes. Las tabletas de ciclodextrinas demostraron mucho más rápida y completa disolución del fármaco además de producir ABC y C_{max} dos veces mayores a aquellas obtenidas a partir de las tabletas normales de ursacol.

Järvinen et al.⁵⁹ reportó en el uso de HP- β -CD y (SBE)_{4M}- β -CD para modificar las biodisponibilidades de cinarizina en perros. La cinarizina es una base débil y está sujeta a biodisponibilidades bajas y variables,⁶⁰ especialmente en sujetos con bajo pH en el estómago. El fármaco fue dado como una suspensión en buffer fosfato, complejoado con HP- β -CD o (SBE)_{4M}- β -CD, y usando cápsulas como forma sólida con el complejo (SBE)_{4M}- β -CD. Las biodisponibilidades absolutas de la suspensión, la cápsula y la tableta del

complejo (SBE)_{4M}-β-CD fueron 8, 0.8 y 38%, respectivamente. Las soluciones HP-β-CD y (SBE)_{4M}-β-CD dieron biodisponibilidad absoluta de 55% y 60%, respectivamente.

En otro ejemplo, Studemberg et al.⁶¹ estudiaron la farmacocinética y la biodisponibilidad de atovacuone en perros, posterior a la administración de atovacuone complejo con (SBE)_{7m}-β-CD o HP-β-CD en cápsulas de gelatina. El atovacuone es prácticamente insoluble en agua y la suspensión actualmente disponible (Mepron®) tiene una velocidad de disolución que limita la biodisponibilidad. Las biodisponibilidades absolutas de los complejos fueron tres veces más grandes que las formulaciones de Mepron.®

Muchos fármacos anticancerígenos tienen baja solubilidad en agua y para su administración parenteral son administrados en solventes orgánicos, los cuales son capaces de causar hemólisis de células rojas y pérdida de la actividad enzimática intracelular, además de causar irritación local del endotelio. Una alternativa es sustituir los cosolventes por soluciones acuosas de ciclodextrinas.^{55,62} En el estudio realizado por Medicott et al.,⁶² se concluyó que soluciones 0.1 M de SBE_{7M} o HP-β-CD disminuyen el daño al endotelio de la vena comparado al que se produce cuando se administra otros cosolventes. Con base en estos resultados es posible formular nuevos medicamentos anticancerígenos poco solubles sin necesidad de causar un daño adicional al paciente.

El uso de ciclodextrinas como excipiente también ha sido de gran utilidad en la reformulación de medicamentos.^{59,61,63} Por ejemplo, Stella et al.⁶²⁻⁶⁴ analizaron el uso de (SBE)_{7m}-β-CD y HP-β-CD para mejorar inyectables del Melfalan. Las ciclodextrinas antes mencionadas fueron usadas de dos maneras distintas: 1) Soluciones acuosas como vehículo reconstituyente y 2) como excipiente para liofilización. En el primer caso, los resultados indicaron que la solución de ciclodextrinas aumenta el tiempo de vida media de Melfalan, además de poder desechar el uso de cosolventes orgánicos. En el caso del producto liofilizado, el uso de ciclodextrinas demostró estabilizar el fármaco y adicionalmente se preparó en una forma de dosis unitaria.

Uekama et al.⁶⁵ mejoraron la solubilidad del rutin por complejación con HP-β-CD, β-CD, γ-CD y HP-γ-CD. En este estudio el uso de las ciclodextrinas mejoró la estabilidad del fármaco en el TGI, la velocidad de disolución y la solubilidad del rutin por complejación con ciclodextrinas. Este hecho condujo a un aumento de los niveles plasmáticos y por tanto a una mejora en la biodisponibilidad de este compuesto de tipo flavanol.

El uso de las ciclodextrinas en supositorios ha sido estudiado por Samy et al.⁶⁶ Estos investigadores formularon alopurinol complejado con β -CD, lo cual llevó a un aumento en la velocidad de liberación de la base comparado con aquel supositorio donde se adicionó el alopurinol sin complejar.

En otro estudio realizado por Yamamoto et al.⁶⁷ el uso de β -CD mejoró la disolución de Nifedipina. Para este fármaco en particular, el método de amasado fue el que tuvo un aumento mucho más significativo.

También se han usado en sistemas novedosos.⁶⁸⁻⁷¹ Las ciclodextrinas han sido aplicadas en sistemas acarreadores de liberación controlada, como por ejemplo en nanopartículas sólidas lipídicas (SLN), liposomas y otros sistemas matriciales utilizando diversos polímeros como el quitosan.⁷¹ En un estudio realizado por Cavalli et al.⁶⁹ se evaluó el efecto que tiene el CI en las características de las SLN. Se observó que la incorporación del complejo CD-fármaco, incrementa el diámetro promedio de partícula, pero se mantiene por debajo de 100nm, además retrasa considerablemente el tiempo de liberación comparado con aquel que se obtiene cuando las SLN están cargados con el fármaco libre, lo cual indica que las ciclodextrinas pueden ser usadas para ayudar a modular la liberación de un activo a partir del soporte o plataforma. En el caso de ciclodextrinas aplicadas a liposomas, McCormack y Gregoriadis⁶⁸ hicieron un estudio enfocado a controlar la velocidad de tres esteroides. Se encontró que el uso de CI puede aumentar la capacidad de carga del fármaco dentro del liposoma, aunado al aumento de la biodisponibilidad ya que la farmacocinética de un fármaco libre y complejado es la misma o muy similar debido a que el complejo CD-fármaco se disocia rápidamente.

Debido a la reactividad de los grupos hidroxilo, las ciclodextrinas pueden actuar como catalizadores. Por ejemplo, catalizan la desacetilación de la espirolactona después de formarse el CI,⁴⁶ lo cual es algo muy importante cuando se desea proteger otras partes de las moléculas susceptibles de ataque por agentes nucleofílicos, de esta manera se pueden realizar reacciones con ataques selectivos con la ayuda de las ciclodextrinas.

2.3.7. ESTUDIOS CON CICLODEXTRINAS EN LA PRODUCCIÓN DE TABLETAS

En la actualidad más del 80% de los medicamentos se administran en forma de tabletas.⁷² Las tabletas son formas farmacéuticas sólidas de dosificación unitaria, preparadas por compresión de mezcla de polvos que contienen el o los principios activos y

excipientes.⁷³ Las principales razones de su popularidad incluyen: facilidad de proceso, complacencia por parte del paciente, estabilidad y entre otras más particulares.

El método de producción casi siempre viene impuesto por el fármaco, sin embargo, algunas veces los intereses económicos se anteponen a los farmacotécnicos.⁷⁴ Para la elaboración de comprimidos existen diferentes métodos de producción, a pesar de esto, el principio básico seguido por los distintos procedimientos es el mismo.^{73,74} De esta manera, el proceso de compresión se puede clasificar en cuatro procesos diferentes, alimentación, ajuste, compresión y expulsión. Así, los componentes a tabletear son colocados en los punzones y comprimidos, acto seguido la masa compactada es expulsada fuera de la matriz de los punzones.

El uso de ciclodextrinas como excipientes en la formulación de tabletas ha sido ampliamente estudiado por varios autores.^{45,57,75} Por ejemplo Nakai⁷⁵ preparó tabletas de dureza aceptable, la cual aumentaba al aumentar la presión ejercida, también Uekama^{65,76} reportó el uso de ciclodextrinas en la producción de comprimidos, por una parte rutin y por otra de isosorbida-5-mononitrato. Por su parte, El Shabury⁷⁷ estudió la influencia de las ciclodextrinas en la formación de tabletas por compresión directa, donde se concluyó que las tabletas formadas tenían buenas propiedades mecánicas, así como mejor velocidad de disolución, la cual mejoraba al aumentar la cantidad de ciclodextrina presente en la formulación. Más reciente Moore⁴⁵ reportó el uso de ciclodextrinas en la compresión directa de complejos de inclusión, los cuales mostraron mejor comportamiento de disolución que el obtenido a partir del fármaco no complejoado.

A pesar de los trabajos antes mencionados ninguno de ellos hace mención sobre las propiedades reológicas de las ciclodextrinas, sin embargo, en trabajos más recientes tan solo unos cuantos artículos que hablan acerca de estas propiedades de las ciclodextrinas como excipientes para la compresión. Por ejemplo, Ismail⁷⁸ realizó la caracterización de la beta ciclodextrina cuyos resultados indican que esta ciclodextrina posee los requisitos necesarios como agente de compresión directa. Shangraw y Pande⁷⁹ reportan que la compactibilidad que presenta la β -CD es mayor que aquella que presentan los excipientes más comúnmente usados. En este estudio se encontró que la compactibilidad de la ciclodextrina es ligeramente menor que la de la celulosa microcristalina,⁷⁹ uno de los principales agentes de compresión directa. Durante el proceso de tableteado, la β -CD presenta buenas características de flujo, lo cual se ve reflejado en 1% de variación en el peso de las tabletas producidas. Cuando se mezcló con ácido ascórbico, la β -CD mostró

mejor compactibilidad que la celulosa microcristalina en altas y bajas presiones. Posteriormente en estudios realizados por Pande y Shangraw, se determinó la dureza y la capacidad de compactación de la β -CD. En estos estudios se demostró que la humedad es un factor trascendente en las propiedades antes mencionadas.⁸⁰ En este sentido, las moléculas de agua actúan como lubricantes internos, además de formar puentes de hidrógeno, lo cual va aumentando la fuerza de la interacción intermolecular

A pesar de que la β -CD es la ciclodextrina más estudiada, también hay reportes que hablan acerca de la utilidad de la α -CD como excipiente en la producción de comprimidos. Al respecto, Maggi,⁸¹ informa las características reológicas tales como, fluidez, comprensibilidad, densidad compactada, porosidad y tiempo de desintegración, donde pone de manifiesto el uso potencial de esta ciclodextrina.

Por otra parte, Muñoz-Ruiz⁸² estudió el comportamiento de las ciclodextrinas bajo el proceso de compresión mediante el modelo de Heckel, donde concluyó que las ciclodextrinas siguen una compactación con un comportamiento de deformación plástica,^{79,82} el cual es deseable en los materiales que vayan a ser comprimidos.

Otro aspecto importante del uso de las ciclodextrinas es determinar como afecta las características de los demás excipientes utilizados y el fármaco. Tsai⁸³ reporta que los comprimidos y las características reológicas de un producto co-secado de celulosa microcristalina y β -CD arrojan mucho mejores resultados que los obtenidos cuando se utilizan estos excipientes por separado, por ejemplo, tienen mucho mejor dureza, mejor compactibilidad, mejor fluidez y menores tiempos de desintegración. Además se encontró que no se da la formación de complejos de inclusión entre estas dos moléculas, sino que la β -CD es la responsable de mejorar la adhesión de las tabletas y promover la penetración de agua al interior de la tableta. Este mismo grupo de investigación reportó que durante el proceso de granulación húmeda, se mejora aún más la compactibilidad del producto co-secado.⁸⁴

En el caso de la interacción de las ciclodextrinas con fármacos se ha reportado el efecto que tienen en las características reológicas, así como el comportamiento durante la compresión. Por ejemplo, Suihko reporta que las características de partícula de los complejos de inclusión y las mezclas físicas de HP- β -CD y tolbutamida son diferentes a los observados con los materiales por separado,⁸⁵ en un estudio posterior se comparó el comportamiento de tableteado, donde se encontró que la mezcla física tenía mejores características que la tolbutamida por si sola.⁸⁶

En adición a estos estudios podemos citar los realizados por Tasic.^{87,88} En estos trabajos se reporta la formación de complejos de inclusión entre β -CD y paracetamol, cuyos estudios demuestran que se altera favorablemente las características reológicas del paracetamol como son fluidez y comprensibilidad entre otras, además de que la compactación se da mediante una deformación de tipo plástica,⁸⁸ la cual como ya se mencionó, es la que se pretende al momento de llevar a cabo el proceso de tableteo. Por tanto el uso de ciclodextrinas para mejorar el comportamiento de compresión de sólidos, es una característica adicional a este tipo de moléculas.

Durante el proceso de tableteo y como consecuencia de la aplicación de la fuerza de compresión sobre una mezcla de sólidos, ésta tiene diferentes efectos dependiendo de la formulación comprimida. Los estudios al respecto datan de más de tres décadas, por ejemplo, Khan⁸⁹ estudió el efecto de la fuerza de compresión sobre las propiedades resultantes de seis diferentes formulaciones, en este trabajo se encontró que al aumentar la fuerza de compresión ejercida, el tiempo de desintegración aumentaba, disminuía o se mantenía sin cambios significativos, dependiendo de la formulación comprimida. En conclusión se dice que la fuerza de compresión no tiene un efecto generalizado sobre las propiedades de las tabletas, sino que dependerá de las materias primas empleadas durante la compresión. Por ejemplo, en el caso de tabletas de microesferas cargadas con ketoprofeno hechas por compresión directa,⁹⁰ se observó que al aumentar la fuerza de compresión por encima de 3.8 Ton/fza, aumentaba la velocidad de liberación, no así cuando se comprimió el fármaco solo. Collen⁹¹ investigó como la fuerza aplicada puede mejorar la producción a fin de incrementar la dureza y/o eliminar o minimizar la laminación, a partir de estos estudios se obtuvo que una compresión dividida en dos etapas aumenta favorablemente estas características. Garekani⁹² por otra parte, reporta las propiedades resultantes de la compactación del paracetamol, en donde se describe que los comprimidos tuvieron una baja dureza debido a las bajas presiones utilizadas, lo cual es un indicativo de que la fuerza de compresión es parte importante para que se den las interacciones interparticulares que le confieren una dureza aceptable a una tableta. Por otra parte, también se ha reportado que la molienda y el tamizado no solo reducen el tamaño de las partículas, sino que además provocan cambios en el comportamiento molecular, por ejemplo hay cambios en la fase de transición de polimorfos, cambios en la cristalinidad y cambios en la velocidad de reacciones químicas en fase sólida.⁵⁰

Como se ha descrito anteriormente, la fuerza de compresión tiene efectos importantes que varían dependiendo del material que se esté comprimiendo, sin embargo hay muy poca información que hable al respecto de cómo esta variable afecta las interacciones moleculares entre las ciclodextrinas y los fármacos y/o excipientes durante el proceso de compresión. Únicamente se ha reportado que los fármacos cristalinos pueden llegar a ser amorfos cuando son molidos con β -CD,⁵⁰ aumentando favorablemente su velocidad de disolución, por ejemplo cuando el ácido acetilsalicílico se mezcla con β -CD y posteriormente se somete a la molienda, el patrón de bandas mostrado en estudios de rayos X varía considerablemente, así mismo el pico endotérmico debido a la fusión de la aspirina disminuye considerablemente, poniendo de manifiesto que existe algún tipo de interacción molecular causada por la molienda. Sangraw⁹³ reporta el uso de β -CD para la formación de tabletas de progesterona por compresión directa y granulación vía húmeda, donde comenta la formación espontánea de complejos de inclusión durante el proceso de granulación húmeda,^{93,94} lo cual es lógico de pensarse puesto que el método de amasado es muy parecido a este proceso, por otra parte en la compresión directa se hallaron mejores resultados de velocidad de disolución, lo cual es una consecuencia de la formación de complejos entre la ciclodextrina y la progesterona. A pesar de los resultados comentados anteriormente, en este trabajo no se hicieron los estudios de caracterización que permitieran tener evidencia sólida para afirmar los resultados comentados, por lo que es necesario llevar a cabo estudios que permitan ratificar lo reportado o en su defecto refutarlo.

A pesar de la intensa investigación en el área de comprimidos, estos aún son formulados sobre bases semiempíricas,⁹⁵ por tanto el estudio del comportamiento de inclusión de las ciclodextrinas en las formulaciones de formas farmacéuticas sólidas es de suma consideración al momento de realizar los estudios de preformulación de principios activos que tengan propiedades fisicoquímicas y reológicas desfavorables.⁷⁹

3.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La información acerca del tiempo de vida media, excipientes, solubilidad, características fármaco-químicas, efectos adversos y eficacia clínica de los productos de praziquantel no es muy confiable, lo cual conlleva a que aquellas proporciones clínicamente menos efectivas incrementen la probabilidad del desarrollo y propagación de la resistencia versus praziquantel. El interés farmacéutico radica en desarrollar nuevas formulaciones y mejorar las existentes, tendiendo a una forma de dosificación ideal que radique en un precio accesible y de acción inmediata cuando así se requiere.

También se han reportado diversos trabajos que proponen disminuir la cantidad administrada al mejorar su velocidad de disolución y volumen de distribución, utilizando dispersiones sólidas PVP-PZQ,¹³ complejos de inclusión α , β y γ -CD-PZQ¹⁴ y el uso de liposomas.¹⁰⁵ De los anteriores, las ciclodextrinas son una buena elección en base a las características ideales de un excipiente como son, estabilidad, inocuidad, costo, etc. Además se tiene que tomar en cuenta las variables de proceso que pueden modificar el comportamiento de los diferentes componentes de la formulación. Un aspecto importante en el caso de la fabricación de tabletas es la fuerza de compresión, de la cual dependen varias de las características del producto terminado. Por tanto, el estudio de la fuerza de compresión en la interacción ciclodextrinas-praziquantel, es de gran importancia en el desarrollo de nuevas formulaciones de medicamentos de praziquantel.

3.2. OBJETIVOS

- Determinar si la fuerza de compresión aplicada a una mezcla física de PZQ- α -CD y PZQ- β -CD induce la formación de complejos de inclusión.
- Determinar si la fuerza aplicada sobre los complejos de inclusión aumenta la eficacia de la complejación.
- Comparar el comportamiento de inclusión en diferentes ciclodextrinas como son la α -CD y β -CD

4. PARTE EXPERIMENTAL**4.1. MATERIAL**

- Para este trabajo se utilizó praziquantel USP proporcionado por Megafarma.
- Las α y β ciclodextrinas fueron suministradas por Cerestar.
- También se usó bromuro de potasio el cual fue comprado a Sigma-Aldrich.

4.2. MÉTODOS

1. *Formación de mezclas físicas con el Praziquantel y las diferentes ciclodextrinas.*

- a) Tamizar por separado las ciclodextrinas así como el Praziquantel en malla No. 200 con diámetro de $75\mu\text{m}$.
- b) Pesar las cantidades necesarias para obtener la mezcla Praziquantel- α -ciclodextrina y Praziquantel- β -ciclodextrina en las relaciones molares 1:1, 1:5 y 1:10, de acuerdo a las tablas 3 y 4.

Praziquantel		α -Ciclodextrina	
moles	gramos	moles	gramos
1	0.9728	1	3.0272
1	0.2416	5	3.7584
1	0.1244	10	3.8756

Tabla 3

Praziquantel		β -Ciclodextrina	
moles	gramos	moles	gramos
1	0.8632	1	3.1368
1	0.2088	5	3.7912
1	0.1072	10	3.8928

Tabla 4

- c) Colocar cada una de las muestras en la mezcladora de volteo cilíndrica a escala laboratorio San Vicente y asociados durante 20 minutos.
- d) Pasar la mezcla física nuevamente por malla No 200 con diámetro de $75\mu\text{m}$, para asegurar que el tamaño de partícula se mantiene homogéneo.

2 Formación del complejo Ciclodextrina-Praziquantel en sólido por la técnica de amasado.

- a) Tamizar por separado la ciclodextrina así como el Praziquantel en malla No. 200 con diámetro de 75 μ m.
- b) Pesar las cantidades necesarias para obtener la mezcla Praziquantel- α -ciclodextrina y Praziquantel- β -ciclodextrina, en las relaciones molares 1:1, 1:5 y 1:10, de acuerdo a las tablas 3 y 4.
- c) Colocar la cantidad de ciclodextrina requerida en un mortero y añadir la mínima cantidad de agua hasta formar una pasta homogénea.
- d) Adicionar la cantidad de praziquantel correspondiente y amasar con ayuda de un pistilo durante 5 minutos.
- e) Colocar las muestras en viales bien etiquetados y mantenerlos en la estufa a 60°C hasta eliminar completamente la humedad (por lo menos 48 horas).
- f) Determinar la Humedad Relativa (Hr) en la termobalanza y si es necesario, regresar las muestras a la mufla hasta obtener una Hr cercana a 0.
- g) Una vez obtenida la humedad relativa deseada, el sólido se pulveriza con ayuda de un mortero con pistilo y se tamiza hasta obtener un tamaño de partícula de 75 μ m.

3 Aplicación de la fuerza de compresión.

Para la aplicación de la fuerza de compresión se utilizó una prensa hidráulica de la marca Carver inc. Con dos punzones planos de acero inoxidable de 10mm de diámetro. Las fuerzas de compresión ejercidas se ajustaron manualmente. El método empleado fue el mismo, tanto para la mezcla física, como para los complejos de inclusión, en las diferentes relaciones molares. El procedimiento que se siguió fue el siguiente:

- a) En una balanza analítica, se pesaron 400mg de la mezcla física, o bien, del complejo formado, tamizado previamente por malla de 75 μ m, los cuales fueron colocados en la cavidad del punzón inferior.
- b) Después se coloca manualmente el punzón superior.
- c) Se coloca el juego de punzones sobre la superficie de la prensa y se comienza a ejercer la presión hasta llegar al valor deseado.
- d) La presión ejercida se sostiene durante 10 segundos y después se libera la presión.

- e) Los punzones se retiran de la prensa y se procede a retirar el comprimido formado.
- f) Una vez obtenido el comprimido, éste se pulveriza con ayuda de un mortero y pistilo hasta conseguir un tamaño de partícula adecuado para poder ser tamizado por malla No. 200 con un diámetro de 75 μm .

4 Análisis instrumental.

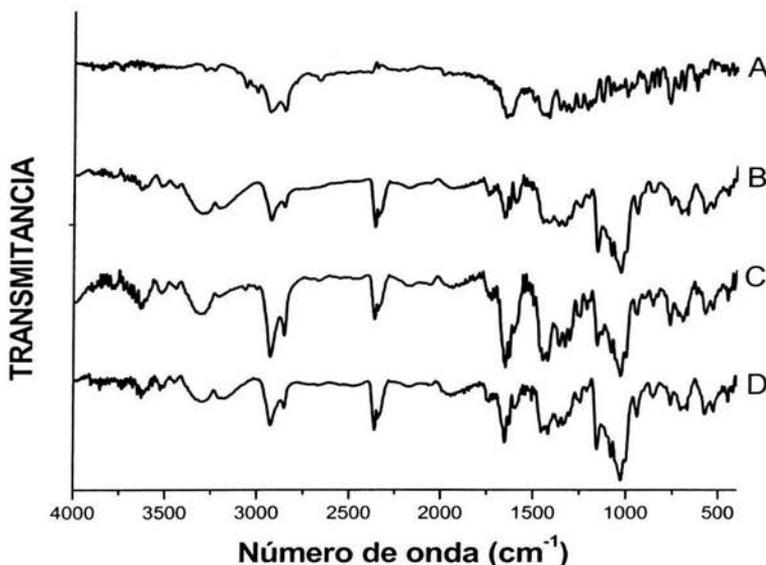
- Los estudios de difracción de rayos X se realizaron tanto a las mezclas físicas como a los complejos con un equipo SIEMENS D5000, con anticátodo de cobre, $\lambda = 1.5406$ Amstrongs y el software Diffracc AT (1993), versión 3.3 a 35 kV y 30 mA, con detector de centelleo.
- El análisis térmico por calorimetría diferencial de barrido (DSC) se hizo tanto a las mezclas físicas como a los complejos en el calorímetro de modelo DSC 321^c, Mettler Toledo, con cápsulas de Aluminio (las muestras son encapsuladas herméticamente con atmósfera de Nitrógeno) y capacidad de 40 μL ; se interpretaron los datos en función de la cantidad de Praziquantel complejoado.
- Los espectros de infrarrojo se llevaron a cabo mediante reflectancia difusa. La muestra se preparó con 0.002 g de la mezcla física o el complejo y se ajustó el peso a 0.02 g con Bromuro de Potasio seco y tamizado a 75 μm .

5 Procesamiento de resultados

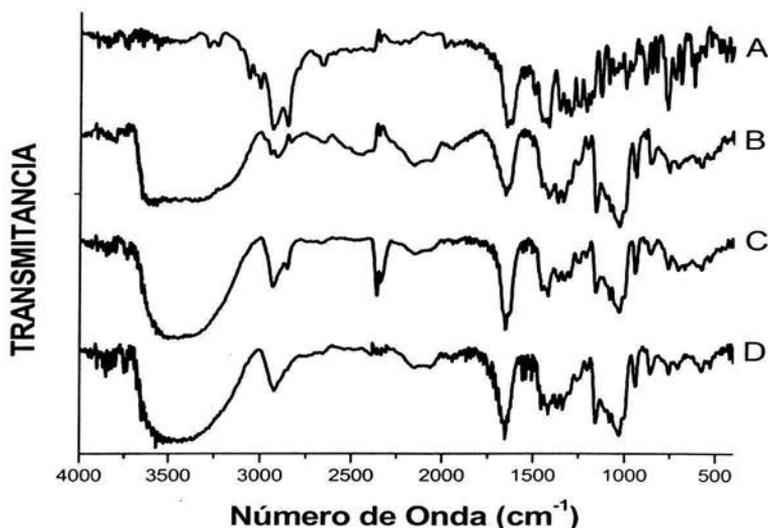
El manejo de los datos se realizó mediante los programas WORD, OPUS y ORIGIN 6.0.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**5.1 ESPECTROSCOPIA DE IR**

En los espectros de IR que se muestran en las gráficas 1 y 2, se observan algunas bandas características que nos permiten realizar la caracterización de los complejos de inclusión, así por ejemplo, en la región de 3030cm^{-1} que corresponde a la banda de estiramiento de los grupos metileno del anillo benceno y de 2931cm^{-1} correspondiente al estiramiento del grupo metileno del ciclohexano, ambos del praziquantel, se observan diferencias significativas tanto en las mezclas físicas, como en los complejos de inclusión con respecto a las bandas características del PZQ y de ambas ciclodextrinas, α -CD y β -CD. Cabe señalar que en ambos casos las bandas pertenecientes a los complejos de inclusión se ven con menor intensidad con respecto al PZQ no complejado, por el contrario en las mezclas físicas la intensidad es mayor, lo cual indica que existe una menor interacción entre las moléculas. Este comportamiento se observó en todas comparaciones de los complejos con las respectivas mezclas físicas. La alteración de estas bandas sugiere que el ciclohexano del praziquantel se incluye en la cavidad de la ciclodextrina, es decir, el



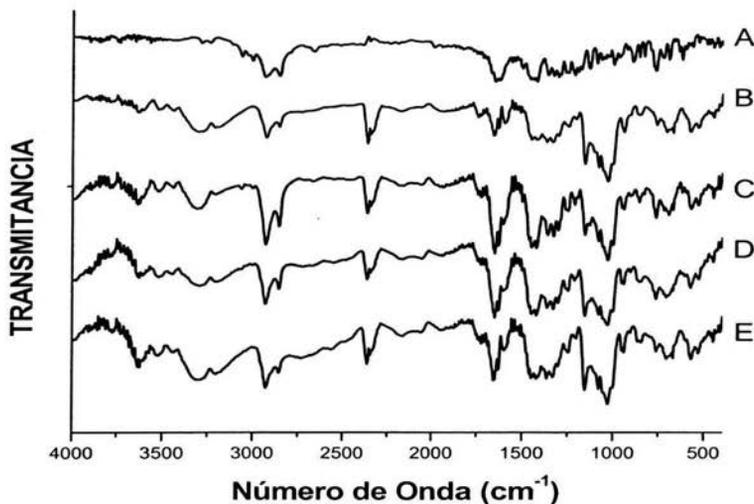
Gráfica 1. Espectros de IR de las mezclas físicas y de los complejos de inclusión entre PZQ y α -CD a la presión normal de trabajo (P0), en la relación molar 1:1. (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD, (D) Cl-PZQ- α -CD.



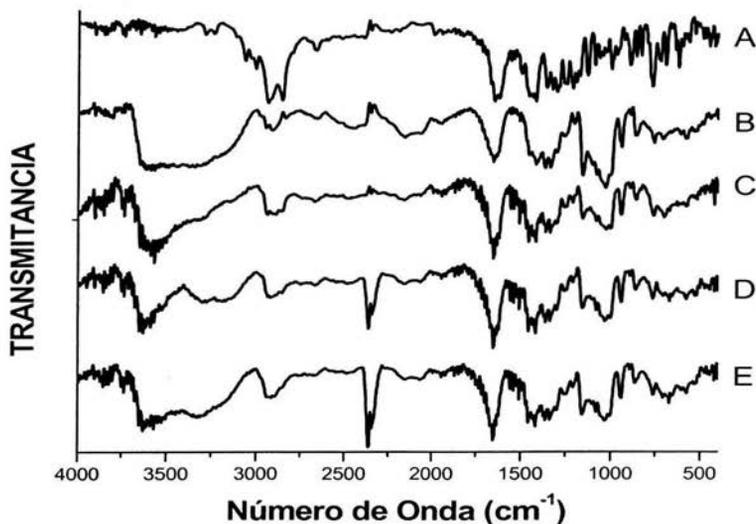
Gráfica 2. Espectros de IR de las mezclas físicas y de los complejos de inclusión entre PZQ y β -CD a la presión normal de trabajo (P0), en la relación molar 1:10. (A) PZQ, (B) β -CD, (C) MF-PZQ- β -CD, (D) CI-PZQ- β -CD.

ciclohexano interactúa con el interior hidrofóbico de la ciclodextrina. Los cambios en la región de $1440\text{-}1380\text{cm}^{-1}$ debidos a la hiperconjugación de los grupos metilenos del ciclohexano del praziquantel, también sugiere una posible interacción entre el praziquantel y la ciclodextrina.

En la gráfica 3 se compara los espectros de IR a las diferentes relaciones molares de las mezclas físicas entre PZQ y α -CD a la presión normal de trabajo (P0) y se observa que la intensidad de las bandas características disminuye al aumentar la relación molar. Así por ejemplo, en las mezclas físicas, las bandas en la relación molar 1:10 están más disminuidas que en la relación 1:5 y en esta última son menos intensas que en la relación 1:1. Esto significa que al haber mayor cantidad de ciclodextrina presente, por el principio de Le Chatelier, el equilibrio se desplaza hacia la complejación y las moléculas de praziquantel tienden a interactuar con mayor facilidad con la parte hidrofóbica de la ciclodextrina y por tanto mejora la complejación, no obstante, también cabe la posibilidad de que las moléculas de praziquantel no estén incluidas, sino que se encuentren



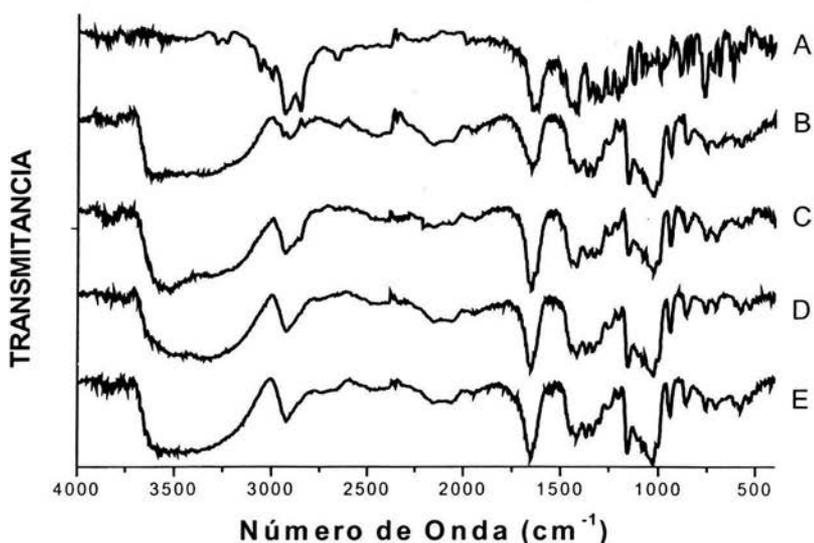
Gráfica 3. Espectros de IR obtenidos a partir de las MF entre PZQ y α -CD en diferentes relaciones molares a la presión normal de trabajo (P0). (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD 1:1, (D) MF-PZQ- α -CD 1:5, (E) MF-PZQ- α -CD a 1:10.



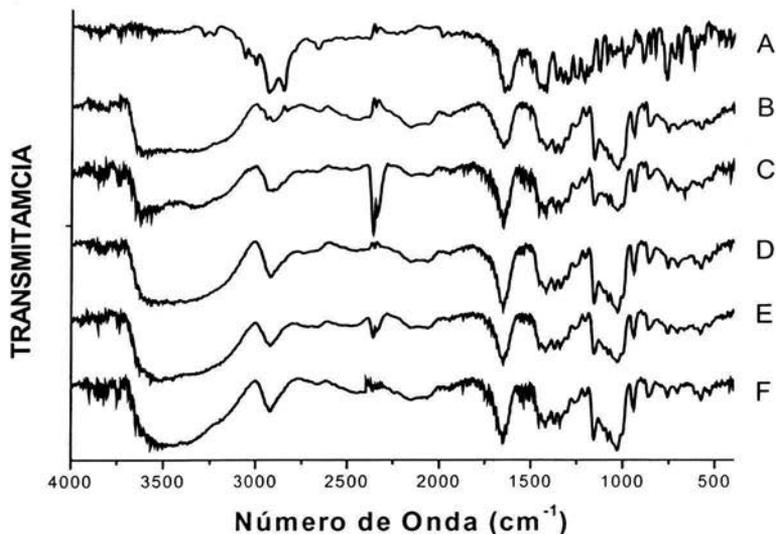
Gráfica 4. Espectros de IR de las MF entre PZQ y β -CD en diferentes relaciones molares a la presión normal de trabajo (P0). (A) PZQ, (B) β -CD, (C) MF-PZQ- β -CD 1:1, (D) MF-PZQ- β -CD 1:5, (E) MF-PZQ- β -CD a 1:10.

interaccionando con el exterior de las CD ya que existe una pequeña posibilidad de que se formen complejos de asociación entre dichas moléculas, esto ocasionaría que las moléculas de PZQ no se encuentren encapsuladas dentro las ciclodextrinas, sino que se encuentren rodeadas por las ciclodextrinas y esto provoque que se oculten las bandas del PZQ, sin embargo los resultados presentados sugieren lo contrario. Los mismos resultados se observaron también para la β -CD (Gráfica 4), sin embargo se observa un mejor comportamiento debido a que ésta ciclodextrina tiene mayor volumen de inclusión.

Por su parte, en los complejos de inclusión, la disminución de la intensidad en las bandas de absorción fue mas evidente inclusive como se puede observar en la gráfica 5, la banda de 2800 cm^{-1} debida al estiramiento asimétrico de los grupos metilenos del ciclohexano del praziquantel llega a desaparecer, esto nos indicaría que el praziquantel se encuentra complejado, es decir incluido en el interior de las moléculas de ciclodextrinas.



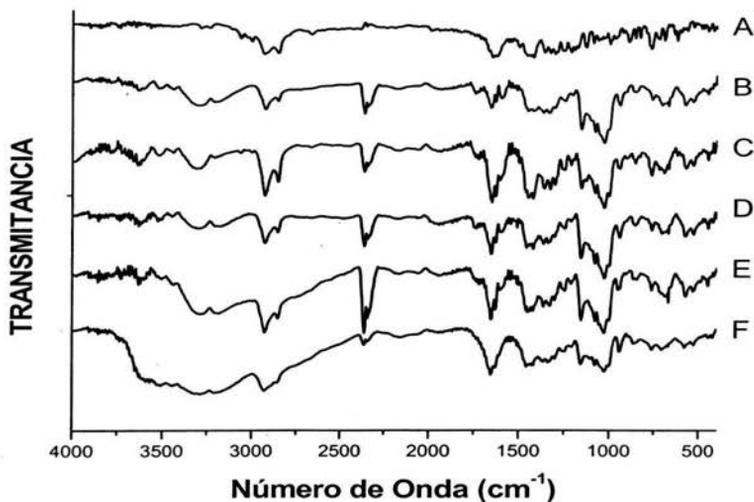
Gráfica 5. Espectros de IR de los complejos de inclusión entre PZQ y β -CD en diferentes relaciones molares a la presión normal de trabajo (P0). (A) PZQ, (B) β -CD, (C) CI-PZQ- β -CD 1:1, (D) CI-PZQ- β -CD 1:5, (E) CI-PZQ- β -CD a 1:10.



Gráfica 6. Espectros de IR de las mezclas físicas y los complejos de inclusión entre PZQ y β -CD a la presión normal de trabajo (P0) y a 4Ton (P3), en la relación molar 1:10. (A) PZQ, (B) β -CD, (C) MF-PZQ- β -CD a P0, (D) CI-PZQ- β -CD a P0, (E) MF-PZQ- β -CD a P3, (F) CI-PZQ- β -CD a P3.

Ahora bien, como se mencionó anteriormente, en aquellas muestras donde se aplicó las diferentes fuerzas de compresión, los cambios observados fueron semejantes a los presentados anteriormente.

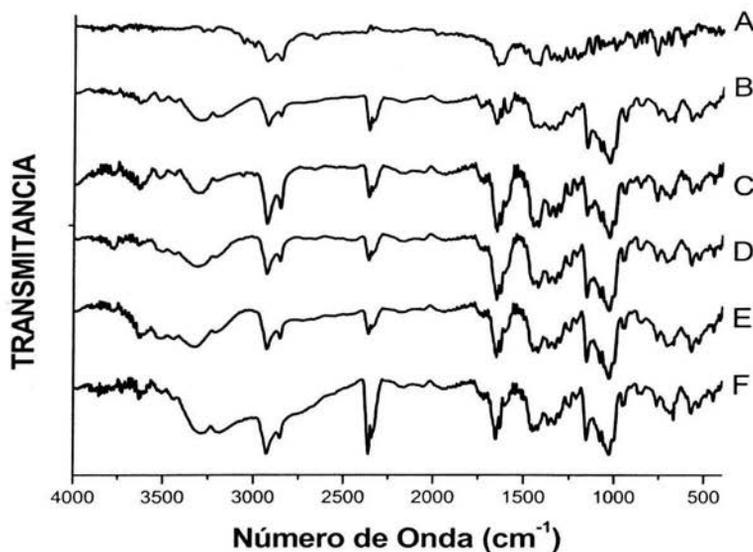
Las gráficas 6 y 7, muestran la influencia de la fuerza de compresión en la complejación del praziquantel. En primera instancia, los complejos de inclusión mostraron mejor interacción entre las CD'S y el PZQ, sin embargo al comparar los espectros D y E de ambas gráficas, las diferencias no parecen ser significativas, esto es, no hay cambios significativos, el hecho es, el aumento en la complejación debida a la fuerza de compresión mejoró solo un poco con respecto a la que se obtuvo en los CI realizados por el método de amasado en las condiciones normales de trabajo. Estos cambios poco significativos se pueden deber a que el equilibrio formado a raíz del amasado inicial, solo puede mejorarse un poco la complejación. Por su parte, el efecto mostrado en las MF fue más notorio, aunque si bien, con el simple hecho de mezclar se logra formar complejo en muy poca cantidad, los espectros E de las gráficas 6 y 7 demuestran que la fuerza de compresión aumenta la complejación del praziquantel.



Gráfica 7. Espectros de IR de las mezclas físicas y de los complejos de inclusión realizados entre PZQ y α -CD a la presión normal de trabajo (P0) y a 4Ton (P3), en la relación molar 1:1. (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD, (D) CI-PZQ- α -CD, (E) MF-PZQ- α -CD a P3, (F) CI-PZQ- α -CD a P3.

La comparación de los espectros D y E mostradas en la gráfica 6 y 7 demuestran que la complejación a partir de las mezclas físicas llega a ser semejante que en el caso de método de amasado en las condiciones normales de trabajo. Desafortunadamente los espectros de IR para el PZQ y sus complejos muestran pocas bandas a partir de las cuales se pueda caracterizar el producto, sin embargo, el análisis detallado logra darnos la información necesaria para la caracterización de los complejos.

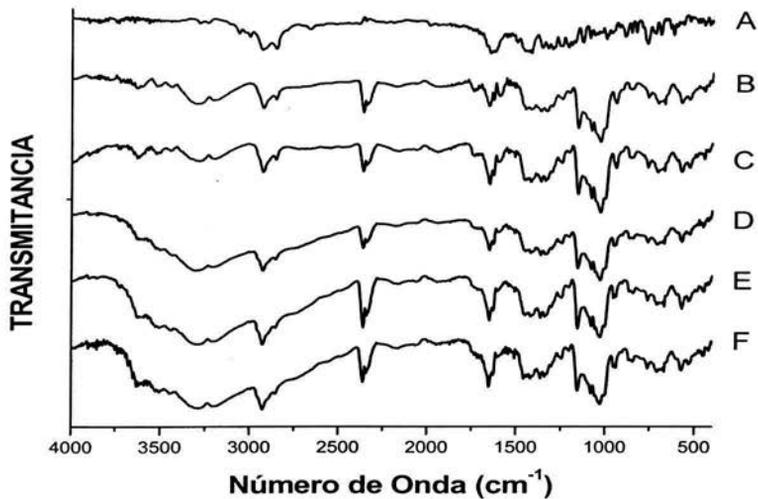
Por su parte, la gráfica 7 donde se comparan las mezclas físicas y los complejos de inclusión con α -CD a las condiciones normales de trabajo y a las condiciones donde se le aplicó una fuerza de compresión de 4 Ton (P3), se observa que las bandas de 2857 cm⁻¹ y 2931 cm⁻¹ correspondientes a los estiramientos simétricos y asimétricos de los grupos metilenos del ciclohexano del PZQ, disminuyen su intensidad. También es importante señalar que la banda de 3001 cm⁻¹ del estiramiento del enlace C-H del anillo benceno observada en las mezclas físicas a presión cero (P0), desaparece al aplicar presión. En el caso de los complejos de inclusión las bandas entre 2950-2850 cm⁻¹ de los grupos metilenos disminuyen en la intensidad, inclusive podría pensarse que a la P3, se origina una banda ancha, sin embargo aún se distinguen ambos picos.



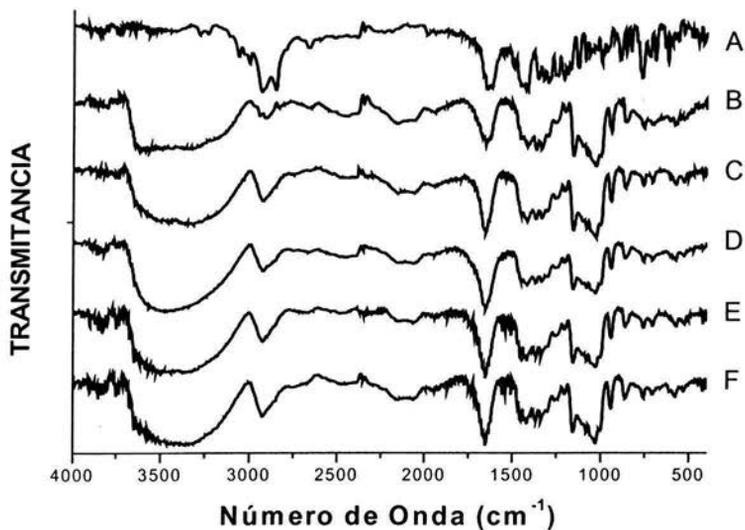
Gráfica 8. Espectros de IR de las mezclas físicas entre PZQ y α -CD a diferentes presiones, en la relación molar 1:1. (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD a P0, (D) MF-PZQ- α -CD a P1, (E) MF-PZQ- α -CD a P2, (F) MF-PZQ- α -CD a P3.

La diferencia observada entre ambas ciclodextrinas radica en la diferencia del volumen interno de la molécula. Este hecho lo podemos constatar con las siguientes gráficas; por ejemplo en la gráfica 8 donde se comparan el efecto debido a la presión ejercida en las mezclas físicas de α -CD en la relación molar 1:1, se observa que al aplicar la presión, las bandas de los espectros D, E y F disminuyen un poco en su intensidad. En el caso de esta ciclodextrina, el aumento en la presión no parece ser un factor importante ya que como se muestra en los espectro D, E y F, no aparenta haber diferencias significativas entre ellos, aunque la presión provoca la formación de complejos de inclusión, este efecto parece llegar a un máximo, mismo que se alcanza en el primer valor de presión (1Ton), pues como se ve en los demás espectros, al aumentar el valor de presión, ya no se observan cambios detectables que nos pudieran decir lo contrario.

Para el caso de los complejos de inclusión con α -CD que se muestran en la gráfica 9, se observaron resultados con una tendencia similar, por ejemplo la banda de los metilenos ubicada en 2857 cm^{-1} disminuye al aplicar 1 Ton de presión, aunque al



Gráfica 9. Espectros de IR de los complejos de inclusión entre PZQ y α -CD a diferentes presiones, en la relación molar 1:5. (A) PZQ, (B) α -CD, (C) CI-PZQ- α -CD a P0, (D) CI-PZQ- α -CD a P1, (E) CI-PZQ- α -CD a P2, (F) CI-PZQ- α -CD a P3.

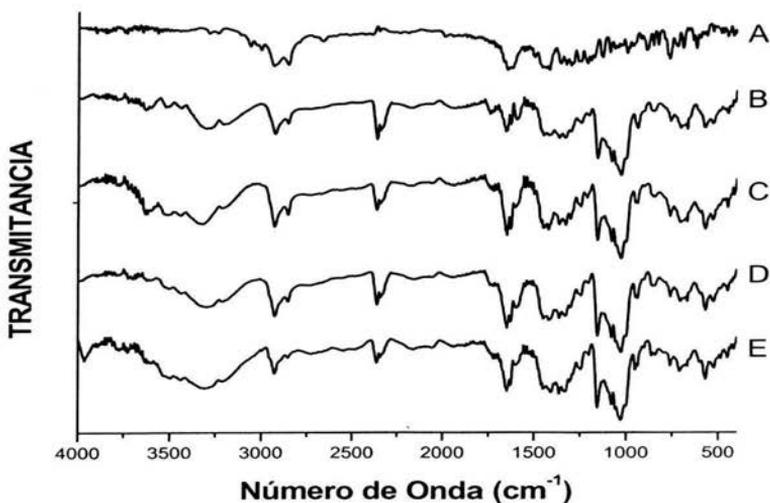


Gráfica 10. Espectros de IR de los complejos de inclusión entre PZQ y β -CD a diferentes presiones, en la relación molar 1:5. (A) PZQ, (B) β -CD, (C) CI-PZQ- β -CD a P0, (D) CI-PZQ- β -CD a P1, (E) CI-PZQ- β -CD a P2, (F) CI-PZQ- β -CD a P3.

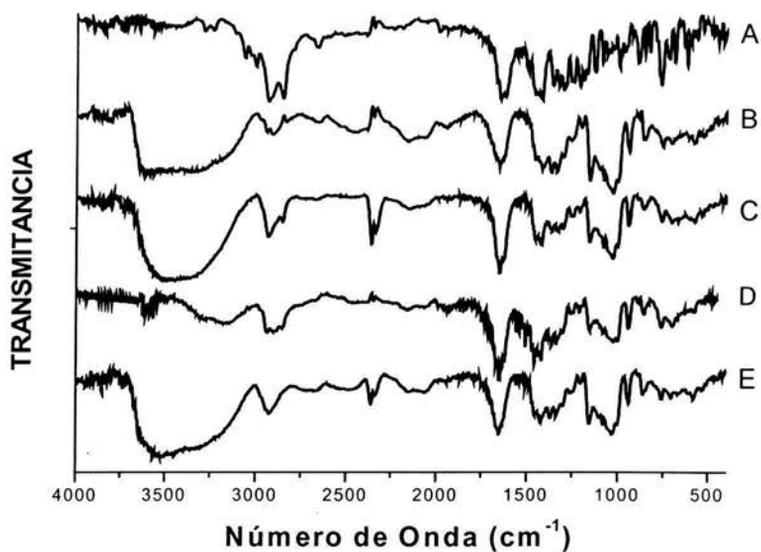
aumentar la presión en los diferentes valores estudiados, esta banda no desaparece, solo hay ligeras alteraciones, lo cual indica una débil interacción entre las moléculas. Al igual que en las mezclas físicas, los complejos de inclusión entre PZQ y α -CD no mejoran más al aplicárseles presiones mayores a 1 Ton. Por otra parte, si comparamos los espectros E o F de la gráfica 8 con el espectro C de la gráfica 9, se ve que no hay grandes diferencias, es decir, la aplicación de la presión a las mezclas físicas puede dar como resultado la formación de complejos de inclusión en la misma manera que en el método de amasado.

En el caso de la β -CD los cambios fueron más evidentes a los descritos anteriormente, esto es, al aumentar la fuerza de compresión, se mejora la eficacia de la complejación.

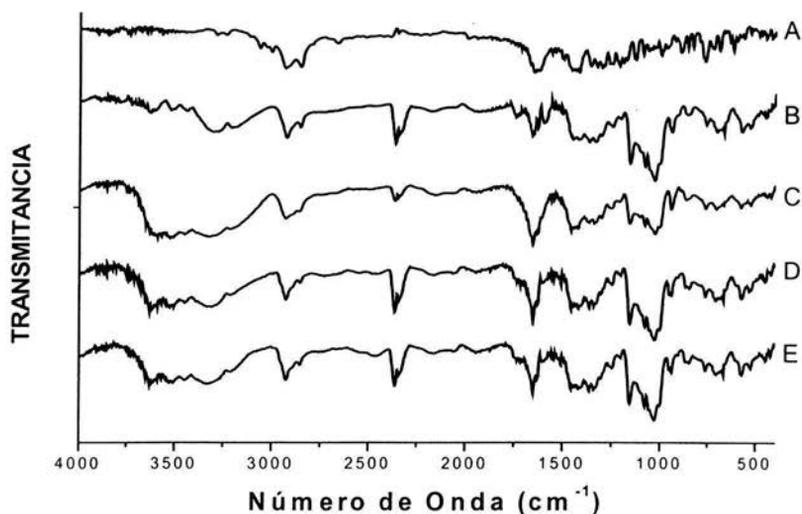
En ambas ciclodextrinas alfa y beta, el efecto de la relación molar, o bien, la cantidad de ciclodextrina con respecto al praziquantel en diferentes presiones sobre las mezclas físicas es similar al que se observa en las muestras donde no se les aplicó presión alguna, es decir, el orden creciente en la complejación en las diferentes relaciones molares es: 1:10 > 1:5 > 1:1. En el caso de las mezclas físicas, las gráficas 11 y 12, muestran que un efecto combinado se puede obtener en la relación molar 1:10 y en las presiones mayores a 1 Ton, lo cual contribuye a la mejora de la complejación.



Gráfica 11. Espectros de IR de las MF entre PZQ y α -CD en diferentes relaciones molares a la presión de 2 Ton (P2). (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD 1:1, (D) MF-PZQ- α -CD 1:5, (E) MF-PZQ- α -CD a 1:10.

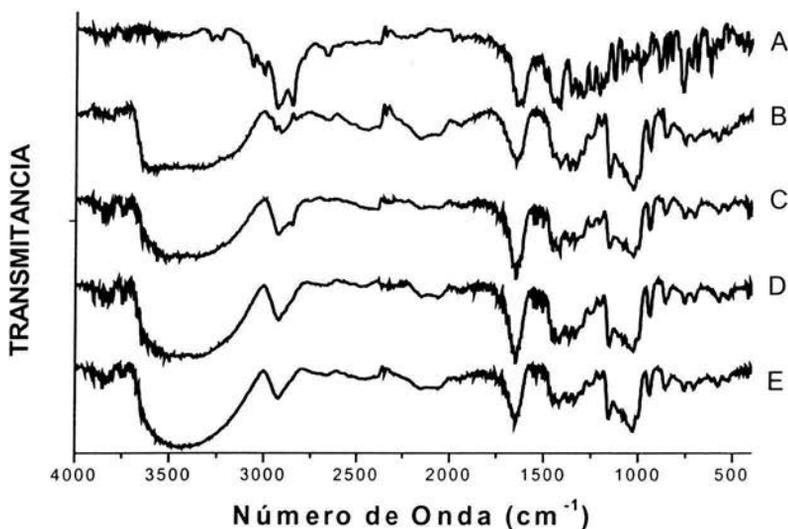


Gráfica 12. Espectros de IR de las MF entre PZQ y β -CD en diferentes relaciones molares a la presión de 4 Ton (P3). (A) PZQ, (B) β -CD, (C) MF-PZQ- β -CD 1:1, (D) MF-PZQ- β -CD 1:5, (E) MF-PZQ- β -CD a 1:10.



Gráfica 13. Espectros de IR de los complejos de inclusión entre PZQ y α -CD, en diferentes relaciones molares a la presión de 4 Ton (P3). (A) PZQ, (B) α -CD, (C) CI-PZQ- α -CD 1:1, (D) CI-PZQ- α -CD 1:5, (E) CI-PZQ- α -CD a 1:10.

Para el caso de los complejos de inclusión de ambas ciclodextrinas a los cuales se les aplicó presión, la relación molar no parece influir demasiado. Es decir, la relación molar no parece jugar un papel importante pues como se muestra en las gráficas 13 y 14 los espectros D y E correspondientes a las relaciones molares 1:5 y 1:10 respectivamente, parecen ser iguales, lo cual indica que no hay diferencias significativas en la complejación de ambas muestras.



Gráfica 14. Espectros de IR de los complejos de inclusión entre PZQ y β -CD realizados por el método de amasado, en diferentes relaciones molares a la presión de 2 Ton (P2). (A) PZQ, (B) β -CD, (C) CI-PZQ- β -CD 1:1, (D) CI-PZQ- β -CD 1:5, (E) CI-PZQ- β -CD a 1:10.

5.2 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

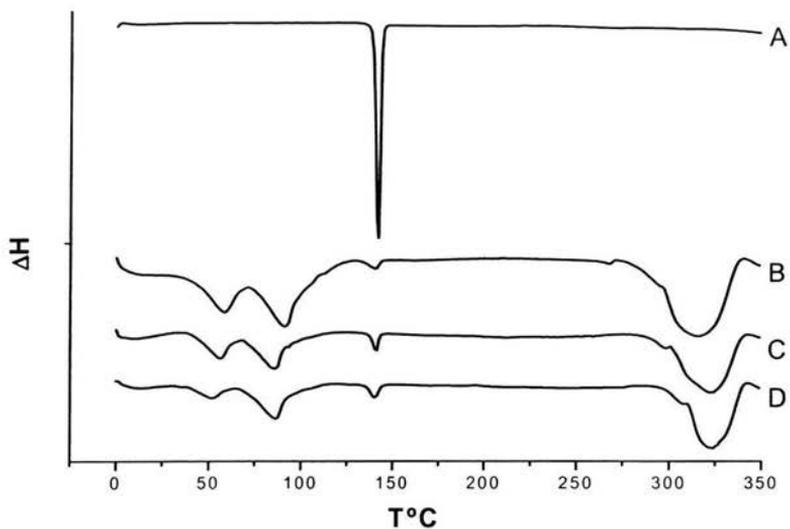
Para poder obtener información válida de la calorimetría diferencial de barrido (DSC) seguimos el pico endotérmico que aparece a 150°C correspondiente a la fusión del praziquantel. Como ya se mencionó en los antecedentes, el análisis térmico mediante DSC nos es una herramienta útil para caracterizar los complejos de inclusión entre ciclodextrinas y moléculas huésped y poderlos diferenciar de una simple mezcla física. La formación de complejos de inclusión está dada por la desaparición, disminución o desplazamiento del pico debido a la fusión del praziquantel.

Los estudios de DSC indican la formación de complejos de inclusión entre praziquantel y β -CD, inducidos por el método de amasado, puesto que las mezclas físicas exhiben un pico endotérmico correspondiente al praziquantel, el cual desaparece o disminuye en los complejos de inclusión.

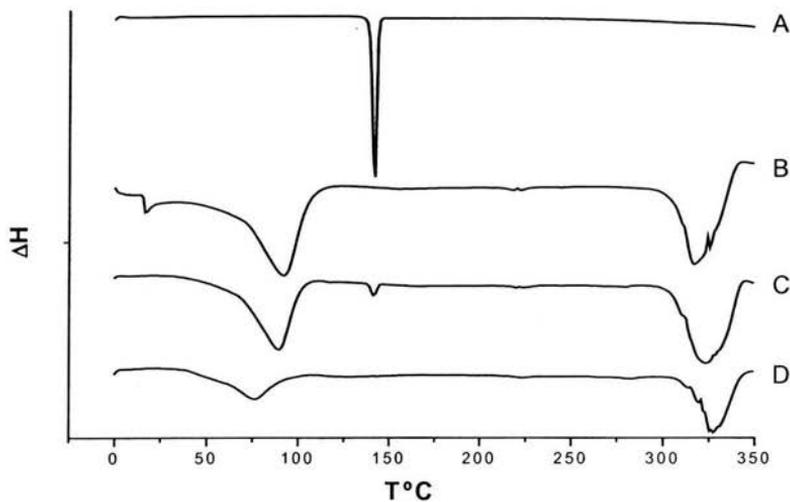
En cuanto a la influencia de la presión ejercida, se observó que ésta favorece la formación del complejo de inclusión, de tal manera que en los complejos de inclusión realizados por el método del amasado, aumenta la eficacia de la asociación entre ciclodextrina y praziquantel, mientras que, en las mezclas físicas se observa que el pico que corresponde al praziquantel disminuye al aumentar la presión, llegando a un punto en el que desaparece, por lo que se puede establecer que la presión ejercida es capaz de inducir la formación de complejos de inclusión entre praziquantel y ciclodextrinas, a partir de una mezcla física.

En la gráfica 15 observamos que tanto en la mezcla física y el complejo de inclusión permanece el pico endotérmico del PZQ, sin embargo, el área bajo la curva (ABC) del termograma C es menor al ABC del termograma D. Como se ha mencionado anteriormente, el PZQ interacciona poco con la α -CD, lo cual se ve reflejado en la presencia de los picos antes mencionados.

Por otra parte en la gráfica 16 se compara la mezcla física y el complejo de inclusión de PZQ- β -CD. En este caso se observa que en la mezcla física el pico aparece aproximadamente a 140°C, para el caso del complejo el pico desaparece totalmente.



Gráfica 15. Termogramas de la mezcla física y los complejos de inclusión entre PZQ y α -CD a la presión normal de trabajo, en la relación molar 1:5. (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD, (D) CI-PZQ- α -CD.

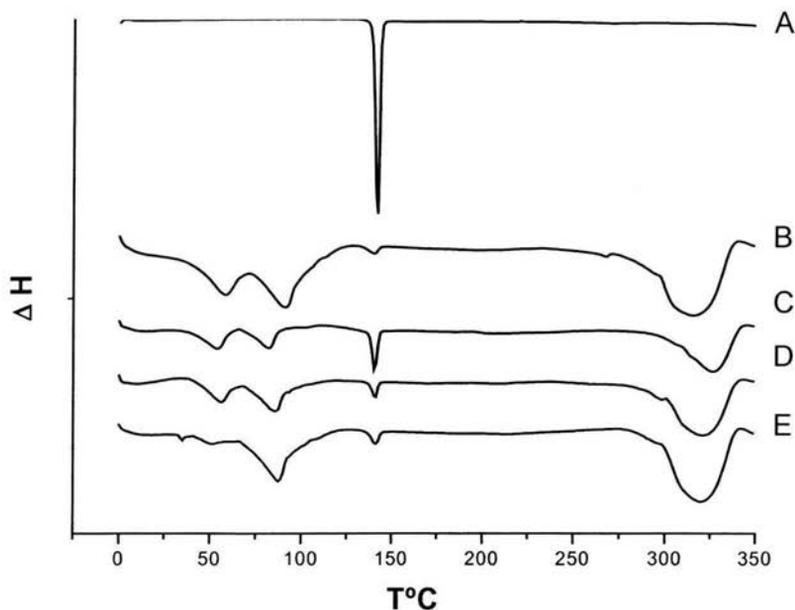


Gráfica 16. Termogramas de la mezcla física y los complejos de inclusión entre PZQ y β -CD a la presión normal de trabajo (P0) en la relación molar 1:5. (A) PZQ, (B) β -CD, (C) MF-PZQ- β -CD, (D) CI-PZQ- β -CD.

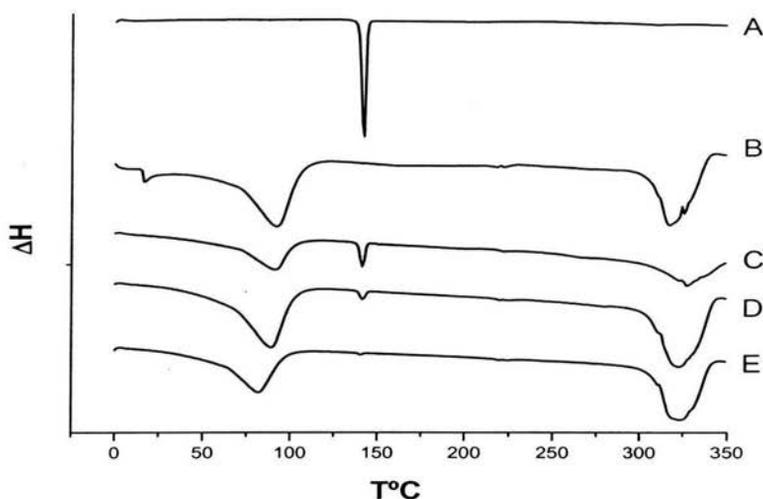
Este hecho confirma que con la β -CD se da la formación del complejo. A partir de estas observaciones se hizo la discusión en las siguientes muestras.

Para el caso de las diferentes relaciones molares, la gráfica 17, muestra la influencia de la concentración de la ciclodextrina. Los termogramas demuestran que al aumentar la cantidad de ciclodextrina aumenta la complejación, esto se ve reflejado en el ABC de las gráficas C, D, Y E, donde el área de $C > D > E$, es decir, el orden de complejación es $E > D > C$. Como se discutió anteriormente en los espectros de infrarrojo, el aumento en la cantidad de ciclodextrina ocasiona que se pueda complejar mayor cantidad de PZQ, sin embargo, como la α -CD no es la más apta, el pico de fusión del PZQ no llega a desaparecer totalmente.

En el caso de la β -CD (gráfica 18), se observa un comportamiento similar, es decir, el ABC va en el siguiente orden decreciente $1:1 > 1:5 > 1:10$. En la relación molar 1:10 incluso el pico llega casi a desaparecer por completo. Las ABC comparadas a las obtenidas con la α -CD son mucho menores. Esto no indica una vez más que la β -CD,



Gráfica 17. Termogramas de las MF entre PZQ y α -CD en diferentes relaciones molares a la presión normal de trabajo (P0). (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD 1:1, (D) MF-PZQ- α -CD 1:5, (E) MF-PZQ- α -CD a 1:10.



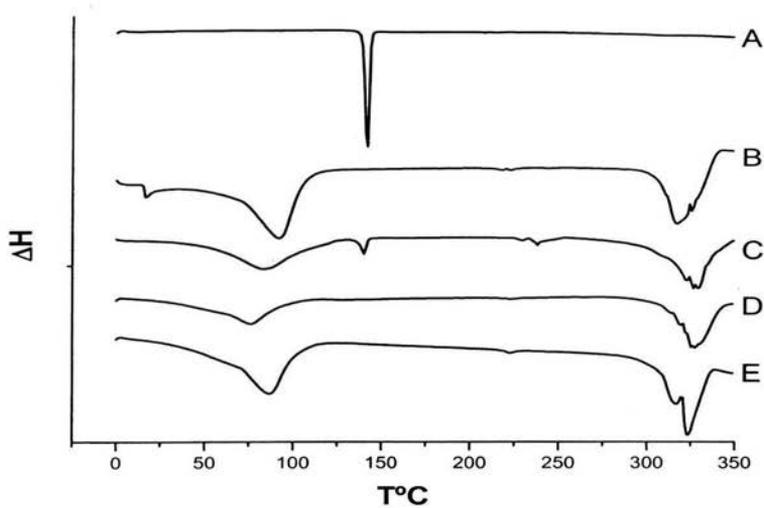
Gráfica 18. Termogramas de las MF entre PZQ y β -CD en diferentes relaciones molares a la presión normal de trabajo (P0). (A) PZQ, (B) β -CD, (C) MF-PZQ- β -CD 1:1, (D) MF-PZQ- β -CD 1:5, (E) MF-PZQ- β -CD a 1:10

incluye de mejor manera al PZQ y más aún cuando la ciclodextrina está en mayor proporción.

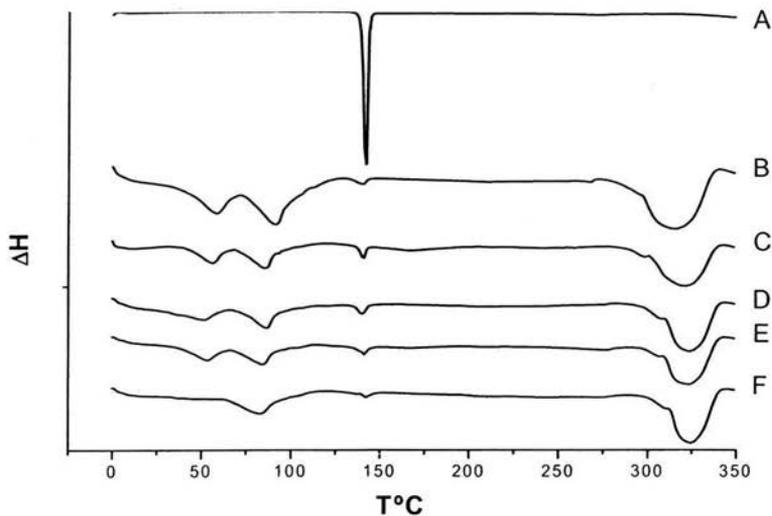
La gráfica 19 ilustra los complejos de inclusión con la β -CD y se observa que a partir de la relación molar 1:5 desaparece el pico endotérmico del PZQ, por lo que se deduce que en el método de amasado en condiciones normales, la cantidad de ciclodextrina es factor importante para que se logre dar la complejación.

A pesar de resultados no mostrados, en el caso de la α -CD se observó el mismo comportamiento, sin embargo el pico de fusión del PZQ no llega a desaparecer. lo cual indica en este caso que a pesar de la cantidad de ciclodextrina el factor limitante es el volumen de la cavidad de la α -CD.

A partir de las gráficas 20 y 21, se compara la influencia de la presión tanto en las mezclas físicas como en los complejos de inclusión. Primeramente en la gráfica 20, donde se evalúa el complejo y la mezcla física del PZQ- α -CD, se observa que al aplicar la presión el ABC de los termogramas E y F disminuye con respecto a los termogramas C y D. Es importante señalar que el pico no desaparece totalmente en ninguno de los cuatro termogramas, sin embargo podemos apreciar que los termogramas D y E son



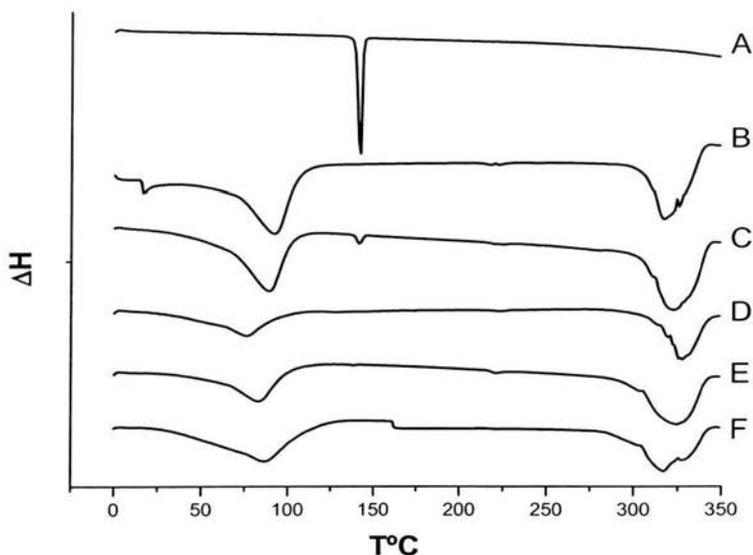
Gráfica 19. Termogramas de los complejos de inclusión entre PZQ y β -CD en diferentes relaciones molares a la presión normal de trabajo (P_0). (A) PZQ, (B) β -CD, (C) CI-PZQ- β -CD 1:1, (D) CI-PZQ- β -CD 1:5, (E) CI-PZQ- β -CD 1:10.



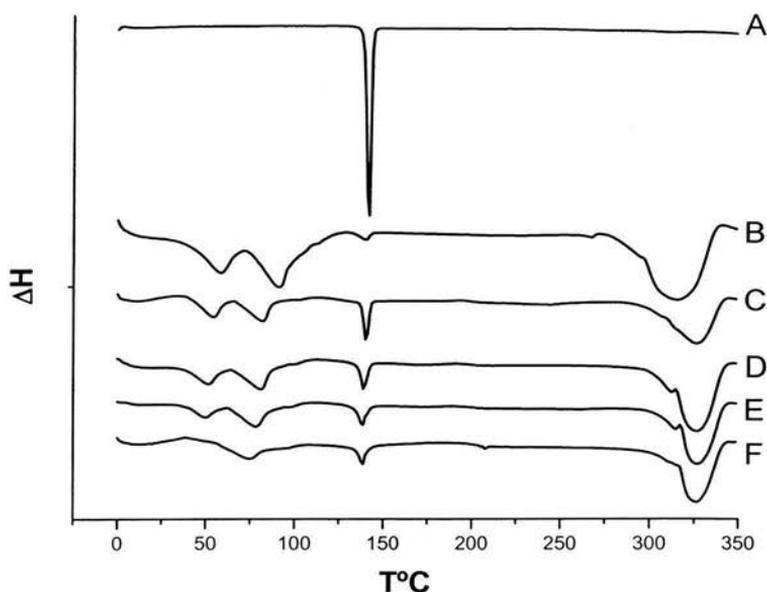
Gráfica 20. Termogramas de las MF entre PZQ y α -CD a la presión normal de trabajo (P_0) y a 2Ton (P_2), en la relación molar 1:5. (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD, (D) CI-PZQ- α -CD, (E) MF-PZQ- α -CD a P_2 , (F) CI-PZQ- α -CD a P_2 .

muy parecidos, mientras que el ABC del termograma E es menor que la obtenida en el termograma F. Este comportamiento indica que la fuerza de compresión puede ser un factor importante en la formación de complejos de inclusión es decir puede mejorar la eficacia de la complejación.

Para el caso de la β -CD, la gráfica 21, muestra los termogramas donde se ve la influencia de la presión en la complejación de la β -CD con el PZQ. Por ejemplo en los termogramas de las muestras a las que se les aplicó la presión a las mezclas físicas y complejos de inclusión, se observa que el pico endotérmico del PZQ desaparece totalmente, esto al igual que lo que ocurre con la α -CD, indica que la fuerza de compresión induce la inclusión del PZQ dentro de la cavidad de la ciclodextrina.



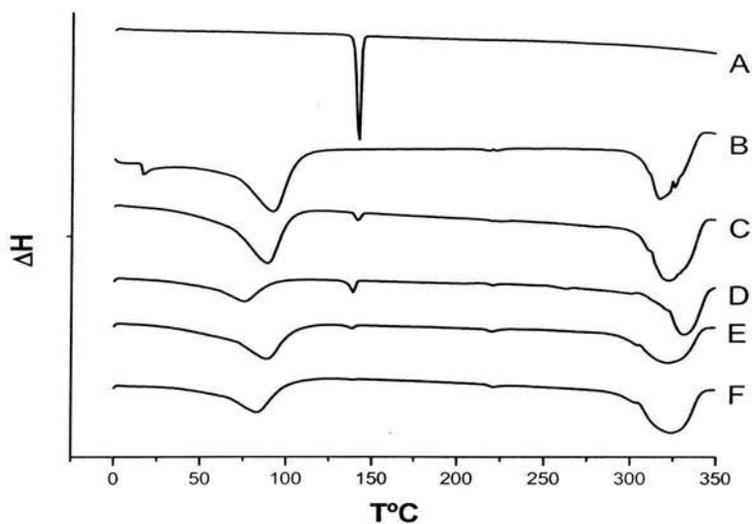
Gráfica 21. Termogramas de las MF y los CI entre PZQ y β -CD a la presión normal de trabajo (P_0) y a 4Ton (P_3), en la relación molar 1:5. (A) PZQ, (B) β -CD, (C) MF-PZQ- β -CD, (D) CI-PZQ- β -CD, (E) MF-PZQ- β -CD a P_3 , (F) CI-PZQ- β -CD a P_3 .



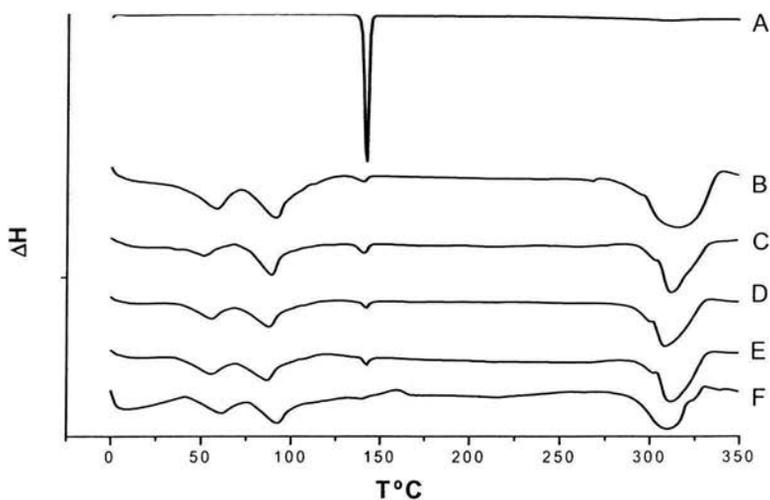
Gráfica 22. Termogramas de las MF entre PZQ y β -CD a diferentes presiones, en la relación molar 1:1. (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD a P0, (D) MF-PZQ- α -CD a P1, (E) MF-PZQ- α -CD a P2, (F) MF-PZQ- α -CD a P3.

Al estudiar la fuerza de compresión en una relación molar dada, el fenómeno que se observa es que el ABC debido a la fusión del PZQ, disminuye a medida que se aumenta la fuerza de compresión. Si comparamos los termogramas E y F de la gráfica 22, se puede ver que el ABC disminuye a la mitad, esto es, la cantidad del PZQ no complejado se reduce en un 50%, es decir, aumenta la complejación.

El mismo efecto es observado para la mezcla física PZQ- β -CD. En este caso la gráfica 23 ilustra el efecto de la fuerza de compresión, donde se observa que el ABC va disminuyendo y en la P2 casi desaparece el pico de fusión del PZQ y ya para la P3 este pico desaparece totalmente. Con estos resultados se apoya una vez más la teoría de que la fuerza de compresión influye en la inclusión del PZQ, dentro del las CD. Como se puede ver en los termogramas F de la gráfica 23 y el termograma C de la gráfica 25, no hay diferencias entre el CI realizado por el método de amasado en condiciones normales y la MF donde se le aplicó una presión igual a 4 ton. Con base en este resultado se puede predecir que la presión provoca la formación de CI entre PZQ y CD.



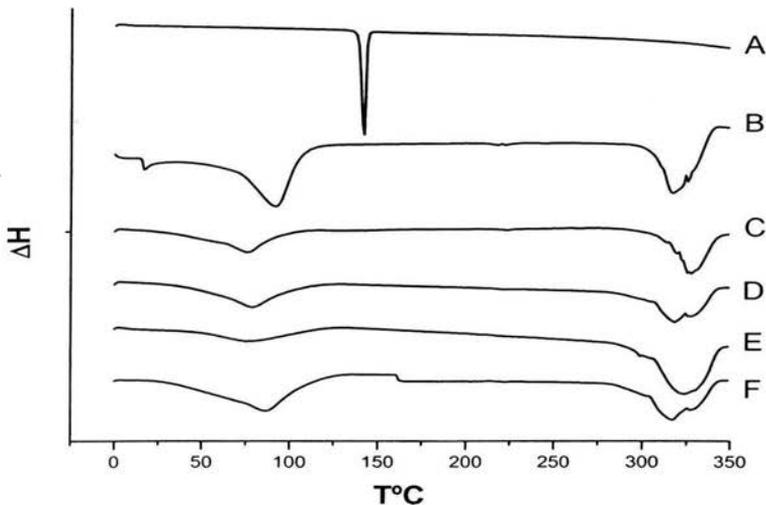
Gráfica 23. Termogramas de las MF entre PZQ y β -CD a diferentes presiones, en la relación molar 1:5. (A) PZQ, (B) β -CD, (C) MF-PZQ- β -CD a P0, (D) MF-PZQ- β -CD a P1, (E) MF-PZQ- β -CD a P2, (F) MF-PZQ- β -CD a P3.



Gráfica 24. Termogramas de los CI entre PZQ y α -CD a diferentes presiones, en la relación molar 1:10. (A) PZQ, (B) α -CD, (C) CI-PZQ- α -CD a P0, (D) CI-PZQ- α -CD a P1, (E) CI-PZQ- α -CD a P2, (F) CI-PZQ- α -CD a P3.

La gráfica 25 muestra los termogramas de los CI a diferentes presiones en la relación molar 1:5. En esta gráfica no se puede precisar el efecto de la fuerza de compresión, ya que a la presión normal de trabajo desaparece también el pico de fusión del PZQ, por tanto no podemos hacer un seguimiento de la influencia de la presión en los CI, puesto que como ya se menciona el pico de fusión del PZQ desaparece desde el momento de la formación de la aplicación del método de amasado.

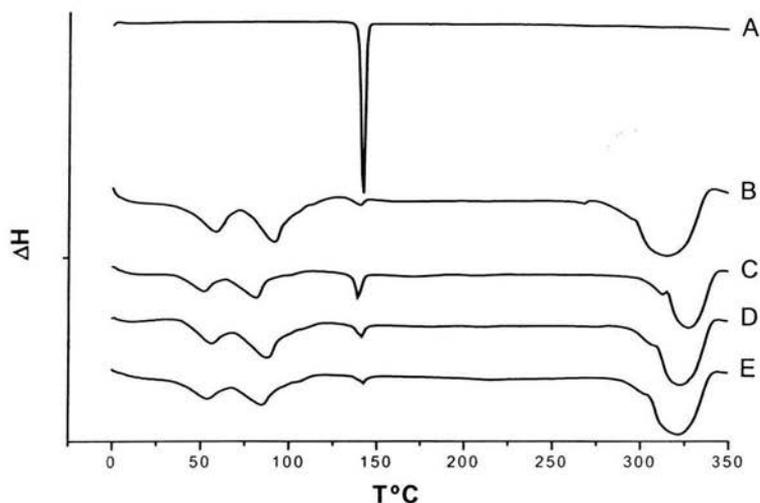
Por el contrario en el caso de la α -CD, ya hemos mencionado anteriormente que es más difícil la complejación por las restricciones del tipo estérico. Sin embargo la gráfica 24, ilustra el efecto de la fuerza de compresión sobre los CI. Los termogramas D y E no muestran diferencias significativas en cuanto al ABC del pico de fusión del PZQ, no obstante, se ve ligeramente disminuido con respecto al CI, donde no se aplicó presión alguna. Por otra parte en el termograma F de la misma gráfica el pico desaparece casi por completo, esto puede ser explicado por dos formas: 1) a muy altas presiones (ALTAENERGÍA), se logra incluir de mejor manera el PZQ dentro de la α -CD, o bien, 2) La fuerza de compresión forma gránulos de PZQ- α -CD que a su vez son rodeados por partículas de α -CD.



Gráfica 25. Termogramas de los CI entre PZQ y β -CD a diferentes presiones, en la relación molar 1:5. (A) PZQ, (B) β -CD, (C) CI-PZQ- β -CD a P0, (D) CI-PZQ- β -CD a P1, (E) CI-PZQ- β -CD a P2, (F) CI-PZQ- β -CD a P3.

Lo más importante es hacer notar que en el caso de la α -CD, la presión tiene menor influencia en el aumento de la complejación en los CI preformados por el método de amasado que con respecto a las MF.

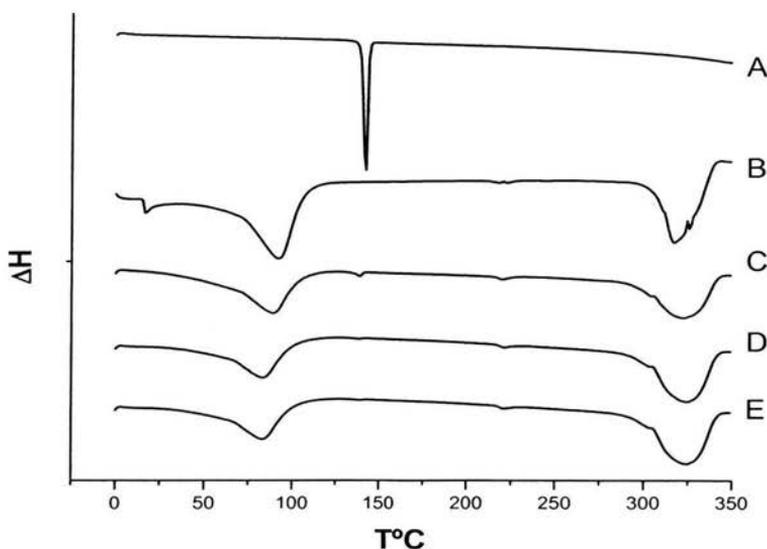
Ahora bien, a una presión diferente de cero, el efecto de la relación molar es el mismo que ya se ha discutido anteriormente es decir, al aumentar la concentración de CD aumenta la complejación o ya sea disminuye el ABC del pico debido a la fusión del PZQ. Por ejemplo en la gráfica 26, se analiza este efecto a la PI (1ton). Aquí se ve que aunque se aumente la cantidad de CD y se ejerza presión sobre la MF, el pico permanece lo cual indica que estos valores tanto de presión y de relación molar no son suficientes para llegar a una inclusión completa de todas las moléculas del PZQ.



Gráfica 26. Termogramas de las MF entre PZQ y α -CD en diferentes relaciones molares a la presión de 1Ton (PI). (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD 1:1, (D) MF-PZQ- α -CD 1:5, (E) MF-PZQ- α -CD a 1:10.

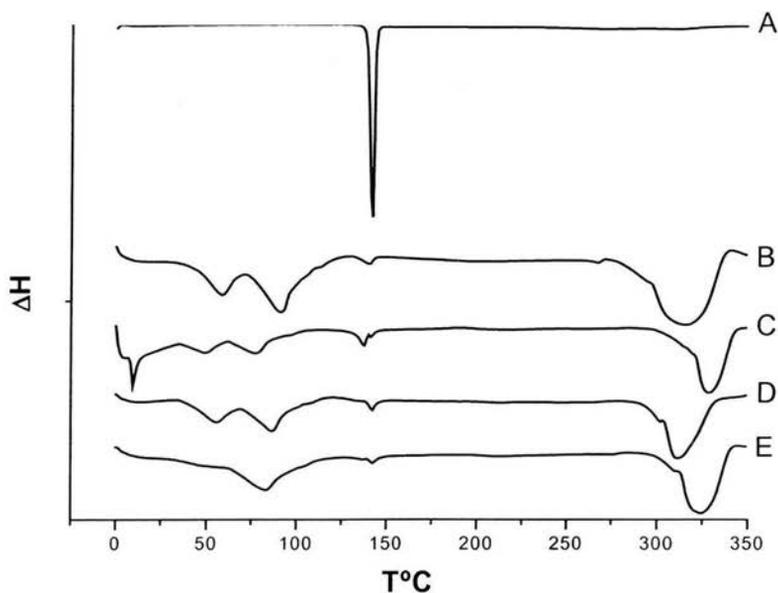
En el caso de los CI con la α -CD se comportan con una tendencia similar a la anterior, en este caso el ABC del pico endotérmico del praziquantel de los diferentes termogramas donde se compara la relación molar el orden decreciente es 1:10<1:5<1:1. Aquí se demuestra que el factor estérico juega un papel importante en la inclusión de moléculas hidrofóbicas dentro de la cavidad de las CD.

Por otra parte la β -CD muestra un comportamiento diferente. La gráfica 27 ilustra los termogramas de las MF a la P3 en las diferentes relaciones molares. El termograma C (relación molar 1:1) muestra un pico muy disminuido que comparado con el termograma a la P0 está mucho más disminuido, sin embargo al aumentar la relación molar a 1:5 este pico desaparece totalmente, lo cual implica que a la relación molar 1:10 también desaparece este pico. Estos resultados indican que a presiones altas la concentración de CD no es un factor importante para la complejación del PZQ por la β -CD, esto es, la presión ejercida sobre las MF es un factor preponderante en la inclusión de esta molécula dentro de la cavidad de dicha CD. Si comparamos estos termogramas a los obtenidos en las condiciones donde no se aplicó presión, se observa que, el ABC de la MF en la relación molar 1:1 a la P3 es semejante a la obtenida en la MF en la relación 1:10 en la P0, inclusive es menor al área que se obtiene en el complejo de inclusión en la relación molar 1:1 a la P0.



Gráfica 27. Termogramas de las MF entre PZQ y β -CD en diferentes relaciones molares a la presión de 4 Ton (P3). (A) PZQ, (B) β -CD, (C) MF-PZQ- β -CD 1:1, (D) MF-PZQ- β -CD 1:5, (E) MF-PZQ- β -CD a 1:10.

De lo anterior se ratifica que para la inclusión de moléculas hidrofóbicas tales como el PZQ influye el tipo de CD empleada puesto que las diferencias en el volumen de la cavidad permite o impide la complejación. Cuando la cavidad es una limitante, la relación molar y la presión aumentan ligeramente la complejación. No obstante, estas variables no son determinantes para conseguir la completa inclusión del PZQ, pues como ya se vio con la α -CD, en ningún caso desaparece el pico endotérmico debido a la fusión del PZQ, puesto que esta molécula es demasiado grande para ser alojada totalmente en la cavidad de la α -CD. Sin embargo cuando el volumen de la CD no es limitante en la inclusión, la fuerza de compresión y la relación molar ayudan a mejorar la complejación, inclusive se puede dar un efecto compensado con la aplicación de altas presiones obteniéndose los mismos resultados que cuando se aumenta la relación molar.

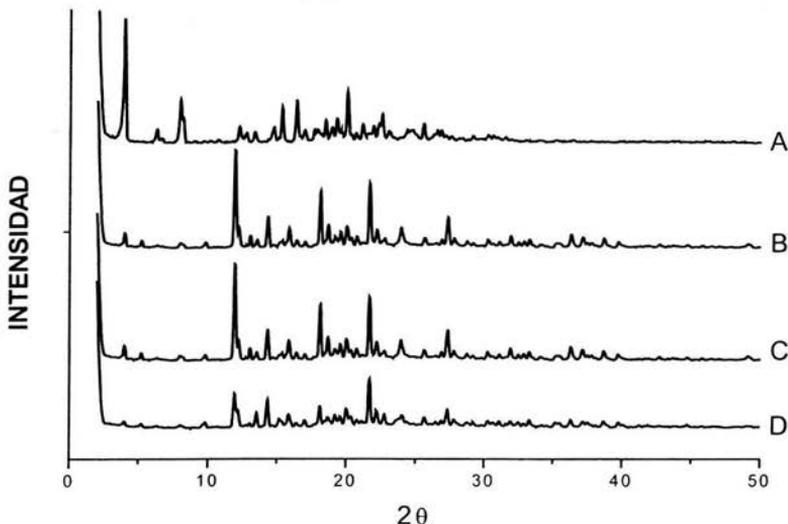


Gráfica 28. Termogramas de los complejos de inclusión entre PZQ y α -CD en diferentes relaciones molares a la presión de 2 Ton (P2). (A) PZQ, (B) α -CD, (C) CI-PZQ- α -CD 1:1, (D) CI-PZQ- α -CD 1:5, (E) CI-PZQ- α -CD a 1:10.

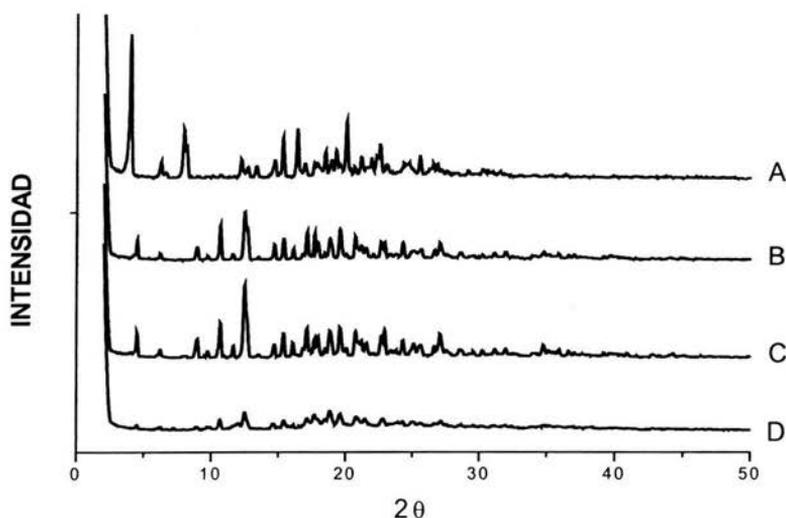
5.3 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

En la gráfica 29 se compara el comportamiento del CI y la MF del PZQ con la α -CD en la relación molar 1:1. El difractograma C no muestra diferencias significativas por lo que indica que la α -CD posee poca capacidad de interactuar con el PZQ, por el contrario en el CI las bandas de 7.96° , 16.38° , y 20.04° del PZQ disminuyen y algunos picos de la α -CD también disminuyen en su intensidad. Este comportamiento nos indica que el amasado de PZQ y α -CD llega a formar una dispersión sólida o bien un complejo de inclusión. Como ya se ha venido comentando, la α -CD, tiene menor capacidad de formar CI con el PZQ comparada con la β -CD.

Por otra parte, en la gráfica 30 se compara el comportamiento de la MF y el CI con β -CD, en los difractogramas C y D respectivamente, se observa el mismo comportamiento que el mencionado anteriormente para la alfa ciclodextrina, incluso la MF tiene picos característicos de la CD con mayor intensidad. Estos resultados están en concordancia con los obtenidos en los espectros de IR y los termogramas, en los que no se llega a ver un verdadero CI, sin embargo sí existe interacción entre ambas moléculas ya que los difractogramas obtenidos son diferentes a la semisuma de ambas moléculas por separado.



Gráfica 29. Difractogramas de la MF y CI entre PZQ y α -CD a la presión normal de trabajo (P_0), en la relación molar 1:1. (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD, (D) CI-PZQ- α -CD.

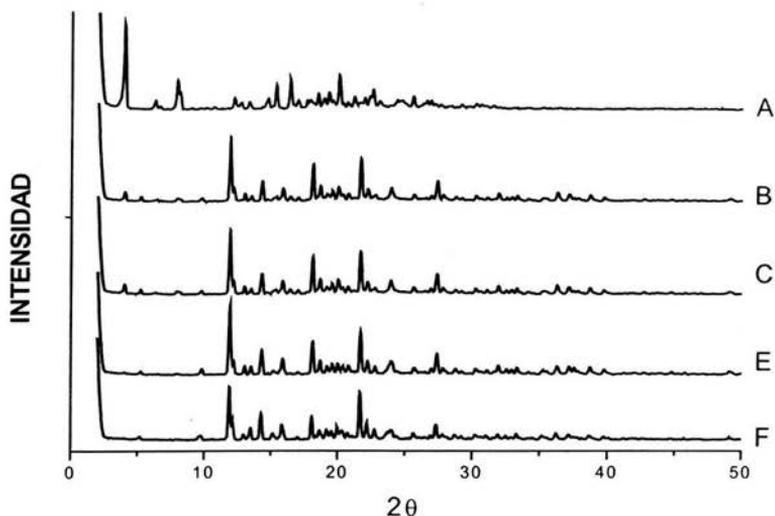


Gráfica 30. Difractogramas de la MF y CI entre PZQ y β -CD a la presión normal de trabajo, en la relación molar 1:5. (A) PZQ, (B) β -CD, (C) MF-PZQ- β -CD, (D) CI-PZQ- β -CD.

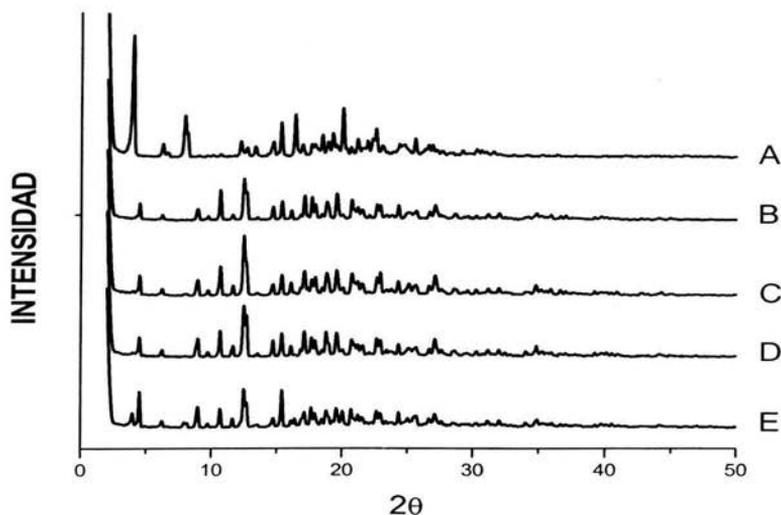
En el CI se observa que el producto disminuye la intensidad de los picos formando un estado más amorfo. Este cambio surge como consecuencia de la formación del CI, además también se observa la desaparición de algunos picos y la casi desaparición de algunos otros.

En el caso donde se compara la relación molar en la mezcla física, los picos van disminuyendo a medida que se aumenta la cantidad de CD. Como se muestra en la gráfica 31 los picos de las mezclas físicas que se encuentran en 4.5° , en diferentes relaciones molares disminuyen conforme aumenta la cantidad de α -CD presente, lo cual indica que la interacción se ve favorecida cuando la cantidad de ciclodextrina aumenta, sin embargo, no se puede hablar de la formación de un auténtico complejo de inclusión ya que el estado amorfo no varía considerablemente, es decir, la muestra no se torna más amorfa, lo cual sería un indicativo de que se diera la inclusión. De lo anterior se puede mencionar que si bien no se da un verdadero complejo de inclusión, se puede dar un complejo de asociación o bien, una dispersión sólida.

En el caso de las mezclas físicas con β -CD, la gráfica 32 también muestra los difractogramas con los picos disminuidos en su intensidad debido a un aumento en la



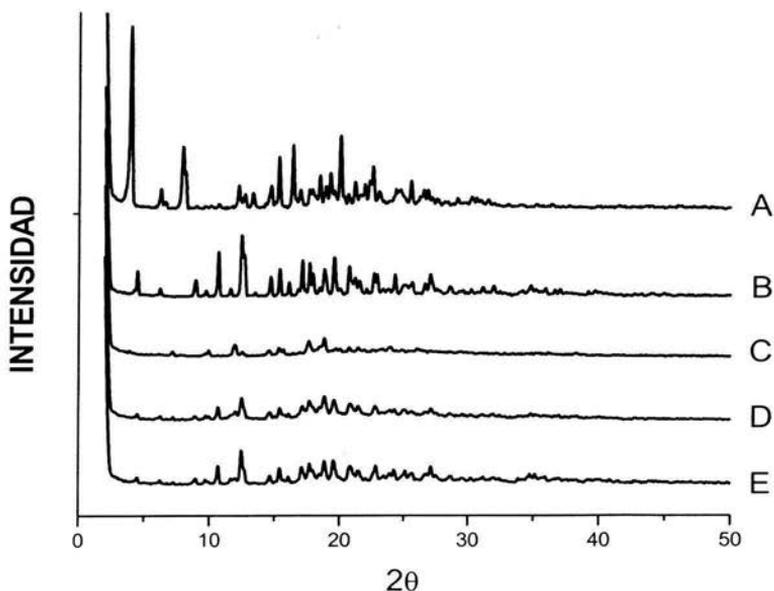
Gráfica 31. Difractogramas de las MF entre PZQ y α -CD en diferentes relaciones molares a la presión normal de trabajo (P_0). (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD 1:1, (D) MF-PZQ- α -CD 1:5, (E) MF-PZQ- α -CD a 1:10.



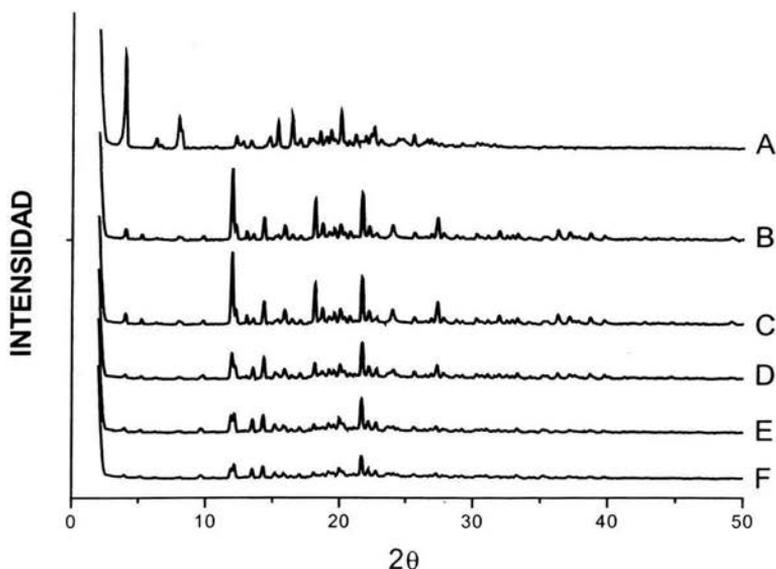
Gráfica 32. Difractogramas de las MF entre PZQ y β -CD en diferentes relaciones molares a la presión normal de trabajo (P_0). (A) PZQ, (B) β -CD, (C) MF-PZQ- β -CD 1:1, (D) MF-PZQ- β -CD 1:5, (E) MF-PZQ- β -CD a 1:10.

cantidad de CD presente, sin embargo, el estado cristalino o amorfo de las partículas no cambia significativamente, lo cual implica que no se da una total formación del complejo de inclusión.

Por su parte, los complejos de inclusión donde comparamos las diferentes relaciones molares se ilustra con la gráfica 33, en este caso se observa un comportamiento diferente al que se muestra con las mezclas físicas. Los picos a 10.66, 12.52, y 15.42 aumentan la intensidad a medida que aumenta la relación molar de CD, también hay que hacer notar que se aumenta la cristalinidad de la muestra. Este hecho puede explicarse de la siguiente manera; primeramente se da la formación del complejo (1:1) y después las moléculas de CD restante cubren a los complejos, es decir, se da una dispersión sólida de complejos de inclusión por la CD, lo cual ocasiona que se oculten los complejos de inclusión y en la difracción de los rayos X por tanto se observen estas bandas que cada vez se parecen mas a la CD sola.

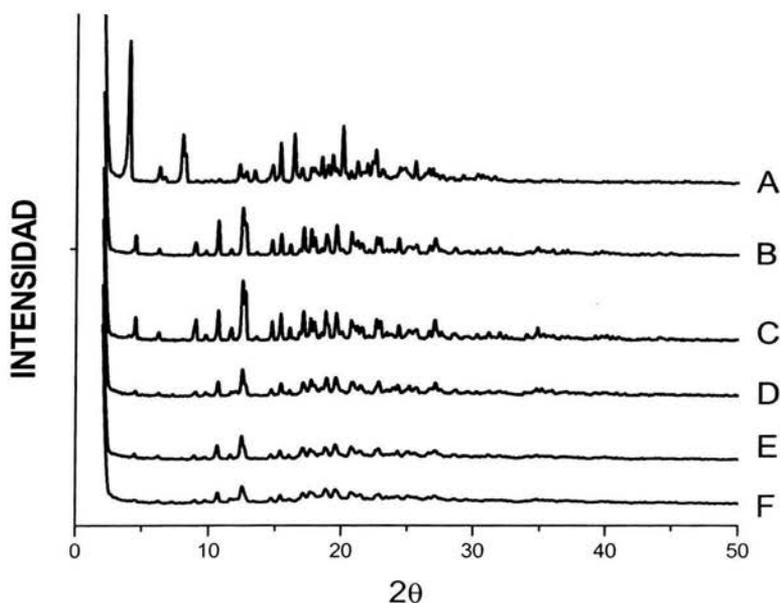


Gráfica 33. Difractogramas de los complejos de inclusión entre PZQ y β -CD, en diferentes relaciones molares a la presión normal de trabajo (P0). (A) PZQ, (B) β -CD, (C) CI-PZQ- β -CD 1:1, (D) CI-PZQ- β -CD 1:5, (E) CI-PZQ- β -CD a 1:10.



Gráfica 34. Difractogramas de las MF y los CI entre PZQ y α -CD a la presión normal de trabajo (P0) y a 2Ton (P2), en la relación molar 1:1. (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD, (D) CI-PZQ- α -CD, (E) MF-PZQ- α -CD a P2, (F) CI-PZQ- α -CD a P2.

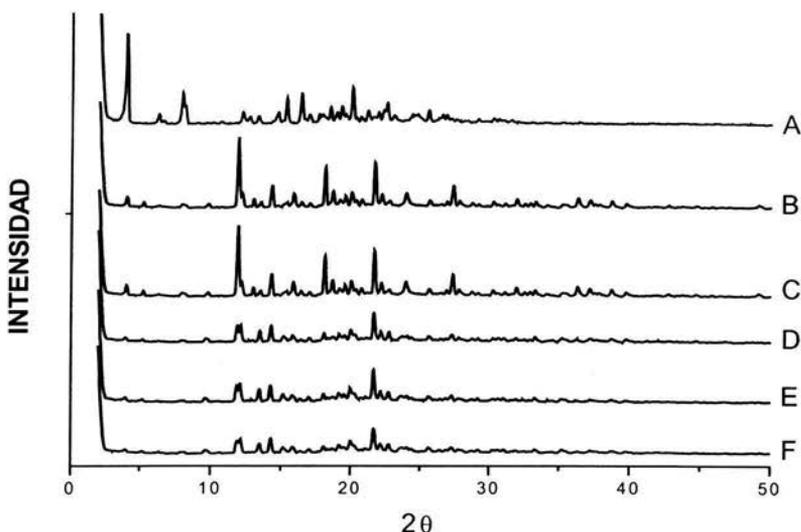
Por lo que respecta a la influencia de la presión, esta por si misma causa cambios en el estado cristalino de las sustancias que generalmente conduce a un estado más amorfo, lo cual implica también la inducción de complejación. La gráfica 34 demuestra el efecto que resulta de aplicar una presión igual a 2 Ton (P2) sobre la mezcla física y el complejo de inclusión, comparados con estos mismos a las condiciones normales del método de amasado y de la formación de la mezcla física. Lo que se observó fue que la aplicación de la presión provoca un estado más amorfo tanto en la mezcla física como en el complejo de inclusión, de hecho si comparamos el difractograma D y E, se ve que hay muchas diferencias, inclusive se podría decir que la mezcla física donde se aplico presión, es más amorfa que el complejo de inclusión donde no se aplicó presión. Lo anterior podría ser debido al hecho de que la presión aplicada sobre la muestra podría provocar la disminución de la cristalinidad, no obstante, apoyados en los datos anteriores, se pude decir que el cambio a un estado más amorfo es debido a la aunque escasa pero formación de complejos del PZQ.



Gráfica 35. Difractogramas de las MF y los CI entre PZQ y β -CD a la presión normal de trabajo (P0) y a 2Ton (P2), en la relación molar 1:10. (A) PZQ, (B) β -CD, (C) MF-PZQ- β -CD, (D) CI-PZQ- β -CD, (E) MF-PZQ- β -CD a P2, (F) CI-PZQ- β -CD a P2.

En la figura 35, donde se analiza este mismo efecto para la β -CD, se tiene un patrón muy semejante al de la α -CD, esto es, la aplicación de la fuerza de compresión resulta en un producto más amorfo, debiéndose a ello la desaparición de algunos picos y la disminución de algunos otros. Al igual que en el caso anterior, la mezcla física donde se aplicó presión muestra un comportamiento similar al complejo de inclusión a la P0, demostrándose con esto que la presión aplicada sobre las mezcla físicas resulta en la formación de complejos de inclusión.

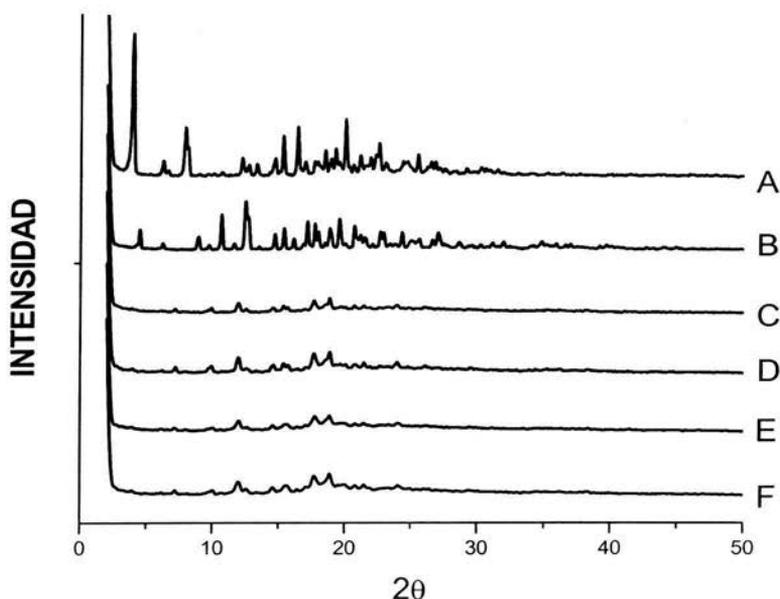
Como se mencionó, el cambio a un estado más amorfo se da por la formación de complejos de inclusión y por la aplicación de una presión dada. La gráfica 36 muestra los difractogramas de la mezcla física PZQ- α -CD en la relación molar 1:1 a diferentes presiones. En este caso se ve que a partir de la primera presión, el cambio a un estado más amorfo es evidente, pero al aumentar el nivel de presión, este cambio no se hace más



Gráfica 36. Difractogramas de las MF entre PZQ y α -CD a diferentes presiones en la relación molar 1:1. (A) PZQ, (B) α -CD, (C) MF-PZQ- α -CD a P0, (D) MF-PZQ- α -CD a P1, (E) MF-PZQ- α -CD a P2, (F) MF-PZQ- α -CD a P3.

significativo, es decir, que la presión no influye de manera significativa en la complejación del PZQ por la α -CD puesto que la muestra no se torna más amorfa al aumentar la presión. Estos resultados concuerdan con los ya presentados y discutidos en los estudios de EIR y DSC, donde se vio que la cavidad de la ciclodextrina no es óptima para incluir las moléculas de PZQ. Para el caso de la β -CD (gráfica no mostrada) el comportamiento es parecido al que se muestra con la α -CD, sin embargo, la diferencia radica en que el producto es más amorfo comparado con su similar con α -CD, lo cual significa que se da mejor la complejación con la β -CD.

Por su parte, los complejos de inclusión de ambas ciclodextrinas no disminuyeron de manera significativa el estado amorfo después de la complejación por el método de amasado, es decir, la presión ejercida sobre los CI no aumenta de manera significativa la complejación, de hecho, los difractogramas obtenidos a las diferentes presiones en la relación molar 1:1 no muestran diferencias significativas.

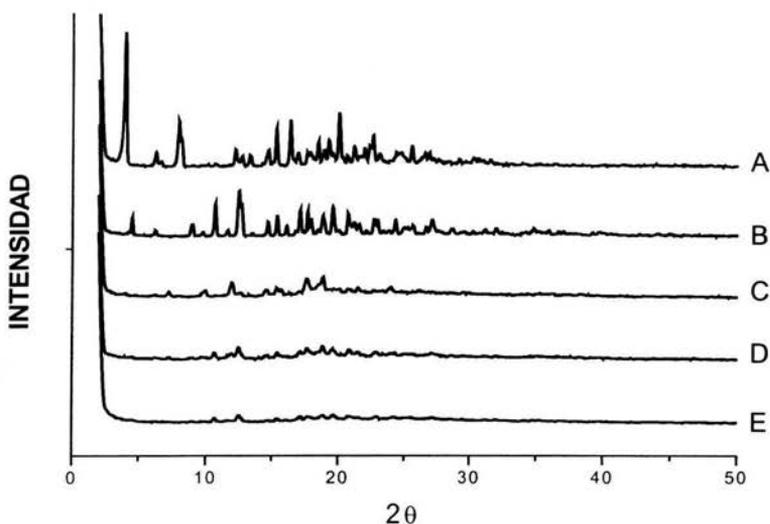


Gráfica 37. Difractogramas de los CI entre PZQ y β -CD a diferentes presiones, en la relación molar 1:1. (A) PZQ, (B) β -CD, (C) CI-PZQ- β -CD a P0, (D) CI-PZQ- β -CD a P1, (E) CI-PZQ- β -CD a P2, (F) CI-PZQ- β -CD a P3.

La presión lleva a un límite, o bien, el sistema llega a un límite a partir del cual las partículas ya no se vuelven más amorfas, permitiendo con ello discernir la influencia de la presión en la formación de complejos de inclusión a partir de MF como se hizo en IR y DSC.

El comportamiento debido a la influencia de la relación molar en presiones elevadas fue similar tanto para la α -CD como para la β -CD. En ambas gráficas (no mostradas para la mezcla física), se observa la casi completa desaparición de algunos picos característicos, además que el estado amorfo parece no influenciarse por la relación molar, sino más bien por la presión ejercida.

Por el contrario, la gráfica 38 donde se compara el mismo efecto pero en los complejos de inclusión realizados por el método amasado, se observa que la relación molar sí influye un poco en el estado amorfo del sistema, siendo más amorfa la relación



Gráfica 38. Difractogramas de los CI entre PZQ y β -CD a diferentes relaciones molares a la presión de 1Ton (P1). (A) PZQ, (B) β -CD, (C) CI-PZQ- β -CD 1:1, (D) CI-PZQ- β -CD 1:5, (E) CI-PZQ- β -CD a 1:10.

molar 1:10 > 1:5 > 1:1, de lo cual se deduce que a mayor cantidad de CD, mayor será el estado amorfo, el cual no se ve influenciado por las diferentes presiones aplicadas.

Al igual que en DSC, se puede establecer la formación de complejos de inclusión entre praziquantel y β -CD, mediante el método de amasado, puesto que la intensidad de las bandas patrón de los complejos de inclusión, se ve disminuida con respecto a las mezclas físicas. Si bien, el análisis de rayos-X solo nos indica cambios en la estructura cristalina, los difractogramas obtenidos, nos ayudan a diferenciar entre una mezcla física y un complejo de inclusión, ya que ambos adoptan un estado amorfo.

En la formación de complejos de inclusión, el aumentar la cantidad de ciclodextrina, no aparenta tener algún efecto significativo ya que los difractogramas no varían apreciablemente de una relación molar a otra. Sin embargo, en la mezcla física, aumenta la intensidad de las bandas, de tal manera que pareciera que dicho efecto sea debido al incremento en la cantidad de ciclodextrina presente en la mezcla.

Por otra parte, la influencia de la presión ejercida se hace muy evidente, puesto que en los complejos de inclusión y más aun en las mezclas físicas, la intensidad de las bandas

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

aumenta de manera inversamente proporcional a la presión ejercida. Estos cambios indican que el complejo adopta una estructura amorfa, lo cual de acuerdo con lo comentado anteriormente, indica la formación de complejos de inclusión a partir de las mezclas físicas por efecto mecánico de la presión ejercida.

6. CONCLUSIONES.

- La formación de complejos de inclusión puede llegarse a dar como resultado de ejercer una presión dada sobre una mezcla física, por lo que la fuerza de compresión representa un mecanismo alternativo para la formación de complejos de inclusión entre ciclodextrinas y moléculas hidrofóbicas tales como el praziquantel.
- La fuerza de compresión aplicada sobre los complejos de inclusión realizados por el método de amasado aumenta la eficacia de la complejación.
- La β -CD tiene mayor capacidad de formar complejos de inclusión que la α -CD, cuando se utiliza praziquantel como molécula huésped.
- Así mismo, al aumentar la relación molar PZQ-CD, aumenta la eficacia de la complejación.

Los resultados mostrados anteriormente nos indican la importancia de la fuerza de compresión durante la producción de tabletas utilizando ciclodextrinas como aditivos puesto que se puede dar la formación de complejos de inclusión durante el proceso de compresión, lo cual favorecería a los fármacos cuya velocidad de disolución es una limitante para su absorción, además de mejorar otras características fisicoquímicas y reológicas como velocidad de flujo, índice de compresibilidad, dureza, tamaño de partícula etc.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Tay-Zavala Jorge, L.-A. R. *Parasitología Médica* (Méndez Editores, México, 1996).
2. Flisser Ana, M. F. *Cisticercosis Humana y Porcina* (Limusa-Noriega, México, 1989).
3. Flisser Ana, M. I., Delgado Héctor. *Cisticercosis Humana El Manual Moderno*, México DF., 1997).
4. Andrews, P. Praziquantel: Mechanism of antischistosomal activity. *Pharm. Therap.* **29**, 129-156 (1985).
5. Pene P., M. M., Garin J.P., Coulaud J.P. Albendazole: A new broad spectrum antihelminthic. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **31**, 263-266 (1982).
6. Hardman Joel G., L. L. E. *Goodman and Gilman Las Bases Farmacológicas de la terapéutica* (Mc-Graw Hil, México DF., 1996).
7. WHO. (1996).
8. Merc. *Index Merck* (1999).
9. Heiko Meier, G. B. Investigation of Praziquantel metabolism in isolated rat hepatocytes. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis* **26**, 409-415 (2001).
10. Silvia Kocova El-Arini, H. L. Dissolution properties of praziquantel-PVP systems. *Pharmaceutica Acta Helveticae* **73**, 89-94 (1998).
11. Gordon Becket, L. J. S., Mun Yee Tan. Improvement of the in vitro dissolution of praziquantel by complexation with a,b and g ciclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics* **179**, 65-71 (1999).
12. Heiko Meier, G. B. Capillary electrochromatography–electrospray ionization mass spectrometry for the qualitative investigation of the drug etodolac and its metabolites in biological samples. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* **748**, 221-231 (2000).
13. Dirk Schepmann, G. B. isolation and identification of 8-hydroxypraziquantel as a metabolite of the antischistosomal drug praziquantel. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis* **26**, 791-799 (2001).
14. Masimirembwa, C. M., Naik, Y. S. & Hasler, J. A. Effect of chloroquine on the pharmacokinetics and metabolism of praziquantel in rats and in humans. *Biopharmaceutics & Drug Disposition* **15**, 33-43 (1994).

15. Metwally, A., Bennett, J. L., Botros, S. & Ebeid, F. Effect of cimetidine, bicarbonate and glucose on the bioavailability of different formulations of praziquantel. *Arzneimittel-Forschung* **45**, 516-518 (1995).
16. Cioli, D. Chemoterapy of Schistosomiasis. *Parasitology Today* **14**, 418-421 (1998).
17. Cunha V.M.N., N. F. Praziquantel has no direct effect on (Na⁺, K⁺)-ATPases of *Schistosoma mansoni*. *Life Science* **60**, 289-294 (1997).
18. Matsumoto, J. Adverse effects of praziquantel treatment of *Schistosoma japonicum* infection: involvement of host anaphylactic reactions induced by parasite antigen release., (2002).
19. Nega Berhe, S. G., Fekadu Abebe, Hailu Birrie, Girmany Medhin, Teferi Gemetchu. Praziquantel side effects and efficacy related to *Schistosoma mansoni* egg loads and morbidity in primary school children in north-east Ethiopia. *Acta Tropica* **72**, 53-63 (1999).
20. Balzoni V, S. F. *Supramolecular Photochemistry* (Horwood Limited, 1991).
21. Szejtli, J. Introduction and General Overview of Cyclodextrin. *Chemistry Chem. Rev.* **98** (1998).
22. Lean, J. M. La química supramolecular. *Mundo Científico* **2**, 20-27 (1982).
23. Pedersen, C. J. Cyclic Polyethers and their Complexes with Metal Salts. *J. Am. Chem. Soc.* **89**, 7017 (1967).
24. Dietrich B., J. M. L., J.P. Sauvage. Diaza-Polyoxa-Macrocycles et Macrobicycles. *Tetrahedron Letters*, 2885 (1969).
25. Hancock R.D., M. A. E. Macrocycles and their selectivity for Metal Ions on the Basis of Size. *Pure and applied Chemistry* **58**, 1445 (1986).
26. Duchene, D., Vaution, C. & Glomot, F. Cyclodextrins, their value in pharmaceutical technology. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **12**, 2193-2215 (1986).
27. Loftsson, T. & Brewster, M. E. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **85**, 1017-1025 (1996).
28. Stella, V. J., and Rajewski, R. A. Cyclodextrins: Their Future in Drug Formulation and Delivery. *Pharmaceutical Research* **14**, 556-567 (1997).
29. Szejtli, J. *Cyclodextrin Technology* (Kluwer Academic, USA, 1988).

30. Gerold Mosher, D. O. T. in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* (ed. James Swarbrick, J. C. B.) 531-552 (Marcel Dekker, USA, 2002).
31. Giordano, F., Novak, C., Moyano J.R. Thermal analysis of ciclodextrins and their inclusion compounds. *Thermochimica Acta* **380**, 123-151 (2001).
32. Muller-Goymann, C. C. New excipients for the use in dermatics and cosmetics. *Parfuemerie und Kosmetik* **73**, 452, 454-455, 458-460 (1992).
33. Jeong, S. H., Lee, C. K., Cho, W. G., Kang, S. H. & Uekama, K. Improvement in some physicochemical and biological properties of LG106W by inclusion complexation with beta-cyclodextrin and its derivatives. *Journal of Cosmetic Science* **51**, 227-237 (2000).
34. Mosinger, J., Tománková, V., Nemcova, I. and Zyka, J. Cyclodextrins in Analytical Chemistry. *Analytical Letters* **34**, 1979-2004 (2001).
35. Rodríguez-Galán, I. C. in *tratado de Farmacia Galénica* (ed. Trillo, F. I.) (Luzan, Madrid, 1993).
36. Castillo, J. A., Palomo-Canales, J., García, J.J., Lastres, J.L., Bolas, F. and Torrado, J.J. Preparation and Characterization of Albendazole b-Cyclodextrin Complexes. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **25**, 1241-1248 (1999).
37. Fernandes, C. M. V., M.T. and Veiga, F.J.B. Physicochemical characterization and in vitro dissolution behavior of nicarpide-cyclodextrins inclusion compounds. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **15**, 79-88 (2002).
38. Mura, P., Adragna, E., Rabasco, A.M., Moyano, J.R., Pérez- Martínez J.I., Arias, M.J., and Gines, J.M. Effects of the Host Cavity Size and the Preparation Method on the Physicochemical Properties of Ibuprofen-Cyclodextrin Systems. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **25**, 279-287 (1999).
39. Mura, P., Faucci M.T., Manderioli, A., Bramanti, G. Influence of the preparation method on the physicochemical properties of binary systems of econazole with cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics* **193**, 85-95 (1999).
40. Arias-Blanco, M. J., Moyano, J.R., Pérez-Martínez J.I. and Gines, J.M. Study of the inclusion of glicazide in β cyclodextrin. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis* **18**, 275-279 (1998).

41. Mura, P. et al. Interactions of ketoprofen and ibuprofen with beta-cyclodextrins in solution and in the solid state. *International Journal of Pharmaceutics* **166**, 189-203 (1998).
42. Mereino, C., Junquera, E., Jimenez-Barbero, J. and Aicart, E. Effect of the Presence of $\delta\alpha$ Cyclodextrin on the Solution Behavior of Procaine Hydrochloride. Spectroscopic and Thermodynamic Studies. *Langmuir* **16**, 1557-1565 (2000).
43. Junquera, E. a. A., E. Thermodynamic Analysis of the Binding of a Hepatoprotectant Drug, Thiocetic Acid, by β -Cyclodextrin. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **88**, 626-631 (1999).
44. Mura, P., Faucci M.T., Parrini, P.L., Furlanetto, S. and Pinzauti, S. Influence of the preparation method on the physicochemical properties of ketoprofen-cyclodextrin binary systems. *International Journal of Pharmaceutics* **179**, 117-128 (1999).
45. Moore, E., Bergamo, R. and Casella, R. Direct Compression of four $\delta\alpha$ -Cyclodextrin Complexes Formed by Neutralizing an Acidic Drug. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **26**, 1259-1270 (2000).
46. Jarho, P., Vander Velde, D. & Stella, V. J. Cyclodextrin catalyzed deacetylation of spironolactone is pH and cyclodextrin dependent. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **89**, 241-249 (2000).
47. Duerst, M. D. in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* (ed. James Swarbrick, J. C. B.) 2519-2534 (Marcel Dekker, USA, 2002).
48. Heise, H. M. in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* (ed. James Swarbrick, J. C. B.) 2489-2500 (Marcel Dekker, USA, 2002).
49. Rastogi, R. S. S. in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* (ed. James Swarbrick, J. C. B.) 3005-3019 (Marcel Dekker, USA, 2002).
50. Nakai, Y. Molecular Behavior of Medicinals in Ground Mixtures with Microcrystalline Cellulose and Cyclodextrins. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **12**, 1017-1039 (1986).
51. Giron, D. in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* (ed. James Swarbrick, J. C. B.) 2766-2793 (Marcel Dekker, USA, 2002).
52. Giodarno, F. B., G.; Bettinetti, G.P. Solid State Microcalorimetry on Drug Cyclodextrin Binary Systems. *J. Thermal. Anal.* **38**, 2683-2690 (1992).

53. Chun, I. K. & Yun, D. S. Inclusion complexation of hydrocortisone butyrate with cyclodextrins and dimethyl-beta-cyclodextrin in aqueous solution and in solid state. *International Journal of Pharmaceutics* **96**, 91-103 (1993).
54. Gerloczy, A., Hoshino, T. & Pitha, J. Safety of oral cyclodextrins: effects of hydroxypropyl cyclodextrins, cyclodextrin sulfates and cationic cyclodextrins on steroid balance in rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **83**, 193-196 (1994).
55. Irie, T., Uekama, K. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins III. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **86**, 147-162 (1997).
56. Rajewski, R. A. & Stella, V. J. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. Part 2. In vivo drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **85**, 1142-1169 (1996).
57. Panini, R., Vandelli, M. A., Forni, F., Pradelli, M. A. & Salvioli, G. Improvement of ursodeoxycholic acid bioavailability by 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin complexation in healthy volunteers. *Pharmacological Research* **31**, 205-209 (1995).
58. Vandelli, M. A. et al. 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin complexation with ursodeoxycholic acid. *International Journal of Pharmaceutics* **118**, 77-83 (1995).
59. Jarvinen, T., Jarvinen, K., Schwarting, N. & Stella, V. J. beta-Cyclodextrin derivatives, SBE4-beta-CD and HP-beta-CD, increase the oral bioavailability of cinnarizine in beagle dogs. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **84**, 295-299 (1995).
60. Tokumura, T., Tsushima, Y., Kayano, M., Machida, Y. & Nagai, T. Enhancement of bioavailability of cinnarizine from its beta-cyclodextrin complex on oral administration with DL-phenylalanine as a competing agent. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **74**, 496-497 (1985).
61. Studberg, S. D., Roy, A.K. and Woolley, J.L. Comparative pharmacokinetic and bioavailability studies of atovaquone in dogs 1. *Pharmaceutical Research* **13**, S-457 (1996).
62. Medlicott, N. J., Foster, K. A., Audus, K. L., Gupta, S. & Stella, V. J. Comparison of the effects of potential parenteral vehicles for poorly water soluble anticancer drugs (organic cosolvents and cyclodextrin solutions) on cultured endothelial cells (HUV-EC). *Journal of Pharmaceutical Sciences* **87**, 1138-1143 (1998).

63. Ma, D. Q., Rajewski, R. A. & Stella, V. J. New injectable melphalan formulations utilizing (SBE)7m-beta-CD or HP-beta-CD. *International Journal of Pharmaceutics* **189**, 227-234 (1999).
64. Ma, D. Q., Rajewski, R. A., Vander Velde, D. & Stella, V. J. Comparative effects of (SBE)7m-beta-CD and HP-beta-CD on the stability of two antineoplastic agents, melphalan and carmustine. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **89**, 275-287 (2000).
65. Miyake, K. et al. Improvement of solubility and oral bioavailability of rutin by complexation with 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Pharmaceutical Development & Technology* **5**, 399-407 (2000).
66. Samy, E. M., Hassan, M. A., Tous, S. S. & Rhodes, C. T. Improvement of availability of allopurinol from pharmaceutical dosage forms. Part I. Suppositories. *European Journal of Pharmaceutics & Biopharmaceutics* **49**, 119-127 (2000).
67. Chutimaworapan, S., Ritthidej, G. C., Yonemochi, E., Oguchi, T. & Yamamoto, K. Effect of water soluble carriers on the dissolution characteristics of nifedipine solid dispersions. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **26**, 1141-1150 (2000).
68. McCormack, B. & Gregoriadis, G. Drugs-in-cyclodextrins-in-liposomes: approach to controlling the fate of water insoluble drugs in vivo. *International Journal of Pharmaceutics* **162**, 59-69 (1998).
69. Cavalli, R., Peira, E., Caputo, O. & Gasco, M. R. Solid lipid nanoparticles as carriers of hydrocortisone and progesterone complexes with beta-cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics* **182**, 59-69 (1999).
70. Da Silveira, A. M., Ponchel, G., Puisieux, F. & Duchene, D. Combined poly(isobutylcyanoacrylate) and cyclodextrins nanoparticles for enhancing the encapsulation of lipophilic drugs. *Pharmaceutical Research* **15**, 1051-1055 (1998).
71. Filipovic-Grcic, J. et al. Chitosan microspheres with hydrocortisone and hydrocortisone-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin inclusion complex. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **9**, 373-379 (2000).
72. Jivraj, M., Martini, L.G. and Thompson, C. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. *Pharmaceutical Science Technology Today* **3**, 58-63 (2000).
73. Gennaro, A. R. *Remington Farmacia* (Médica-Panamericana, 1995).

74. Jiménez-Castellanos, M. R. a. M.-R., A. in *Tratado de Farmacia Galénica* (ed. Trillo, F. I.) 521-541 (Luzan, Madrid, 1993).
75. NaKai, Y., Yamamoto, K. Terada, K. and Kajiyama, A. Relationship between crystallinity of beta-cyclodextrin and tablet characteristics. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **35**, 5110-5112 (1985).
76. Uekama, K., Oh, K., Irie, T., Otagari, M. and Nara, T. Stabilization of isosorbide 5-mononitrato in solid state by betacyclodextrin complexation. *International Journal of Pharmaceutics* **25**, 339-346 (1985).
77. El Shaboury, M. H. Physical properties and dissolution profiles of tablets directly compressed with beta-cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics* **63**, 95-100 (1990).
78. Saleh, S. I. beta-Cyclodextrin as a direct compression excipient compared to conventional ones. *Journal de Pharmacie de Belgique* **48**, 371-377 (1993).
79. Pande, G. S. & Shangraw, R. F. Characterization of beta-cyclodextrin for direct compression tableting. *International Journal of Pharmaceutics* **101**, 71-80 (1994).
80. Pande, G. S. & Shangraw, R. F. Characterization of beta-cyclodextrin for direct compression tableting II. *International Journal of Pharmaceutics* **124**, 231-239 (1995).
81. Maggi, L., Conte, U. and Bettinetti, G.P. Technological properties of crystalline and amorphous alpha-cyclodextrin hydrates. *International Journal of Pharmaceutics* **172**, 211-217 (1998).
82. Munoz-Ruiz, A. & Paronen, P. Time-dependent densification behavior of cyclodextrins. *Journal of Pharmacy & Pharmacology* **48**, 790-797 (1996).
83. Tsai, T., Wu, J. S., Ho, H. O. & Sheu, M. T. Modification of physical characteristics of microcrystalline cellulose by codrying with beta-cyclodextrins. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **87**, 117-122 (1998).
84. Wu, J. S., Ho, H. O. & Sheu, M. T. Influence of wet granulation and lubrication on the powder and tableting properties of codried product of microcrystalline cellulose with beta-cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutics & Biopharmaceutics* **51**, 63-69 (2001).
85. Suihko, E. et al. Deformation behaviors of tolbutamide, hydroxypropyl-beta-cyclodextrin, and their dispersions. *Pharmaceutical Research* **17**, 942-948 (2000).

86. Suihko, E. et al. Complexation with tolbutamide modifies the physicochemical and tableting properties of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics* **215**, 137-145 (2001).
87. Tasic, L. M. & Pintye-Hodi, K. Certain rheological behavior of paracetamol solid dispersion powders. *Bollettino Chimico Farmaceutico* **135**, 401-408 (1996).
88. Tasic, L., Pintye-Hodi, K. & Sabo-Revesz, P. Evaluation of compression behavior of paracetamol tablets produced with beta-cyclodextrin dispersions. Part 2. Energy distribution study of tablets. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **23**, 1153-1158 (1997).
89. Khan, K. A. & Rhodes, C. T. Effect of variation in compaction force on properties of six direct compression tablet formulations. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **65**, 1835-1837 (1976).
90. Comoglu, T., Goenuel, N. & Baykara, T. The effects of pressure and direct compression on tableting of microsponges. *International Journal of Pharmaceutics* **242**, 191-195 (2002).
91. Collen, E. a. M., C. The Influence of Varying Precompaction and Main Compaction Profile Parameters on the Mechanical Strength of Compacts. *Pharmaceutical Development & Technology* **5**, 495-505 (2000).
92. Garekani, H. A., Ford, J.L., Rubinstein, M.H. and Ali, R.R. Effect of Compression Force, Compression Speed, and Particle Size on the Compression Properties of Paracetamol. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **27**, 935-942 (2001).
93. Shangraw, R. F., Pande, G. S. & Gala, P. Characterization of the tableting properties of beta-cyclodextrin and the effects of processing variables on inclusion complex formation, compactibility and dissolution. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **18**, 1831-1851 (1992).
94. Ghorab, M. K. a. A., C. Enhancement of Ibuprofen Dissolution via Wet Granulation with beta-cyclodextrin. *Pharmaceutical Development & Technology* **6**, 305-314 (2001).
95. Heinz, R., Wolf, H., End, L. and Kolter, K. Formulation and development of Tablets Based on Ludipress and Scale-Up from Laboratory to Production Scale. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **26**, 513-521 (2000).