

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

MICROENCAPSULACIÓN DE BETABLOQUEADORES
CON CICLODEXTRINAS.
CARACTERIZACIÓN TERMODINÁMICA

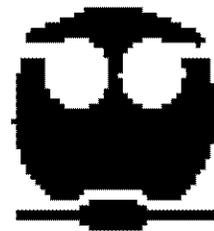
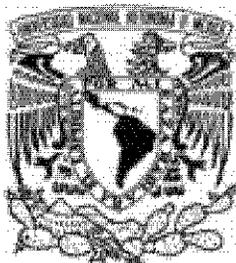
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A

MARTÍNEZ HERNÁNDEZ MARÍA GUILLERMINA



CD. UNIVERSITARIA MÉXICO DF

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE Prof. Josefina Viades Trejo

VOCAL Prof. Silvia del Socorro Pérez Casas

SECRETARIO Prof. Norma Trinidad González Monzón

1er. SUPLENTE Prof. Yuri Hueda Tanabe

2do. SUPLENTE Prof. Natividad García Escamilla

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Termofísica
Departamento de Físicoquímica
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

ASESOR:

DRA. SILVIA DEL SOCORRO PÉREZ CASAS

SUSTENTANTE:

M^a. GUILLERMINA MARTÍNEZ HERNÁNDEZ

Este trabajo fue realizado con el apoyo de CONACYT (proyectos 32253-E y 41328) y de la Dirección General de Personal Académico de la UNAM (IN113302)

AGRADESCO Y DEDICO EL PRESENTE TRABAJO...

A Dios,

Por permitirme gozar de esta vida, ya que me concedió el valor y fortaleza para lograr cumplir esta meta y seguir en pie de lucha constante.

A mi Mama,

Por ser el pilar de mis esfuerzos, por su paciencia, apoyo y consejos, por todo el amor que me da, ella es mi mayor impulso a seguir adelante y motivo para luchar por mis sueños,

A mis hermanas Laura, Patricia y Sonia,

Por todo su cariño, apoyo incondicional y motivación constante para lograr este sueño que también es suyo, porque siempre han contribuido a mi crecimiento.

A mis hermanos Fernando, Alejandro y Daniel,

Por el cariño y apoyo que me brindan, porque siempre me han motivado a lograr esta meta que es suya también y han hecho que sea la persona que soy.

A mis sobrinos Lisandro, Christian, Erick, Jessica, Jesús, Carlos † y Alonso,

Por ser mi fuente de inspiración para logra este sueño, por hacer de mi vida un torrente de alegrías desde mi infancia hasta ahora y siempre, mis niños de mi alma.

A la Prof. Ivonne F. Barrios †,

Por siempre haber tenido fe y confianza en que llegara a este punto, por sus enseñanzas y forjar en mí la sensibilidad al estudio para crecimiento profesional y personal.

A Sayuri, Liliana y Claudia,

Por su amistad incondicional, por compartir, escuchar, alentar y darme tanto de sus vidas, ya que me han dado alas para llegar a esta estrella.

A César,

Porque me has dado aliento, apoyo, amor y comprensión para lograr este sueño, pero sobre todo por mostrarme que el amor verdadero existe, el cual me brindas cada día.

*A Karla, Nohemí, Elizabeth, Mónica, Minerva y Adriana,
Por ser mis cómplices en esta aventura denominada carrera, por brindarme su amistad incondicional en todo momento e impulsar que se alcanzara esta ilusión.*

*A Víctor, Rene, Quique, Pancho, Rafa, Ricardo, Roberto y Sergio,
Por brindarme su amistad, apoyo que me alentó siempre a dar lo mejor de mí y por ser mis cómplices también en esta carrera.*

*A Rocío, Jorge y Néstor,
Porque enriquecieron mi vida con su amistad y su apoyo incondicional pero también constante para darme el aliento de terminar esta carrera.*

*A la Dra. Silvia Pérez Casas,
Por brindarme su tiempo, paciencia, apoyo y la oportunidad de realizar este trabajo a su lado, ya que creyó en mí y me hizo crecer mucho.*

*A mis compañeros del Lab. 102 de Termofísica,
Por los momentos de alegría y compañerismo, que durante mi estancia ahí me hicieron feliz.*

*A mis profesores,
Por sus aportaciones no sólo académicas sino también por sus enseñanzas sobre la vida que me enriquecieron y me hicieron crecer como persona.*

*A todos mis demás amigos Q. 's, I.Q.'s, Q.F.B. 's, Q.A. 's e I.Q.M.'s,
Por su amistad y brindarme su valioso tiempo en mi estancia en la facultad.*

*A mi Universidad y Facultad de Química
Por acogerme y permitirme obtener las herramientas necesarias para lograr llegar a ser profesionalista. "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU".*

A todos aquellos que me faltaron por mencionar pero que están en mi corazón y mi mente, también con mucho cariño, porque son importantes en mi vida.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	3
<i>OBJETIVO</i>	4
<i>HIPÓTESIS</i>	5
GENERALIDADES	7
<i>FÁRMACOS</i>	8
• <i>Etiología de la hipertensión</i>	8
• <i>Fármacos antihipertensivos</i>	11
• <i>Antagonistas β-adrenérgicos</i>	13
▪ <i>Propiedades químicas</i>	14
▪ <i>Propiedades farmacológicas</i>	15
▪ <i>Efectos adversos</i>	17
▪ <i>Clasificación de los antagonistas β-adrenérgicos</i>	18
<i>CICLODEXTRINAS</i>	22
• <i>Estructura química y propiedades fisicoquímicas</i>	25
▪ <i>Ciclodextrinas nativas</i>	25
▪ <i>Ciclodextrinas modificadas</i>	29
• <i>Grados de sustitución molecular</i>	30
• <i>Perfil biológico de las ciclodextrinas</i>	31
▪ <i>Degradación enzimática de las ciclodextrinas</i>	31
▪ <i>Absorción y metabolismo de las ciclodextrinas en mamíferos</i>	31
▪ <i>Toxicidad de las ciclodextrinas</i>	34
FUNDAMENTO TERMODINÁMICO	35
<i>INTERACCIÓN FARMACO-CICLODEXTRINA</i>	36
• <i>Parámetros termodinámicos</i>	36
• <i>Modelo de estudio</i>	37
▪ <i>Equilibrio de formación</i>	37
▪ <i>Determinación de K y ΔH</i>	38
▪ <i>Determinación de ΔG y ΔS</i>	41

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	43
<i>CALORIMETRÍA ISOTÉRMICA DE TITULACIÓN</i>	44
• <i>Descripción de la técnica</i>	44
• <i>Funcionamiento general del calorímetro</i>	45
• <i>Descripción del equipo TAM</i>	47
<i>EQUIPOS, MATERIAL Y REACTIVOS</i>	50
<i>ARREGLO EXPERIMENTAL</i>	52
<i>CONDICIONES EXPERIMENTALES</i>	53
RESULTADOS	54
<i>OBTENCIÓN DE LOS DATOS EXPERIMENTALES</i>	55
<i>VALORES DE LOS PARÁMETROS TERMODINÁMICOS</i>	58
ANÁLISIS DE RESULTADOS	62
<i>ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS CD-F</i>	63
• <i>Consideraciones previas</i>	63
<i>FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE PROPANOLOL-CD'S</i>	64
<i>FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE LABETALOL-CD'S</i>	67
<i>FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE TIMOLOLOL-CD'S</i>	70
<i>FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE ALPRENOLOL-CD'S</i>	74
<i>FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE ACEBUTOLOL-CD'S</i>	77
<i>FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE ATENOLOL-CD'S</i>	77
CONCLUSIONES	78
<i>CONCLUSIONES GENERALES DEL PROCESO DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS β-BLOQUEADOR-CD</i>	79
<i>CONSIDERACIONES PARA TRABAJO A FUTURO</i>	80
BIBLIOGRAFÍA	81

INTRODUCCIÓN

El propósito principal de los sistemas de liberación de fármacos es transportar la cantidad adecuada de manera eficiente y efectiva en el sitio blanco durante el periodo de tiempo necesario. Para diseñar formas de dosificación avanzada, se han empleado materiales acarreadores que además minimizan las propiedades indeseables de los fármacos. Las **ciclodextrinas** son candidatos potenciales para desarrollar este papel debido a su habilidad de alterar propiedades físicas, químicas y biológicas de las moléculas huésped a través de la formación de **complejos de inclusión**. Por ejemplo están involucrados en la posibilidad de incrementar la solubilidad en agua de los fármacos y su estabilidad en solución. Por otro lado, los **betabloqueantes adrenérgicos** constituyen, junto a los diuréticos, los fármacos recomendados como agentes de primera fila en el tratamiento de la hipertensión arterial (HTA). Sus efectos antihipertensivos no son del todo bien conocidos, pero sí se sabe de su eficacia para controlar la HTA. El principal efecto de los **betabloqueantes** es el descenso del ritmo cardiaco y de la fuerza de la contracción cardiaca, por ejemplo, el **alprenolol** es un antagonista de los receptores beta adrenérgicos no selectivo, con actividad simpaticomimética intrínseca.

EL objetivo de este trabajo es determinar los parámetros termodinámicos de la formación de complejos betabloqueante-ciclodextrina en solución acuosa utilizando diversas ciclodextrinas tanto nativas como modificadas con la finalidad de determinar cuál de ellas resulta el más adecuado acarreador o encapsulador.

En este estudio se emplea la técnica de **microcalorimetría de titulación isotérmica** para obtener de manera directa la constante de formación del complejo betabloqueante-ciclodextrina y su calor de formación a 298.15 K en solución acuosa. Las energías de Gibbs y las entropías del proceso de formación del complejo serán calculadas utilizando las relaciones termodinámicas clásicas.

Se asume que en las reacciones de complejación, la estequiometría de reacción es 1:1 y dado que la formación de un complejo involucra la liberación o absorción de energía, podemos caracterizar la encapsulación de un betabloqueador por una ciclodextrina, mediante la determinación de parámetros termodinámicos para decidir cuál de las ciclodextrinas representa la mejor opción que mejore la absorción y estabilidad de dicho fármaco; siendo esta la hipótesis de este trabajo.

El capítulo 1, se divide en dos partes, en la primera parte se presentan las generalidades farmacológicas de los betabloqueantes adrenérgicos (uso terapéutico, clasificación, efectos secundarios). En la segunda parte se mencionan las características de la ciclodextrinas, como son su estructura, propiedades fisicoquímicas, farmacología, perfil biológico, su aportación en la formación de complejos fármaco-ciclodextrina (propiedades del complejo y su comportamiento a nivel biológico).

En el capítulo 2, se presenta el fundamento termodinámico, el modelo utilizado en el tratamiento de los datos y que permite para obtener los parámetros termodinámicos que caracterizan la formación de los complejos betabloqueante-ciclodextrina.

En el capítulo 3 se presentan la metodología experimental y las condiciones de trabajo experimental y cómo se llevó a cabo de manera experimental la formación de los complejos, además de la secuencia de experimentación.

Los resultados se encuentran el capítulo 4, y en el capítulo 5 se hace el análisis. Una vez analizados los resultados, se muestran las conclusiones en el capítulo 6, y además se presentan las sugerencias para trabajo futuro. La bibliografía, se encuentra en el capítulo 7.

GENERALIDADES

1. FÁRMACOS

ETIOLOGÍA DE LA HIPERTENSIÓN

La hipertensión arterial es una de las enfermedades crónicas de mayor prevalencia en México. Alrededor de 26.6% de la población de 20 a 69 años la padece, y cerca del 60% de los individuos afectados desconoce su enfermedad. Esto significa que en nuestro país existen más de trece millones de personas con este padecimiento, de las cuales un poco más de ocho millones no han sido diagnosticados. La hipertensión arterial es un importante factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares y renales. La mortalidad por estas complicaciones ha demostrado un incremento sostenido durante las últimas décadas. Por lo tanto, las enfermedades del corazón se encuentran entre las primeras causas de muerte [1].

La hipertensión arterial (HTA) se define como una enfermedad de etiología múltiple caracterizada por elevación persistente de la presión arterial sistólica, diastólica o de ambas [2].

El corazón es un órgano muscular que recibe sangre de las venas y la impulsa hacia las arterias (figura 1.1). En esencia esta formado por dos bombas que trabajan de manera simultanea, el lado derecho recibe sangre pobre en oxígeno de todo el cuerpo y la envía a los pulmones, mientras que el lado izquierdo recibe sangre rica en oxígeno y la devuelve al cuerpo. Cada lado del corazón tiene una aurícula que recibe sangre venosa y un ventrículo que impulsa la sangre a lo largo de las arterias. El ciclo cardiaco tiene dos fases: la diástole y la sístole [3].

A continuación se presentan algunas definiciones importantes:

Presión arterial: es la fuerza hidrostática de la sangre sobre las paredes arteriales, que resulta de la función de bombeo del corazón, volumen sanguíneo, resistencia de las arterias al flujo, y diámetro del lecho arterial [1].

Presión sistólica: se refiere al valor máximo de presión que se alcanza durante la sístole [3].

Presión diastólica: se refiere a la presión más baja durante la diástole [3].

Sístole: el punto alto o máximo, en el que el corazón se contrae para vaciar su sangre en la circulación [3].

Diástole: el punto bajo o mínimo, en el que el corazón se relaja para llenarse con la sangre que regresa de la circulación [3]

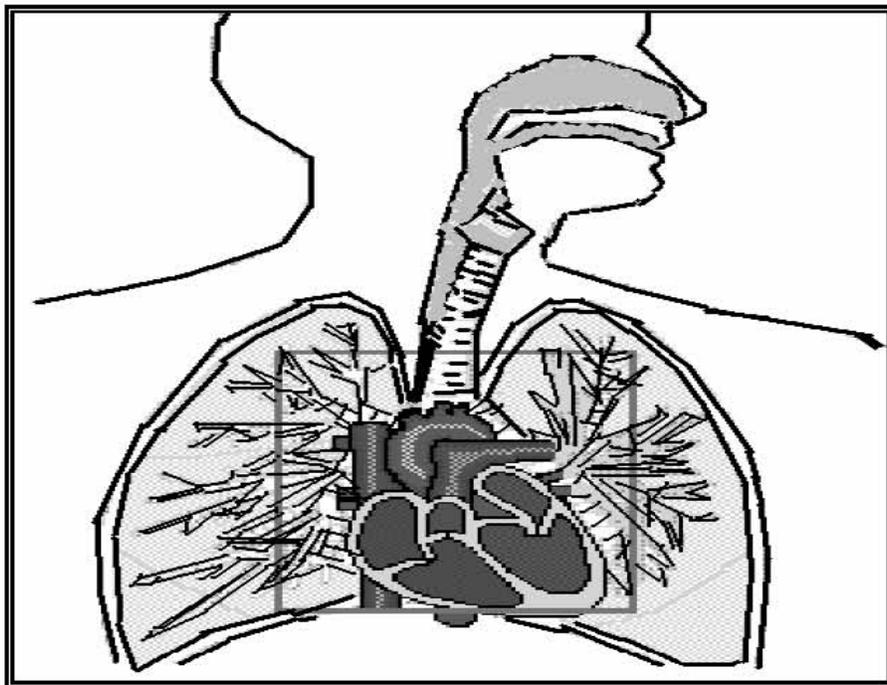


Figura 1.1 Esquema del corazón, el cual tiene un ciclo cardíaco de dos fases: la sístole y la diástole

La presión arterial (PA) se considera normal bajo la siguiente clasificación:

Presión Arterial (PA)	Sístole (mmHg)	Diástole (mmHg)
Óptima	<120	<80
Normal	120- 129	80-84
Normal alta	130-139	85-89

La HTA para fines de diagnóstico y tratamiento, se clasifica en tres etapas de acuerdo con los siguientes criterios:

Hipertensión Arterial (HTA)	Sístole (mmHg)	Diástole (mmHg)
Etapa 1	140-159	/90-99
Etapa 2	160-179	100-109
Etapa 3	≥180	≥110

Las condiciones que favorecen la presentación de la HTA, que la preceden y pueden predecir su aparición, son llamados factores predisponentes, entre los que se encuentran: [2]

Factores de riesgo modificables

- Diabetes Mellitus
- Sedentarismo o baja actividad física
- Hipercolesterolemia >200 mg/dL
- Sobrepeso (Índice de Masa Corporal (IMC) ≥27)
- Consumo de alcohol
- Tabaquismo

- Alimentación inadecuada
- Estrés
- Ingesta excesiva de sal (>6 g X día un consumo >2.4 g sodio y > 0.8 g potasio)

Factores de riesgo no modificables

- Género (masculino o mujer posmenopáusica)
- Antecedentes familiares (familiares en primer grado)
- Edad (mayor de 65 años)

FÁRMACOS ANTIHIPERTENSIVOS

Los antihipertensores pueden clasificarse según sus sitios o mecanismos de acción (cuadro 1.1). La presión arterial puede disminuirse mediante los efectos de fármacos sobre la resistencia vascular periférica, o el gasto cardiaco, o ambos. Los medicamentos que disminuyen el gasto cardiaco actúan al inhibir la contractilidad miocárdica o reducir la presión de llenado ventricular. Los fármacos que reducen la resistencia periférica actúan sobre el músculo liso para generar relajación de los vasos arteriales o al interferir con la actividad de los sistemas que producen constricción de los vasos; en este trabajo se estudian algunos de los fármacos clasificados como antagonistas β -adrenérgicos.

***Cuadro 1.1 CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIHIPERTENSIVOS SEGÚN SU SITIO
O MECANISMO DE ACCIÓN.***

DIURETICOS

- *Tiazidas y fármacos relacionados*
- *Diuréticos de asa*
- *Diuréticos ahorradores de K⁺*

SIMPATICOLITICOS

- *Fármacos de acción central*
- *Bloqueadores ganglionares*
- *Bloqueadores de neuronas adrenérgicas*
- *Antagonistas β-adrenérgicos*
- *Antagonistas α-adrenérgicos*
- *Antagonistas adrenérgicos mixtos.*

VASODILATADORES

- *Arteriales*
- *Arteriales y venosos*

BLOQUEADORES DE LOS CANALES DE Ca²⁺

INHIBIDORES DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA

ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE ANGIOTESINA II

ANTAGONISTAS β -ADRENÉRGICOS

Los fármacos denominados antagonistas de los receptores adrenérgicos inhiben la interacción de la noradrenalina, adrenalina y otras aminas simpaticomiméticas con los receptores adrenérgicos. Casi todos estos compuestos interaccionan con los receptores α o β .

Los antagonistas de los receptores β -adrenérgicos (bloqueadores β o betabloqueadores) han recibido una enorme atención clínica por su eficacia para tratar la hipertensión, la cardiopatía isquémica y algunas arritmias.

El **propranolol*** es un betabloqueador prototipo contra el cual se comparan los otros antagonistas β -adrenérgicos. Este fármaco tiene igual afinidad por los receptores β_1 y β_2 ; por tanto, es un antagonista β -adrenérgico no selectivo. Los compuestos como metoprolol y **atenolol*** tienen cierta afinidad mayor por los receptores β_1 que por los β_2 ; estos son ejemplos de antagonistas β_1 selectivo, aunque la selectividad no es absoluta. Diversos betabloqueadores por ejemplo el pindolol y **acebutolol*** activan a los receptores β parcialmente en la ausencia de catecolaminas, se dicen que son antagonistas parciales. Aunque la mayor parte de los antagonistas β -adrenérgicos no bloquean a los receptores α , **labetalol*** y carvedilol son ejemplos de fármacos que bloquean a los receptores α y β , o sea son mixtos.

* En negritas los fármacos que se estudiaron en este trabajo.

PROPIEDADES QUÍMICAS

En el cuadro 1.2, se ilustran las fórmulas estructurales de los betabloqueadores que son de aplicación clínica general y con los cuales se realizó el estudio. La ubicación de un grupo isopropilo o de otro sustitutivo voluminoso en el nitrógeno amino favorece la interacción con los receptores β -adrenérgicos. El receptor β -adrenérgico, como se ilustra en la figura 1.2, es un miembro de la familia de receptores acoplados a proteína G con siete dominios de amplitud de membrana. La letra Ψ indica sitios de N-glucosilación, además poseen una terminación con una amina por un lado y por el otro lado una terminación con un ácido carboxílico de su secuencia de aminoácidos que conforman las proteína G. Los antagonistas competitivos se fijan al receptor dentro del plano de la membrana [4].

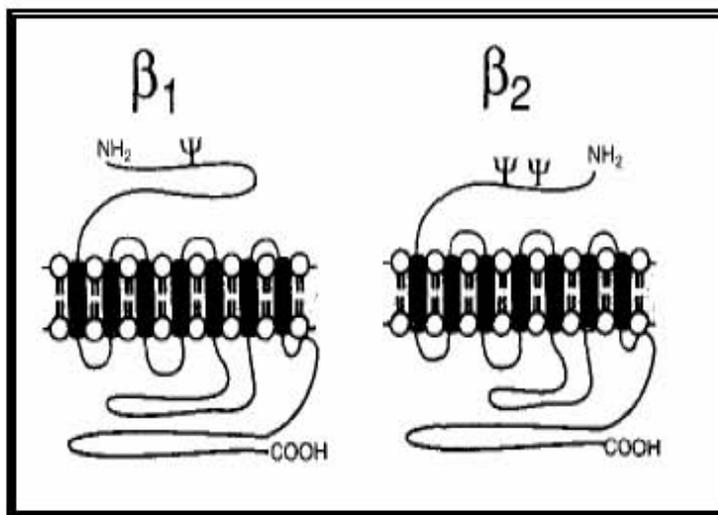
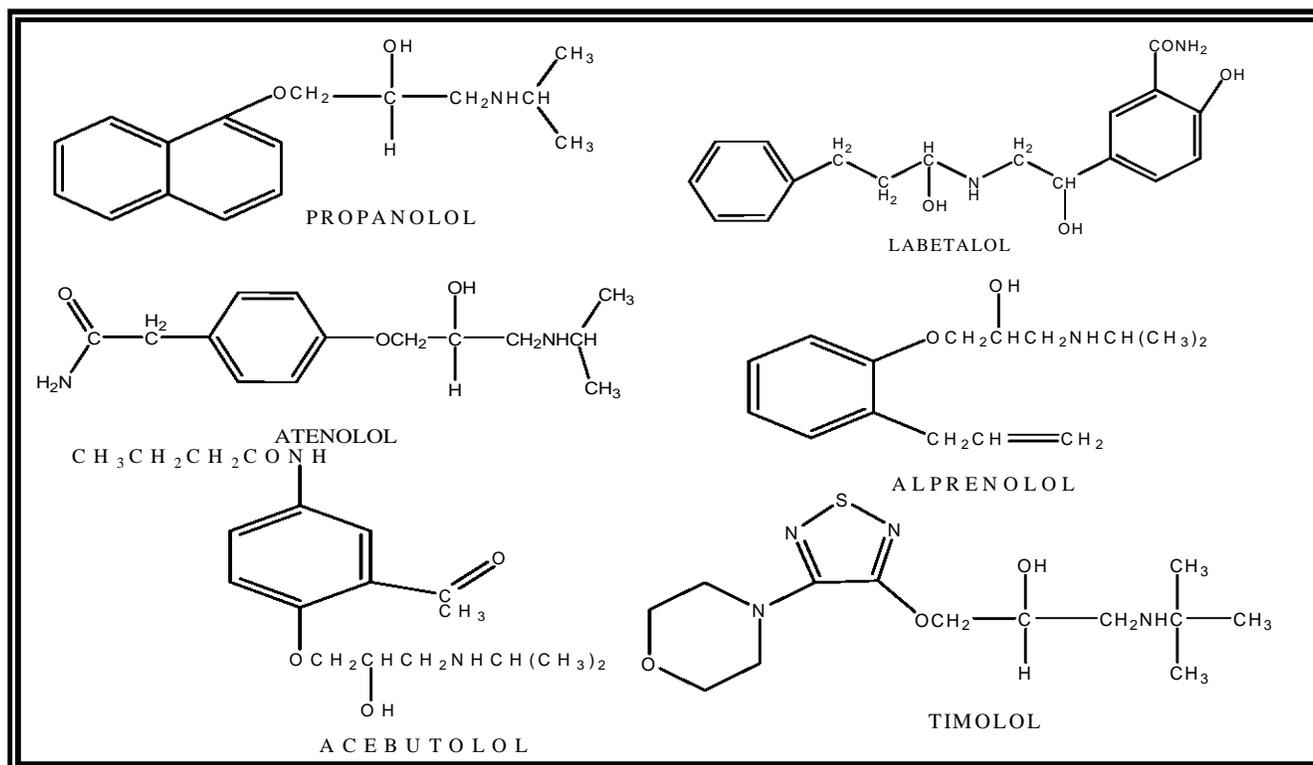


Figura 1.2 Receptores β -adrenérgicos, a los cuales se unen los fármacos de estudio

Cuadro 1.2 FÓRMULAS ESTRUCTURALES DE LOS ANTAGONISTAS β ADRENÉRGICOS



PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

Los bloqueadores β -adrenérgicos varían en cuanto a su liposolubilidad, selectividad por el receptor β_1 -adrenérgico, presencia de actividad simpaticomimética agonista parcial o intrínseca, y propiedades estabilizadoras de membrana. Independientemente de estas diferencias, todos los antagonistas β -adrenérgicos son igualmente eficaces como antihipertensores.

Casi todos los antagonistas β -adrenérgicos reducen el flujo sanguíneo renal a corto plazo, pero los informes de deterioro de la función renal vinculados con la administración a largo plazo de esos fármacos son infrecuentes [4].

Aparato cardiovascular. Los principales efectos terapéuticos de los antagonistas β -adrenérgicos se ejercen en el aparato cardiovascular. Es importante distinguir entre estos efectos en los sujetos normales y los que ocurren en los individuos con enfermedad cardiovascular, como la hipertensión.

Los antagonistas β -adrenérgicos disminuyen la frecuencia cardíaca y la contractilidad miocárdica. Este efecto es moderado en un grado correspondiente cuando es baja la estimulación tónica de los receptores β . Sin embargo, cuando se activa el sistema nervioso simpático, como sucede durante el ejercicio y estrés, los antagonistas β -adrenérgicos atenúan el incremento esperado de la frecuencia cardíaca. La administración de betabloqueadores a corto plazo disminuye el gasto cardíaco; la resistencia periférica aumenta a consecuencia del bloqueo de los receptores β_2 vasculares. El bloqueo de los receptores β pueden atenuar, además, la activación del metabolismo de la glucosa y la lipólisis que inducen las catecolaminas [4].

Actividad como fármacos antihipertensores. Los antagonistas β -adrenérgicos no producen reducción de la presión arterial en pacientes con presión arterial normal. Sin embargo, estos fármacos disminuyen la presión arterial en sujetos hipertensos.

Algunos antagonistas de los receptores β -adrenérgicos generan efectos adicionales que pueden contribuir a su capacidad para disminuir la presión arterial. Se ha sugerido que algunos betabloqueadores contribuyen a la vasodilatación periférica.

EFECTOS ADVERSOS

Las consecuencias farmacológicas del bloqueo de los receptores β algunas veces derivan en efectos adversos los cuales son infrecuentes; dichas reacciones adversas relacionadas con el bloqueo de los receptores β -adrenérgicos se presenta a continuación:

Los antagonistas β -adrenérgicos inducen insuficiencia cardiaca congestiva en pacientes sensibles, puesto que el sistema nervioso simpático ofrece un apoyo crucial para la función cardiaca en muchos individuos que tienen trastornos de la función miocárdica, además puede generar o exacerbar la insuficiencia cardiaca compensada (infarto agudo).

La bradicardia es una reacción normal al bloqueo de β -adrenérgico; sin embargo, en pacientes con defectos parciales o completos de la conducción auriculoventricular, pueden poner en peligro la vida del paciente. Además, la interrupción repentina de la administración de betabloqueadores después de un tratamiento prolongado puede agravar la angina e incrementar el riesgo de muerte repentina. No se conocen estrategias óptimas para interrumpir la administración de bloqueadores β , pero es prudente disminuir la dosis de manera gradual y restringir el ejercicio durante este periodo.

Los efectos adversos de los antagonistas β -adrenérgicos relacionados con el Sistema Nervioso Central (SNC) consisten en fatiga, trastornos del sueño (incluso insomnio y pesadillas) y depresión. Se ha puesto interés en la relaciones entre la incidencia de estos efectos y las características lipófilas de los diversos bloqueadores β . Sin embargo no se ha podido establecerse una correlación clara [4].

Los antagonistas β -adrenérgicos deben emplearse con gran precaución en los diabéticos proclives a reacciones hipoglucémicas; en ellos suele preferirse los agentes β_1 selectivos. Los β -bloqueadores también incrementan la concentración de los triglicéridos plasmáticos. Aunque está aumentando la experiencia en el empleo durante el embarazo, es limitada la información sobre la seguridad de estos fármacos durante la gestación.

Las manifestaciones de intoxicación por antagonistas β -adrenérgicos dependen de las propiedades del fármaco ingerido, en particular su selectividad β_1 , su actividad simpaticomimética intrínseca y sus propiedades estabilizadoras de la membrana.

CLASIFICACIÓN DE LOS ANTAGONISTAS β -ADRENÉRGICOS

Los fármacos que componen este grupo son muy heterogéneos y su aplicación en la HTA va a depender de tres características:

1. Selectividad para receptores β -1.
2. Actividad simpaticomimética intrínseca (ASI).
3. Actividad alfabloqueante asociada (mixtos).

En función de estos criterios, la familia de los betabloqueantes queda reflejada en el cuadro 1.3. [4]

Cuadro 1.3 CLASIFICACIÓN DE LOS BETABLOQUEADORES

<i>NO SELECTIVOS</i>
1. Sin ASI Nadolol, Propranolol , Sotalol, Timolol , Tertalol
2. Con ASI Alprenolol , Carteolol, Oxprenolol, Penbutolol, Pindolol
<i>SELECTIVOS</i>
1. Sin ASI Atenolol , Betaxolol, Bisoprolol, Esmolol, Metoprolol
2. Con ASI Acebutolol , Celiprolol
<i>CON ACTIVIDAD ALFABLOQUEANTE (MIXTOS)</i>
Bucindolol, Carvedilol, Labetalol

En negritas están los fármacos que se estudiaron.

PROPRANOLOL

Debido a que se ha sido ampliamente estudiado éste fármaco se ha convertido en un prototipo. El propranolol interactúa con igual afinidad con los receptores β_1 y β_2 , carece de actividad simpaticomimética intrínseca y no bloquea a los receptores α -adrenérgicos.

El propranolol (clorhidrato de propranolol; INDERAL, IPRAN) es muy lipófilo y se absorbe casi por completo por la vía oral. El enantiómero (-) del propranolol es la forma activa del fármaco. Se emplea en el tratamiento de la hipertensión y la angina de pecho, la dosis oral inicial suele ser de 40 a 80 mg/día. De manera característica, las dosis son menores de 320 mg/día [4].

TIMOLOL

El timolol (maleato de timolol; BLOCADREN) es un antagonista β -adrenérgico no selectivo. Carece de actividad simpaticomimética intrínseca y de actividad estabilizante de la membrana. Se absorbe bien por el tubo digestivo y se somete a metabolismo moderado en el hígado [4].

LABETALOL

El labetalol (clorhidrato de labetalol; NORMODYNE, TRANSDATE) es representativo de una clase nueva de fármacos que actúan como antagonistas competitivos a nivel de los receptores tanto α como β -adrenérgicos. Tiene dos centros ópticos, y la formulación empleada en clínica contiene cantidades iguales de los cuatro diasterómeros. Las propiedades de la mezcla incluyen el bloqueo de los receptores β_1 y β_2 . Las acciones del labetalol contribuyen a la disminución de la presión arterial en hipertensos. Se encuentra en presentación oral para el tratamiento de la hipertensión crónica, y en una intravenosa para utilizarse en urgencias antihipertensivas [4].

ATENOLOL

El atenolol (clorhidrato de atenolol; TENORMIN) es un antagonista β_1 -selectivo carente de actividad simpaticomimética intrínseca. Es muy hidrófilo, y parece penetrar en el encéfalo sólo en un grado limitado. Se absorbe de manera incompleta (casi 50%), pero la mayor parte llega a circulación general. La dosis inicial en el tratamiento de la hipertensión suele ser de 50 mg/día, administrados en una sola toma, si no se observa reacción terapéutica se eleva a la dosis diaria a 100 mg/día; es poco probable que dosis más altas produzcan un efecto antihipertensivo mayor [4].

ACEBUTOLOL

El acebutolol (clorhidrato de acebutolol; SECTRAL) es un antagonista adrenérgico β_1 -selectivo, con alguna actividad simpaticomimética intrínseca. Se absorbe bien, pero se metaboliza de manera extensa hasta convertirse en un metabolito activo, diacetolol. La dosis inicial en la hipertensión suele ser de 400 mg/día; se puede dar en una sola dosis, pero quizás se requiera repartirlo en dos dosis para el control adecuado de la presión arterial. Suelen lograrse reacciones óptimas con dosis de 400 a 800 mg/día. [4]

ALPRENOLOL

El alprenolol (clorhidrato de alprenolol; APTINE, BETAPTIN, APROBAL) se clasifica como antagonista adrenérgico β -no selectivo. Su principal acción es ser antihipertensivo y antiarrítmico, además de ser antianginoso, ya que a nivel cardiaco reduce el aumento del consumo de oxígeno, posee una escasa o casi nula actividad simpaticomimética intrínseca. Se recomienda nunca parar o dejar un tratamiento abruptamente, sobre todo en los pacientes sufriendo de angina de pecho. Dosis usual por vía oral, en el adulto es de 100 a 400 mg/día en 4 tomas. La posología debe ser progresiva, bajo vigilancia del estado cardiovascular, respiratorio, digestivo y neuropsíquica.

Tiene una absorción y resorción importante (mas del 90%) en el tubo digestivo, además de presentar efecto de primer paso en el hígado, una vez metabolizado, se encuentra uno de los metabolitos es el 4-OH-alprenolol, que tiene una actividad betabloqueante. Se elimina por riñón, más del 90% es eliminado por la orina en forma de metabolitos [5].

2. CICLODEXTRINAS

Algunas ciclodextrinas son frecuentemente reconocidas como un nuevo grupo de excipientes farmacéuticos, esto se ha conocido por 100 años. Los fundamentos de la química de las ciclodextrinas fueron conocidos durante la primera parte del siglo XX y las primeras patentes de ciclodextrinas y sus complejos fueron registrados en 1953. Sin embargo, hacia 1970 sólo se contaba con una pequeña cantidad de ciclodextrinas que podían ser producidas y el alto costo de producción impidió su uso en formulaciones farmacéuticas. Recientes avances biotecnológicos han dado como resultado el mejoramiento en la producción de ciclodextrinas, lo cual ha hecho que bajen los costos de producción. Esto ha llevado a la viabilidad de tener ciclodextrinas altamente purificadas y ciclodextrinas modificadas las cuales son bien aceptadas como excipientes farmacéuticos [6].

La complejación puede definirse como la asociación de moléculas de un substrato con las de un ligando para formar una nueva especie, denominada complejo, que muestra una estequiometría definida y unas propiedades físico-químicas que pueden ser, y en muchos casos lo son, sustancialmente diferentes de las de los compuestos que lo han formado.

Existen muchas posibilidades de formación de complejos, entre los que destacan los de inclusión, que se forman por interacción molecular entre una molécula denominada huésped que se incluye en el interior de otra denominada hospedador. Entre los compuestos que pueden actuar como hospedadores están las ciclodextrinas (CD's), que por sus características estructurales, adecuado tamaño, estabilidad y ausencia de efectos secundarios han alcanzado una notable importancia en los últimos años.

En disolución acuosa, la cavidad interna apolar de las CD's está ocupada por moléculas de agua que se encuentran en un estado energético desfavorable (elevada entalpía) por la repulsión polar-apolar. Esto hace que dichas moléculas puedan ser fácilmente reemplazadas por otras presentes en la solución de carácter menos polar y con un tamaño adecuado para adaptarse al interior. Las características que debe presentar un fármaco para formar complejos de inclusión con CD son, pues, el carácter polar y el tamaño adecuado para acceder a su interior (PM 100-400).

Cuando el complejo CD-fármaco se pone en contacto con un medio acuoso se disocia provocando la liberación del fármaco. La constante de estabilidad del complejo condiciona la cantidad de fármaco libre y, por tanto, la velocidad de absorción en el organismo. Además, pueden incrementar la estabilidad química, la solubilidad y la biodisponibilidad [7].

La formación del complejo de inclusión es posible gracias a la intervención de cierto tipo de fuerzas, las cuales son las que dan estabilidad a dicho complejo. En la formación de complejos no existen interacciones de tipo covalentes entre el hospedador y el huésped, solamente interacciones débiles como lo son las fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno, interacciones dipolo-dipolo [8].

En la figura 1.3 se aprecia de manera esquemática la formación y liberación del fármaco que ha formado complejo con la ciclodextrina, donde se muestra a una CD y un fármaco "X" solvatados, las moléculas de agua de la cavidad de la CD son reemplazadas por la entrada del fármaco y sus moléculas de agua que lo solvatan se despegan de él, lo opuesto sucede al liberarse el fármaco de la cavidad de la CD.

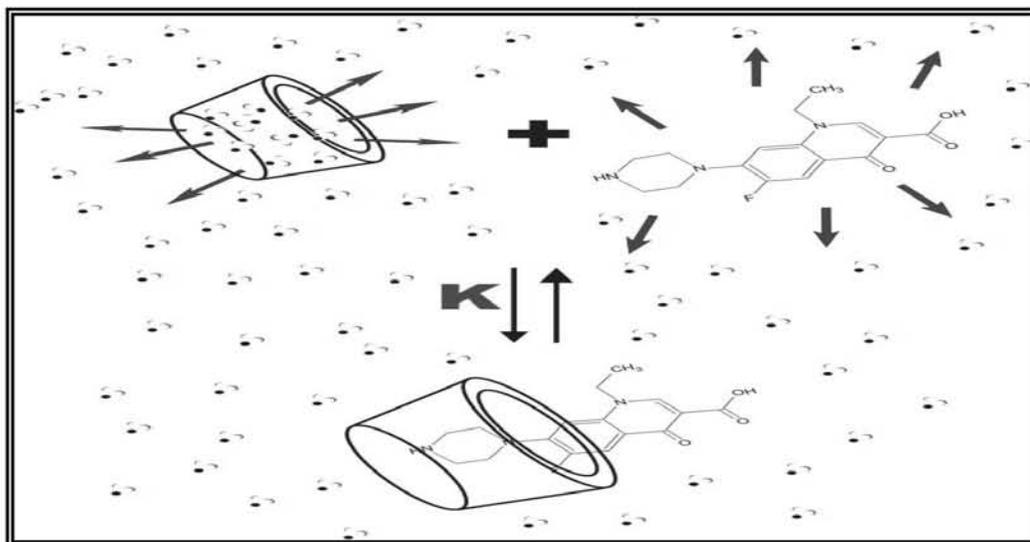


Figura 1.3 Representación esquemática de la formación del complejo de inclusión entre un fármaco y una ciclodextrina, en solución.

El cuadro 1.4 recoge algunos ejemplos de la aplicación de ciclodextrina en la formulación farmacéutica [7].

Cuadro 1.4 VENTAJAS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN CON CICLODEXTRINAS

PROPIEDADES FARMACÉUTICAS	EJEMPLOS
Incremento de solubilidad y velocidad de absorción	AINE; inhibidores de la COX2; hormonas esteroídicas; hipoglucemiantes orales; benzodiazepinas citotóxicos...
Inhibición de reacciones químicas de degradación	Hidrólisis: ácido acetilsalicílico, indometacina Fotodescomposición: fenotiazinas, vitaminas liposolubles, clofibrato, metronidazol... Deshidratación: prostaglandinas E1 y E2
Aumento de la biodisponibilidad	Vía oral: espironolactona, indometacina, ketoprofeno, Ibuprofeno, etc. Vía rectal: indometacina, fenobarbital, etc. Vía transdérmica: prednisona, betametasona, dipropionato de beclometasona, etc. Vía ocular: flurbiprofeno, indometacina, etc.

ESTRUCTURA QUÍMICA Y PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

CICLODEXTRINAS NATIVAS

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos con enlace α -1,4 de α -D-glucopiranososa conteniendo una cavidad relativamente hidrofóbica y es hidrófila en la superficie (Figura 1.4). Debido a la carencia de rotación libre sobre los enlaces que conectan las unidades del glucopiranososa, los ciclodextrinas no son moléculas perfectamente cilíndricas sino son como conos truncados. Basados en esas estructuras, los grupos hidroxilos primarios están localizados en el lado estrecho del toroide mientras que los grupos secundarios están localizados sobre la orilla más ancha de la ciclodextrina. (Figura 1.5).

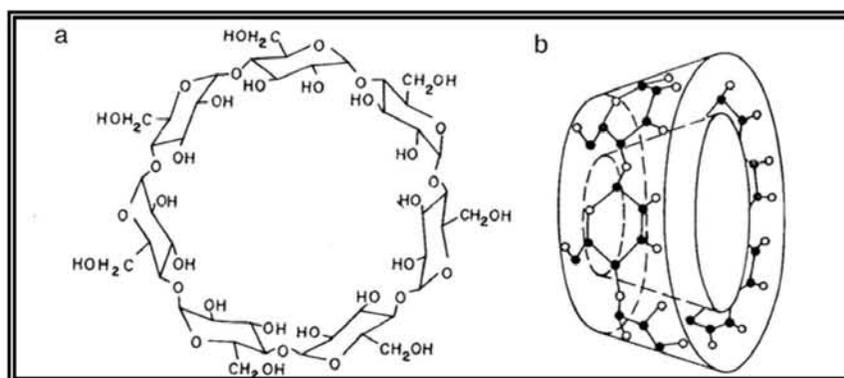


Fig. 1.4 (a) Estructura química y (b) la forma toroide de la β -ciclodextrina

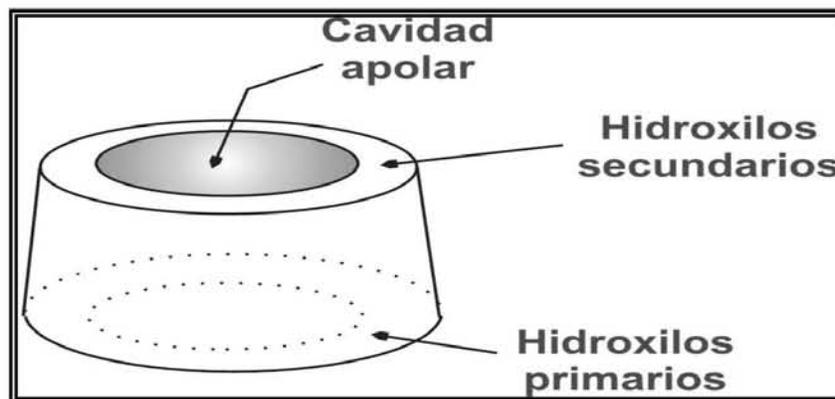


Figura 1.5 Esquema que muestra la posición de los hidroxilos

Las más comunes de las ciclodextrinas son la α -ciclodextrina, β -ciclodextrina y la γ -ciclodextrina, también denominadas nativas, las cuales consisten de 6, 7 y 8 unidades de glucopiranososa, respectivamente (Figura 1.6). Mientras, esto ha hecho pensar, que debido a efectos estéricos, no existen ciclodextrinas que tengan menos de seis unidades de glucopiranososa, pero se ha reportado que existen ciclodextrinas que contienen 9, 10, 11, 12 y 30 unidades de glucopiranososa, las cuales se han designado como δ -, ϵ - ζ -, η - y θ -ciclodextrina, respectivamente[6]. Sin embargo, no son producidas a nivel industrial y no se les conoce una utilidad práctica aún [8].

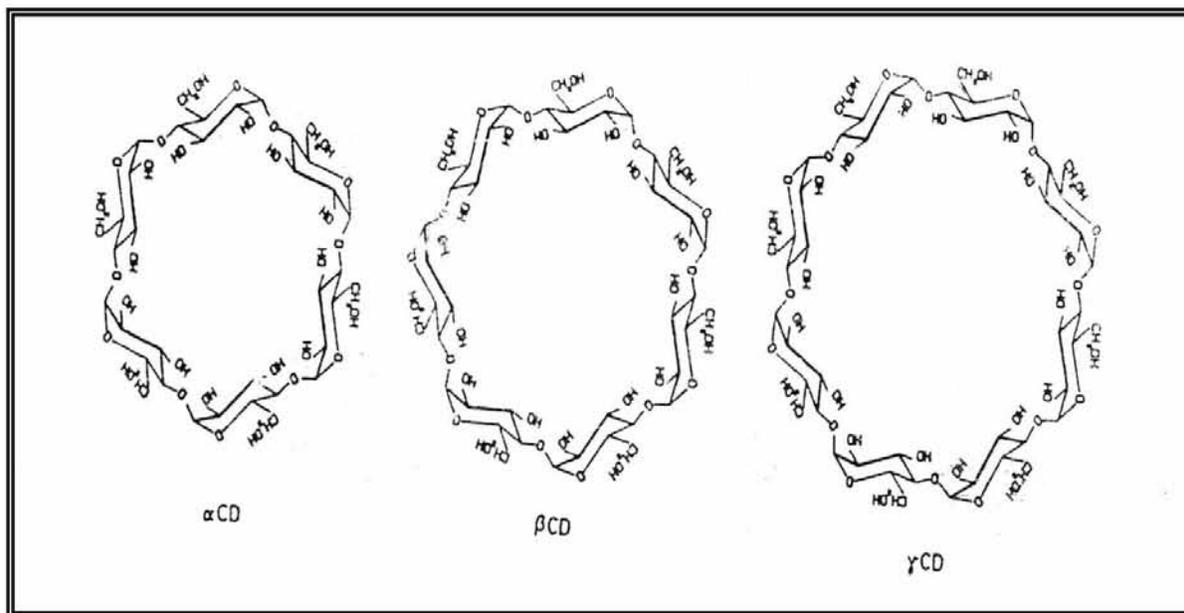


Figura 1.6 Estructura de la α , β , y γ -ciclodextrina

Cuadro 1.5 ALGUNAS CARACTERÍSTICAS DE α , β y γ CICLODEXTRINA

PROPIEDADES	α	β	γ
No. DE UNIDADES DE GLUCOPIRANOSA	6	7	8
MASA MOLAR (g/mol)	972	1135	1297
DIÁMETRO DE LA CAVIDAD CENTRAL (Å)	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
SOLUBILIDAD EN AGUA A 25°C(g/100mL)	14.5	1.85	23.2

Las CD's nativas, en particular la β -CD, tienen una solubilidad en agua limitada, y dicha solubilidad es mucho más baja comparada con los sacáridos acíclicos, y esto podría ser debido a la fuerza relativa de enlace de las moléculas de CD's en estado cristalino [6]. Debido a que el grupo OH del C2 de una de las unidades de glucopiranososa forma un puente de hidrógeno con el grupo OH del C3 de la unidad de glucopiranososa adyacente, y que dentro de la molécula de CD se forma un cinturón secundario por el enlace de estos hidrógenos, hace de ella una estructura rígida. Esta es la probable explicación de que la β -CD tiene la más baja solubilidad de todas las CD's.

El cinturón de hidrógenos enlazados es incompleto en la molécula de α -CD, debido a que la unidad de glucopiranososa se encuentra en una posición torcida; tal vez por consecuencia, sólo 4 de los 6 posibles puentes de hidrógeno pueden estabilizarse. La γ -CD es una estructura más flexible, y por ello es la más soluble de las tres [8].

En la figura 1.7 se tiene una vista de un corte transversal de una ciclodextrina donde se observa la posición de los carbonos, oxígenos e hidrógenos en una ciclodextrina.

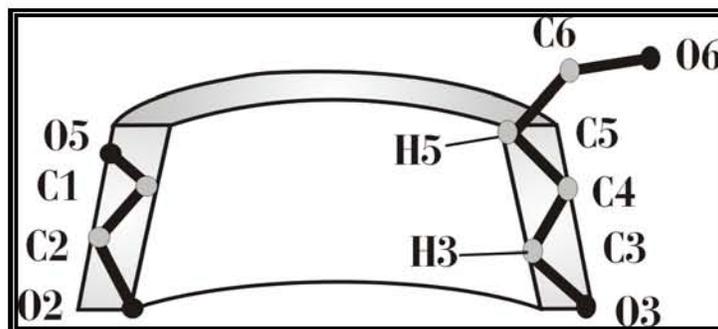


Figura 1.7 Vista del corte transversal de una ciclodextrina

Las CD's son no-higroscópicas, pero existen en varias formas hidratadas las cuales son estables. Las cavidades de las CD's cristalizadas por agua no están vacías, sino que contienen moléculas de agua, algunas están incluidas dentro de la cavidad de la CD y otras en las partes integrales de la estructura cristalina. La conformación de las CD's en solución es casi idéntica a su conformación en estado cristalino, esto ha sido demostrado en estudios en espectroscopia RMN, IR. Esto indica que los grupos -OH primarios y secundarios tienen una conformación similar tanto en estado cristalino como en solución.

La solubilidad de la CD's generalmente decrece en presencia de moléculas orgánicas, la α -CD y la β -CD son insolubles tanto en metanol como en etanol, mientras que la γ -CD muestra una solubilidad $>0.1\text{g}/100\text{mL}$, sin embargo, en las mezclas acuosas 50% v/v de estos solventes, se ve incrementada la solubilidad con respecto a la mostrada cuando se tiene 100% del solvente orgánico, en el cloroformo las tres CD's son totalmente insolubles. En el cuadro 1.6 se muestran las solubilidades de las CD's en diferentes solventes orgánicos [8].

**Cuadro 1.6 SOLUBILIDADES DE LAS CICLODEXTRINAS EN ALGUNOS
SOLVENTES ORGÁNICOS A 25°C (g/100mL)**

SOLVENTE ORGÁNICO	α	β	γ
METANOL 100%	Insoluble	Insoluble	>0.1
METANOL/AGUA 50% v/v	0.3	0.3	208
ETANOL 100%	Insoluble	Insoluble	>0.1
ETANOL/AGUA 50% v/v	>0.1	1.3	2.1
ACETONA	Insoluble	Insoluble	>0.1
CLOROFORMO	Insoluble	Insoluble	Insoluble

CICLODEXTRINAS MODIFICADAS

Las CD's nativas contienen 18 (α CD), 21 (β CD) o 24 (γ CD) grupos hidroxilos, los cuales pueden ser modificados químicamente. Por lo tanto, la producción de CD's modificadas se ha llevado a cabo logrando sustituir uno o más de sus grupos -OH por un grupo apropiado. Para propósitos farmacéuticos, se toma en cuenta que los derivados modificados cambian la solubilidad de la CD aumentándola y por ende al formar un complejo con un fármaco muy insoluble, mejora la solubilidad de dicho fármaco. Por consiguiente, debido a sus dimensiones moleculares (más exactamente el diámetro de su cavidad), los derivados de la β -CD han cobrado gran importancia en farmacia (figura 1.8); por ejemplo, la transformación de la β -CD a la 2-hidroxipropil- β -CD, aumenta la solubilidad de la CD además de no presentar actividad hemolítica, por lo que su uso en parenterales, además de formulaciones orales se ve favorecido [8].

GRADOS DE SUSTITUCIÓN MOLECULAR

La sustitución alifática en la estructura nativa de la CD's nos lleva a la obtención de un tipo de CD's modificadas con el mismo número de unidades de glucopiranosas pero con diferentes grados de sustitución molecular, lo que significa que tanto la α -, β - y la γ -CD pueden ser modificadas estructuralmente y tener diferentes grados de sustitución molecular.

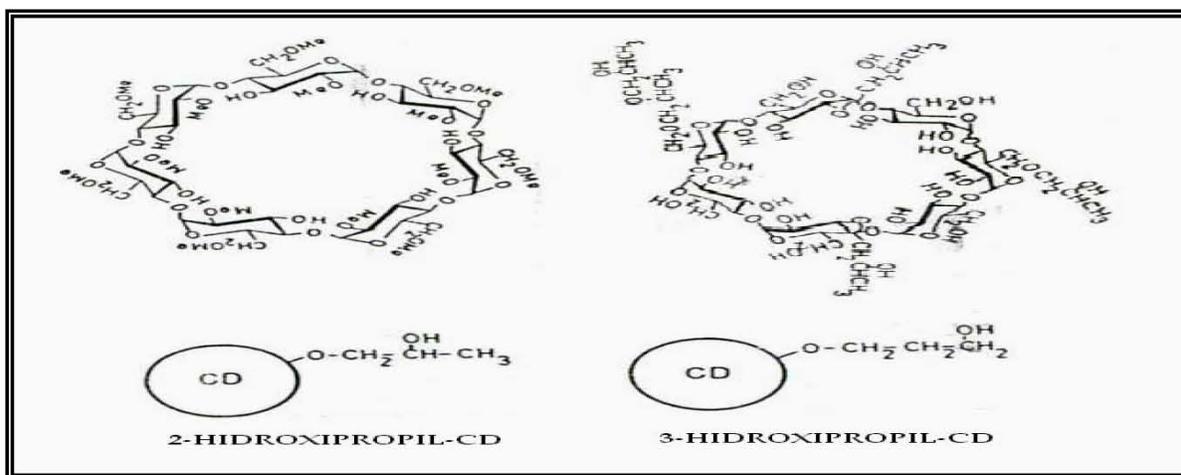


Figura 1.8 Ejemplos de estructuras modificadas de la β -CD

Dado a que cada monómero de glucopiranosas tiene tres grupos hidroxilos que pueden ser sustituidos y que puede variar el número de hidroxilos sustituidos, se define como M.S. (Molecular Substitution) al número de hidroxilos sustituidos en un anillo de glucopiranosas, este valor es un promedio que se calcula dividiendo el número total de sustituyentes en una molécula de CD entre el número de unidades de glucopiranosas; en el cuadro 1.7 se presentan el valor máximo y mínimo de M.S., además el ejemplo del cálculo de las M.S. de las hidroxipropil-ciclodextrinas (HPCD's) utilizadas [8].

Cuadro 1.7 VALORES DE M.S. DE LAS HPCD'S

CICLODEXTRINA	MÍNIMO VALOR DE M.S.	MÁXIMO VALOR DE M.S.	VALORES DE M.S. ESTUDIADOS		
HPαCD	1/6 =0.16	18/6 = 3	3.6/6 =0.6		
HPβCD	1/7 =0.14	21/7 = 3	4.2/7 = 0.6	5.6/7= 0.8	7.0/7 =1.0
HPγCD	1/8 = 0.12	24/8 =3	4.8/8 =0.6		

PERFIL BIOLÓGICO DE LAS CICLODEXTRINAS

Para comprender el potencial de las CD's en las formulaciones farmacéuticas, es importante entender su perfil biológico como lo son sus efectos in-vivo y toxicológicos.

DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA DE LAS CICLODEXTRINAS

Una de las propiedades sobresalientes de las CD's es su resistencia hacia las enzimas que hidrolizan almidón, son completamente resistentes a la β -amilasa, ya que no contienen grupos susceptibles al ataque de esta enzima, mientras que la α -amilasa es capaz de hidrolizarlas, aunque frecuentemente es en una baja proporción. Con algunas excepciones, las CD's no pueden ser fermentadas, asimismo los mamíferos no pueden degradar las CD's [8].

ABSORCIÓN Y METABOLISMO DE LAS CICLODEXTRINAS EN MAMÍFEROS

Las CD's son consumidas o administradas a animales o a los humanos, de manera oral en medicamentos o como aditivos en alimentos, en ambos casos pueden estar presentes como CD's libres o en complejos de inclusión, conteniendo un fármaco, un saborizante u otra molécula huésped. La dosis de las CD's es relativamente baja, y la concentración en el jugo gástrico resulta en una rápida disociación del complejo; la absorción de la molécula

huésped y de la CD son procesos separados. La absorción de la molécula huésped (hidrofóbica) es muy rápida, mientras que sólo una insignificante cantidad de CD es absorbida intacta. La CD es una molécula relativamente grande, la cual tiene una superficie exterior fuertemente hidrófila, es por ello que es un verdadero acarreador, llevando al huésped hidrofóbico en solución, conservándose en un estado disuelto y transportando éste hacia las membranas de las células. Después que se libera el huésped a la célula (porque la célula tiene una mayor afinidad por el huésped que la CD), el acarreador remanente está en fase acuosa. Por ejemplo la distribución metabólica de la β -CD después de su administración oral en estado libre o en complejo de inclusión, se resume en lo siguiente:

- Rápida disolución del complejo y establecimiento del equilibrio altamente dinámico de disociación y asociación del complejo.
- Rápida absorción de la molécula huésped en el torrente sanguíneo.
- Sólo una insignificante cantidad de CD es absorbida en el tracto gastrointestinal en forma intacta.
- La mayor parte de la CD es metabolizada en el colon por la microflora que se encuentra ahí.
- Los metabolitos primarios (presumiblemente maltodextrinas acíclicas, maltosa y glucosa), son entonces metabolizados y absorbidos como el almidón, finalmente excretados como CO_2 y H_2O .
- La diferencia fundamental entre el metabolismo del almidón y la CD, es que del almidón tiene lugar en el intestino delgado mientras que el de la CD es en el colon.

Por lo anterior, concluimos que el metabolismo de la α -CD es más lento y que el de la γ -CD es mucho más rápido que el de la β -CD [8]. Normalmente las formulaciones

farmacéuticas contienen una gran cantidad de excipientes, los cuales compiten con el fármaco por la cavidad de la ciclodextrina. Tal competencia puede también ocurrir con sustancias endógenas existentes en el sitio de absorción. A continuación en la figura 1.9 se muestra de manera esquemática cómo se lleva cabo la absorción de un fármaco a través de membranas biológicas desde su disociación del complejo con la CD en presencia de un agente competidor, donde K_d es la constante de disolución, K_c es la constante de estabilidad del complejo fármaco-ciclodextrina, K_i es la constante de estabilidad del complejo agente competidor-ciclodextrina y K_a es la constante de absorción del fármaco. La alta proporción de disolución y la relativa estabilidad del complejo ($K_i > K_c$) favorece a la liberación del fármaco el cual es rápidamente absorbido. En contraste, la CD libre después de la disociación del complejo remueve o captura algunos componentes de la superficie de la membrana, lo cual modifica las propiedades de transporte de membrana facilitando la absorción del fármaco [9].

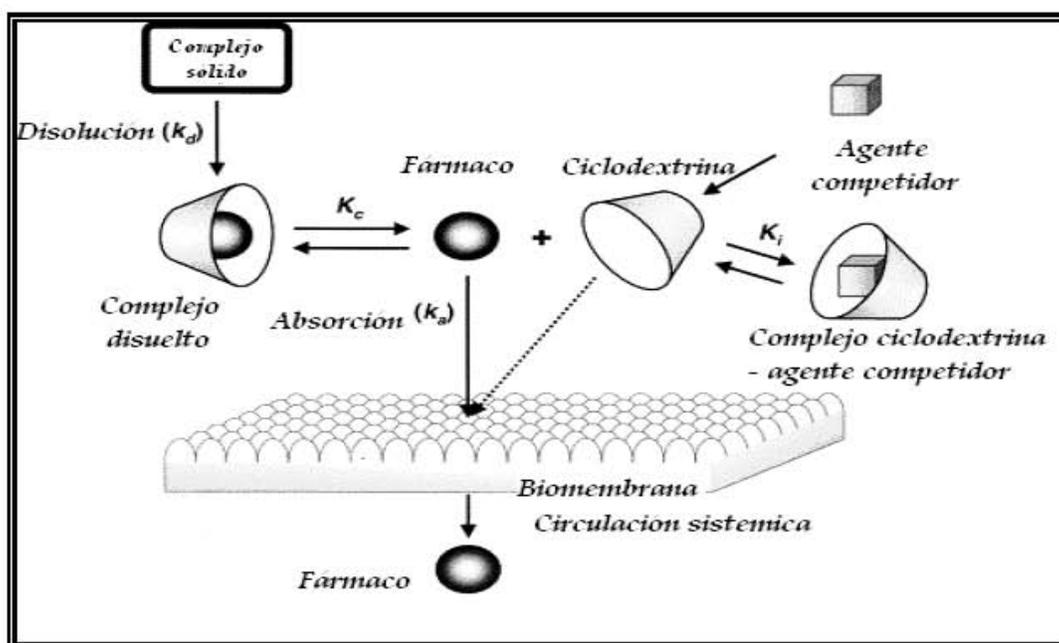


Figura 1.9 Representación esquemática de la absorción sistémica de un fármaco

La viabilidad comercial de las CD's en formulaciones orales ha sido establecida en el mercado en más de 10 productos. Las CD's hidrófilas son particularmente provechosas para el mejoramiento de la estabilidad, la solubilidad y el por ciento de disolución de los fármacos a través de la formación de los complejos de inclusión. Se ha comprobado en estudios recientes que las ciclodextrinas actúan como acarreadores y ayudan al transporte del fármaco desde el medio acuoso hasta la absorción en una superficie lipofílica en el tracto gastrointestinal [9].

TOXICIDAD DE LAS CICLODEXTRINAS

No se han definido valores de toxicidad aguda para todas las CD's, debido a que la dosis más alta posible no resulta ser mortal en los animales. Sólo se pueden presentar los valores de LD₅₀ de la β -CD y γ -CD en ratón, rata y perros por administración oral, los cuales son de 12.5 g/Kg para ratones, 18.8 g/Kg para ratas y más de 5.0 g/Kg para perros en el caso de la β -CD, para la γ -CD son de 16 g/Kg para ratones, más de 8 g/Kg para ratas, más de 500 mg/Kg para perros. En estudios de administración oral por seis meses en ratas y perros, no se observaron efectos tóxicos, por lo tanto, basados en estos datos, la CD administrada por vía oral es considerada no tóxica si la dosis diaria es menor que 600 mg/Kg. En la administración parenteral se ha determinado que los valores de LD₅₀ de 100 y 788 mg/Kg de peso son para la α -CD y β -CD respectivamente, además el daño observado fue una nefrotoxicidad caracterizada por alteraciones ocurridas en el túbulo proximal acompañada por desintegración celular y mineralización amorfa. Sin embargo en estudios de mutagénesis y teratogénesis se observó que la β -CD no presenta dichos efectos en dosis de 100 y 1000mg/Kg y para la α -CD y γ -CD no se presentaron en ingesta diaria del 20% de ellas a ratas [8].

FUNDAMENTO TERMODINÁMICO

1. INTERACCIÓN FÁRMACO- CICLODEXTRINA

PARÁMETROS TERMODINÁMICOS

Los efectos que pueden ser logrados por medio de la formación de complejos de ciclodextrinas son como ya se había mencionado en el anterior capítulo, cambios en la solubilidad, aceleración o retardo de la absorción, estabilización en solución o en fase sólida y formación selectiva de complejos con cierta molécula. Así, la inclusión de un huésped en la cavidad de la ciclodextrina es esencialmente una sustitución de las moléculas de agua incluidas por el huésped menos polar. La relación entre la estructura y los parámetros termodinámicos es una clave fisicoquímica fundamental para el entendimiento de estos procesos.

Este proceso de formación de complejo es una interacción favorecida energéticamente entre un huésped no polar y una cavidad hidrofóbica imperfectamente solvatada, es por ello que los valores de las energías como son la entalpía (ΔH°), la entropía (ΔS°) así como la energía libre de Gibbs (ΔG°), son obtenidos para caracterizar dicho proceso. De esta manera, el valor de ΔH° es casi siempre negativo, y el complejo se disocia cuando la temperatura es incrementada. Los valores de ΔS° pueden ser negativos o positivos. Mientras que el ΔG° es siempre negativo mientras la K sea ≥ 1 [10].

MODELO DE ESTUDIO

EQUILIBRIO DE FORMACIÓN

El equilibrio de formación-disociación del complejo CD-F considerando un sistema 1:1, puede ser representado por la siguiente ecuación [8,10, 11].



La constante asociada para esta reacción esta dado por la siguiente expresión:

$$K_{\text{CD-F}} = \frac{[\text{CD-F}]}{[\text{CD}][\text{F}]} \quad \text{Ec. 2.2}$$

Donde:

[CD] es la concentración de la ciclodextrina.

[F] es la concentración del fármaco en estudio.

[CD-F] es la concentración del complejo CD-F

Esta constante es frecuentemente determinada por la medición de la concentración del complejo [CD-F] en función de la concentración del fármaco [F], pero la mayor desventaja para obtener las aproximaciones de cuantificación termodinámicas a partir de la K son altamente imprecisas, este problema puede ser solucionado obteniendo los parámetros y la K mediante técnicas calorimétricas (titulación isotérmica) [10].

DETERMINACIÓN DE K Y ΔH

Es importante mencionar que los valores de las energías ΔH°_{CD-F} , ΔG°_{CD-F} y ΔS°_{CD-F} , así como la K_{CD-F} serán calculados a partir de los resultados obtenidos mediante el modelo 1:1 utilizado por el calorímetro TAM (Thermal Activity Monitor), llevándose a cabo la experimentación bajo el siguiente arreglo: en la titulación se tiene una celda de muestra que contiene una alícuota de la solución del fármaco a titular con solución de CD y una celda de referencia donde se tiene una alícuota de agua a la cual se le inyecta la misma solución de CD que a la muestra. La temperatura de trabajo fue de 298.15 K (25°C) y a presión constante.

En una titulación, el calor total (ΔH_{total}) es [8, 10, 11,12]:

$$\Delta H_{total} = \Delta H^{\circ}_{CDdil} + \Delta H^{\circ}_{Fdil} + \Delta H^{\circ}_{CD-F} \quad \text{Ec. 2.3}$$

Donde:

(ΔH°_{CDdil}) es el calor de dilución de la CD

(ΔH°_{Fdil}) es el calor de dilución del fármaco

(ΔH°_{CD-F}) es el calor de formación del complejo CD-F.

Para obtener ΔH_{CD-F} se debe restar del calor total (ΔH_{total}), el calor de dilución de la CD (ΔH°_{CDdil}) y el calor de dilución del fármaco (ΔH°_{Fdil}), como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\Delta H^{\circ}_{CD-F} = \Delta H_{total} - \Delta H^{\circ}_{CDdil} - \Delta H^{\circ}_{Fdil} \quad \text{Ec. 2.4}$$

El arreglo experimental utilizado permite restar simultáneamente el calor de la dilución de la CD. En algunos casos, el calor de dilución del fármaco fue cero y en otros éste tuvo que ser determinado por separado y restado para obtener el ΔH°_{CD-F}

El balance de energía después de haber adicionado una alícuota de la solución de CD, queda definido como a continuación se presenta:

$$Q_p = \Delta H^{\circ}_{CD-F} = \frac{[CD-F]}{[CD]_o} \Delta H_{total} \quad \text{Ec. 2.5}$$

Donde:

Al despejar la ecuación 2.2 queda

$$[CD-F] = K_{CD-F} [CD] [F] \quad \text{Ec. 2.6}$$

Posteriormente la concentración inicial de CD es:

$$[CD]_o = [CD] + K_{CD-F} [CD] [F] \quad \text{Ec. 2.7}$$

Que representa el balance de materia para la CD, donde $[CD]_o$ es la concentración inicial de CD, después algunos despejes se obtiene una ecuación de dos incógnitas, que se ajustan a los valores experimentales para obtener los valores de K_{CD-F} y ΔH°_{CD-F} [10,11].

$$\frac{1}{\Delta H^{\circ}_{CD-F}} = \frac{1}{\Delta H_{total}} + \frac{1}{\Delta H_{total} [F] K_{CD-F}} \quad \text{Ec. 2.8}$$

Después de una adición de solución de ciclodextrina, la concentración del fármaco libre es:

$$[F] = [F]_o - [CD-F] \quad \text{Ec. 2.9}$$

Donde $[F]_o$ es la concentración del fármaco antes de la adición de la solución de CD. Así el valor de $[CD-F]$ es despejado de la ecuación 2.5 para que se sustituya en la ecuación 2.9, realizando el manejo algebraico necesario, la nueva ecuación queda de la siguiente manera [8]:

$$[F] = [F]_o - \frac{\Delta H^{\circ}_{CD-F}}{\Delta H_{total}} [CD]_o \quad \text{Ec. 2.10}$$

Por lo tanto, las ecuaciones 2.8 y 2.10, son las ecuaciones del modelo que utiliza el software Digitam 4.1 del TAM que se ajustan a los resultados obtenidos del potenciograma para determinar los valores de ΔH°_{CD-F} y la K_{CD-F} , y posteriormente realizar el cálculo de los demás parámetros termodinámicos.

DETERMINACIÓN DE ΔG Y ΔS

Una vez obtenidos los valores para ΔH°_{CD-F} y de la K_{CD-F} , el cálculo de ΔG°_{CD-F} y $T\Delta S^\circ_{CD-F}$ a $T = 298.15K$ ($25^\circ C$), requiere las ecuaciones siguientes:

Para calcular el valor de ΔG°_{CD-F} se hace uso de la ecuación [12]:

$$\Delta G^\circ_{CD-F} = -RT \ln K_{CD-F} \quad \text{Ec. 2.11}$$

Donde:

R es la constante de los gases

T es la temperatura

K_{CD-F} es la constante asociada al proceso, y como ésta tiene un \pm error, entonces el valor de

ΔG°_{CD-F} es un promedio, calculado de la siguiente manera:

$$\Delta G^\circ_{CD-F} = \frac{[-RT \ln(K_{CD-F} + \text{error})] + [-RT \ln(K_{CD-F} - \text{error})]}{2} \quad \text{Ec. 2.12}$$

De esta manera, en un cambio natural a temperatura y presión constantes, ΔG°_{CD-F} debe ser siempre negativo, ya que así, ese valor es indicativo de un proceso espontáneo. Por lo tanto, la ecuación que involucra a ΔG°_{CD-F} , ΔH°_{CD-F} y ΔS°_{CD-F} es [12]:

$$\Delta G^\circ_{CD-F} = \Delta H^\circ_{CD-F} - T\Delta S^\circ_{CD-F} \quad \text{Ec. 2.13}$$

En la anterior ecuación podemos distinguir dos contribuciones al valor de ΔG°_{CD-F} ; una entálpica (ΔH°_{CD-F}) y la otra entrópica ($T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$). Por lo consiguiente, para que el ΔG°_{CD-F} tome un valor negativo, para nuestro caso es preferible que ΔH°_{CD-F} sea negativo (proceso exotérmico) y que ΔS°_{CD-F} sea positivo [12]. Entonces para poder calcular el $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ se requiere despejar la ecuación 2.13 y así obtener la ecuación de la siguiente manera:

$$T\Delta S^{\circ}_{CD-F} = \Delta H^{\circ}_{CD-F} - \Delta G^{\circ}_{CD-F} \quad \text{Ec. 2.14}$$

Para calcular el valor de la entropía ($T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$), se hace uso de la ecuación 2.15:

$$T\Delta S^{\circ}_{CD-F} = \frac{[(\Delta H^{\circ}_{CD-F} + \text{error}) - \Delta G^{\circ}_{CD-F}] + [(\Delta H^{\circ}_{CD-F} - \text{error}) - \Delta G^{\circ}_{CD-F}]}{2} \quad \text{Ec. 2.15}$$

Por lo tanto, las ecuaciones 2.12 y 2.15 son las que emplean para el cálculo de los demás parámetros termodinámicos.

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

1. CALORIMETRÍA ISOTÉRMICA DE TITULACIÓN

DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

La Calorimetría Isotérmica de Titulación (ITC, por sus siglas en inglés) es una técnica ampliamente usada en áreas de investigación muy diferentes: química y bioquímica, física y biofísica, biotecnología, biomedicina, farmacología; así como en las industrias de cosméticos y alimentación, procesos de control, etc. Básicamente esta técnica mide directamente el calor liberado o absorbido en una reacción que pone en juego interacciones intermoleculares e intramoleculares; las asociaciones proteína-ligando, proteína-proteína, proteína-ADN /ARN son ejemplos de indudable interés biológico, pero más recientemente en el diseño de fármacos. Si el efecto térmico neto de la interacción es suficientemente grande, la estequiometría, la entalpía de formación y la constante de unión de estos complejos pueden determinarse sin ambigüedad. Consecuentemente, la energía de Gibbs de formación del complejo puede calcularse, $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$, y la entropía del proceso, $T\Delta S^\circ = \Delta H^\circ - \Delta G^\circ$. Repitiendo los experimentos de titulación calorimétrica a diferentes temperaturas será posible además determinar el cambio de capacidad calorífica; el valor de este parámetro nos permite estimar los efectos de deshidratación de grupos polares y apolares que acompaña la formación del complejo [13,14, 15].

El éxito de esta técnica se debe a varios hechos relevantes. En principio cualquier interacción libera o absorbe calor. Este calor se mide directamente a presión constante, es

decir se mide directamente la verdadera entalpía de la reacción subyacente; esta peculiaridad contrasta con las medidas de una entalpía aparente, deducida de la dependencia de la constante de asociación con la temperatura (ecuación de van't Hoff), obtenidas con técnicas tales como diálisis en equilibrio, ultrafiltración o cromatografía de exclusión. Existe una base metodológica y teórica bien establecida para analizar los datos experimentales, incluso de sistemas relativamente complejos. Como consecuencia, es posible en muchos casos obtener una caracterización completa de una interacción intermolecular, siendo la única técnica que proporciona simultáneamente la estequiometría y los parámetros termodinámicos [13, 14,15].

La inespecificidad intrínseca en la detección del efecto térmico y consecuentemente la incapacidad de la titulación calorimétrica para identificar la interacción que origina el calor, hace que se requiera de la ayuda de otras técnicas específicas para interpretar los valores de los parámetros termodinámicos en términos moleculares [15].

FUNCIONAMIENTO GENERAL DEL CALORÍMETRO

Adoptando como criterio de clasificación el principio de funcionamiento, los Calorímetros Isotérmicos de Titulación de elevada sensibilidad utilizados durante las dos últimas décadas en los estudios de interacción de biopolímeros, se engloban en dos categorías o tipos; por un lado aquéllos que utilizando un bloque de elevada capacidad calorífica, a temperatura constante, se basan en la conducción de calor a través de los sensores que detectan el efecto térmico producido por la interacción Por otro lado, aquéllos que podemos llamar

adiabáticos porque utilizan el mismo principio que el calorímetro de barrido, previamente descrito, es decir son calorímetros que funcionan por compensación del efecto térmico en un entorno adiabático [15].

El equipo que se utilizó es del primer tipo, ya que en este diseño se utiliza siempre la configuración diferencial, conocida entre los especialistas de microcalorimetría como principio “Twin” o de celdas gemelas, en la cual una de las celdas actúa como vaso de reacción y la otra como referencia.

Los efectos térmicos que se producen en cada una de las celdas se detectan por el correspondiente sensor o termopila; ambos sensores se conectan en oposición, así los efectos comunes accidentales o no deseados que se produzcan con la misma amplitud y velocidad en ambas celdas, se cancelan en gran parte. En el caso de máxima simetría el experimento se realiza usando dos jeringas idénticas, que contienen uno de los reactivos, frecuentemente el huésped, disuelto en su solvente (normalmente un tampón, en algunos casos agua), manteniendo la agitación permanentemente e inyectando simultáneamente en ambas celdas. La celda de reacción contiene la disolución del otro reactivo, frecuentemente la macromolécula, mientras que la celda de referencia contiene sólo tampón o agua. En estos casos se precisa de un experimento en blanco para determinar los efectos térmicos asociados.

Las termopilas de semiconductor que se utilizan en estos microcalorímetros son elementos Peltier y por consiguiente generan una fuerza electromotriz proporcional a la diferencia de

temperaturas de sus superficies opuestas. El resultado final es una señal eléctrica proporcional al flujo de calor o potencia térmica neta.

Un experimento convencional en ITC consiste en una serie de inyecciones de un determinado volumen constante o variable de disolución del ligando, separada cada una por un intervalo de tiempo suficiente para asegurar que se ha alcanzado el equilibrio y se ha transferido o compensado todo el calor liberado o absorbido; agitándose permanentemente el contenido de ésta (o de ambas celdas) a velocidad constante [15].

DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO TAM

El equipo utilizado en este estudio es un microcalorímetro de titulación isotérmico, Thermal Activity Monitor (TAM), el cual es un equipo altamente sensible, en el que se pueden monitorear reacciones exotérmicas y/o endotérmicas, que puede cuantificar diferencia de temperatura de 10^{-6} °C. Tiene un baño de agua de 25L que actúa como termostato de agua, manteniendo la temperatura constante que oscila en un rango de $\pm 2.0 \cdot 10^{-4}$ °C. En dicho baño, se encuentran sumergidos 4 cilindros de medición, por lo que se pueden monitorear y cuantificar simultáneamente hasta cuatro reacciones separadas (figura 3.1) [16].

En cada cilindro de medición, existen dos cavidades en las que se insertan las celdas de muestra y referencia (figura 3.2). Ambas cavidades están rodeadas en la parte inferior por elementos Peltier (figura 3.3), los cuales son un sistema de termopilas extremadamente sensibles, capaces de medir gradientes de temperatura inferiores a una millonésima de

grado Celsius. Este detector altamente sensible, convierte el flujo de calor liberado en señales de voltaje, las cuales son captadas por un amplificador y después al detector. Posteriormente ahí se guarda la información y se presenta en el voltímetro digital [16].

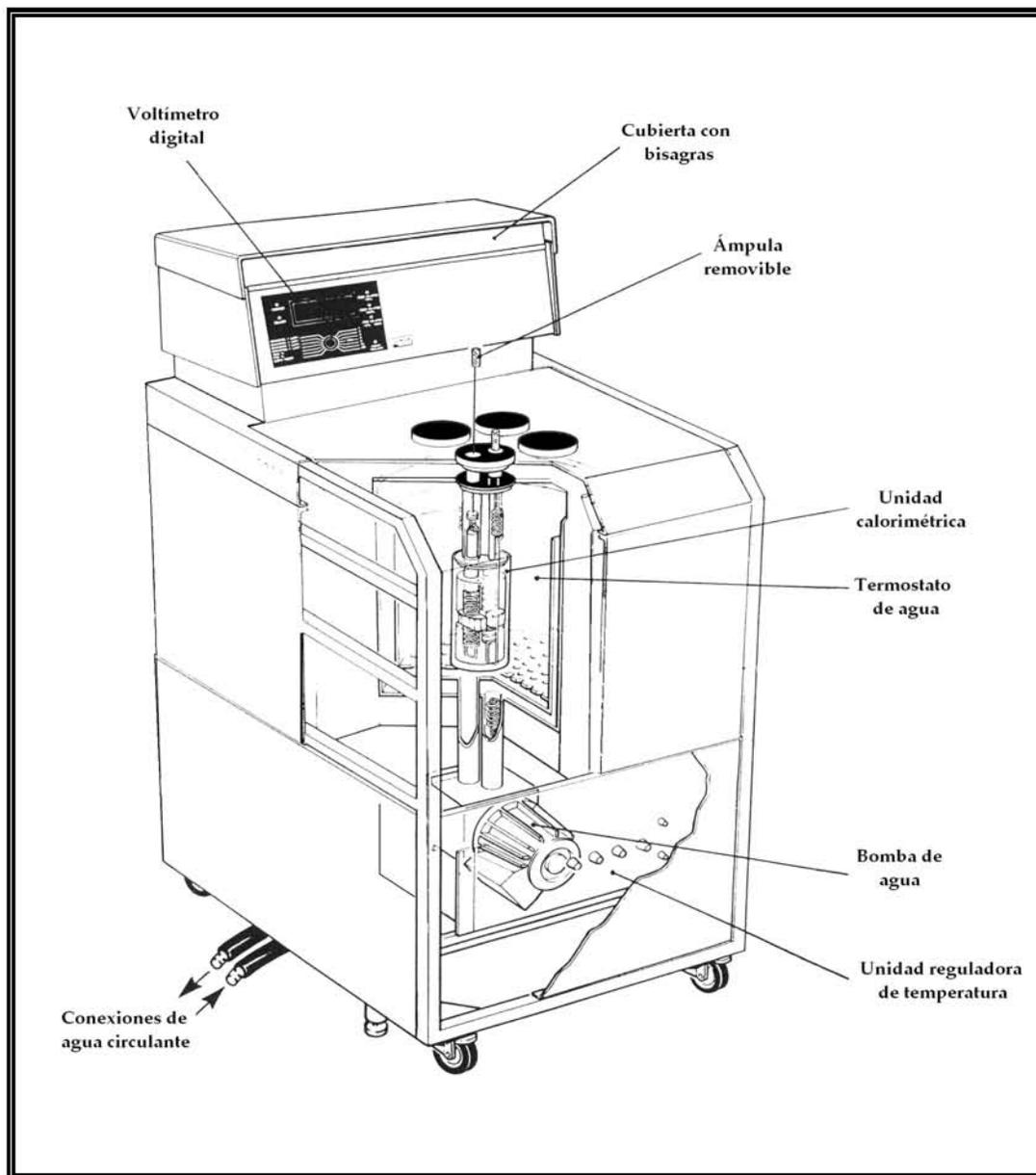


Figura 3.1 Representación esquemática del TAM

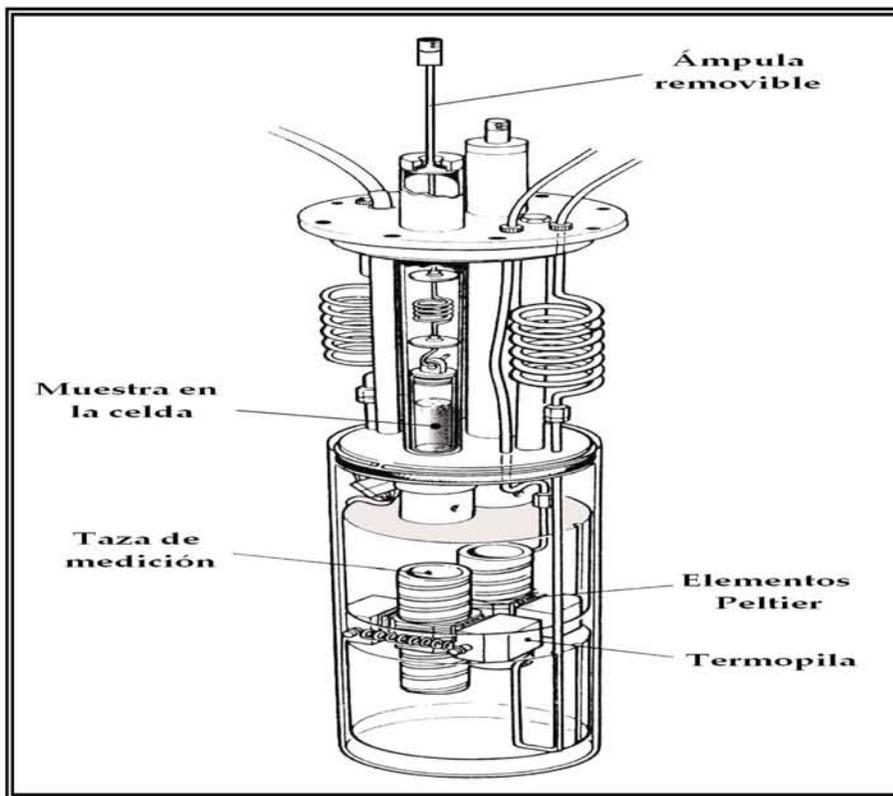


Figura 3.2 Representación esquemática del cilindro de medición

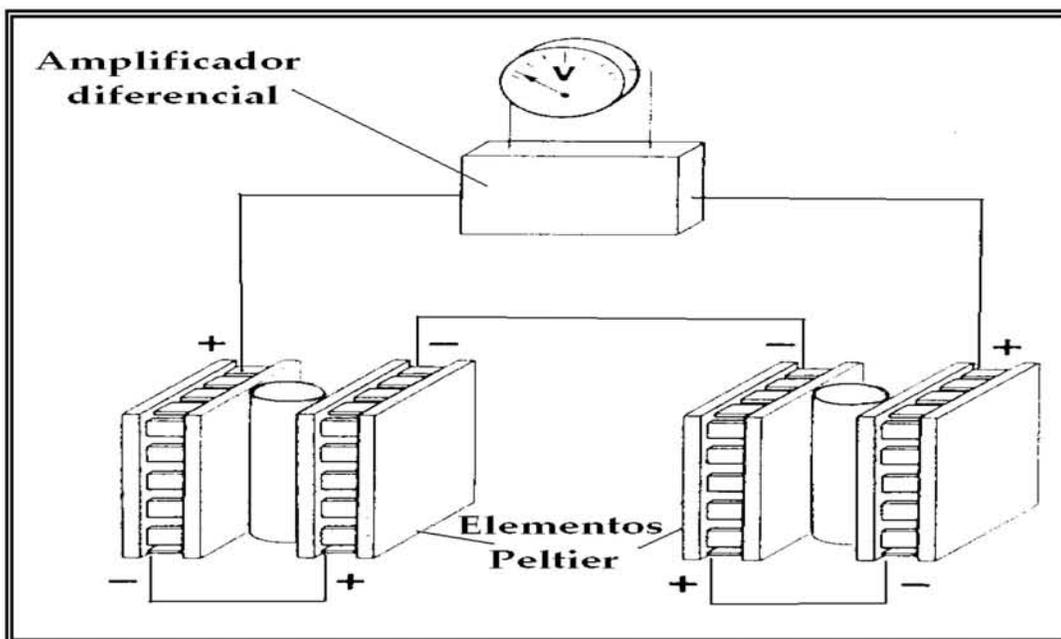


Figura 3.3 Elementos Peltier

2. EQUIPOS, MATERIAL Y REACTIVOS

Se estudiaron los complejos formados con los siguientes fármacos:

- *Clorhidrato de Acebutolol (ACE)*
- *Clorhidrato de Alprenolol (ALP)*
- *Clorhidrato de Atenolol (ATE)*
- *Clorhidrato de Labetalol (LAB)*
- *Clorhidrato de Propanolol (PRO)*
- *Maleato de Timolol (TIM)*

Cada uno de los fármacos con:

- *Alfa Ciclodextrina (α -CD)*
- *Beta Ciclodextrina (β -CD)*
- *Gamma Ciclodextrina (γ -CD)*
- *Hidroxipropil Alfa Ciclodextrina con M.S. = 0.6 (HP α -CD M.S. = 0.6)*
- *Hidroxipropil Beta Ciclodextrina con M.S. = 0.6 (HP α -CD M.S. = 0.6)*
- *Hidroxipropil Beta Ciclodextrina con M.S. = 0.8 (HP α -CD M.S. = 0.8)*
- *Hidroxipropil Beta Ciclodextrina con M.S. = 1.0 (HP α -CD M.S. = 1.0)*
- *Hidroxipropil Gamma Ciclodextrina con M.S. = 0.6 (HP α -CD M.S. = 0.6)*

Todas las sustancias químicas fueron del proveedor Sigma-Aldrich® de la más alta pureza (>98%).

Las soluciones son preparadas con agua bidestilada, desionizada y desgasificada. El contenido de agua de las ciclodextrinas fue determinado por el método de Karl Fisher.A

continuación se presenta el listado de todo el equipo que se empleó en la preparación de las soluciones del fármaco y las CD's.

EQUIPO EMPLEADO EN LA PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

- ***Balanza analítica METTLER Mod. AT250 con una precisión de $1 \cdot 10^{-4}g$***
- ***Parrilla de agitación magnética Thermolyne Type 1000 Stir Plate***
- ***Sonicador Cole-Parme Mod. 8853***
- ***Desionizador de agua Nanopure infinity Mod. D8961***
- ***Destilador de agua Barnstead Mega-Pure® system MP-1***

El equipo y material restante empleado en este estudio son:

- ***Agitadores magnéticos***
- ***Agitadores de oro***
- ***Espátulas de cromo/níquel***
- ***Celdas de acero inoxidable***
- ***Jeringas de 1mL con cánula***
- ***Matraces Erlen-Meyer de 50mL***
- ***Matraces Erlen-Meyer de 150mL***
- ***Pisetas con agua destilada***
- ***Pisetas con acetona***
- ***Probeta de 50mL***
- ***Probeta de 100mL***
- ***Vasos de precipitados de 50mL***
- ***Vasos de precipitados de 100mL***
- ***Tanque de nitrógeno***
- ***Thermal Activity Monitor (TAM) de Thermometric, Suecia Mod. 2277***

3. ARREGLO EXPERIMENTAL

El arreglo experimental se describe a continuación:

Las jeringas de inyección contienen la solución de ciclodextrina (CD) con la que se titula la solución de fármaco. En la celda de referencia contiene una alícuota agua bidestilada, desionizada y desgasificada igual a la que se utiliza en la preparación de las soluciones del fármaco y de la CD, mientras que la celda de muestra contiene una alícuota de la solución del fármaco, cuyo volumen de ambas celdas tienen que ser similares (figura 3.4).

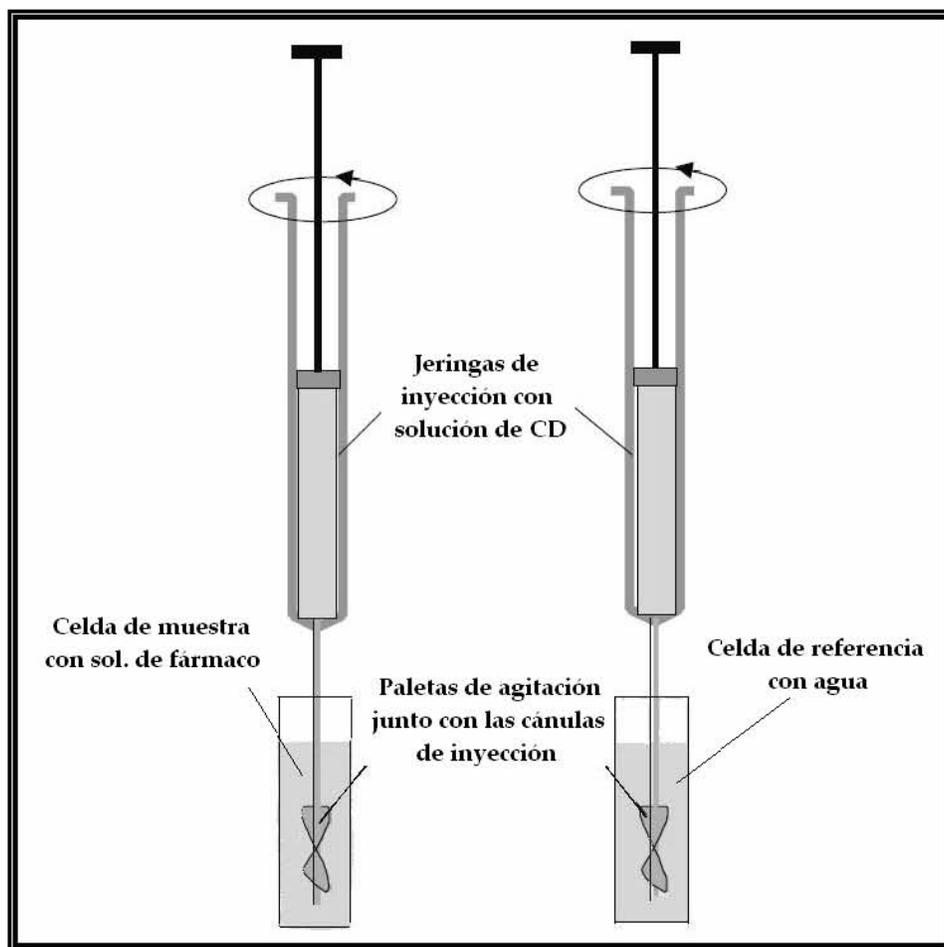


Figura 3.4 Representación esquemática del arreglo experimental utilizado

CONDICIONES EXPERIMENTALES

Se presentan a continuación las condiciones de trabajo a las cuales se desarrollaron los experimentos:

- $[CD] = 60.00\text{mM} \pm 5.0\%$ *
- $[F] = 2.00\text{mM} \pm 2.0\%$ *
- $T = 25^\circ\text{C}$ (298.15K)
- Sensibilidad = $30\mu\text{W}$ ó $100\mu\text{W}$
- Volumen de solución en la celda de referencia = $1.60 - 2.00\text{mL} \pm 0.1\%$
- Volumen de solución en la celda de muestra = $1.60 - 2.00\text{ mL} \pm 0.1\%$
- Volumen de solución en cada adición = $20\mu\text{L}$, $25\mu\text{L}$ ó $50\mu\text{L}$ **
- Número de adiciones = 20iny, 40iny ó 50iny** (inyecciones)

Posteriormente, los resultados de la microtitulación obtenidos en el TAM, se almacenan en el software del equipo y se representan por un potenciograma (potencia vs. tiempo), de ahí se parte para determinar de manera manual con ayuda de una de las herramientas del software las áreas bajo la curva correspondientes a cada uno de los picos obtenidos, ya que el área de cada pico es igual a la cantidad de calor involucrado en la reacción de complejación y cada uno de los picos provienen de cada adición de solución de CD a la celda. Una vez obtenidas dichas áreas, se emplea una herramienta del mismo software que permite la obtención la $\Delta H^\circ_{\text{CD-F}}$ y la $K_{\text{CD-F}}$ involucradas en el proceso de complejación CD-F, al introducir los datos de áreas y las condiciones de experimentación. A continuación se calculan los parámetros termodinámicos restantes ($\Delta G^\circ_{\text{CD-F}}$ y $T\Delta S^\circ_{\text{CD-F}}$)

Notas:

* En el caso de los experimentos con β -CD, se empleaba una $[CD] = 15.00\text{ mM} \pm 5.0\%$ y de $[F] = 0.55\text{ mM} \pm 2.0\%$, debido a la baja solubilidad de la β -CD.

** El número y el volumen de adiciones siempre cumple la condición de adicionar 1mL o 1000 μL de solución de CD, ejemplos: 40iny de 25 μL ó 20iny de 50 μL .

RESULTADOS

1. OBTENCIÓN DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

Los experimentos realizados en el TAM (Thermal Activity Monitor (TAM) proporcionan una señal al momento de adicionar la ciclodextrina (CD) a las celdas de reacción, el conjunto de señales es registrado en un potenciograma que representa la potencia en función del tiempo transcurrido. En este trabajo se incluye uno de ellos para ejemplificar la forma en la que se presenta el resultado primario después de cada titulación (figura 4.1)

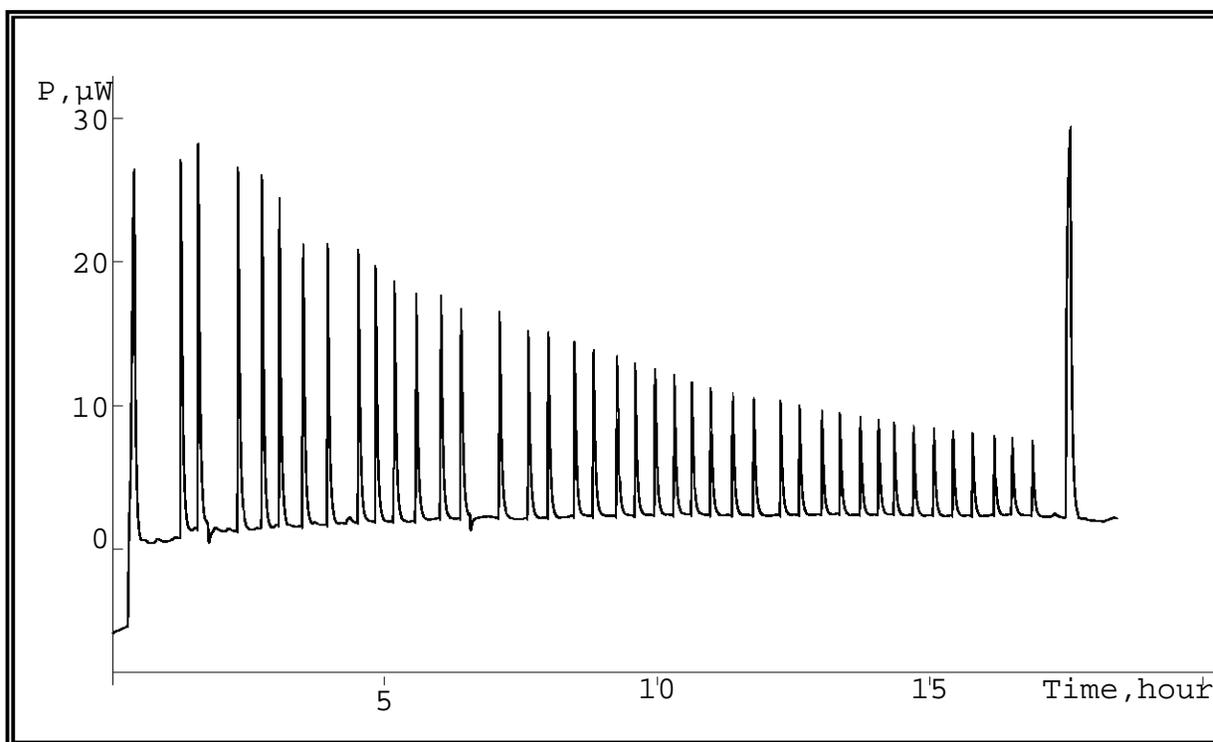


Figura 4.1 Potenciograma de la titulación realizada con Timolol- Alfa Ciclodextrina (TIM-HP α -CD)

Como se puede observar, en el potenciograma, la primera y la última señal, representan las calibraciones del calorímetro que realiza antes y al terminar cada experimento, ambas son

exotérmicas. Cada una de las señales a partir de la segunda y hasta la penúltima, está asociada con el proceso de complejación ciclodextrina-fármaco (CD-F).

Para calcular las áreas bajo la curva, se utilizó una de las herramientas del software del equipo que nos permite calcular de manera manual. Una vez que las áreas de cada señal mostradas en el potenciograma han sido determinadas, éstas se introducen, junto con las condiciones de experimentación en otra de las herramientas del software con la finalidad de obtener los valores de ΔH°_{CD-F} y la K_{CD-F} . Las ecuaciones que utiliza el software para calcular estos parámetros se revisaron en el capítulo 2.

A continuación se anexa un ejemplo del formato de resultados que arroja el software del calorímetro (figura 4.2).

Ligand Binding Report (page 1 of 3)		
Model		
M + L = ML ; β_1 , ΔH_1		
Thermodynamic Parameters		
β_1	148.48953	1/M
ΔH_1	6.25196	kJ/mol
Estimated Errors		
β_1	8.284680E+00	1/M
ΔH_1	1.932322E+02	J/mol
Covariance		
	β_1	ΔH_1
β_1	2.0728E+10	-4.12632E+11
ΔH_1	-4.12632E+11	1.12762E+13
Statistics		
Degrees of freedom	45	
Chi-square	1.490072E-07	
Reduced chi-square	3.311272E-09	
Std error of point	5.754365E-05	
Series		
Series No 1		
Number of data points	51	
Conc of M in vessel	2.008 mmol/l	
Conc of L in syringe	59.883 mmol/l	
Volume in vessel	2.102 ml	

Figura 4.2 Reporte de los resultados obtenidos del software del TAM

El software también nos presenta un grafico denominado entalpograma (figura 4.3), donde las “X” representan los datos experimentales y la línea continua resulta del cálculo de $(dQ/dAmount)$ y $[L]/[M]$ utilizando el ΔH°_{CD-F} y la K_{CD-F} obtenidos del ajuste de las ecuaciones 2.8 y 2.9 mostradas en el capítulo 2.

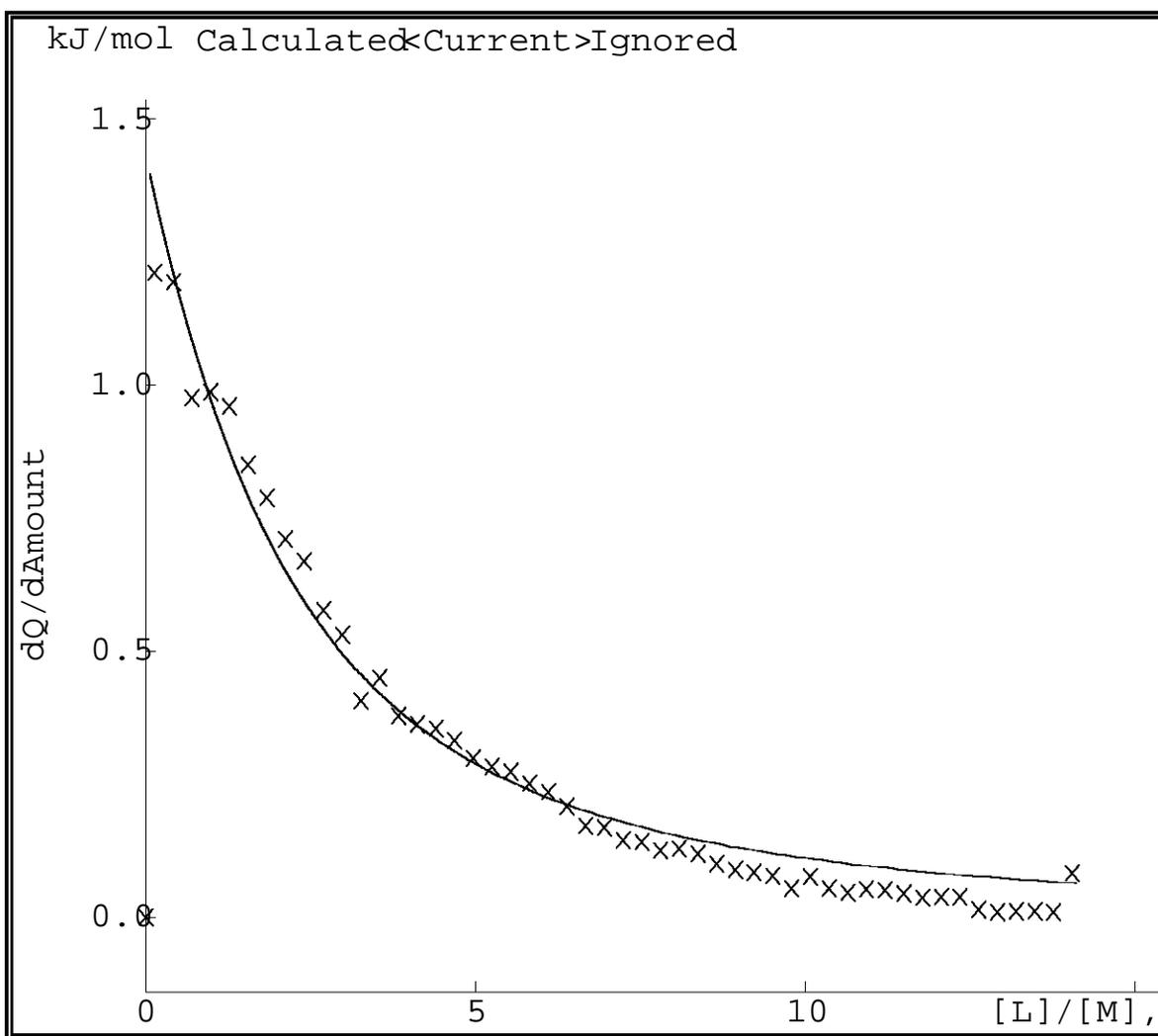


Figura 4.3 Entalpograma, ajuste realizado al potenciograma

La calibraciones inicial y final del potenciograma, simulan un proceso exotérmico, es decir, que liberan energía en forma de calor a los alrededores $\Delta H^\circ \leq 0$ [10,12]. Dado que las señales obtenidas en el potenciograma correspondientes a cada adición tienen la misma dirección que las calibraciones, se observa que en cada adición se libera calor, por lo tanto el ΔH°_{CD-F} calculado a partir del potenciograma tiene un valor negativo y la reacción libera energía. Es importante indicar que en el potenciograma se puede observar la saturación de la ciclodextrina por parte del fármaco, ya que va disminuyendo el tamaño de los picos, el cual refleja una disminución en el valor del área bajo la curva obtenida.

2. VALORES DE LOS PARÁMETROS TERMODINÁMICOS

A continuación se presentan las tablas de valores de los parámetros termodinámicos correspondientes a la formación de complejo de inclusión de los fármacos en estudio con las CD's utilizadas a 25°C (298.15K).

Tabla 4.1 Condiciones y parámetros termodinámicos obtenidos de los experimentos

Acebutolol-CD's

CD	[CD] / mM	[ACE] / mM	K_{CD-F} / M^{-1}	$\Delta H^{\circ}_{CD-f} / kJmol^{-1}$	$\Delta G^{\circ}_{CD-F} / kJmol^{-1}$	$T\Delta S^{\circ}_{CD-f} / kJmol^{-1}$
α -CD	59.93	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
β -CD	15.00	0.55	-----	0.0±0.0	-----	-----
γ -CD	59.96	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP α -CD M.S.=0.6	60.03	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP β -CD M.S.=0.6	59.93	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP β -CD M.S.=0.8	60.02	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP β -CD M.S.=1.0	59.13	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP γ -CD M.S.=0.6	59.98	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----

Tabla 4.2 Condiciones y parámetros termodinámicos obtenidos de los experimentos

Alprenolol-CD's

CD	[CD] / mM	[ALP] / mM	K_{CD-F} / M^{-1}	$\Delta H^{\circ}_{CD-f} / kJmol^{-1}$	$\Delta G^{\circ}_{CD-F} / kJmol^{-1}$	$T\Delta S^{\circ}_{CD-f} / kJmol^{-1}$
α -CD	59.95	2.01	70.50± 2.82	-23.95±0.67	-10.55±0.10	-13.40±0.57
β -CD	15.00	0.55	198.83±2.02	-14.21±0.98	-13.12±0.25	-1.09±0.73
γ -CD	60.16	2.01	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP α -CD M.S.=0.6	59.95	2.01	68.84±1.09	-23.97±0.24	-10.49±0.04	-13.48±0.20
HP β -CD M.S.=0.6	59.88	2.01	148.49±8.28	-6.25±0.19	-12.40±0.14	6.15±0.05
HP β -CD M.S.=0.8	60.10	2.01	247.24±1.09	-3.19±0.07	-13.66±0.01	10.47±0.06
HP β -CD M.S.=1.0	60.13	2.01	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP γ -CD M.S.=0.6	59.82	2.01	23.04±1.55	-7.71±0.39	-7.78±0.10	0.07±0.22

Tabla 4.3 Condiciones y parámetros termodinámicos obtenidos de los experimentos

Atenolol-CD's

CD	[CD] / mM	[ATE] / mM	K_{CD-F} / M^{-1}	$\Delta H^{\circ}_{CD-f} / kJmol^{-1}$	$\Delta G^{\circ}_{CD-F} / kJmol^{-1}$	$T\Delta S^{\circ}_{CD-f} / kJmol^{-1}$
α -CD	59.95	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
β -CD	15.00	0.55	-----	0.0±0.0	-----	-----
γ -CD	60.16	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP α -CD M.S.=0.6	59.95	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP β -CD M.S.=0.6	59.88	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP β -CD M.S.=0.8	60.10	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP β -CD M.S.=1.0	60.13	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP γ -CD M.S.=0.6	59.82	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----

Tabla 4.4 Condiciones y parámetros termodinámicos obtenidos de los experimentos

Labetalol-CD's

CD	[CD] / mM	[LAB] / mM	K_{CD-F} / M^{-1}	$\Delta H^{\circ}_{CD-f} / kJmol^{-1}$	$\Delta G^{\circ}_{CD-F} / kJmol^{-1}$	$T\Delta S^{\circ}_{CD-f} / kJmol^{-1}$
α -CD	59.95	2.00	29.36± 2.54	-22.46±1.38	-8.38±0.22	-14.08±1.16
β -CD	15.00	0.55	-----	0.0±0.0	-----	-----
γ -CD	60.00	2.00	17.83±1.94	-22.92±2.04	-7.14±0.27	-15.78±1.77
HP α -CD M.S.=0.6	60.01	2.00	107.37±24.27	-2.37±0.31	-11.59±0.57	9.22±0.26
HP β -CD M.S.=0.6	59.93	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP β -CD M.S.=0.8	60.02	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP β -CD M.S.=1.0	59.13	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP γ -CD M.S.=0.6	60.07	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----

Tabla 4.5 Condiciones y parámetros termodinámicos obtenidos de los experimentos

Propranolol-CD's

CD	[CD] / mM	[PRO] / mM	K_{CD-F} / M^{-1}	$\Delta H^{\circ}_{CD-f} / kJmol^{-1}$	$\Delta G^{\circ}_{CD-F} / kJmol^{-1}$	$T\Delta S^{\circ}_{CD-f} / kJmol^{-1}$
α -CD	59.97	2.00	18.86±3.72	-9.58±1.44	-7.28±0.51	-2.30±0.93
β -CD	15.10	0.55	-----	0.0±0.0	-----	0.0±0.0
γ -CD	60.00	2.00	16.97±10.33	-7.51±3.70	-7.02±1.76	-0.49±1.94
HP α -CD M.S.=0.6	60.04	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP β -CD M.S.=0.6	59.98	2.00	40.06±11.11	-15.18±2.64	-9.15±0.71	-6.03±1.93
HP β -CD M.S.=0.8	59.49	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP β -CD M.S.=1.0	59.13	2.00	290.02±48.02	-3.48±0.29	-14.06±0.42	10.58±0.13
HP γ -CD M.S.=0.6	60.07	2.00	-----	0.0±0.0	-----	-----

Tabla 4.6 Condiciones y parámetros termodinámicos obtenidos de los experimentos

Timolol-CD's

CD	[CD] / mM	[TIM] / mM	K_{CD-F} / M^{-1}	$\Delta H^{\circ}_{CD-f} / kJmol^{-1}$	$\Delta G^{\circ}_{CD-F} / kJmol^{-1}$	$T\Delta S^{\circ}_{CD-f} / kJmol^{-1}$
α -CD	59.97	2.02	40.94±0.87	-40.21±0.56	-9.20±0.05	-31.01±0.51
β -CD	15.10	0.55	-----	0.0±0.0	-----	-----
γ -CD	60.00	2.02	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP α -CD M.S.=0.6	60.01	2.02	49.75±2.50	-31.27±1.04	-9.68±0.05	-21.59±0.99
HP β -CD M.S.=0.6	59.98	2.02	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP β -CD M.S.=0.8	59.49	2.02	36.67±2.49	-10.24±0.47	-8.93±0.17	-1.31±0.30
HP β -CD M.S.=1.0	59.13	2.02	-----	0.0±0.0	-----	-----
HP γ -CD M.S.=0.6	60.07	2.02	-----	0.0±0.0	-----	-----

ANÁLISIS DE RESULTADOS

1. ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS CD-F

CONSIDERACIONES PREVIAS

Antes de empezar el análisis es importante realizar las siguientes consideraciones, para una mejor interpretación de los resultados obtenidos. El signo en el valor de la ΔH°_{CD-F} , sólo indica la dirección del flujo de calor, si es negativo, la reacción libera energía hacia los alrededores, es exotérmica. Cuando la energía de Gibbs disminuye ($\Delta G^{\circ}_{CD-F} \leq 0$) en una transformación a temperatura y presión constantes (como las condiciones de experimentación), implica que la transformación ocurre en forma espontánea o natural. Por otro lado, si la entropía aumenta, el valor de $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ es positivo. Si una transformación se realiza en un sistema aislado (volumen y energía interna constantes) ocurrirá de forma espontánea cuando $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ sea positivo. El valor de la energía libre de Gibbs contiene dos contribuciones, una entálpica y otra entrópica: $\Delta G^{\circ}_{CD-F} = \Delta H^{\circ}_{CD-F} - T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$, por lo tanto para lograr que el valor de $\Delta G^{\circ}_{CD-F} < 0$, debe cumplirse que $\Delta H^{\circ}_{CD-F} < -T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ [12].

El número de unidades de glucopiranosas en: α -CD y HP α CD (M.S. = 0.6), es de 6 unidades; en β -CD y HP β CD's (M.S. 0.6, 0.8 y 1.0), es 7 unidades, y por último en γ -CD y HP γ CD (M.S. = 0.6) es 8. Las siglas M.S. indican la sustitución molecular de las hidroxipropil ciclodextrinas, HP significa hidroxipropilo, CD es ciclodextrina y para cada uno de los fármacos se indica cual es su abreviatura en su respectivo subtítulo.

Se comenzará el análisis con el propranolol por ser la molécula prototipo de la cual derivan los demás β -bloqueadores de estudiadas.

2. FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE PROPRANOLOL-CD'S

ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE PROPRANOLOL (PRO)-CD'S NATIVAS.

En el gráfico 5.1, se puede apreciar que la complejación del propranolol está más favorecida termodinámicamente con la α -CD, ya que el valor de ΔG°_{CD-F} es más negativo, lo cual nos indica que la reacción se realiza de manera natural, o sea que la formación de los complejos con α -CD es posible sin forzar al sistema. Lo mismo sucede con la γ -CD, pero no con la β -CD, con la cual, dado que el valor de ΔH°_{CD-F} es cero, no se pudo determinar la constante de equilibrio. De ninguna manera se afirma que no exista complejo, porque tal vez el proceso de formación está guiado por la entropía y no por la entalpía, que es lo que se puede medir en el calorímetro.

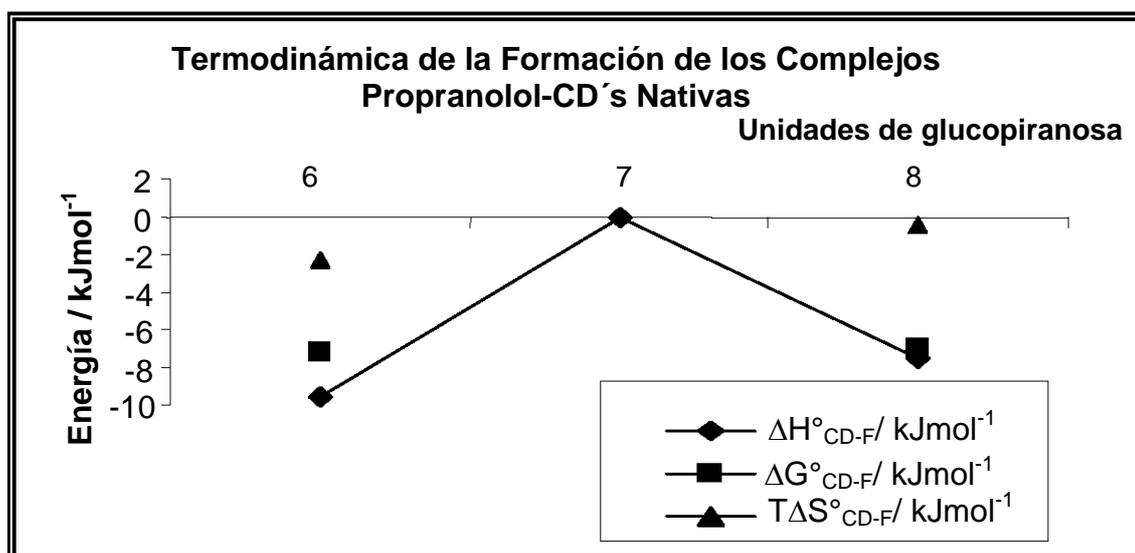


Gráfico 5.1. Termodinámica de la complejación de Propranolol con CD's nativas

ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE PROPRANOLOL (PRO)-HPCD'S CON M.S. = 0.6.

En el gráfico 5.2, la complejación con la HP β CD con M.S. = 0.6 es la más favorecida termodinámicamente, quizá se deba a que al adicionar un sustituyente hidroxipropilo (HP) en la estructura de la β -CD, permite que la complejación sea más espontánea con respecto a los valores de la α -CD y la γ -CD, ya que se puede suponer que el HP interactúa con alguna parte de la estructura del PRO que no esté dentro de la cavidad de la CD. Con las otras dos HPCD's de M.S. = 0.6 no sucede, ya que el valor de ΔH°_{CD-F} es cero, por lo tanto no se pudo determinar la constante de equilibrio y obtener los demás parámetros termodinámicos asociados. Hemos de suponer que la interacción con el HP altera la reacción espontánea de complejación, ya que sí se logra con las nativas.

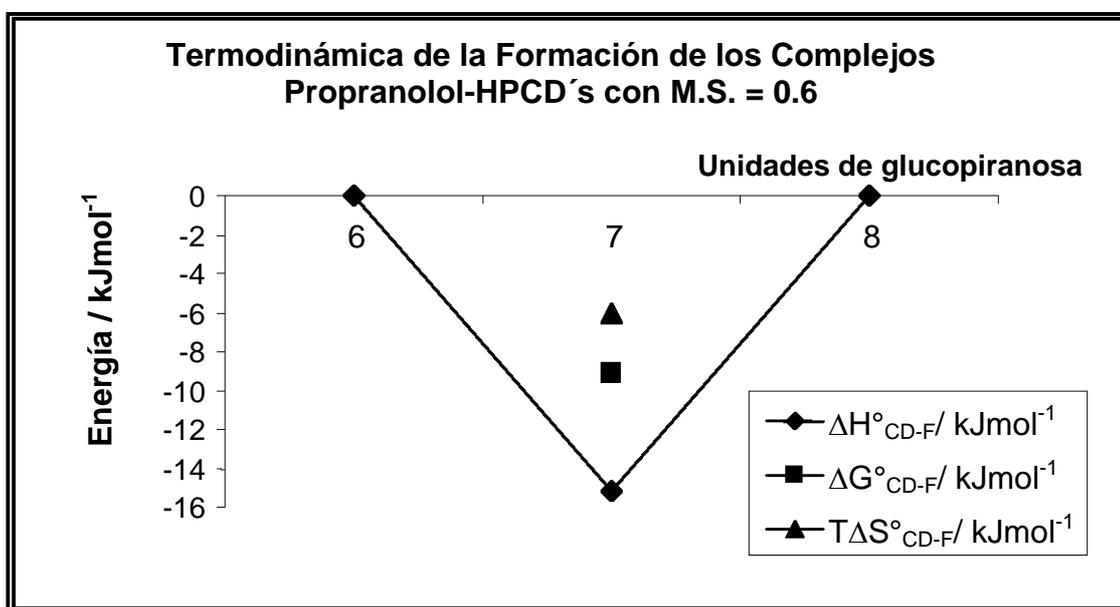


Gráfico 5.2. Termodinámica de la complejación de Propranolol-HPCD's con M.S.= 0.6

En el gráfico 5.3, se presenta una comparación de los valores de ΔH°_{CD-F} , en la cual se aprecia que la presencia del grupo HP invierte la posibilidad de detección por calorimetría

de la formación de complejos, y a su vez favorece termodinámicamente la formación de complejo por parte de la β -CD, ya que al sustituirse con HP's se logra la detección de la formación de los complejos con propranolol.

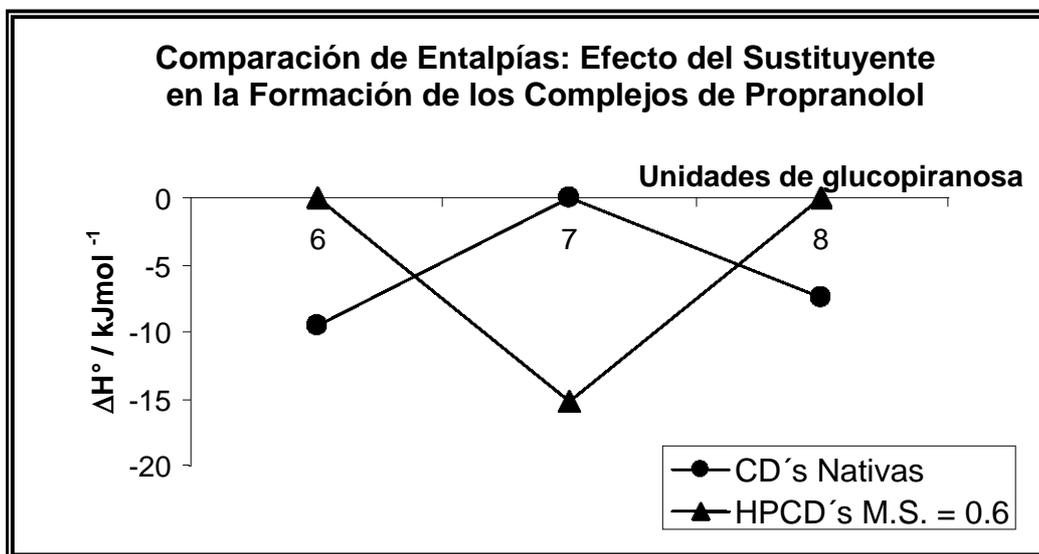


Gráfico 5.3. Efecto del sustituyente en la formación de los complejos de Propranolol

ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE PROPRANOLOL (PRO)-HP β CD'S EN FUNCIÓN DE SU M.S.

Como se puede observar en gráfico 5.4, el HP en la β -CD favorece en cierta medida la complejación con PRO, esto quiere decir, que el efecto de la presencia del grupo HP en la estructura de CD permite la complejación espontánea, pero en el caso del grado de sustitución de 0.8, no significa que no se haya dado la complejación, sino que por medio de calorimetría no fue posible detectar la formación, ya que se obtuvo valor de $\Delta H^\circ_{\text{CD-F}}$ cero y no se pudo determinar la constante de equilibrio, para así obtener los demás parámetros termodinámicos asociados. Además se nota el incremento en el valor de la entropía pasando de ser negativa a positiva, lo cual favorece la formación con la HP β CD M.S. = 1.0 en mayor

grado que con la HP β CD M.S. = 0.6, lo cual se corrobora con el valor más negativo de ΔG°_{CD-F} . Podemos observar que a medida de que el valor de ΔH°_{CD-F} se vuelve más negativo el $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ disminuye, lo cual favorece la disminución del valor de ΔG°_{CD-F} y a su vez la formación del complejo.

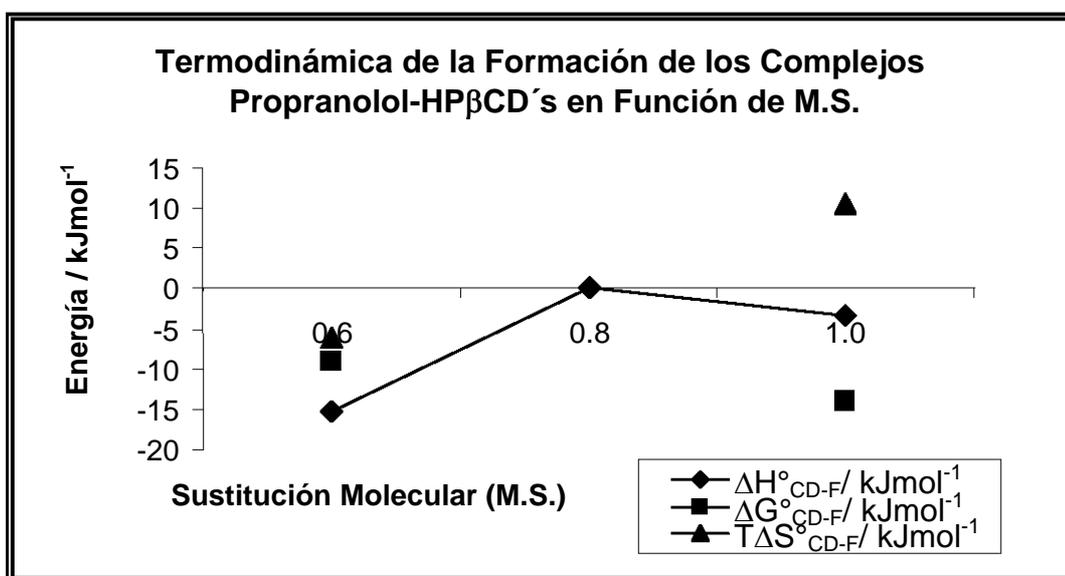


Gráfico 5.4. Termodinámica de la complejación de Propranolol-HP β CD's en función de M.S.

3. FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE LABETALOL-CD'S

ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE LABETALOL (LAB)-CD'S NATIVAS.

Como se puede observar en el gráfico 5.5, hay una similitud en los valores de los parámetros termodinámicos asociados a la formación del complejo labetalol con la α -CD y la γ -CD, lo que indica que es igual de viable para ambas, con la β -CD no es posible detectarla por calorimetría. Debido a que el valor de ΔH°_{CD-F} es cero, no se pudo determinar la constante de equilibrio, pero esto de ninguna manera significa afirma que no exista complejo, tal vez el proceso de formación está guiado por otros parámetros como la entropía y no por la

entalpía, o se requiere de una mayor concentración de fármaco, siendo una limitante la baja solubilidad de la β -CD para poder probar con mayor concentración.

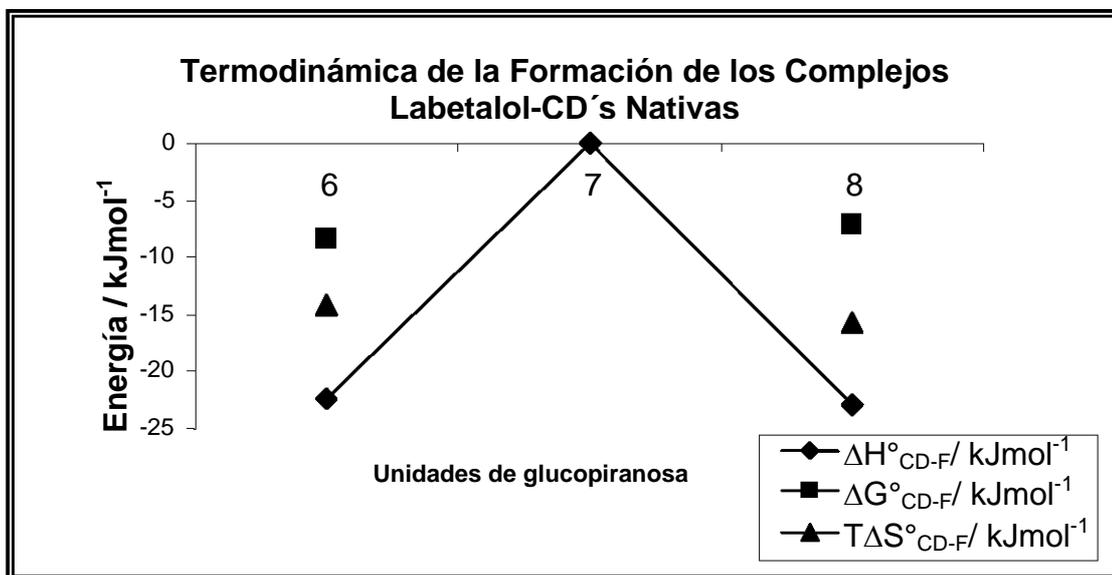


Gráfico 5.5. Termodinámica de la complejación de Labetalol con CD's nativas

ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE LABETALOL (LAB)-HPCD'S CON M.S. = 0.6.

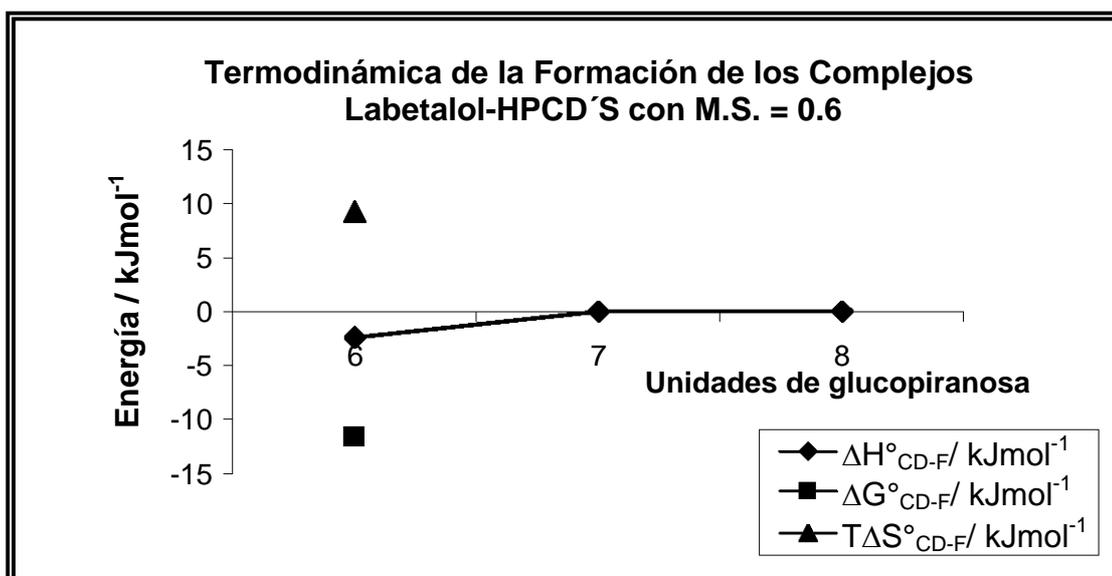


Gráfico 5.6. Termodinámica de la complejación de Labetalol-HPCD's con M.S. = 0.6

En el gráfico 5.6, la formación de complejos de LAB con HP α CD se ve favorecida termodinámicamente, ya que el valor de ΔG°_{CD-F} es negativo y el valor del $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ es positivo, los resultados nos indica que la reacción está guiada principalmente por la entalpía. Para las otras HPCD's no se pudo verificar calorimétricamente la formación de complejo, ya que el valor de ΔH°_{CD-F} resultó ser cero.

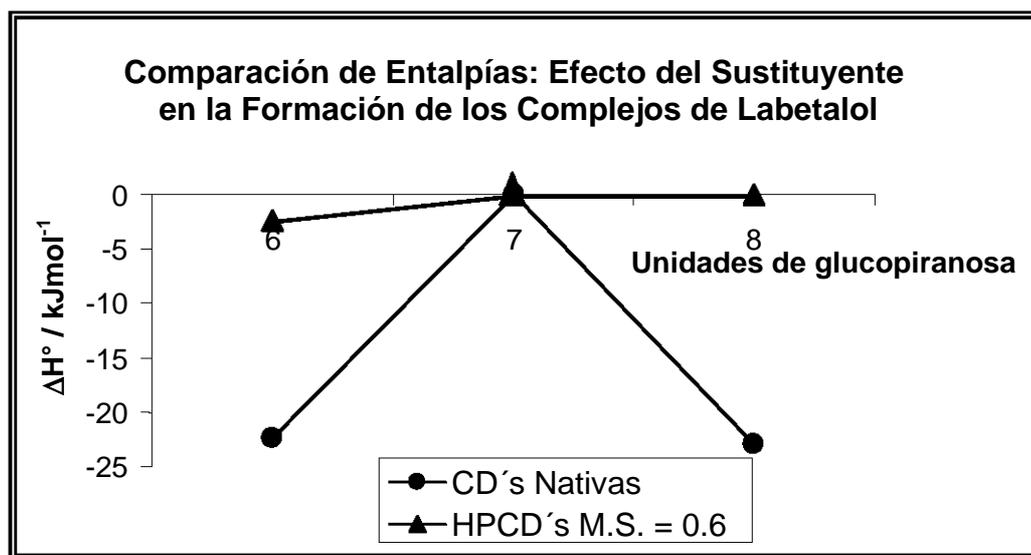


Grafico5.7. Efecto del sustituyente en la formación de los complejos de Labetalol

Para ver más claramente el efecto del grupo en la formación de complejos de LAB con las HPCD's del mismo M.S. con respecto a los formados con las CD's nativas, se presenta el gráfico 5.7, donde se observa que la presencia del grupo HP en la estructura de la α -CD, hace que disminuya el valor de ΔH°_{CD-F} , así podemos interpretar que hay menor desprendimiento de calor en la formación de complejo con HP α CD que con α -CD, aunque para la HP γ CD y la γ -CD el efecto del sustituyente HP tiene es más drástico, porque al poderse detectar por calorimetría con γ -CD, cuando ésta tiene el grupo HP como sustituyente no se logra detectar la formación de complejo, esto tal vez a que se deba a un

efecto estérico con LAB y los HP en la CD; en el caso de β -CD y HP β CD no se observa ningún efecto, porque con ninguna se pudo caracterizar termodinámicamente la formación de complejo.

Debido a que no se detecta por calorimetría la formación de complejos con HP β CD's y labetalol, no se muestra gráfico de análisis, porque el valor de ΔH°_{CD-F} es cero en todas ellas, así mismo no se pudo caracterizar termodinámicamente. Quizás se deba a que la sustitución del grupo HP en la estructura de la β -CD no favorece la complejación, o existan otro tipo de interacciones entre labetalol y las CD's de siete unidades.

4. FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE TIMOLOL-CD'S

ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE TIMOLOL (TIM)-CD'S NATIVAS.

En el gráfico 5.8, se muestra que la formación de complejo se caracterizó sólo con α -CD, debido a que fue la única CD (entre las estudiadas) con la que se pudo determinar el valor de ΔH°_{CD-F} y así determinar los parámetros termodinámicos restantes, esto porque las dimensiones de esta CD son adecuadas para albergar al TIM en su cavidad. Además, el valor de $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ no contribuye mucho al ΔG°_{CD-F} , más bien la contribución entálpica es la que guía el valor de ΔG°_{CD-F} a valores negativos, lo que implica que la reacción es espontánea. Para β -CD y γ -CD no hay valores de ΔG°_{CD-F} y $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ relacionados con el proceso de complejación puesto que en el calorímetro el valor de ΔH°_{CD-F} resultó cero y la K_{CD-F} no pudo ser determinada, puede ser debido a que el proceso sea guiado por $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$.

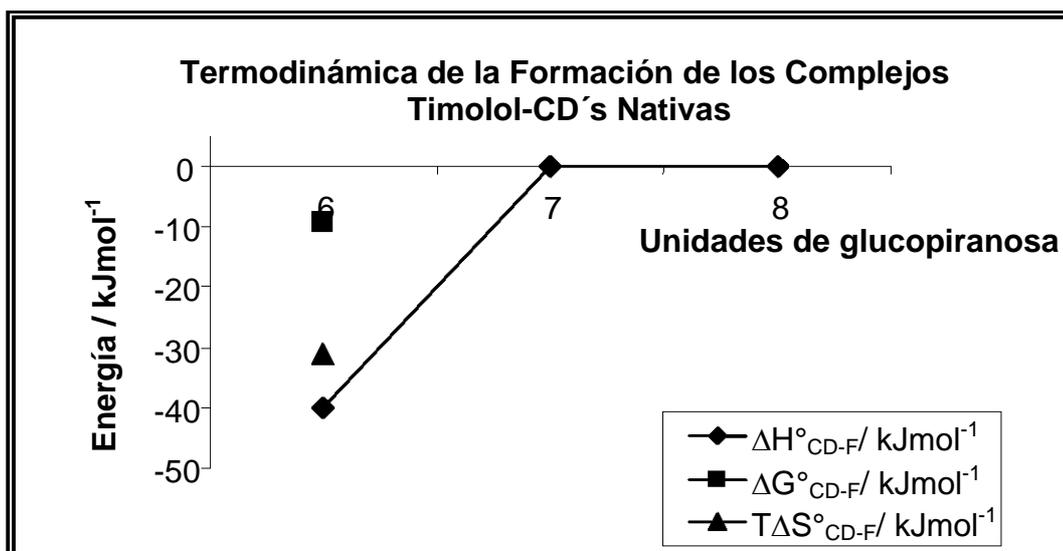


Gráfico 5.8. Termodinámica de la complejación de Timolol con CD's nativas.

ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE TIMOLOL (TIM)-HPCD'S CON M.S. = 0.6.

En el gráfico 5.9, se observa el comportamiento del Timolol con las HPCD's que es similar al que presenta con las CD's nativas, solamente se pudo caracterizar la formación de complejo con HP α CD. La contribución entálpica es la que guía el valor de ΔG°_{CD-F} a valores negativos, que resulta ser espontánea. Para HP β CD y HP γ CD no hay valores de ΔG°_{CD-F} y $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ relacionados con el proceso de complejación puesto que el valor de ΔH°_{CD-F} es cero.

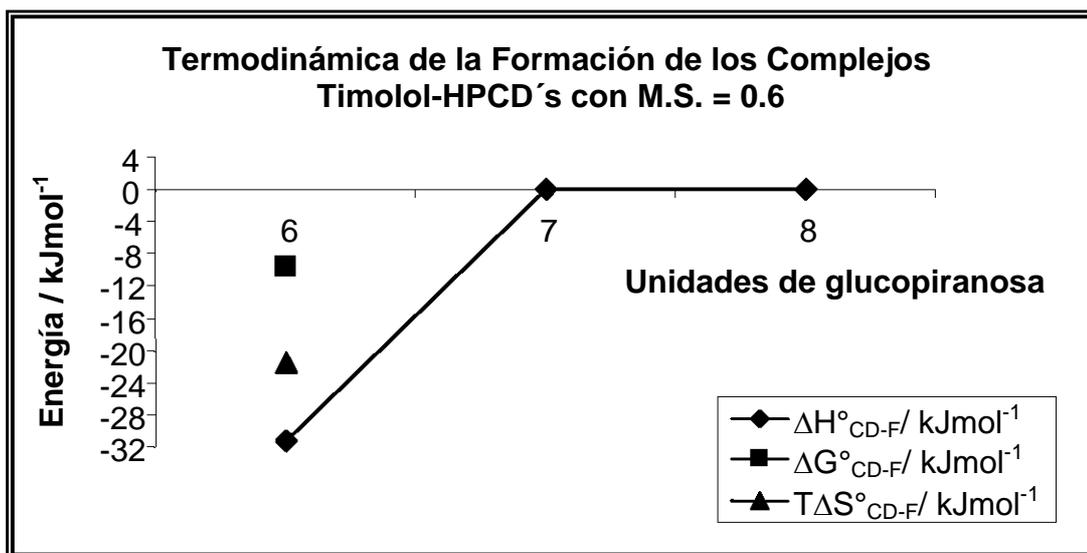


Gráfico 5.9. Termodinámica de la complejación de Timolol-HPCD's con M.S.= 0.6

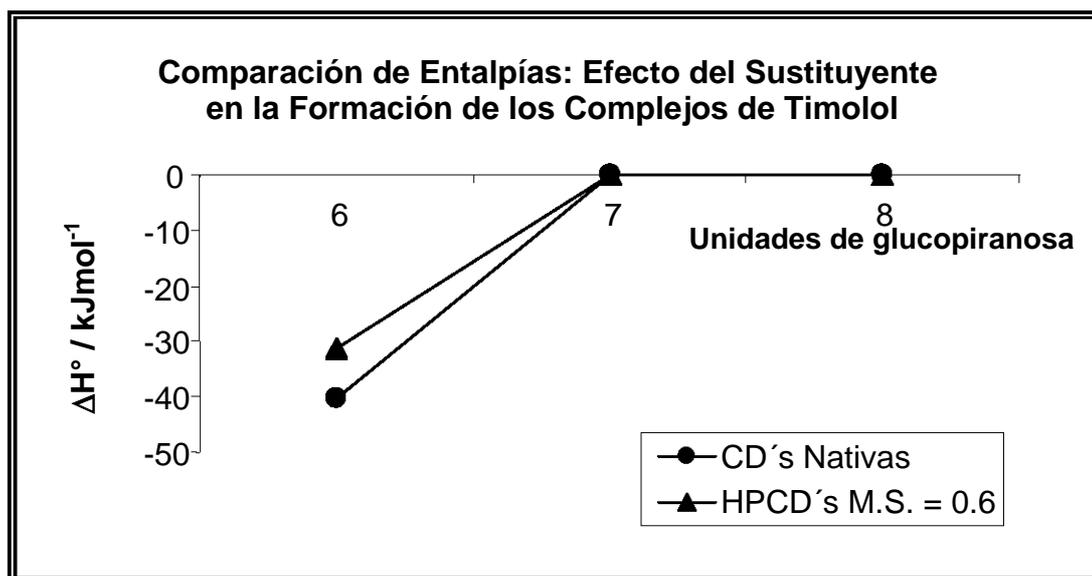


Gráfico 5.10. Efecto del sustituyente en la formación de los complejos de Timolol

En el grafico 5.10 se presenta la comparación entálpica para observar el efecto del sustituyente HP en la estructura de las CD's nativas para el proceso de formación de complejos con TIM, La aportación del grupo HP en este caso es cerca de 9 kJmol⁻¹, siendo

menos negativa con la HP α CD. Observamos también que no se produce ningún efecto en la caracterización termodinámica de los complejos al introducir un grupo HP, puesto que ΔH°_{CD-F} sigue siendo cero.

ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE TIMOLOL (TIM)-HP β CD'S EN FUNCIÓN DE SU M.S.

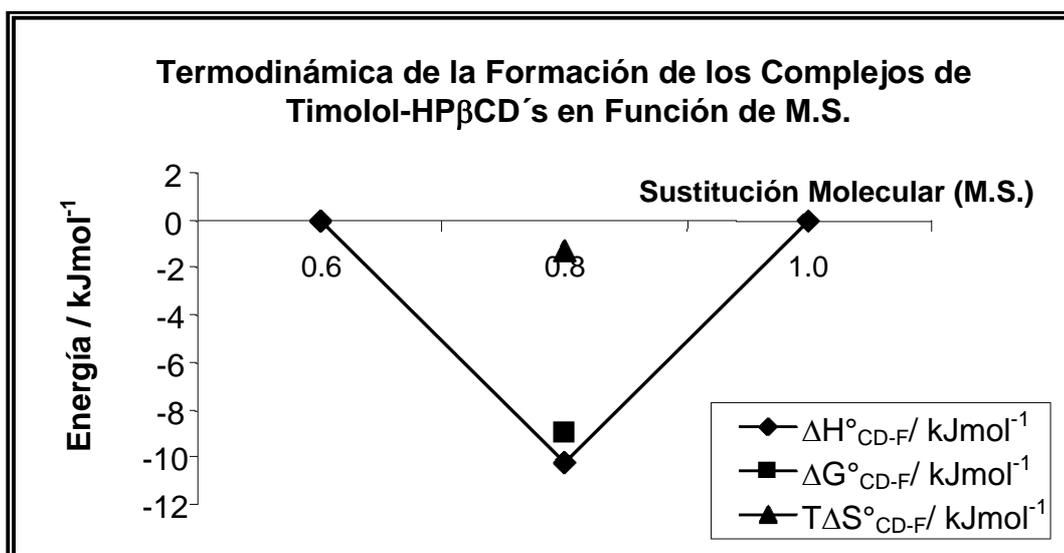


Gráfico 5.11. Termodinámica de la complejación de Timolol-HP β CD's en función de M.S.

Para el caso de las HP β CD's, como se puede ver en el gráfico 5.11, la caracterización termodinámica se dio con HP β CD M.S. = 0.8, con la cual podemos observar que el proceso es guiado por la entalpía ya que es el quien da el valor negativo al ΔG°_{CD-F} . Hemos de suponer que el efecto de la sustitución en la misma CD, hace que el proceso de complejación sea distinto, ya que puede haber una cierta interacción con la estructura de TIM a nivel conformacional y así facilitar más el proceso de complejación con M.S. = 0.8, con las otras dos HP β CD's no significa que no se haya dado la formación, sólo que no se

pudo determinar el valor de ΔH°_{CD-F} , debido a que en el calorímetro sólo se puede medir la entalpía del proceso y puede que esté guiado por la entropía.

5. FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE ALPRENOLOL-CD'S

ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE ALPRENOLOL (ALP)-CD'S NATIVAS.

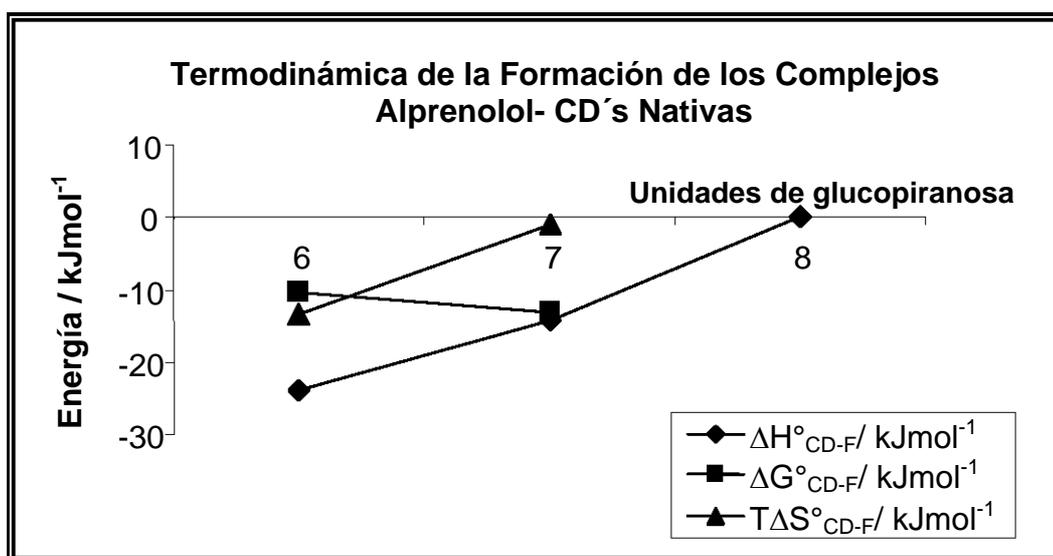


Gráfico 5.12. Termodinámica de la complejación de Alprenolol con CD's nativas.

En el gráfico 5.12, se observa que la complejación de ALP con la CD's nativas parece estar más favorecida termodinámicamente en la medida que el número de unidades de glucopiranosas aumenta. Puede entenderse que esto se deba a que a partir de que aumenta el diámetro de la CD, el ALP encuentra menos problemas para albergarse en la cavidad de la misma. Tanto para α -CD como con β -CD el proceso de formación está guiado principalmente por la entalpía; ambos procesos son procesos espontáneos. También se puede observar en el gráfico que no aparecen los parámetros termodinámicos asociados a la complejación con la γ -CD dado que el valor de ΔH°_{CD-F} es cero, no se pudo determinar la

constante de equilibrio, tal vez a que el proceso esté guiado por la entropía y no por la entalpía.

ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE ALPRENOLOL (ALP)-HPCD'S CON M.S. = 0.6.

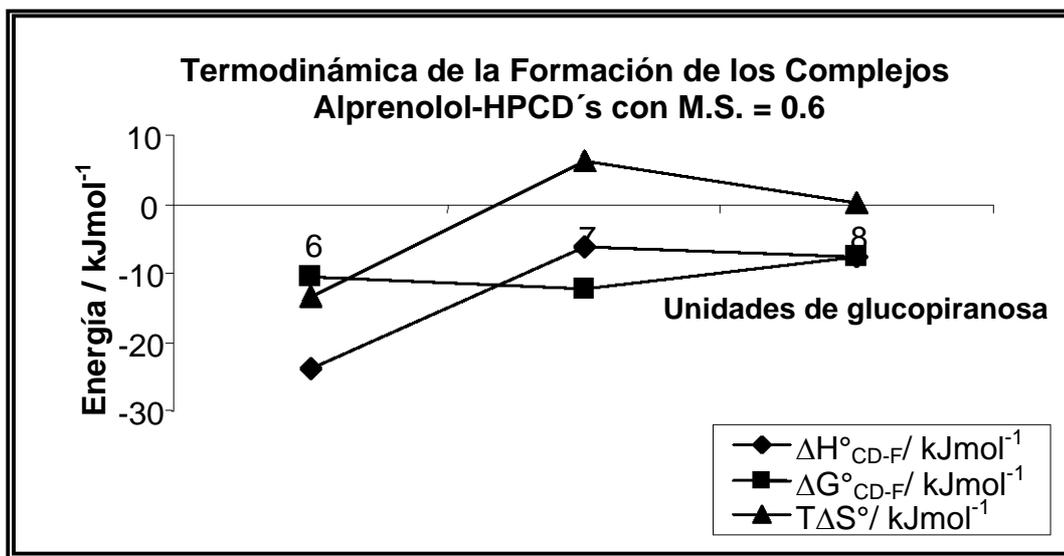


Gráfico 5.13. Termodinámica de la complejación de Alprenolol-HPCD's con M.S.= 0.6

Termodinámicamente está más favorecida la formación del proceso de formación del complejo con la HP β CD M.S. = 0.6, como se observa en el gráfico 5.13, esto tal vez se deba a que esta CD tiene las dimensiones adecuadas para albergar al ALP en su interior, además de que el grupo HP pudiera interactuar con la estructura del alprenolol que no esté dentro de la cavidad de la CD. A pesar de que termodinámicamente es viable la complejación con β -CD, la complejación con la HP β CD M.S. = 0.6 presenta un $\Delta G^{\circ}_{\text{CD-F}}$ menor que el obtenido con β -CD.

Podemos observar en el gráfico 5.14 que la presencia del grupo HP tiene un efecto importante en la contribución del ΔH°_{CD-F} de la HP β CD y la HP γ CD, probablemente a que hay electrones libres por parte del nitrógeno de la amina secundaria o del OH del ALP que interactúen con el grupo HP de la CD.

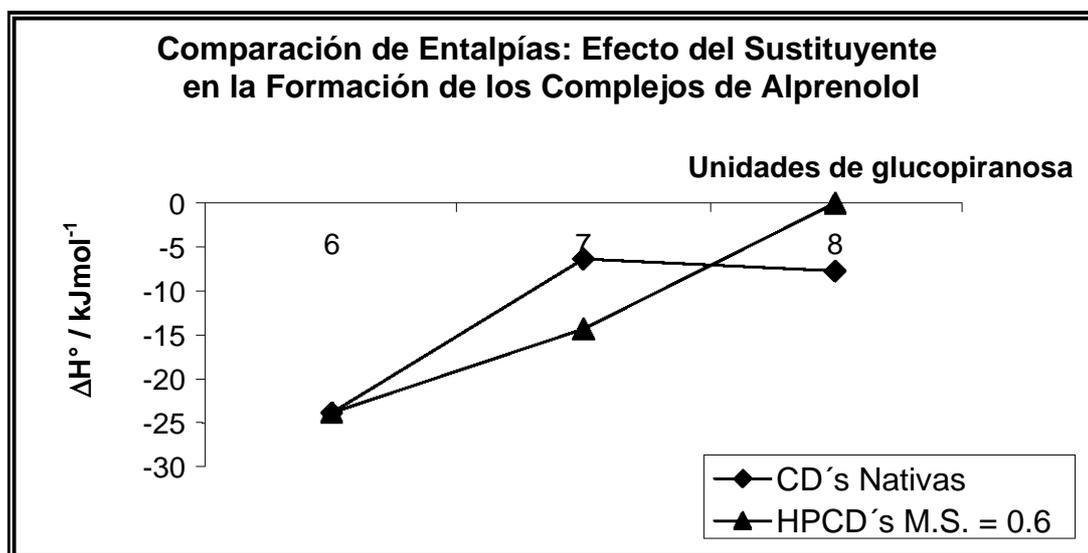


Gráfico 5.14. Efecto del sustituyente en la formación de los complejos de Alprenolol

ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE ALPRENOLOL (ALP)-HP β CD'S EN FUNCIÓN DE SU M.S.

Como se puede observar en el gráfico 5.15, la formación de complejo más favorecida termodinámicamente es con la HP β CD M.S. = 0.8, dado a que presenta el valor más negativo de ΔG°_{CD-F} . Obsérvese también que la disminución del valor de ΔH°_{CD-F} y el aumento de $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ siguen una tendencia paralela y el valor de ΔG°_{CD-F} se vuelve más negativo, para el caso de HP β CD M.S. = 0.6 y 0.8. Es importante destacar que conforme aumenta el valor de M.S., el valor de ΔH°_{CD-F} disminuye debido a que la capacidad para

albergar al fármaco, sea un efecto de grupo HP en la CD, dándose así un fenómeno estérico, el cual no permita o dificulte a mayor sustitución el encapsulamiento del fármaco

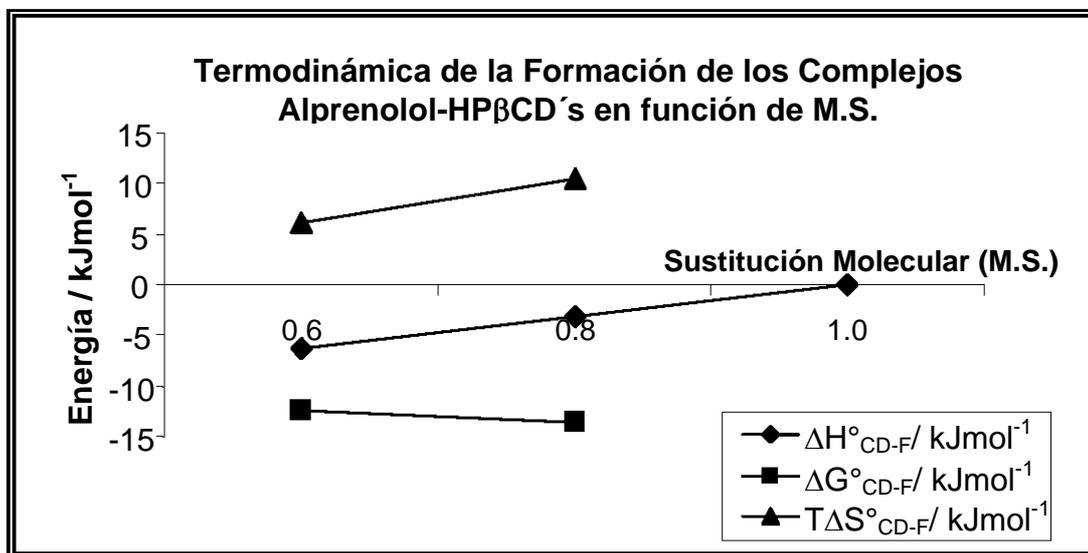


Gráfico 5.15. Termodinámica de la complejación de Alprenolol-HPβCD's en función de M.S.

6. FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE ACEBUTOLOL (ACE)-CD'S Y

ATENOLOL (ATE)-CD'S

ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE ACEBUTOLOL (ACE)-CD'S y ATENOLOL (ATE)-CD'S DE ESTUDIO.

Debido a que no se logró monitorear por calorimetría la formación de complejos con las diferentes CD's de estudio, para estos dos fármacos no se muestran gráficos de análisis, porque el valor de ΔH°_{CD-F} no se pudo determinar en todas ellas, así mismo no se pudo caracterizar termodinámicamente. Pero es importante señalar que esto no indica que no se formen complejos entre las CD's con dichos fármacos.

CONCLUSIONES

1. CONCLUSIONES GENERALES DEL PROCESO DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS β -BLOQUEADOR-CD

- De acuerdo a los resultados y análisis de los mismos, a continuación se presenta una tabla donde se indica cuál de las CD's utilizadas resulta el mejor microencapsulador para cada uno de los β -bloqueadores estudiados desde el punto de vista termodinámico.

Cuadro 6.1 ACARREADOR O MICROENCAPSULADOR SUGERIDO PARA EL β -BLOQUEADOR, EN BASE AL VALOR DE LA ENERGÍA LIBRE DE GIBBS.

<i>β-Bloqueador</i>	CD sugerida
Acebutolol (ACE)	-----
Alprenolol (ALP)	HP β CD M.S. = 0.8
Atenolol (ATE)	-----
Labetalol (LAB)	HP α CD M.S. = 0.6
Propranolol (PRO)	HP β CD M.S. = 1.0
Timolol (TIM)	HP α CD M.S. = 0.6

- El calor asociado a un proceso de complejación, es característico del sistema.
- En la mayoría de los casos el grupo HP vuelve menos exotérmico el proceso de complejación
- La relación que existe entre el valor del ΔH°_{CD-F} y el $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ en un proceso espontáneo a presión y temperatura constantes, consiste en que a medida que el valor del ΔH°_{CD-F} se vuelve más negativo el $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ disminuye y viceversa; lo anterior se conoce como compensación entálpico-entrópica.

- La diferencia entre los valores obtenidos con las CD`s hidroxipropil sustituidas y las CD`s nativas, es la contribución entálpica del sustituyente.

2. RECOMENDACIONES PARA TRABAJO A FUTURO

- Realizar pruebas de biodisponibilidad y farmacológicas, que permitan evaluar las ventajas que tiene una administración no parenteral de los β -bloqueadores microencapsulados por una CD, sobre aquellos cuya forma farmacéutica no incluya CD.
- Evaluar la viabilidad en cuanto a costos, tiempo y aceptación del paciente, sobre los β -bloqueadores microencapsulados en forma farmacéutica líquida.
- Realizar nuevamente los experimentos con las mismas condiciones de experimentación en las que este trabajo fue elaborado, variando la temperatura.
- Determinar en el calorímetro si es posible la formación de los complejos que no se pudieron monitorear al variar la temperatura.
- Hacer los experimentos con las mismas condiciones de experimentación que se presentan en este trabajo, utilizando diferentes concentraciones de CD, de tal manera que con los resultados, permitan verificar si existe la estequiometría de 1:2.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/030ssa29.html>, **NOM-030-SSA2-1999, para el tratamiento y prevención de la antihipertensión.**
- [2] <http://bvs.insp.mx/componen/svirtual/boprime/v1n0699/01.htm>, **Boletín sobre hipertensión arterial.**
- [3] Ganong, W. **Fisiología Médica**, Ed. Manual Moderno, 15ª edición, México D.F., 1996, Pág. 619.
- [4] Goodman & Gilman. **Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica**, Editorial McGraw-Hill Interamericana, 9ª edición, México D.F., 1996.
- [5] <http://www.biam2.org/www1/sub3191.html#SubMeca>, **Monografía de alprenolol**, Banco de datos automatizados sobre los medicamentos.
- [6] Loftsson, T., Brewster, M. E. **Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization**, Journal of Pharmaceutical Sciences, Octubre 1996, Vol. 85, Núm.10, 1017-1169.
- [7] <http://www.ranf.com/pdf/monografias/monografia15/02.pdf>, Domínguez-Gil Hurlé, A., Suárez A. M. **Avances en tecnología farmacéutica**, Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad de Salamanca, España.
- [8] Frôming, K., Szejtli, J. **Cyclodextrins in pharmacy**, Editorial Kluwer Academic Publishers, University of Lancaster, UK, 1994.
- [9] Uekama, K., Hirayama, F. **Cyclodextrin drug carrier systems**, Chem. Rev. 1998, 98, 2045-2076.
- [10] M. Eftink & Biltone. **Thermodynamics of interactions in biological systems, in biological microcalorimeter**, Editorial A.E. Beeper.

- [11] Vega Rodriguez, A., Piñeiro, A., Pérez Casas, S. **Thermodynamics of the interaction between hidroxipropil- α -cyclodextrin and alkanols in aqueous solutions**, Thermochemica Acta 405, 2003, 109-115.
- [12] Castellan, Gilbert W. **Fisicoquímica**, Editorial Addison Wesley Longman, 2^a edición, México, D.F., 1998.
- [13] Ladbury, John E. **Isothermal titration calorimetry: application to structure-based drug desing**, Thermochemica Acta 380, 2001, 209-215.
- [14] Götmar, G., Ozen, C., Serpersu, E., Guiochon, G. **Isothermal microcalorimetric study of the pH dependence of the interactions between a cellulase and a β -blocker**, Journal of Chromatography A, 1046, 2004, 49-53.
- [15] <http://www.ugr.es/~qmfisica/espanol/QFciencias/Docencia/Ficheros/Doctorado/Microcalorimetria/ITC/FundamentosITC> López Mayorga, Obdulio. **Fundamentos de ITC (Isothermal titration calorimetry)**, Departamento de Química Física, Universidad de Granada, España.
- [16] http://www.thermometric/main.asp?mapp2=´products&sida=mall01&sid_o_rubik=2277%20TAM&aspsida=2277tam&productt_lista=Tam227&productt_lista2=sida3, **Manual del Thermal Activity Monitor (TAM) Mod. 2277de Thermometric, Suecia**