



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
CIENCIAS QUÍMICAS**

*“OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE COMPLEJACIÓN ENTRE
CICLODEXTRINAS Y PRAZIQUANTEL POR EFECTO DE LA
FUERZA DE COMPRESIÓN”*

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA
JORGE ESTEBAN MIRANDA CALDERÓN



TUTOR: DRA MA. JOSEFA BERNAD BERNAD

AÑO: 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dr. David Quintanar Guerrero
Vocal: Dr. Javier Rolando Ambrosio Hernández
Secretario: Dra. Helgi Jung Cook
1er suplente: Dr. Francisco Hernández Luis
2do suplente: Dr. Hugo Morales Rojas

Laboratorio de Investigación en Nuevos Sistemas de Liberación de
Fármacos, Departamento de Farmacia. Facultad de Química C.U., UNAM

Asesora del tema:

Dra. María Josefa Bernad Bernad

Sustentante:

Q.F.B. Jorge Esteban Miranda Calderón

AGRADECIMIENTOS

A Dios.

A la UNAM y al posgrado en ciencias químicas por las facilidades para llevar a cabo este trabajo.

Al CONACYT por el apoyo otorgado durante el periodo de elaboración de la presente.

A la Dra. Ma. Josefa Bernad Bernad por la oportunidad de trabajar en su equipo.

A la USAI por el uso de sus equipos.

Al jurado por sus valiosos comentarios y observaciones que han mejorado la calidad del trabajo.

*ESTA TESIS ES DEDICADA A MI FAMILIA. BUSCA PRIMERO EL
REINO DE DIOS Y POR AÑADIDURA LO DEMÁS SE TE DARÁ*

1 RESUMEN

2 ANTECEDENTES

<i>2.1 PRAZIQUANTEL</i>	
2.1.1 Generalidades.....	
2.1.2 Química.....	
2.1.3 Farmacocinética.....	
2.1.4 Acción antihelmíntica.....	
2.1.5 Efectos adversos.....	
2.1.6 Estudios farmacéuticos.....	
<i>2.2 CICLODEXTRINAS</i>	
2.2.1 Química supramolecular.....	
2.2.2 Generalidades.....	
2.2.3 Constante de interacción.....	
2.2.4 Interacciones huésped-ciclodextrina.....	
2.2.5 Métodos de formación de complejos.....	
2.2.6 Caracterización de los complejos.....	
2.2.7 Toxicología por vía oral.....	
2.2.8 Aplicaciones de las ciclodextrinas.....	
2.2.9 Estudios en tabletas.....	

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL.....	
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 MATERIALES.....	
4.2 MÉTODOS.....	

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

<i>5.1 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO</i>	
5.1.1 Caracterización y efecto de la relación molar.....	
5.1.2 Efecto de la fuerza de compresión.....	
<i>5.2 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO</i>	
5.2.1 Caracterización y efecto de la relación molar.....	
5.2.2 Efecto de la fuerza de compresión.....	
<i>5.3 DIFRACCIÓN DE RAYOS X</i>	
5.3.1 Caracterización y efecto de la relación molar.....	
5.3.2 Efecto de la fuerza de compresión.....	
<i>5.4 ENSAYOS DE DISOLUCIÓN</i>	
5.4.1 Sistemas PZQ- α -CD.....	

5.4.2 Sistemas PZQ- β -CD.....

5.4.3 Sistemas PZQ- γ -CD.....

6 CONCLUSIONES.....

7 PERSPECTIVAS.....

BIBLIOGRAFÍA.....

SÍMBOLOS	Y	ABREVIATURAS
α		Alfa
β		Beta
γ		Gama
ABC		Área Bajo la Curva
$^{\circ}\text{C}$		Grados Celsius
ΔH		Diferencia de Entalpía
CD		Ciclodextrina
CI		Complejo de Inclusión
DSC		Calorimetría Diferencial de Barrido
F		Fármaco
F-CD		Fármaco-Ciclodextrina
HP		Hidroxipropil
IR		Infrarrojo
LCR		Líquido Cefalorraquídeo
MF		Mezcla Física
MH		Molécula Huésped
OMS		Organización Mundial de la Salud
PVP		Polivinilpirrolidona
PZQ		Praziquantel
QS		Química Supramolecular
SBE		Sulfobutiléter
SLN		Nanopartículas Sólidas Lipídicas
SLC		Sistema de Liberación Controlada
SNC		Sistema Nervioso Central
TGI		Tracto Gastrointestinal

1 RESUMEN

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

Para lograr la formación de complejos de inclusión entre las ciclodextrinas y diferentes moléculas huéspedes existen diversas metodologías, cada una con sus variables y cuyo control depende el éxito de la formación del complejo de inclusión. De ellos en particular en el método de amasado, la fuerza aplicada durante el proceso es una variable que puede ser determinante, ya que favorece el intercambio de moléculas de agua de la cavidad de la ciclodextrina, por moléculas huésped. Por tanto, mientras mas energía se aporte al proceso por medio de la compresión, más se favorecerá el equilibrio hacia la complejación, es decir el proceso será optimizado.

Debido a esto último se investigó el efecto de la fuerza aplicada sobre complejos de inclusión, así como a sus respectivas mezclas físicas entre ciclodextrinas y una molécula huésped. Para este fin se utilizó alfa, beta, gama e hidroxipropil-beta ciclodextrina como anfitrión y praziquantel como fármaco huésped, el cual es un antihelmíntico utilizado para combatir las parasitosis causadas por Cestodos y Trematodos, además, este fármaco presenta baja solubilidad y velocidad de disolución, nula fluidez, mal sabor; propiedades que pueden ser susceptibles de ser mejoradas por la formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas. Se trabajaron tres diferentes relaciones molares PZQ-CD (1:1, 1:5 y 1:10) y a tres fuerzas diferentes (1, 2 y 4 Ton-fza) más la presión normal de trabajo.

Los resultados obtenidos muestran que se forman los complejos de inclusión (CI) mediante el método de amasado y la complejación se ve mejorada al ejercer las diferentes fuerzas de compresión aplicadas. Por otra parte, las mezclas físicas (MF) donde se aplicó fuerza de compresión, los resultados son semejantes a los obtenidos en los CI realizados por el método de amasado. Lo anterior nos indica que se puede favorecer la interacción entre las ciclodextrinas y las moléculas huésped gracias a la energía dada por la fuerza de compresión. Por tanto se presenta una alternativa para optimizar la complejación mediante el método de amasado entre ciclodextrinas y moléculas huésped tal como el praziquantel.

2 ANTECEDENTES

2.1 PRAZIQUANTEL

2.1.1 Generalidades

Los fármacos antihelmínticos son utilizados para erradicar o reducir las cantidades de helmintos en vías intestinales, o bien, tejidos¹. El praziquantel es eficaz para el tratamiento de infestaciones causadas por esquistosomas de todas las especies y para la mayoría de otros cestodos y trematodos (contra gusanos adultos y en las etapas inmaduras)²⁻⁴. Es reconocido en todo el mundo como el fármaco de primera elección en el tratamiento de las formas más comunes de esquistosomiasis⁵. Además está incluido en la lista modelo de la OMS como uno de los fármacos esenciales⁶. En México, el praziquantel es uno de los fármacos utilizados para combatir la cisticercosis.

La actividad antiparasitaria del centro pirazino-isoquinolina (parte central del PZQ) fue observada a principios de 1970 en los laboratorios BAYER, Alemania⁷; la mayor actividad en contra de cestodos y trematodos fue observada en el compuesto EMBAY 8440 o praziquantel y fue publicado en 1977⁸. Posteriormente y después de ensayos realizados se postuló a este fármaco como primera elección para el tratamiento de esquistosomiasis⁵.

2.1.2 Química

El praziquantel es una isoquinoleína-pirazina acilada cuyo nombre sistemático es 2-(Ciclohexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4*H*-pirazino [2,1-*a*]isoquinolin-4-ona (Figura 1), fue sintetizado a principios de la década de los setenta después de que se descubrió que esta categoría de fármacos poseía actividad antihelmíntica⁷, posee un centro asimétrico en la posición 11b, el levoisómero es el que genera la mayor parte de la actividad farmacológica por ello se han buscado rutas de síntesis que sean capaces de producir solo el enantiómero (R)-(-)^{9, 10}. Es altamente lipofílico¹¹, lo que ocasiona una muy baja solubilidad en agua por lo que se requieren de altas dosis para alcanzar concentraciones adecuadas en los sitios específicos de acción. Es soluble en algunos disolventes orgánicos comúnmente usados como los mostrados en la tabla 1. Generalmente es un polvo blanco cristalino, higroscópico, de sabor amargo y olor característico, con punto de fusión de 136-140°C. Es estable bajo condiciones normales, pero inestable a la luz y debe almacenarse a temperaturas menores de 30°C.

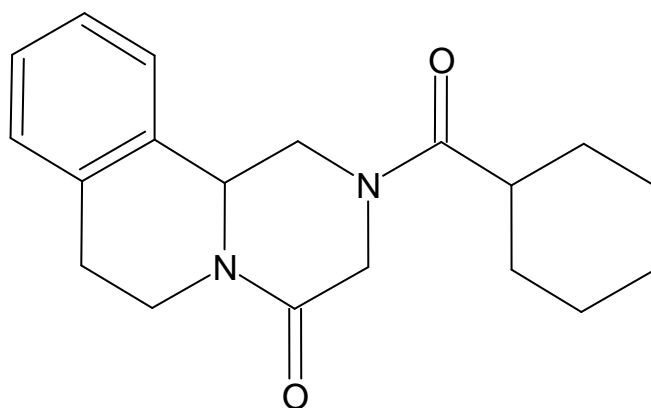


Figura 1. Estructura química del praziquantel. Fórmula condensada ($C_{19}H_{24}O_2N_2$)
P.M.=312.41 g/mol.

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

Tabla 1. Solubilidad del PZQ en algunos solventes orgánicos.

2.1.3 Farmacocinética

Aunque es muy poco soluble se absorbe en alto grado alcanzándose una biodisponibilidad de hasta el 80% después de su administración por vía oral. Generalmente a los 15 minutos se comienzan a detectar concentraciones en sangre y se alcanzan concentraciones séricas máximas del fármaco inalterado en un lapso de 1 a 3 horas después de una dosis terapéutica². La farmacocinética del producto guarda relación con la dosis. En promedio 70% del praziquantel se metaboliza rápidamente a productos monohidroxilados¹², y dihidroxilados¹³ después del primer paso por el hígado, alcanzando concentraciones en plasma 100 veces mayores a las de praziquantel, dichos metabolitos son más hidrosolubles y son excretados por medio de los riñones al término de 24 horas, el resto de la dosis biotransformada se elimina por bilis. Cerca del 80% se fija a proteínas plasmáticas. Las concentraciones de praziquantel en LCR alcanzan 14 a 20% de la cifra plasmática del fármaco, las concentraciones estimadas en bilis, leche materna y heces son del 10 a 20% de los valores plasmáticos. Su vida media es de aprox. (0.8-1.5) hrs. La biodisponibilidad del praziquantel disminuye por activación de

inductores de la enzima CYP3A4¹⁴ debido a la administración conjunta de fármacos tales como carbamazepina y el fenobarbital, por el contrario, la cimetidina^{15, 16} y el jugo de toronja que disminuyen la actividad de ésta enzima, aumentan la biodisponibilidad del praziquantel, así mismo, se ha observado el aumento de ésta con la ingesta conjunta de alimentos.

2.1.4 Acción antihelmíntica

La concentración terapéutica del praziquantel es de 0.3µg/mL. A pesar del bajo tiempo de vida media, el praziquantel es la sustancia activa y sus metabolitos son inactivos. Con base en estudios cristalográficos se propuso que el blanco del praziquantel era la proteína Sj26 de *S. japonicum*¹⁷, la cual es una enzima glutatión-transferasa, sin embargo, dos años después se produjo evidencia concluyente de que el praziquantel no inhibía la actividad catalítica de tal enzima¹⁸, no obstante estudios recientes apoyan la primer idea¹⁹. Se ha sugerido en varias revisiones que el intercambio de calcio en los tegumentos de los gusanos es el evento principal de la actividad antihelmíntica^{20, 21}, empero, los mecanismos que llevan a una homeostasis del calcio no esta claro. Un efecto directo sobre las ATPasas (Na⁺-K⁺) y (Ca⁺²-Mg⁺²) ha sido repetidamente excluido y no se ha desarrollado evidencia que demuestre lo contrario²². Por otra parte, datos *in vivo* demostraron que la actividad del praziquantel se ve disminuida cuando se administró a animales inmunodeficientes, sin embargo, la actividad es restaurada cuando se administra anticuerpos dirigidos contra antígenos de superficie del gusano¹⁸. De lo anterior se ha sugerido que el anticuerpo del huésped contra el parásito también resulta esencial para eliminar los parásitos tisulares²³. En resumen, el mecanismo de acción del praziquantel todavía no está definido totalmente, sin embargo, aún se acepta que el praziquantel aumenta la permeabilidad de la membrana a cationes monovalentes y divalentes, en especial al calcio, lo cual provoca la apertura de los conductos de Ca²⁺, efectuándose así, un aumento en la permeabilidad de la membrana celular al calcio^{24, 25}, lo que origina una concentración marcada, seguida de parálisis de la musculatura del parásito^{2, 4, 18}.

El tratamiento para la neurocisticercosis con praziquantel requiere de dosis de 50mg/kg/día, durante 14 días⁴. Esta pauta posológica ocasiona curación evidente, eliminación de los síntomas, cambios en los quistes detectados por tomatogramas cerebrales y la clarificación de LCR^{26, 27}.

2.1.5 Efectos adversos

Poco después de la ingestión de praziquantel pueden surgir náuseas, cefalalgias, mareos y somnolencia, tales efectos son transitorios y dependen de la dosis². Además se han reportado una variación en la eficacia y en efectos adversos relacionados con el TGI, dolor abdominal, aumento de la permeabilidad intestinal, secreción de moco junto con hemorragia, alteración en el yeyuno, reacciones anafilácticas, hipersensibilidad, náuseas, vómito, anorexia, diarrea sin o con sangrado, los cuales aparecen inmediatamente después del tratamiento^{28,29}.

En ocasiones se han documentado elevaciones mínimas en la concentración de enzimas hepáticas. También pueden presentarse efectos indirectos como fiebre, prurito, urticaria, erupciones, artralgias y mialgia y exantemas cutáneos, en ocasiones relacionados con aumento de eosinofilia varios días después de iniciar el tratamiento; es más probable que lo anterior se deba a la liberación de proteínas antigénicas de los gusanos muertos que a la acción propia del medicamento^{18, 28}. En la neurocisticercosis, las reacciones inflamatorias al praziquantel pueden producir meningismo, convulsiones, cambios psíquicos y pleocitosis de LCR²⁷. Tales efectos suelen aparecer tardíamente, durar de dos a tres días y mejorar con la terapéutica sintomática apropiada, como sería la utilización de analgésicos y anticonvulsivos.

2.1.6 Estudios farmacéuticos

Los estudios de tecnología farmacéutica enfocados a mejorar la baja solubilidad, velocidad de disolución, nula fluidez o mal sabor del praziquantel han sido muy pocos, de hecho ha sido en los últimos años cuando más reportes han sido publicados mejorando la disolución y biodisponibilidad del PZQ. El primer reporte surge a consecuencia de la síntesis del compuesto y en dicho estudio se evaluó la eficacia de varias formulaciones inyectables y comprimidos³⁰. Posteriormente se encuentra un trabajo en el que se señala principalmente el uso de sorbitol como agente de compresión, es decir, el estudio sólo fue enfocado en mejorar las propiedades de flujo de la mezcla para producir comprimidos³¹. Después se realizaron intentos en mejorar la biodisponibilidad de Biltricide™ mediante el uso de recubrimiento, sin embargo los resultados fueron menores debido a que no desintegraban y en consecuencia mostraban una baja disolución³². Tras el desarrollo de nuevas estrategias en la liberación de fármacos comenzaron a aparecer estudios aislados en los cuales se hacía gala de liposomas para mantener concentraciones efectivas en sangre durante periodos más

prolongados, así como inducir una vectorización a hígado del PZQ^{33, 34}, no obstante en algunos casos los resultados no han mostrado una clara mejora con respecto a una forma convencional³⁵. Así mismo se ensayó el uso de dispersiones sólidas³⁶ y complejos de inclusión con ciclodextrinas^{11, 37} los cuales han exhibido mejorías en la cinética de disolución del PZQ. Maggi et al³⁸, reportó el uso de almidón glicolato de sodio entrecruzado con matrices de HPMC. Las cinéticas obtenidas fueron mucho mejores que comparado con el fármaco solo y los resultados mostraron que se consiguió una liberación inmediata, que alcance en principio concentraciones efectivas, y una posterior liberación lenta para mantener dichos niveles. Más recientemente Choi et al³⁹, realizaron un estudio para mejorar la biodisponibilidad del PZQ con base en sistemas de liberación controlada por vía oral. Para ello utilizaron sistemas matriciales con diferentes polímeros, los cuales permiten tener el control en la descarga del fármaco a partir de la tableta. Los resultados óptimos se encontraron con HPMC ya que esta base permitía una liberación constante de hasta 10 hrs. y en consecuencia disminuir los intervalos entre una dosis y otra, así como ocurre en las tabletas convencionales. Por su parte Passerini et al⁴⁰, han aumentado la velocidad de disolución del PZQ con el uso de dispersiones sólidas con PEG 4000 y poloxamero 188 y micropartículas lipídicas con Gelucire 50/13. Finalmente Mainardes^{41, 42} ha hecho uso de nanopartículas de PLGA para la liberación controlada de PZQ y ha encontrado que la carga del fármaco y el tamaño de la nanopartícula influye directamente en la velocidad de liberación, además de mostrar una liberación más lenta del PZQ a partir de las NPs en comparación del fármaco solo. No obstante si la baja biodisponibilidad es atribuida en parte a la baja velocidad de disolución, las NPs necesitarían de un efecto burst adicional para desempeñar una eficaz terapia antihelmíntica ya que el sistema cumple con limitar la permeación del fármaco⁴³.

2.2 CICLODEXTRINAS

2.2.1 Química supramolecular

En el estudio de la Química nos encontramos con una diversidad de reacciones en las que participan enlaces no covalentes, como por ejemplo, la asociación enzima-sustrato, la interacción antígeno-anticuerpo, los ácidos nucleicos, etc⁴⁴. A las moléculas resultantes se les denota con el prefijo “supra” de manera general. Estas supramoléculas son resultado de interacciones no covalentes, así, de esta manera, surgieron las bases para considerar una nueva rama de la Química; la Química Supramolecular(QS)⁴⁵. Sin

embargo fue a finales de la década de los 80's del siglo pasado cuando se comenzó a reconocer esta nueva rama de la química, gracias a los trabajos de Jean-Marie Lehn, quien ganó el premio Nóbel en 1987 gracias a sus trabajos sobre QS, específicamente en el desarrollo de complejos huésped-hospedador⁴⁶. La QS se enfoca al estudio de las interacciones no covalentes de las moléculas, tales como interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, interacciones ión-metal, interacciones π - π , interacciones hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals^{45,47}.

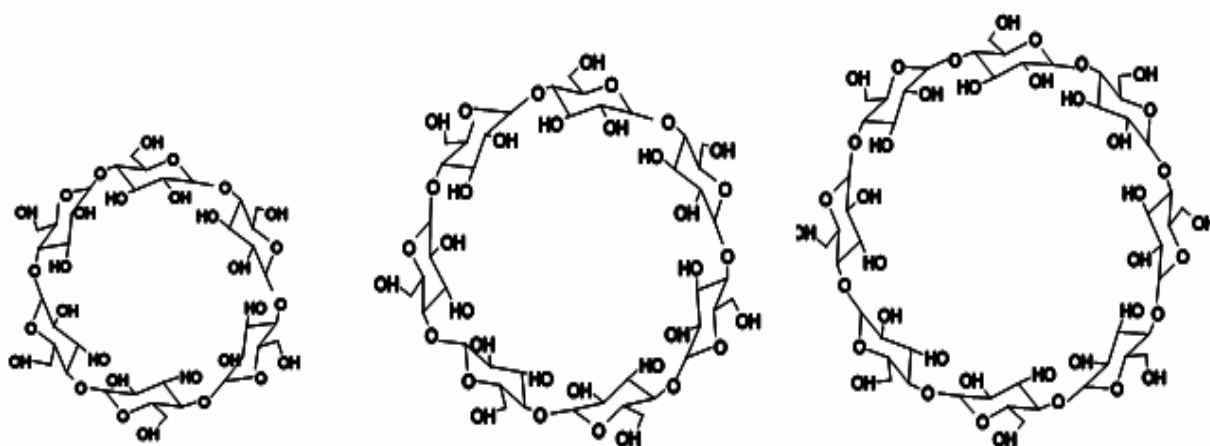
Un área importante de la QS es la química huésped-hospedador, la cual describe a los complejos que son formados por dos o más moléculas que interaccionan entre sí produciendo una estructura única⁴⁶, en la que una actúa como anfitrión (receptor) y otra como huésped (sustrato). La característica más importante de esta asociación es que el enlace entre el anfitrión y el huésped no es un enlace químico covalente, sino que intervienen varios tipos de interacciones moleculares, siendo la geometría y la naturaleza electrónica de ambas las características más importantes. Entre las moléculas que pueden actuar como hospedadores se encuentra las ciclodextrinas, calixarenos, porfirinas, éteres corona, etc. Este tipo de compuestos son llamados cavitandos.

En QS se entiende por compuesto de inclusión a un complejo en el cual una molécula actúa como hospedador y una segunda como huésped. Entre los compuestos con capacidad de hospedar, cabe destacar a las ciclodextrinas, las cuales han sido objeto de amplio estudio dentro del área farmacéutica puesto que tienen la capacidad de encapsular molecularmente a la mayoría de los fármacos, es decir forman una supramolécula y en consecuencia las propiedades físicas y químicas originales son modificadas.

2.2.2 Generalidades

Las ciclodextrinas fueron descubiertas por Villiers en 1891⁴⁸, cuando observó que ocurría una cristalización dentro de un cultivo bacteriano, como producto de la degradación parcial del almidón a causa de *Bacillus amylobacter*⁴⁹. Sin embargo, fue entre 1903 y 1904 cuando Schardinger sugirió la naturaleza cíclica de las ciclodextrinas, siendo hasta 1936 que se confirmó su estructura^{49, 50}. Estas moléculas están constituidas por unidades de glucosa unidas por enlaces α -1-4, al mismo tiempo, se identificó la enzima responsable de su formación, la cual se denominó cicloglucosiltransferasa⁴⁹. Esta enzima cataliza la reacción intramolecular de transglicolación. En la década de los setenta solo se disponía de pequeñas cantidades y a un alto costo, lo cual limitó su uso

en investigación y su aplicación como excipiente. Ya para 1980 los avances tecnológicos permitieron mejorar la producción de ciclodextrinas, lo cual bajó su costo y aumentó su accesibilidad y con ello las investigaciones sobre las mismas⁵⁰. Las ciclodextrinas más comunes son la α , β y γ -ciclodextrinas (Figura 2), las cuales están constituidas por 6, 7 y 8 unidades de glucosa respectivamente^{51,52}. La síntesis se lleva a cabo realizando una previa hidrólisis del almidón cuyo producto es tratado en



condiciones y con la enzima específica para producir

α -CD

β -CD

γ -CD

Figura 2. Estructura molecular de alfa, beta y gama ciclodextrina

α , β o γ -CD. De entre ellas la β -CD es la más accesible, de menor precio y generalmente la más empleada. No se conocen ciclodextrinas con menos de seis unidades debido a impedimento estérico en la formación del ciclo y aquellas con más de ocho unidades son más inestables y con menos características a favor⁵¹.

En las últimas décadas la industria alimenticia, metalúrgica, química, cosmética y farmacéutica, han aumentado el uso de las ciclodextrinas en los diferentes procesos gracias a su capacidad de formar complejos de inclusión. Esta característica se basa en la peculiaridad que presenta su estructura molecular y las propiedades que resultan de la interacción con las moléculas que se mezclan, tales como, estabilidad⁵³⁻⁵⁵, disminución de efectos secundarios, aumento de la solubilidad⁵⁵, aumento de la velocidad de disolución⁵⁶⁻⁵⁸, aumento de la biodisponibilidad⁵⁹⁻⁶¹, enmascaramiento de sabores desagradables^{62,63}, entre otros.

Debido a que no hay libre rotación entre los enlaces alfa 1-4 éstas moléculas no forman un cilindro sino que poseen una disposición molecular que adopta una forma

toroidal o de cono truncado⁵¹ (Figura 3). El acomodo de los grupos funcionales (hidroxilo, éter y metilenos) de las moléculas de glucosa provoca que se forme un hueco con carácter hidrofóbico y un exterior con carácter hidrofílico. Las moléculas de ciclodextrinas están dispuestas de tal manera que los grupos hidroxilo primarios de los carbonos 6, se orientan hacia la parte de menor diámetro, mientras que los hidroxilos secundarios de los carbonos 2 y 3 se orientan por la parte de mayor diámetro. En la parte interna de la ciclodextrina los enlaces C-H y el par de electrones libre del oxígeno forman puentes de hidrógeno, los cuales son responsables del comportamiento hidrofóbico en el interior de la ciclodextrina.

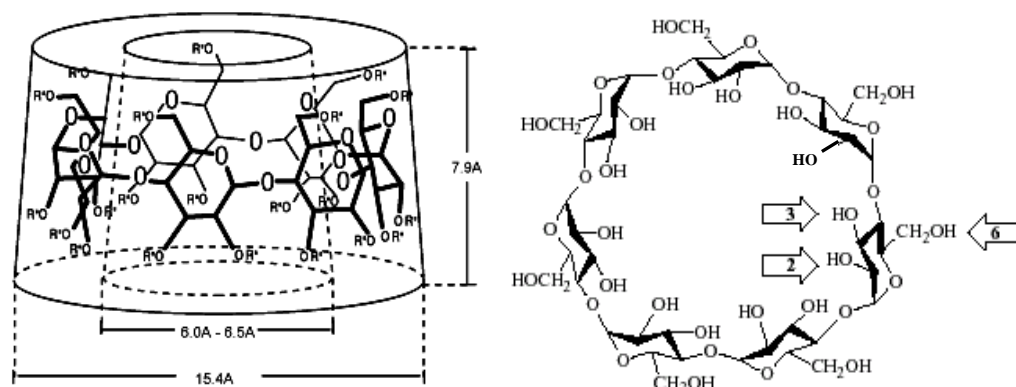


Figura 3. Representación y orientación espacial de los grupos hidroxilo en las ciclodextrinas.

Esta propiedad le permite a las ciclodextrinas incluir una amplia variedad de moléculas hidrofóbicas y formar complejos de inclusión.

Las ciclodextrinas son polvos blancos, homogéneos, no higroscópicos y con puntos de fusión que van de 240 a 270°C⁶⁴, son solubles en agua y en diferentes disolventes orgánicos tales como dimetil formamida, dimetil sulfóxido (DMSO) y piridina⁶⁵. Las principales características de la ciclodextrinas se resumen en la tabla 2.

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

Moléculas de agua incluidas	6	11	17	≈11
pKa	12.3	12.2	12.1	≈12.2

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de las ciclodextrinas

2.2.3 Constantes de interacción

La propiedad fundamental que describe la fuerza de la interacción entre un fármaco y la CD es la constante de interacción o constante de complejación K^{66} . Los complejos de inclusión, donde el receptor o bien la ciclodextrina (CD) y el huésped, en este caso el fármaco (F), interaccionan de manera tal que se puede llegar a caracterizar la estequiometría y la constante de interacción o de complejación (K), por medio de alguna característica fisicoquímica sensible a la formación del complejos de inclusión⁴⁸. Una amplia variedad de fármacos forman CI con estequiometría 1:1, tal que se define la constante de complejación ($K_{1:1}$) de acuerdo al siguiente equilibrio:



A partir del cual se origina la siguiente ecuación:

$$K_{1:1} = \frac{[CD-F]_c}{[F]_l [CD]_l}$$

Donde; $[CD-F]_c$ denota a la formación del CI, mientras que $[F]_l$ y $[CD]_l$ describe las concentraciones del fármaco y la CD no complejados, la magnitud de K se expresa en M^{-1} . La constante es determinada experimentalmente y existe una amplia gama de métodos que pueden llevarse a cabo para determinar las constantes de complejación, por ejemplo técnicas espectroscópicas, cinéticas, termodinámicas, electroquímicas, etc^{67, 68}. La mayoría de los activos farmacéuticos interaccionan con K que van de 0 a 100000. En promedio las constantes son de 123, 490 y 525 para α , β y γ -CD respectivamente⁶⁹.

2.2.4 Interacción CD-huésped

Las CD pueden ser consideradas como cápsulas vacías de dimensiones moleculares en las que se pueden incluir moléculas de tamaño semejante y entonces formar lo que se conoce como complejo de inclusión. Sin embargo varios requisitos son necesarios para lograr la formación del complejo de inclusión (Figura 4). El reconocimiento molecular está basado en la relación estructura-selectividad, lo cual significa que depende de la complementariedad geométrica y electrónica⁷⁰⁻⁷², de esta

manera, la formación del

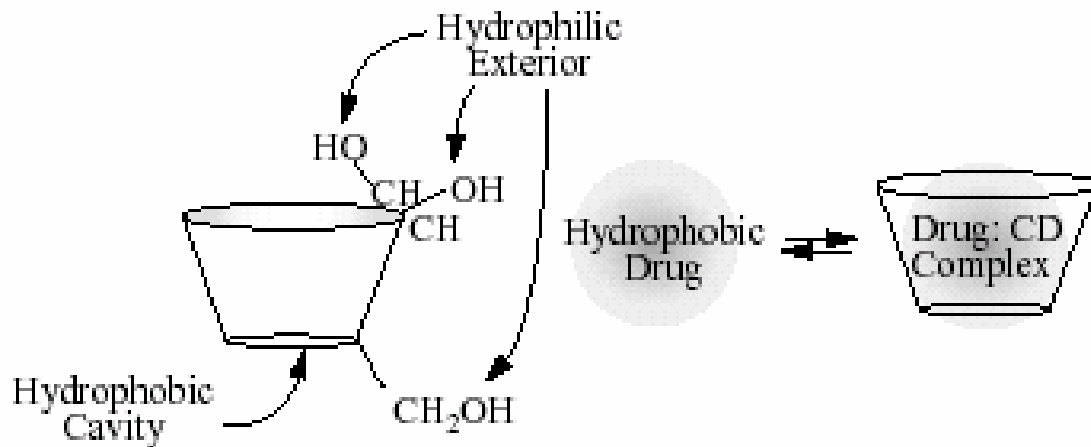


Figura 4. Modelo de complejación entre las ciclodextrinas y un fármaco hidrofóbico.

complejo de inclusión depende de las moléculas involucradas⁷³, así como de los parámetros que influyen en la fijación del huésped, tales como conformación, hidratación, propiedades electrónicas y factores estéricos.

Mecanismo y energía de la inclusión⁷⁴

La complejación es esencialmente el resultado de una sustitución de las moléculas del huésped que son menos polares, por moléculas de agua que se encuentran en el interior de la CD. Este proceso es energéticamente favorecido por la interacción de la molécula huésped relativamente no polar con la cavidad hidrofóbica y el desplazamiento de las moléculas de agua de alta energía del interior de la CD⁵¹. Durante estos eventos participan diferentes fuerzas que conllevan a la complejación, algunas de ellas son las siguientes:

Interacciones electrostáticas. Dentro de este grupo encontramos las interacciones ión-ión, ión-dipolo y dipolo-dipolo. Las primeras no ocurren a menos que la CD esté sustituida adecuadamente como en el caso de la (SBE)_{7M}-b-CD. Las interacciones ión-dipolo son difíciles de demostrar en fase líquida ya que se esperaría que en moléculas polianiónicas aumentará la interacción, sin embargo únicamente se ha observado complejación con monoaniones; de hecho este tipo de interacción no es necesaria para que se lleve a cabo la complejación en medio acuoso. Las interacciones dipolo-dipolo son de este grupo las más importantes para la complejación, inclusive pueden dar una pauta sobre el acomodo esteroquímico que se pueda suscitar.

Fuerzas de Van der Waals. En el ámbito de estudio de las CD las fuerzas de Van der Waals se refieren en ocasiones a un promedio de las fuerzas de inducción y en su mayoría únicamente a las fuerzas de dispersión. De hecho en los inicios de la investigación con CD se planteó que el principal mecanismo de complejación estaba gobernado por las fuerzas de dispersión. Por otra parte, las fuerzas de Van der Waals existen también entre el solvente y el sustrato de la CD, de esta manera un mecanismo involucrado es el intercambio de estas fuerzas de la molécula huésped con las moléculas del solvente por aquellas que se presentan con la cavidad de la CD, de hecho esta es la razón por la cual las interacciones ión-dipolo no son significantes en la complejación, es decir, se espera que las interacciones entre la CD y el huésped sean mas fuertes que entre el solvente y el sustrato, como resultado las fuerzas de Van der Waals tienen una contribución positiva a la estabilidad de la complejación.

Interacciones hidrofóbicas. El papel de las interacciones hidrofóbicas es algo controversial, desde el mismo hecho que el concepto de efecto hidrofóbico no está definido del todo. De estudios experimentales se conoce que las moléculas no polares se asocian en medio acuoso con cambios positivos de entropía y entalpía y atribuyendo este comportamiento al efecto hidrofóbico. Partiendo de este hecho y de resultados contrarios encontrados con CD, parece indicar que este tipo de interacción no es importante en los mecanismos que conducen a la complejación. Sin embargo, los cambios negativos en entropía y entalpía no necesariamente indican que las interacciones hidrofóbicas no son importantes para la complejación puesto que las interacciones tales como la exclusión de las moléculas de agua de alta energía al interior de la CD contribuyen con cambios negativos en los parámetros antes citados. Inclusive en los complejos de inclusión se observa que las partes más hidrofóbicas de la molécula huésped son aquellas que se encuentran al interior de la CD. Además se ha observado que el aumento en la hidrofobicidad del huésped aumenta la complejación. Otro aspecto a favor de la interacción hidrofóbica es el hecho de que la adición de cosolventes orgánicos usualmente debilita la complejación.

Puentes de hidrógeno. Este tipo de interacción ha sido demostrada más contundentemente en estado sólido. Usualmente en este participa el hidroxilo primario del C6. Por otra parte en medio acuoso la contribución a la complejación es muy discutida ya que hay competencia entre la CD y las moléculas de agua para la formación de los puentes de hidrogeno. Algunos autores han reportado trabajos en los que enfatizan la importancia de los puentes de hidrógeno y si bien sí contribuyen a la

formación del CI, no es la fuerza que determina fundamentalmente la estabilidad del complejo.

Relajación conformacional. Durante la complejación ocurren cambios o movimientos conformacionales de la CD que si bien no participan de los mecanismos que conducen hacia la complejación, su función es optimizar los sitios de interacción entre el huésped y la CD.

En resumen, las fuerzas que conducen hacia la complejación son esencialmente las fuerzas de Van der Waals y las interacciones hidrofóbicas, en algunos casos una aporta más que la otra y viceversa o en ocasiones ambas determinan el principal mecanismo de complejación; mientras que los puentes de hidrógeno y la conformación espacial de la CD optimizan la interacción. De manera general y tomando en cuenta los mecanismos que conducen a la complejación, ésta es el resultado de varios efectos que se pueden resumir de la siguiente manera⁴⁸:

- a) Las moléculas de agua escapan de la cavidad de la CD mientras la MH se desprende de su capa de hidratación provocando la sustitución de las interacciones polar-apolar energéticamente desfavorecidas entre las moléculas de agua incluidas y la cavidad de la CD, por las interacciones apolar-apolar energéticamente favorecidas entre la MH y la cavidad de la CD.
- b) La energía de conformación del anillo de la CD disminuye y aumenta la estabilidad del anillo por la complejación.
- c) La MH se incluye en la cavidad vacía de la CD y el complejo es estabilizado por el aumento de las interacciones no covalentes; fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, etc.

Efecto del tipo de la MH y CD.

La capacidad de incluir una MH dentro de la cavidad de la CD es obviamente uno de los requisitos esenciales en la formación del CI. Esta característica está determinada principalmente por factores geométricos y estéricos, recordemos que en α , β o γ -CD el volumen y el diámetro de la cavidad varían al aumentar el número de glucosas en el anillo de la CD, mientras que en una misma CD el volumen aumenta manteniendo el diámetro constante cuando se le hace algún tipo de modificación.

La importancia de la fijación ha sido estudiada con muchos ejemplos de CI con halógenos, compuestos aromáticos polinucleados, ácidos grasos, diversos fármacos, etc⁴⁸. Por ejemplo, las moléculas diatómicas Cl_2 , Br_2 y I_2 , cuyo tamaño varía, forman un

complejo estable con la parte más ancha de la α -CD, sin embargo la cavidad de la β -CD parece ser muy amplia para el Cl_2 , lo cual conduce a un complejo poco estabilizado. Por su parte la γ -CD no forma complejos ni con Cl_2 ni con Br_2 . El I_2 es el único halógeno que se fija a las tres CD formando complejos de inclusión estables. En moléculas de ácidos grasos o cadenas hidrocarbonadas de tensoactivos la α -CD es la más apropiada, mientras que la β -CD y la γ -CD no lo son. Además en algunos casos la fuerza de la complejación está relacionada con la hidrofobicidad, es decir a mayor $\log P$ mayor es la constante de estabilidad.

Por otra parte, el naftaleno solo forma complejos con β -CD y γ -CD, así mismo, el antraceno solo forma CI con γ -CD⁴⁸. Uekama ha estudiado los CI por medio de RMN en estado sólido entre tolbutamida y HP- α -CD y HP- β -CD, y se observó que ésta molécula interacciona con la parte alifática cuando se compleja con el derivado alfa e interacciona con el grupo fenil cuando se emplea el derivado beta, los resultados se explican porque éstas CD aunque tienen un volumen mayor comparado con sus precursores, el diámetro de la cavidad es el mismo y por tanto se limita la entrada de parte bencénica en el caso de HP- α -CD. Otro ejemplo es cuando se usa la misma CD modificada, en este caso el diámetro se mantiene constante y el volumen varía, Mura⁷⁵ et al. estudiaron la influencia del tipo de ciclodextrina utilizando Ketoprofeno, β -CD y metil- β -CD. Para el caso de la β -CD los CI formados fueron menos eficientes que cuando se prepararon con metil- β -CD. Concluyeron que la CD era un factor mucho más importante para la complejación de esta molécula. Este hecho se ve reflejado en la metilación de la ciclodextrina original, ya que esto ocasiona que aumente su volumen y por ende también su capacidad de complejación. Por su parte Torrado⁵⁹ utilizó β -CD y los derivados metilado y HP para solubilizar benzimidazoles antihelmínticos, de entre ellas la HP- β -CD mostró mejor aumento de la solubilidad lo cual confirma los resultados obtenidos por Diaz⁷⁶, además HP mostró una mejor biodisponibilidad con respecto a una suspensión convencional, no obstante la HP no siempre muestra ser la mejor, por ejemplo cuando se compleja ibuprofeno o ketoprofeno con el derivado metilado suele dar mejores resultados⁷³, lo cual nos remite a enunciar que la complejación con CD forma sistemas independientes unos de otros.

Influencia de la carga y la polaridad.

La carga y la polaridad también juegan un papel importante en la formación del CI, sin embargo es menos decisivo que las fuerzas comentadas anteriormente, de hecho

algunas veces podemos generalizar que moléculas altamente hidrofílicas, o especies fuertemente hidratadas, no son apropiadas para ninguna de la CD naturales, por lo que sólo moléculas menos polares que el agua pueden ser complejadas^{77, 78}. De hecho cuando una molécula huésped posee características ácido-base, la complejación es mejor cuando la molécula se encuentra neutra y la CD es no modificada⁷⁹. No obstante si la MH está cargada la interacción es igual, menor o hasta mejor si la carga es atractiva a la que tiene la CD, por ejemplo, la SBE- β -CD una CD cargada negativamente interacciona mejor con moléculas cargadas positivamente debido a la atracción de cargas⁸⁰.

Un aspecto importante en el ámbito farmacéutico es que se puede manejar CD modificadas para conseguir un SLC gracias a que la interacción será mayor o menor unas de otras dependiendo del tipo de CD, por lo que la liberación estará controlada por la fuerza de interacción del CI⁸¹.

La estabilidad del complejo es proporcional al carácter hidrofóbico de los sustituyentes de la MH. Así, se ha observado que la presencia de grupos metilo o etilo en la MH mejora la estabilidad del complejo. En el caso de los CI de α -CD-ácido benzoico, se ha reportado que éstos son 80 veces más estables que aquellos formados con el anión benzoato⁴⁸. El mismo comportamiento se ha encontrado para el ácido cinámico y la β -CD.

2.2.5 Métodos de formación

La preparación de complejos de inclusión de ciclodextrinas se considera un procedimiento simple, sin embargo, en muchos casos las condiciones de reacción han sido “hechas a la medida” para un huésped en particular⁵⁰. La formación del complejo puede ser en solución homogénea, o en una suspensión, bajo presión o por simple mezclado de componentes en ciertos casos en estado sólido, o por fusión constante al mismo tiempo del huésped potencial con ciclodextrina. Una tecnología general apropiada para los complejos de inclusión con todas las posibles sustancias huésped ciertamente no puede ser dada⁴⁸. A continuación se presentan los principales métodos de formación.

Complejación con técnicas húmedas.

La estrategia habitual es disolver tanto el huésped como la CD en un solvente común a temperatura ambiente, o calentando y luego aislando el complejo removiendo

el solvente por filtración, evaporación, liofilización o secado por aspersión. Las técnicas de complejación en disolución en muchos casos requieren un cosolvente miscible con el agua, que disuelva la sustancia huésped eficientemente. Los cosolventes aplicados más frecuentemente son el etanol y metanol, pero a veces también se hace uso de acetona.

Mezcla de disolventes. Esta técnica consiste en disolver la ciclodextrina en agua y el fármaco en un disolvente que sea miscible con el agua para después mezclarlos y evaporarlos.

Adición del huésped sobre una solución de anfitrión. Aquí se disuelve la ciclodextrina en el disolvente escogido y se va agregando poco a poco el fármaco hasta su disolución total sin llegar a la saturación.

Preparación en suspensión (coprecipitación), se utiliza la misma técnica que en el método anterior solo que aquí sí se controla la cantidad de fármaco agregado. En este caso las ciclodextrinas no son disueltas, sino que se suspenden finamente en agua a temperatura ambiente con agitación vigorosa. La sustancia huésped para ser encapsulada es poco a poco disuelta en un solvente adecuado o directamente adicionado (sin usar ningún solvente) para el buen-agitado de la suspensión de CD.

Método de gota. Esta tecnología es básicamente similar a la mencionada, pero la cantidad del huésped a complejar es disuelta por separado en un solvente apropiado y adicionando gota a gota dentro de la solución acuosa/etanólica de CD bajo continua agitación. La adición de la solución de sustancia huésped puede eventualmente causar una fina precipitación de la molécula huésped y requiere agitación intensiva continua por horas. *Complejación por percolación.* En este proceso se usan soluciones saturadas de CD (en muchos casos acuosas o acuoso/etanólicas) para obtener sustancias a partir de extractos o plantas. Por ejemplo, los ácidos amargos de frutas desecadas (lúpulo) fueron complejados exitosamente y fueron extraídas en caliente con soluciones acuosas de β -CD.

*Neutralización*⁷⁷. Se coloca la ciclodextrina en su disolvente y se adiciona una solución alcalina, se le agrega el fármaco, se mezcla y se adiciona ácido hasta la formación de un precipitado que indica que el complejo de inclusión se ha formado y se filtra.

Atomización. En esta técnica se utiliza un miniatomizador, en el cual se adiciona la ciclodextrina y el fármaco disueltos en sus respectivos disolventes, se sonica la muestra y se coloca en el atomizador.

Liofilización. Se adiciona el fármaco a una solución de ciclodextrina, esta mezcla se congela hasta -50°C y se somete a un proceso de liofilización.

Evaporación. La ciclodextrina se disuelve en el disolvente apropiado, se agrega la cantidad necesaria de fármaco, se mezcla, se evapora el disolvente en rota-evaporador y se seca la mezcla obtenida.

Complejación con técnicas en seco

Mezcla física. En este caso únicamente se coloca la ciclodextrina y el fármaco dentro de una mezcladora durante un tiempo determinado.

Amasado. En esta técnica se colocan la ciclodextrina y el fármaco dentro de un mortero, se humedece la mezcla con el disolvente apropiado y se amasa hasta incorporación total dejando evaporar el disolvente. Uno de los factores clave para el éxito de los procesos de complejación es elegir la relación ciclodextrina-agua durante el amasado. Así en este método, las ciclodextrinas son intensamente amasadas con una poca cantidad de agua y el huésped es adicionado directamente sin uso de ningún solvente. En continuo amasado, la humedad inicial del complejo hidratado CD-agua, llega a ser energéticamente menos favorable que el complejo CD-huésped que continuamente se está formando durante el continuo proceso mecano-químico de amasado. Por lo tanto la reacción corre hacia la inclusión. Debido a las diferentes estructuras cristalinas, las capas moleculares de los complejos de inclusión formados en la superficie pueden disociarse del cristal. Así, el cristal entero de CD se vuelve rápidamente desorganizado y transformado dentro del complejo huésped-CD.

Molienda. Se colocan la ciclodextrina y el fármaco dentro de un molino y se deja moler durante el tiempo que sea necesario.

Fusión del huésped. Aquí la técnica consiste en fundir el fármaco y después adicionarle la ciclodextrina correspondiente. Los complejos de inclusión pueden ser preparados por fusión del huésped y posterior mezclado con polvo fino de CD. En cada caso el huésped puede ser tomado en largos excesos y después remover este exceso con mucho cuidado lavando con un solvente de formación complejo-débil, pero preferentemente por el uso de sublimación en vacío.

Sellado térmico. Esta técnica consiste en colocar tanto la ciclodextrina como el fármaco dentro de un contenedor que se sella y se calienta a 100° C durante tiempo determinado.

La formación del complejo de inclusión si bien es espontánea, se necesita llevar a cabo una metodología para formar la supramolécula. De entre los métodos descritos cada uno se debe acoplar a cada sistema, es decir, se tienen que evaluar los objetivos para los cuales se desea complejar un fármaco. Por ejemplo en la complejación de

albandazol por liofilizado y coprecipitación se observa que solo con el primer método se obtiene un verdadero CI, es decir se incluye más eficientemente la molécula que en la coprecipitación, sin embargo la disolución fue mas eficiente con este último método⁵⁹. Por otro lado cuando se realiza el método de amasado el medio de humectación es factor determinante para una mejor encapsulación siendo más eficiente cuando se hacen mezclas etanol-agua⁸². En la complejación de algunos fármacos la eficiencia de la metodología en la formación de CI es diferente, por ejemplo cuando se realizaron los sistemas amasado, secado por aspersión y evaporación, se obtenía mejor interacción entre la CD y el fármaco con los dos primeros, mientras que para el amasado la inclusión no era completa⁷¹. De hecho algunos autores mencionan que con el amasado no se forma realmente un verdadero CI^{75, 83}. Aunque si bien no se considera que haya un verdadero CI se enfatiza que la interacción es mejor comparado a su MF puesto que el análisis instrumental así lo revela. No obstante hay reportes que indican que el método de amasado es eficaz para la complejación con CD⁸⁴. Por ejemplo en la complejación de Nimesulida, un anti-inflamatorio no esteroideo, muestra que el método de amasado da un verdadero CI y en consecuencia se mejoró su solubilidad en agua⁸⁵. Los mismos resultados se han observado para el caso de la tolbutamida⁸⁶ y econazol⁷². Así mismo se ha observado que en algunos casos la interacción F-CD no alcanza una completa inclusión y solo se habla de una dispersión.

Varios métodos han sido propuestos para obtener CI, sin embargo, no hay una regla o un método general, puesto que cada molécula es un caso particular y las condiciones óptimas dependen de la molécula huésped y la CD. De lo anterior se desprende que cada sistema F-CD es diferente y que además de las fuerzas que conllevan a la complejación; el tipo de CD, la polaridad de la molécula y el método de preparación, también son importantes para la formación del CI.

La selección del método de preparación para una molécula dada requiere la evaluación cuidadosa, debido a que se debería tomar en cuenta no solo factores tales como simplicidad, bajo costo, alta producción, escalamiento, sino también la eficacia para obtener el producto. Los métodos de amasado y de molienda, son técnicas que necesitan operaciones cortas que involucran poco tiempo y son potencialmente transferibles a la industria, lo cual es de gran utilidad si necesitamos aumentar la solubilidad de moléculas por medio de ciclodextrinas⁷⁵.

2.2.6 Caracterización de los complejos de inclusión

Para la caracterización de los complejos de inclusión se hace uso de diferentes técnicas analíticas. La mayoría de los autores hacen uso de la espectroscopia de infrarrojo, difracción de polvos de rayos X, calorimetría diferencial de barrido y cinéticas de disolución. Sin embargo también existen muchas otras como son microscopia electrónica, resonancia magnética nuclear, fluorescencia, etc.

Espectroscopia de infrarrojo de reflectancia difusa (IR)^{87, 88}

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

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

*Difracción de rayos X de polvos (XRD)*⁸⁹

Los rayos X son radiaciones electromagnéticas entre los rayos ultravioleta y gamma en el espectro electromagnético. El rango de longitud de onda de la región de rayos X es considerada entre 0.01 y 100 Å. Hay dos aplicaciones principales de los rayos X en la caracterización de materiales: espectrometría de rayos X y difracción de rayos X (XRD). La primera es usada para análisis químico. Por otra parte, la difracción es extensivamente usada para caracterizar sólidos farmacéuticos. En esta técnica, la muestra está usualmente en forma de polvo, y es reconocida como una técnica poderosa para la identificación de fases de cristalización. La difracción es un fenómeno de dispersión. Cuando los rayos X inciden en sólidos cristalinos, ellos se dispersan en todas direcciones. A partir de que el patrón de difracción de rayos X de

cada cristal de un compuesto es único, la técnica es altamente usada para la identificación y caracterización de fases sólidas. La técnica puede también revelar diferencias en la cristalinidad de compuestos. El patrón de XRD de un compuesto amorfo (no cristalino) consistirá de uno o más bandas anchas y difusas. XRD es una excelente técnica para estudiar interacciones de excipientes. En una mezcla sólida, el patrón de bandas de cada polvo es producido independientemente del otro constituyente. Así el patrón de difracción de una mezcla de polvos será la suma del patrón de difracción de los constituyentes individuales. Si llega a existir la interacción fármaco-excipiente, esta producirá un patrón y será caracterizado por la presencia de nuevos picos en el difractograma⁹⁰. Sin embargo, si el producto es amorfo, este será evidente a partir del ancho de las bandas con respecto al patrón de bandas iniciales.

*Calorimetría diferencial de barrido (DSC)*⁹¹

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

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) es usada para medir el flujo de calor dentro y fuera de la muestra, así como para determinar la temperatura del fenómeno térmico durante un cambio controlado de temperatura. El principio de DSC es como sigue: dos platillos son calentados conjuntamente, uno de los platillos contiene la muestra en una charola, el otro contiene un plato de referencia. Si no ocurren cambios en la muestra durante el calentamiento, ambos platillos estarán a la misma temperatura. Si ocurre un cambio tal como la fusión de la muestra, la energía liberada ocasiona que la temperatura permanezca constante en el plato de la muestra, mientras que la temperatura del plato de referencia continúa incrementando. Por consiguiente una diferencia de temperatura ocurre entre la muestra y la referencia. Un sistema controla la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia. Si cualquier diferencia de

temperatura es detectada, el equipo libera la compensación de energía para mantener la misma temperatura en ambos platos. Para transiciones como la fusión, cristalización, sublimación, ebullición, etc., la integración de la curva proporciona la energía involucrada en la transición. Giordano et al.⁹² sugiere un método para calcular el cociente huésped/anfitrión. Ellos hicieron el análisis de DSC de dispersiones de diferentes composiciones con un exceso de la molécula huésped. La energía remanente en el pico de fusión de la molécula huésped permite el cálculo de la cantidad de fármaco libre. Después graficaron esta cantidad para las diferentes composiciones versus la fracción total del huésped y compararon las graficas obtenidas con las graficas teóricas en los radios molares 1:1 1:2 y 1:3. En muchos casos los picos de la sustancia desaparecen y no se observa un nuevo pico. Con hidrocortisona butirato, un nuevo pico que corresponde al complejo ha sido observado⁹³. Para este fármaco, la complejación incrementa en el orden α -CD, β -CD, γ -CD, y dimetil- β -CD.

2.2.7 Toxicología de la administración oral

La viabilidad comercial de una formulación oral basada en ciclodextrinas ha sido establecida con la mercadotecnia de productos en Europa y Japón. Es generalmente reconocido que la absorción gastrointestinal de las ciclodextrinas en una forma intacta es limitada debido a su volumen y naturaleza hidrofílica⁹⁴. Las ciclodextrinas pueden actuar como moléculas acarreadoras que transportan y facilitan la disolución del fármaco desde la forma farmacéutica hasta los fluidos intestinales, interaccionando con las mucosas y permaneciendo en el tracto gastrointestinal para facilitar y aumentar la absorción. Solo una cantidad insignificante de β -CD puede ser absorbida por el tracto gastrointestinal en ratas^{52, 95, 96}. El efecto de la bilis en la absorción intestinal de las ciclodextrinas en ratas fue examinado *in situ* por técnica de perfusión-recirculación⁹⁷. Solo muy pequeñas cantidades de β y γ -ciclodextrinas se absorbieron por el segmento intestinal cuando el ducto biliar fue ligado. Así pues, cuando las ciclodextrinas se administraron oralmente a una dosis de 500 mg/kg a ratas *in vivo*, las cantidades de ciclodextrinas intactas excretadas en la orina fueron 1.95, 0.45, y 0.38 % de la dosis para α , β y γ -ciclodextrinas, respectivamente.

El destino de las ciclodextrinas en el tracto gastrointestinal difiere con base en la resistencia a hidrólisis y degradación enzimática. La α -CD y β -CD son prácticamente resistentes al ácido estomacal o saliva y amilasa pancreática y son muy bien

hidrolizadas en el colon, mientras que la γ -CD es lentamente digerida al parejo en el intestino alto. El metabolismo primario produce maltodextrinas acíclicas, las cuales son los principales metabolitos, que después son absorbidas y finalmente excretadas como CO_2 y H_2O ⁴⁸.

Todos los estudios de toxicidad demostraron que la administración oral de las ciclodextrinas fue prácticamente no tóxica, debido a la falta de absorción a través al tracto gastrointestinal. No se observó mortalidad en animales de prueba, inclusive recibiendo altas dosis orales de las ciclodextrinas⁹⁴. Efectos tóxicos no significativos se observaron en ratas que comieron 10% de β -CD en la dieta por 90 días. Únicamente se describieron efectos notorios en el incremento en el peso fecal, en el cual se consideró ser una respuesta genérica para una pobre digestión de carbohidratos⁹⁸.

2.2.8 Aplicaciones de las ciclodextrinas

El uso de las ciclodextrinas en el área farmacéutica ha sido demostrado a través de los años por diversos estudios, entre los que se puede citar como: disminución de la volatilidad, aumento de la estabilidad, resistencia a la hidrólisis, etc⁹⁹. Las ciclodextrinas también han sido usadas para modificar el tiempo de liberación del fármaco durante el transito gastrointestinal así como disminuir la irritación local y enmascaramiento de sabores desagradables⁶².

Un ejemplo del uso de las ciclodextrinas para mejorar la velocidad de disolución y la biodisponibilidad fue reportada por Castillo et al.⁵⁹ quienes usaron HP- β -CD para incrementar la biodisponibilidad del albendazol. Los complejos fueron preparados por liofilización y confirmados por DSC. Las cinéticas del albendazol con ciclodextrinas demostraron mucho más rápida y completa disolución, ABC y C_{max} mayores a aquellas obtenidas con el fármaco solo.

Järvinen et al.¹⁰⁰ reportó en el uso de HP- β -CD y (SBE)_{4M}- β -CD para modificar la biodisponibilidad de cinarizina en perros. La cinarizina es una base débil y está sujeta a biodisponibilidades bajas y variables, especialmente en sujetos con bajo pH en el estómago. El fármaco fue dado como una suspensión en buffer fosfato, complejado con HP- β -CD o (SBE)_{4M}- β -CD, y usando cápsulas como forma sólida con el complejo (SBE)_{4M}- β -CD. Las biodisponibilidad absoluta de la suspensión, la cápsula y la tableta del complejo (SBE)_{4M}- β -CD fueron 8, 0.8y 38%, respectivamente. Las soluciones HP-

β -CD y (SBE)_{4M}- β -CD dieron biodisponibilidad absoluta de 55% y 60%, respectivamente.

Muchos fármacos anticancerígenos tienen baja solubilidad en agua y para su administración parenteral son administrados en solventes orgánicos, los cuales son capaces de causar hemólisis de eritrocitos y pérdida de la actividad enzimática intracelular, además de causar irritación local del endotelio. Una alternativa es sustituir los cosolventes por soluciones acuosas de ciclodextrinas⁹⁴. En el estudio realizado por Medlicott et al.¹⁰¹ se concluyó que soluciones 0.1 M de SBE_{7M}- o HP- β -CD disminuyen el daño al endotelio de la vena comparado al que se produce cuando se administra con otros cosolventes. Con base en estos resultados es posible formular nuevos medicamentos anticancerígenos poco solubles sin necesidad de causar un daño adicional al paciente.

El uso de ciclodextrinas como excipiente también ha sido de gran utilidad en la reformulación de medicamentos¹⁰⁰. Por ejemplo, Stella et al.¹⁰¹⁻¹⁰³ analizaron el uso de (SBE)_{7m}- β -CD y HP- β -CD para mejorar inyectables del Melfalan. Las ciclodextrinas antes mencionadas fueron usadas de dos maneras distintas: 1) Soluciones acuosas como vehículo reconstituyente y 2) como excipiente para liofilización. En el primer caso, los resultados indicaron que la solución de ciclodextrinas aumenta el tiempo de vida media de Melfalan, además de poder desechar el uso de cosolventes orgánicos. En el caso del producto liofilizado, el uso de ciclodextrinas demostró estabilizar el fármaco y adicionalmente se preparó en una forma de dosis unitaria.

Uekama et al.⁶⁰ mejoraron la solubilidad del rutin por complejación con HP- β -CD, β -CD, γ -CD y HP- γ -CD. En este estudio el uso de las ciclodextrinas mejoró la estabilidad del fármaco en el TGI, la velocidad de disolución y la solubilidad del rutin por complejación con ciclodextrinas. Este hecho condujo a un aumento de los niveles plasmáticos y por tanto a una mejora en la biodisponibilidad de este compuesto de tipo flavanol.

El uso de las ciclodextrinas en supositorios ha sido estudiado por Samy et al.¹⁰⁴ Estos investigadores formularon alopurinol complejado con β -CD, lo cual llevó a un aumento en la velocidad de liberación de la base comparado con aquel supositorio donde se adicionó el alopurinol sin complejar.

En otro estudio realizado por Yamamoto et al.¹⁰⁵ usaron β -CD y mejoró la disolución de Nifedipina. Para este fármaco en particular, el método de amasado fue el que tuvo un aumento mucho más significativo.

Las CD también se han usado en sistemas novedosos de liberación de fármacos o bien, sistemas de liberación controlada, por ejemplo en nanopartículas sólidas lipídicas (SLN), liposomas y otros sistemas matriciales utilizando diversos polímeros como el quitosan¹⁰⁶. En un estudio realizado por Cavalli et al.¹⁰⁷ se evaluó el efecto que tiene el CI en las características de las SLN. Se observó que la incorporación del complejo CD-fármaco, incrementa el diámetro promedio de partícula, pero se mantiene por debajo de 100nm, además retrasa considerablemente el tiempo de liberación comparado con aquel que se obtiene cuando las SLN están cargadas con el fármaco libre, lo cual indica que las ciclodextrinas pueden ser usadas para ayudar a modular la liberación de un activo a partir del soporte o plataforma. En el caso de ciclodextrinas aplicadas a liposomas, McCormack y Gregoriadis¹⁰⁸ hicieron un estudio enfocado a controlar la velocidad de tres esteroides. Se encontró que el uso de CI puede aumentar la capacidad de carga del fármaco dentro del liposoma, aunado al aumento de la biodisponibilidad.

2.2.9 Estudios en tabletas

En la actualidad más del 80% de los medicamentos se administran en forma de tabletas¹⁰⁹. Las tabletas son formas farmacéuticas sólidas de dosificación unitaria, preparadas por compresión de mezcla de polvos que contienen el o los principios activos y excipientes. Las principales razones de su popularidad incluyen: facilidad de proceso, complacencia por parte del paciente, estabilidad y entre otras más particulares.

Para la elaboración de comprimidos existen diferentes métodos de producción, a pesar de esto, el principio básico seguido por los distintos procedimientos es el mismo. De esta manera, el proceso de compresión se puede clasificar en cuatro procesos diferentes, alimentación, ajuste, compresión y expulsión. Así, los componentes a tabletear son colocados en los punzones y comprimidos, acto seguido la masa compactada es expulsada fuera de la matriz de los punzones.

El uso de ciclodextrinas como excipientes en la formulación de tabletas ha sido ampliamente estudiado por varios autores^{60, 77, 110}. El Shabury¹¹¹ estudió la influencia de las ciclodextrinas en la formación de tabletas por compresión directa, donde se concluyó que las tabletas formadas tenían buenas propiedades mecánicas, así como mejor velocidad de disolución, la cual mejoraba al aumentar la cantidad de ciclodextrina presente en la formulación. Más recientemente Moore⁷⁷ reportó el uso de ciclodextrinas

en la compresión directa de complejos de inclusión, los cuales mostraron mejor comportamiento de disolución que el obtenido a partir del fármaco no complejado.

En los trabajos antes mencionados ninguno de ellos hace mención sobre las propiedades reológicas de las ciclodextrinas, sin embargo, hay reportes que hablan acerca de estas propiedades que respaldan su uso como excipientes para la compresión. Por ejemplo, Saleh¹¹² realizó la caracterización de la beta ciclodextrina cuyos resultados indican que esta ciclodextrina posee los requisitos necesarios como agente de compresión directa. Shangraw y Pande¹¹³ reportan que la compactibilidad que presenta la β -CD es mayor que aquella que presentan los excipientes más comúnmente usados. En este estudio se encontró que la compactibilidad de la ciclodextrina es ligeramente menor que la de la celulosa microcristalina, uno de los principales agentes de compresión directa¹¹³. Durante el proceso de tableteo, la β -CD presenta buenas características de flujo, lo cual se ve reflejado en 1% de variación en el peso de las tabletas producidas. Cuando se mezcló con ácido ascórbico, la β -CD mostró mejor compactibilidad que la celulosa microcristalina en altas y bajas presiones. Posteriormente se determinó la dureza y la capacidad de compactación de la β -CD. En estos estudios se demostró que la humedad es un factor trascendente en las propiedades antes mencionadas¹¹⁴. En este sentido, las moléculas de agua son capaces de formar puentes de hidrógeno, lo cual va aumentando la fuerza de la interacción intermolecular.

A pesar de que la β -CD es la ciclodextrina más estudiada, también hay reportes que hablan acerca de la utilidad de la α -CD como excipiente en la producción de comprimidos. Al respecto, Maggi¹¹⁵ informa las características reológicas tales como, fluidez, comprensibilidad, densidad compactada, porosidad y tiempo de desintegración, donde pone de manifiesto el uso potencial de esta ciclodextrina.

Por otra parte, Muñoz-Ruiz¹¹⁶ estudió el comportamiento de las ciclodextrinas bajo el proceso de compresión mediante el modelo de Heckel, donde concluyó que las ciclodextrinas siguen una compactación con un comportamiento de deformación plástica,^{113, 116} el cual es deseable en los materiales que vayan a ser comprimidos.

Otro aspecto importante del uso de las ciclodextrinas es determinar como afecta las características de los demás excipientes utilizados y el fármaco. Tsai¹¹⁷ reporta que los comprimidos y las características reológicas de un producto co-secado de celulosa microcristalina y β -CD arrojan mucho mejores resultados que los obtenidos cuando se utilizan estos excipientes por separado, por ejemplo, tienen mucho mejor dureza, mejor

compactibilidad, mejor fluidez y menores tiempos de desintegración. Además se encontró que no se da la formación de complejos de inclusión entre estas dos moléculas, aunado a que la β -CD es la responsable de mejorar la adhesión de las tabletas y promover la penetración de agua al interior de la tableta¹¹⁷. Este mismo grupo de investigación reportó que durante el proceso de granulación húmeda, se mejora aún más la compactibilidad del producto co-secado¹¹⁸.

En el caso de la interacción de las ciclodextrinas con fármacos se ha reportado el efecto que tienen en las características reológicas, así como el comportamiento durante la compresión. Por ejemplo, Suihko¹¹⁹ reporta que las características de partícula de los complejos de inclusión y las mezclas físicas de HP- β -CD y tolbutamida son diferentes a los observados con los materiales por separado, en un estudio posterior se comparó el comportamiento de tableteado, donde se encontró que la mezcla física tenía mejores características que la tolbutamida por si sola¹²⁰.

En adición a estos estudios podemos citar los realizados por Tasic et al. En estos trabajos se reporta la formación de complejos de inclusión entre β -CD y paracetamol, cuyos estudios demuestran que se altera favorablemente las características reológicas del paracetamol como son fluidez y comprensibilidad entre otras, además de que la compactación se da mediante una deformación de tipo plástica,¹²¹ la cual como ya se mencionó, es la que se pretende al momento de llevar a cabo el proceso de tableteado. Por tanto el uso de ciclodextrinas, para mejorar el comportamiento de compresión de sólidos, es una característica adicional a este tipo de moléculas.

Durante el proceso de tableteado y como consecuencia de la aplicación de la fuerza de compresión sobre una mezcla de sólidos, ésta tiene diferentes efectos dependiendo de la formulación comprimida. Los estudios al respecto datan de más de tres décadas, por ejemplo, Khan¹²² estudió el efecto de la fuerza de compresión sobre las propiedades resultantes de seis diferentes formulaciones, en este trabajo se encontró que al aumentar la fuerza de compresión ejercida, el tiempo de desintegración aumentaba, disminuía o se mantenía sin cambios significativos, dependiendo de la formulación comprimida. En conclusión se dice que la fuerza de compresión no tiene un efecto generalizado sobre las propiedades de las tabletas, sino que dependerá de las materias primas empleadas durante la compresión. Por ejemplo, en el caso de tabletas de microesferas cargadas con ketoprofeno hechas por compresión directa, se observó que al aumentar la fuerza de compresión por encima de 3.8 Ton/fza, aumentaba la velocidad

de liberación, no así cuando se comprimió el fármaco solo¹²³. Collen¹²⁴ investigó como la fuerza aplicada puede mejorar la producción a fin de incrementar la dureza y/o eliminar o minimizar la laminación, a partir de estos estudios se obtuvo que una compresión dividida en dos etapas aumenta favorablemente estas características. Por otra parte Garekani et al.¹²⁵ reporta las propiedades resultantes de la compactación del paracetamol, en donde se describe que los comprimidos tuvieron una baja dureza debido a las bajas presiones utilizadas, lo cual es un indicativo de que la fuerza de compresión es parte importante para que se den las interacciones interparticulares que le confieren una dureza aceptable a una tableta. Por otra parte, también se ha reportado que la molienda y el tamizado no solo reducen el tamaño de las partículas, sino que además provocan cambios en el comportamiento molecular, por ejemplo hay cambios en la fase de transición de polimorfos, cambios en la cristalinidad y cambios en la velocidad de reacciones químicas en fase sólida⁹⁰.

Como se ha descrito anteriormente, la fuerza de compresión tiene efectos importantes que varían dependiendo del material que se esté comprimiendo, sin embargo hay muy poca información que hable al respecto de cómo esta variable afecta las interacciones moleculares entre las ciclodextrinas y los fármacos y/o excipientes durante el proceso de compresión. Únicamente se ha reportado que los fármacos cristalinos pueden llegar a ser amorfos cuando son molidos con β -CD⁹⁰, aumentando favorablemente su velocidad de disolución, por ejemplo cuando el ácido acetilsalicílico se mezcla con β -CD y posteriormente se somete a la molienda, el patrón de bandas mostrado en estudios de rayos X varía considerablemente, así mismo el pico endotérmico debido a la fusión de la aspirina disminuye considerablemente, poniendo de manifiesto que existe algún tipo de interacción molecular causada por la molienda. Sangraw¹²⁶ reporta el uso de β -CD para la formación de tabletas de progesterona por compresión directa y granulación vía húmeda, donde comenta la formación espontánea de complejos de inclusión durante el proceso de granulación húmeda,^{126, 127} lo cual es lógico de pensarse puesto que el método de amasado es muy parecido a este proceso, por otra parte en la compresión directa se hallaron mejores resultados de velocidad de disolución, lo cual es una consecuencia de la formación de complejos entre la ciclodextrina y la progesterona. A pesar de los resultados comentados anteriormente, en este trabajo no se hicieron los estudios de caracterización que permitieran tener

evidencia sólida para afirmar los resultados comentados, por lo que es necesario llevar a cabo estudios que permitan ratificar lo reportado o en su defecto refutarlo.

A pesar de la intensa investigación en el área de comprimidos, estos aún son formulados sobre bases semiempíricas¹²⁸, por tanto el estudio del comportamiento de inclusión de las ciclodextrinas en las formulaciones de formas farmacéuticas sólidas es de suma consideración al momento de realizar los estudios de preformulación de principios activos que tengan propiedades fisicoquímicas y reológicas desfavorables¹¹³.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar como se modifica la complejación en los sistemas PZQ-CD a consecuencia de la aplicación de la fuerza de compresión, para elucidar las variaciones en las propiedades fisicoquímicas de los sistemas PZQ-CD después de formar comprimidos.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Formar mezclas físicas y complejos de inclusión mediante amasado entre ciclodextrinas y praziquantel y caracterizarlos mediante espectroscopia de infrarrojo, calorimetría diferencial de barrido, difracción de rayos X de polvos y disolución a partir de comprimidos.
- Comparar el comportamiento de inclusión en diferentes ciclodextrinas como son la alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina, gama-ciclodextrina e hidroxipropil-beta-ciclodextrina mediante la caracterización por espectroscopia de infrarrojo, calorimetría diferencial de barrido, difracción de rayos X de polvos y disolución a partir de comprimidos.
- Determinar si la fuerza de compresión aplicada a mezclas físicas de ciclodextrina-praziquantel induce la formación de complejos de inclusión, mediante la caracterización por espectroscopia de infrarrojo, calorimetría diferencial de barrido, difracción de rayos X de polvos y disolución a partir de comprimidos.
- Determinar si la fuerza de compresión aplicada a complejos de inclusión de ciclodextrina-praziquantel aumenta la eficacia de la complejación, mediante la caracterización por espectroscopia de infrarrojo, calorimetría diferencial de barrido, difracción de rayos X de polvos y disolución a partir de comprimidos.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 MATERIALES

- Praziquantel USP proporcionado por Megafarma, México.
- α , β , γ y HP- β -CD ciclodextrinas suministradas por Cerestar, U.S.A.
- Bromuro de potasio comprado a Sigma-Aldrich, México.
- Hidróxido de Sodio, cloruro de sodio, fosfato de sodio monobásico monohidrato adquirido mediante J.T. Baker, México.

4.2 MÉTODOS

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

- a) Tamizar por separado las ciclodextrinas así como el praziquantel en malla No. 200 (75 μ m).
- b) Pesar las cantidades necesarias para obtener 4g de la mezcla PZQ-CD en las relaciones molares 1:1, 1:5 y 1:10, de acuerdo a las tablas 3-6.

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

Tabla 3

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

Tabla 4

Praziquantel		γ-Ciclodextrina	
moles	Gramos	moles	Gramos
1	0.7764	1	3.2236
1	0.1840	5	3.8160
1	0.0950	10	3.9050

Tabla 5

Praziquantel		HP-β-Ciclodextrina	
moles	Gramos	moles	Gramos
1	0.6320	1	3.3680
1	0.1448	5	3.8552
1	0.0736	10	3.9264

Tabla 6

c) Colocar cada una de las muestras en la mezcladora de volteo cilíndrica a escala laboratorio “San Vicente y asociados” durante 20 minutos.

a) Pasar la mezcla física nuevamente por malla No 200 con diámetro de 75 μ m, para asegurar que el tamaño de partícula se mantiene homogéneo.

2 *Formación del complejo ciclodextrina-praziquantel en sólido por la técnica de amasado.*

- ❖ Tamizar por separado las $\tilde{\alpha}$ ciclodextrinas así como el praziquantel en malla No. 200 (75 μ m).
- ❖ Pesar las cantidades necesarias para obtener 4g de la mezcla PZQ-CD en las relaciones molares 1:1, 1:5 y 1:10, de acuerdo a las tablas 3-6.
- ❖ Colocar la cantidad de ciclodextrina requerida en un mortero y añadir la mínima cantidad de agua hasta formar una pasta homogénea.
- ❖ Adicionar la cantidad de praziquantel correspondiente y amasar con ayuda de un pistilo durante 5 minutos.
- ❖ Colocar las muestras en viales bien etiquetados y mantenerlos en la estufa a 60°C hasta eliminar completamente la humedad (por lo menos 48 horas).
- ❖ Determinar la Humedad Relativa (Hr) en la termobalanza y si es necesario, regresar las muestras a la mufla hasta obtener una Hr cercana a 0.

- ❖ Una vez obtenida la humedad relativa deseada, el sólido se pulveriza con ayuda de un mortero con pistilo y se tamiza hasta obtener un tamaño de partícula de 75µm.

3 Aplicación de la fuerza de compresión.

Para la aplicación de la fuerza de compresión se utilizó una prensa hidráulica de la marca “Carver inc” con dos punzones planos de acero inoxidable de 10mm de diámetro. Las fuerzas de compresión ejercidas se ajustaron manualmente a 1, 2 y 4Ton. El método empleado fue el mismo, tanto para la mezcla física, como para los complejos de inclusión, en las diferentes relaciones molares. El procedimiento que se siguió fue el siguiente:

- ❖ En una balanza analítica se pesa 400mg del producto (mezcla física, complejo formado, ciclodextrina o praziquantel) tamizado previamente por malla de 75 µm, los cuales son colocados en la cavidad del punzón inferior.
- ❖ Después se coloca manualmente el punzón superior.
- ❖ Se coloca el juego de punzones sobre la superficie de la prensa y se comienza a ejercer la presión hasta llegar al valor deseado.
- ❖ La presión ejercida se sostiene durante 10 segundos y después se libera la presión.
- ❖ Los punzones se retiran de la prensa y se procede a retirar el comprimido formado.
- ❖ Una vez obtenido el comprimido, éste se pulveriza con ayuda de un mortero y pistilo hasta conseguir un tamaño de partícula adecuado para poder ser tamizado por malla No. 200 con un diámetro de 75 µm.

La tabla 7 describe cada experimento de los sistemas PZQ-CD en las distintas condiciones. Cabe mencionar que los estudios con alfa y beta-CD han sido estudiados e informados en otra tesis¹²⁹.

Ciclodextrina	<i>Mezclas físicas (MF)</i>			<i>Complejos de inclusión (CI)</i>		
<i>Presión</i>	<i>Relación molar ciclodextrina-praziquantel</i>					
<i>P0</i>	<i>1:1</i>	<i>1:5</i>	<i>1:10</i>	<i>1:1</i>	<i>1:5</i>	<i>1:10</i>
<i>P1</i>	<i>1:1</i>	<i>1:5</i>	<i>1:10</i>	<i>1:1</i>	<i>1:5</i>	<i>1:10</i>
<i>P2</i>	<i>1:1</i>	<i>1:5</i>	<i>1:10</i>	<i>1:1</i>	<i>1:5</i>	<i>1:10</i>
<i>P4</i>	<i>1:1</i>	<i>1:5</i>	<i>1:10</i>	<i>1:1</i>	<i>1:5</i>	<i>1:10</i>

Tabla 7. Descripción de los sistemas PZQ-CD en las diferentes relaciones molares y las presiones aplicadas a cada una de ellas. En cada caso son veinticuatro condiciones diferentes.

4 *Análisis instrumental*

- Los estudios de difracción de rayos X se realizaron tanto a las mezclas físicas como a los complejos con un equipo SIEMENS D5000, con anticátodo de cobre, $\lambda = 1.5406$ Amstrongs y el software Diffracc AT (1993), versión 3.3 a 35 kV y 30 mA, con detector de centelleo.
- El análisis térmico por calorimetría diferencial de barrido (DSC) se hizo tanto a las mezclas físicas como a los complejos en el calorímetro de modelo DSC 321°, Mettler Toledo, con cápsulas de Aluminio (las muestras son encapsuladas herméticamente con atmósfera de Nitrógeno) y capacidad de 40 μ L; se interpretaron los datos en función de la cantidad de praziquantel complejado.
- Los espectros de infrarrojo se llevaron a cabo mediante reflectancia difusa, con un espectrofotómetro. La muestra se preparó con 0.002 g de la mezcla física o el complejo y se ajustó el peso a 0.02 g con bromuro de potasio seco y tamizado a 75 μ m.
- La cuantificación del praziquantel, tanto para la curva de calibración como para la determinación de los ensayos de disolución a partir de comprimidos, se llevó a cabo por espectroscopia de ultravioleta-visible con un espectrómetro Ocean Optics SAD 500 a una longitud de onda de 264nm

6. *Curva de calibración*

La tabla 8 muestra las concentraciones con las que se realizó la curva de calibración a una absorbancia de 264nm:

Conc. (g / mL)	Abs _{264nm}
2×10^{-5}	0,016
4×10^{-5}	0,05
5×10^{-5}	0,06
7×10^{-5}	0,103
8×10^{-5}	0,114
9×10^{-5}	0,127
1×10^{-4}	0,146

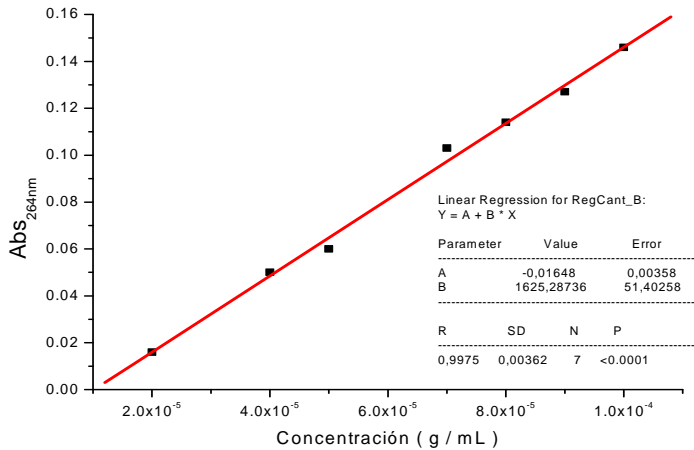
Tabla 8. Datos de la curva de calibración para la determinación de PZQ.

Puesto que la absorbancia es proporcional a la concentración de acuerdo a la ecuación

$$\text{Abs} = \epsilon l C$$

Donde ϵ = Coeficiente de extinción relativo
 l = longitud de la celda
 C = Concentración

Se obtuvo la siguiente gráfica y se realizó la regresión lineal en Origin 7



La ecuación resultante es: $Y = A + BX$

donde: $Y = Abs$
 $B = \epsilon l$
 $X = C$

Finalmente para calcular la concentración ésta se despeja de la ecuación anterior obteniéndose:

$$X = \frac{Y - A}{B} \quad \text{o bien,} \quad C = \frac{Abs - A}{\epsilon l}$$

A partir de la última ecuación se calcularán las concentraciones de PZQ disuelto.

7. Disolución a partir de comprimidos

Para llevar a cabo la prueba de disolución se usaron los comprimidos realizados de acuerdo a la metodología del punto 3. Los sistemas que se evaluaron fueron PZQ- α -CD, PZQ- β -CD y PZQ- γ -CD. Los experimentos se realizaron a 25°C manteniendo la temperatura con un baño circulante y consistieron en colocar una sonda de detección automática acoplada al espectrómetro sumergida en 200mL de solución amortiguadora de fosfatos pH=7.5 y 0.1M de cloruro de sodio para controlar la fuerza iónica; el comprimido fue adherido con resina epóxica inerte a la superficie inferior de la sonda manteniendo únicamente la superficie del comprimido en contacto con el medio de disolución (Figura 5). La agitación se realizó a 60rpm con un agitador magnético. Las lecturas de absorbencia fueron hechas cada 30 segundos.

8. El manejo de los datos se realizó mediante los programas Word y Excel Office 2003, OPUS 4.0 y ORIGIN 7.0.

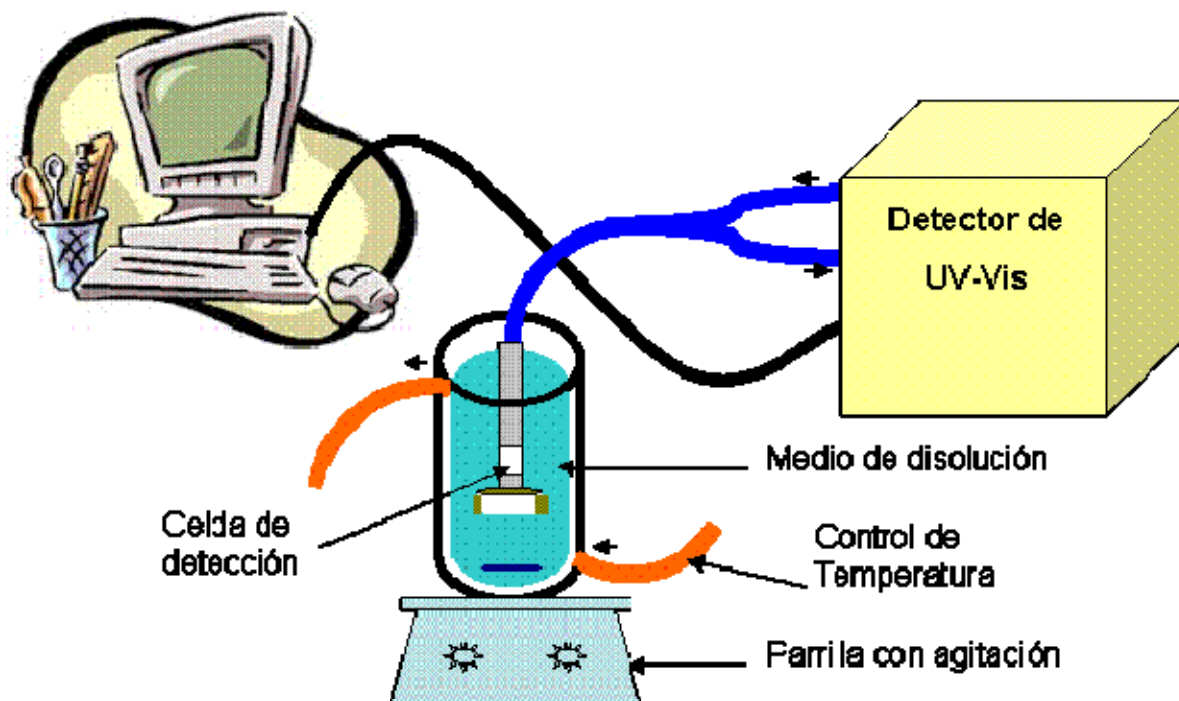
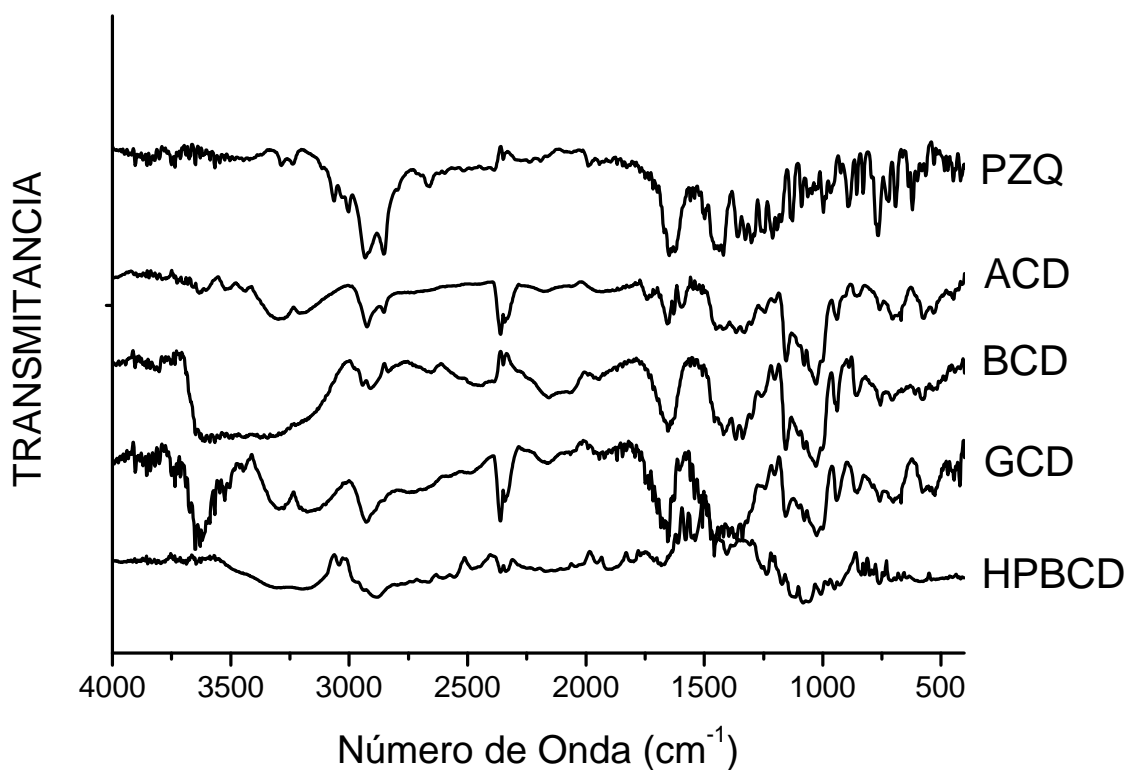


Figura 5. Metodología para la evaluación de la disolución de comprimidos

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Espectroscopia de IR

En los espectros de IR que se muestran en la Gráfica 1 se observa el praziquantel, PZQ. Éste presenta algunas bandas características en la región de 3064 y 3002 cm^{-1} que corresponden al estiramiento de los grupos $-\text{CH}-$ aromáticos y bandas en 2931 y 2854 cm^{-1} correspondientes al estiramiento de los metilenos del ciclohexano. En los espectros de las CD's se puede ver que presentan uno o dos picos de absorción, uno en la región de 2950-2910 cm^{-1} y otro en 2881-2854 cm^{-1} de los grupos metilenos y también las bandas anchas típicas debidas a la absorción de los grupos hidroxilo ($-\text{OH}$) por encima de 3200 cm^{-1} . En el caso de la α -CD los picos están más definidos y éstos se van ampliando al aumentar el número de glucosas en el anillo de ciclodextrina, por otra parte el derivado hidroxipropilado de β -CD presenta un pico que se ve poco definido en 3043 cm^{-1} y otro en la región de 2881 cm^{-1} , correspondiente a la región de metilenos. Así mismo, se observan otras bandas anchas que se traslapan con las que presenta el praziquantel por debajo de 2000 cm^{-1} .



Gráfica 1. Espectros de IR del praziquantel y las CD's. Praziquantel (PZQ), α -CD (ACD), β -CD (BCD), γ -CD (GCD) HP- β -CD (HPBCD).

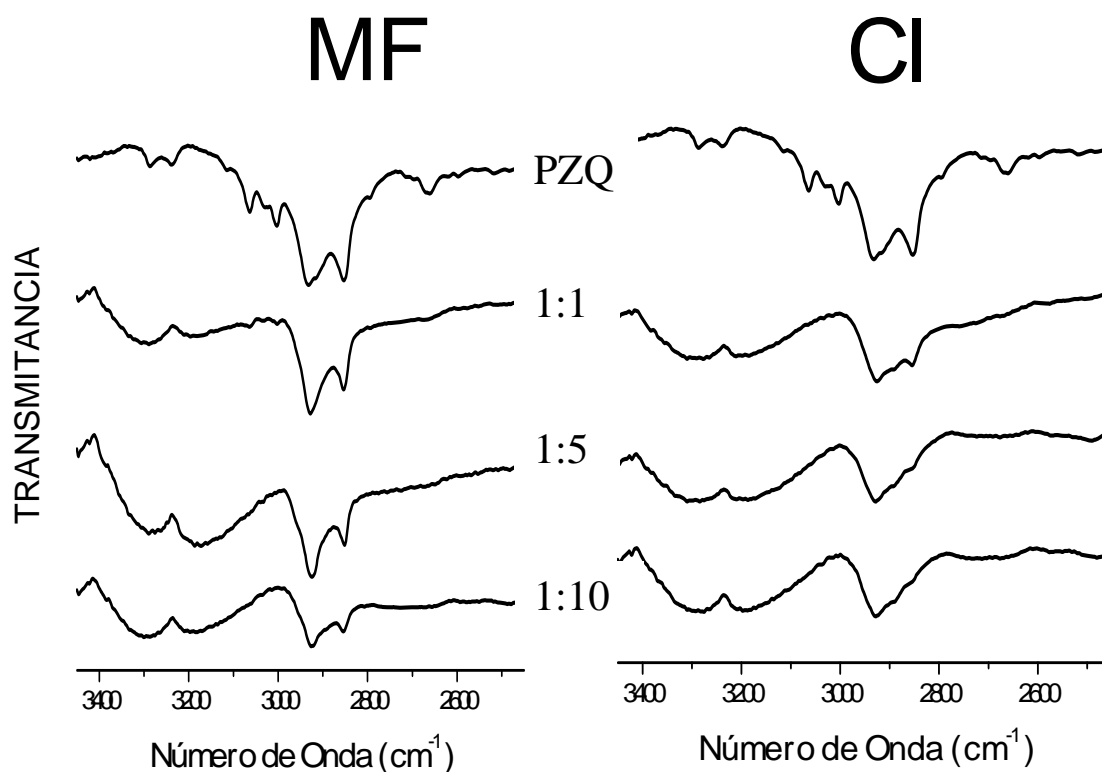
Esta Gráfica nos permite suponer que si hay algún tipo de interacción entre el PZQ y las diferentes CD's el efecto se verá principalmente entre la región de 3200cm^{-1} y 2700cm^{-1} puesto que en esta zona los picos del PZQ y de las CD's son más definidos.

5.1.1 Caracterización y efecto de la relación molar a P0

Sistemas PZQ- γ -CD y PZQ HP- β -CD

En el caso de la γ -CD (Gráfica 2) en la relación molar 1:1 se logra observar dos picos característicos en 2881cm^{-1} y 2854cm^{-1} respectivamente, tanto en la MF como en los CI, sin embargo son más pronunciados en la MF y a partir de la relación molar 1:5 sólo se observa un solo pico en el CI en $\sim 2881\text{cm}^{-1}$, manteniéndose los dos picos en la MF. La alteración de estas bandas sugiere que posiblemente el ciclohexano del praziquantel se incluye en la cavidad de la ciclodextrina, es decir, este anillo interactúa con el interior hidrofóbico de la misma.

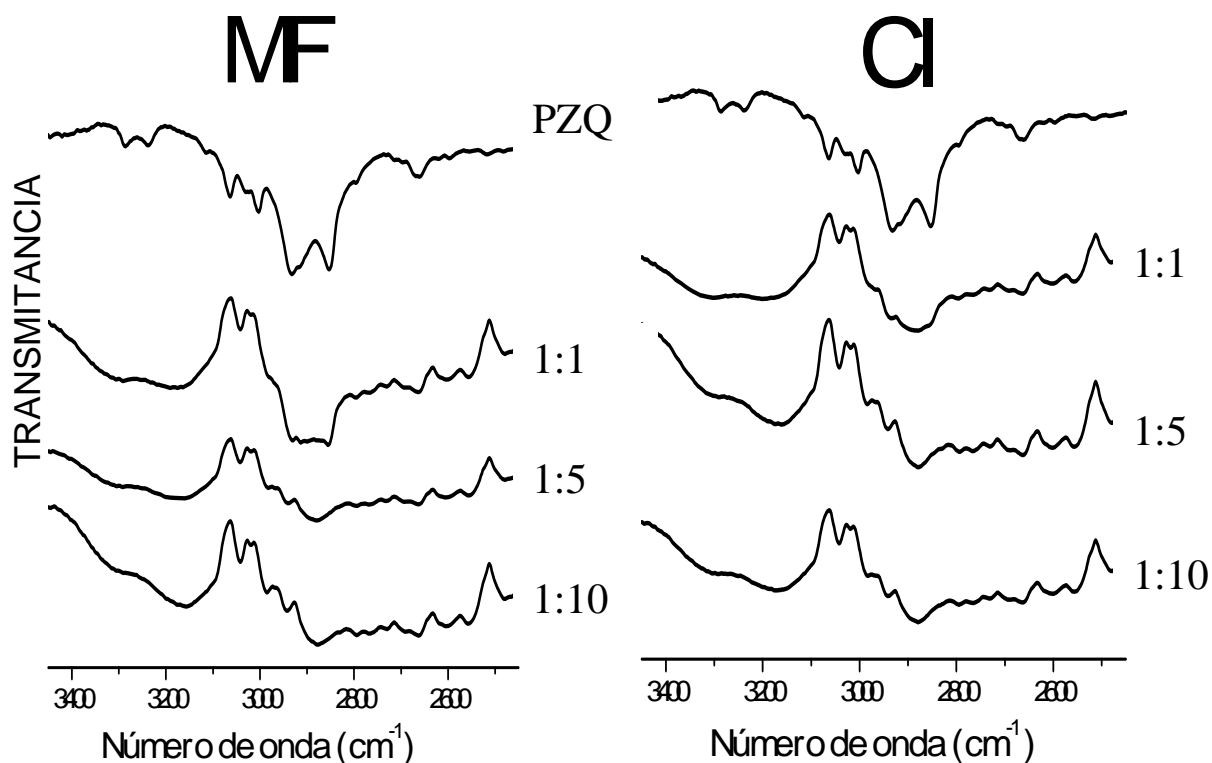
Por otra parte cuando comparamos las mezclas físicas entre si, se observa en el caso de la γ -CD que la intensidad de las bandas características del PZQ disminuye al aumentar la relación molar. Esto sugiere que al haber mayor cantidad de



Gráfica 2. Espectros de IR de las MF y los CI entre praziquantel y γ -CD en diferentes relaciones molares (1:1, 1:5 y 1:10) a la presión normal de trabajo (P0).

presente, el equilibrio se desplaza hacia la complejación y las moléculas de praziquantel tienden a interactuar con mayor facilidad con la parte hidrofóbica de la ciclodextrina; por tanto mejora la complejación⁵¹. La misma tendencia también se observa en los complejos de inclusión, sin embargo se muestra un mejor comportamiento debido a la aplicación del método de amasado puesto que se favorece el desplazamiento de las moléculas de agua del interior de la ciclodextrina por algunas moléculas huésped y por tanto una mejor interacción⁴⁸. De hecho en el complejo en la relación 1:1, la intensidad de las bandas es mucho menor que en cualquiera de las mezclas físicas antes presentadas para esta CD. En los CI, la disminución de la intensidad en las bandas de absorción fue menos evidente, inclusive como se puede observar, la banda de 2800 cm^{-1} del praziquantel llega casi a desaparecer en todos los casos, esto nos indicaría que el praziquantel se encuentra complejado, es decir, incluido en el interior de las moléculas de ciclodextrinas.

En el caso de la HP- β -CD, los espectros mostrados en la Gráfica 3, en la relación molar 1:,1 se logra establecer una pequeña diferencia entre la mezcla física y el complejo de inclusión. Esta diferencia se basa en la intensidad de los picos que aparecen



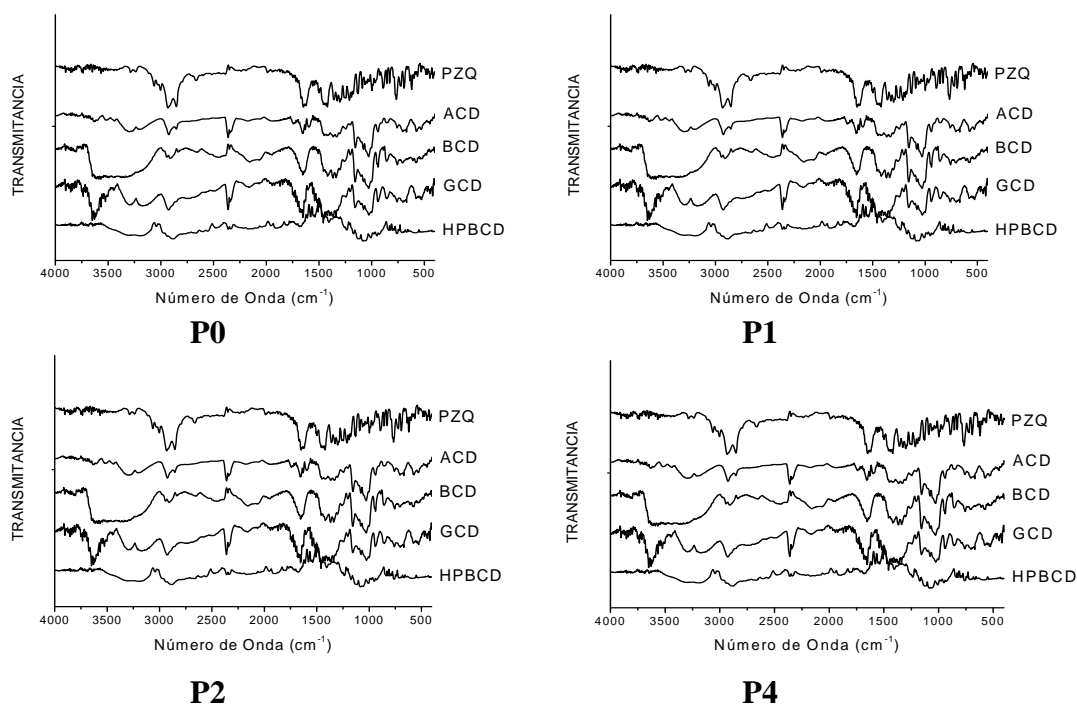
Gráfica 3. Espectros de IR de las MF's y los CI entre praziquantel y HP- β -CD en diferentes relaciones molares (1:1, 1:5 y 1:10) a la presión normal de trabajo (P0).

en la región de 2881cm^{-1} donde se muestra que en la mezcla física hay dos picos traslapados que no llegan a ocultarse por completo, no así en los complejos de inclusión donde estos picos sí desaparecen, posiblemente debido a la inclusión de la molécula de praziquantel en la cavidad de la ciclodextrina. En los sistemas PZQ-HP- β -CD en las relaciones molares 1:5 y 1:10 se observa que los espectros de la mezcla física y del complejo de inclusión se asemejan, es decir, para esta ciclodextrina, por la alta capacidad de complejación de esta ciclodextrina⁵², bastaría la formación de la mezcla física en éstas condiciones para conseguir que el praziquantel interactuara con la CD en la misma forma que lo haría si hubiese sido formado por el método de masado.

En general, la interacción que se da entre las CD's y el praziquantel es más eficiente cuando se aplica el método de amasado con respecto a las mezclas físicas y se mejora en ambos casos cuando aumenta la cantidad de CD con respecto al praziquantel. Cabe mencionar que las mismas tendencias se han reportado con la α y β -CD¹²⁹.

5.1.2 Efecto de la fuerza de compresión

Las Gráfica 4 muestra los espectros del praziquantel, α -CD, β -CD, γ -CD y HP- β -CD posterior a la aplicación de las diferentes fuerzas de compresión.

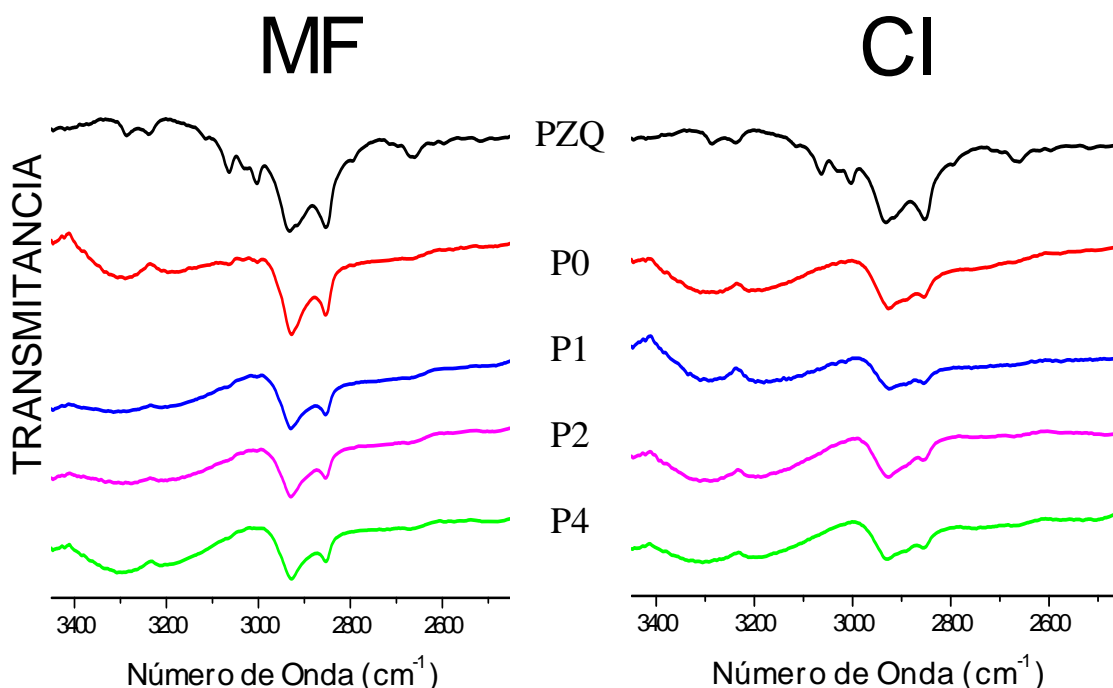


Gráfica 4. Espectros de IR del praziquantel y las CD's a diferentes presiones. Condiciones normales (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4). Praziquantel (PZQ), α -CD (ACD), β -CD (BCD), γ -CD (GCD) HP- β -CD (HPBCD).

Los resultados confirman que en ningún caso la fuerza de compresión aplicada modifica en absoluto los espectros del praziquantel y de las diferentes ciclodextrinas, es decir, las bandas que se señalaron en la Gráfica 1 para realizar este análisis permanecen iguales en esta Gráfica.

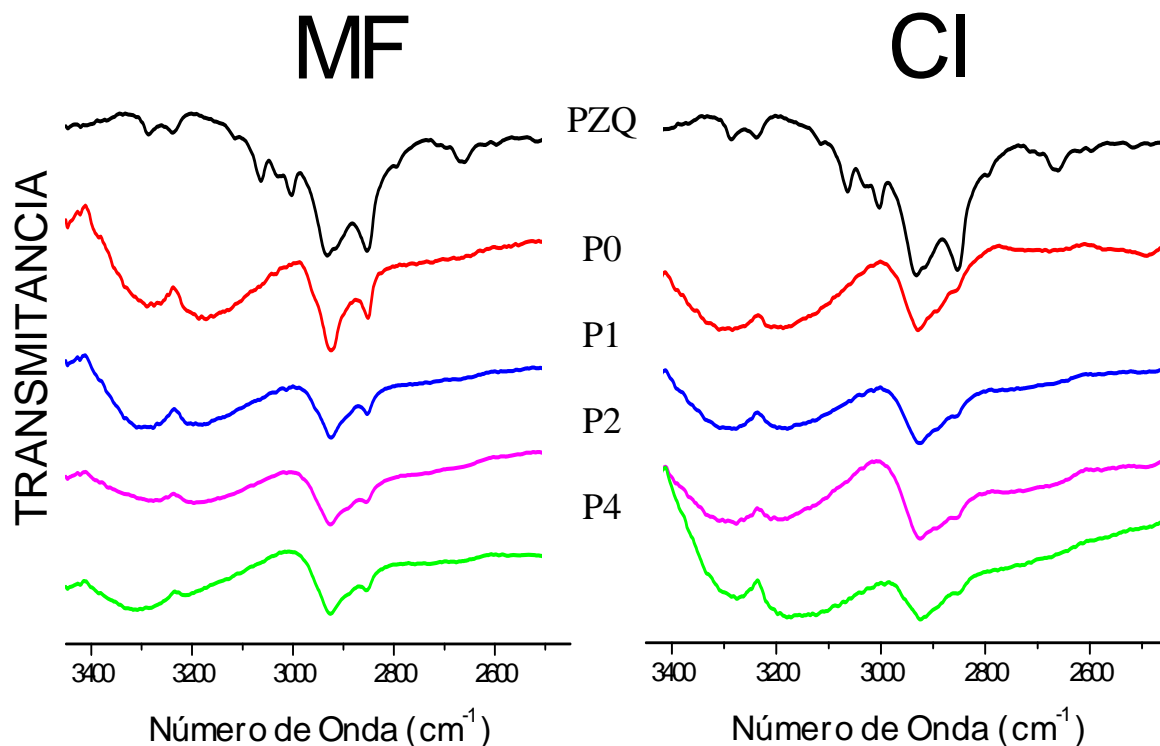
Sistemas PZQ- γ -CD y PZQ HP- β -CD

Las Gráficas 5, 6 y 7 muestran la influencia de la fuerza de compresión en la complejación del praziquantel en las mezclas físicas y en los complejos de inclusión para los sistemas PZQ- γ -CD. En el caso de las MF la influencia de la fuerza de compresión aplicada es más notoria aunque si bien, con el simple hecho de mezclar se logra formar complejo en muy poca cantidad, los espectros P1, P2 y P4 de las Gráficas 5, 6 y 7 muestran que después de la compresión parece aumentar ligeramente la interacción del praziquantel con la ciclodextrina. Si comparamos las mezclas físicas después de aplicar la compresión y los complejos de inclusión a las condiciones normales de trabajo se observa que en ambos casos las bandas de 2857 cm^{-1} y 2931 cm^{-1} del PZQ, disminuyen su intensidad. Es importante señalar que la banda de 3001 cm^{-1} observada en las mezclas físicas en la relación molar 1:1 (Gráfica 5) desaparece al aplicar presión lo cual indica que existe la formación de CI³⁷.

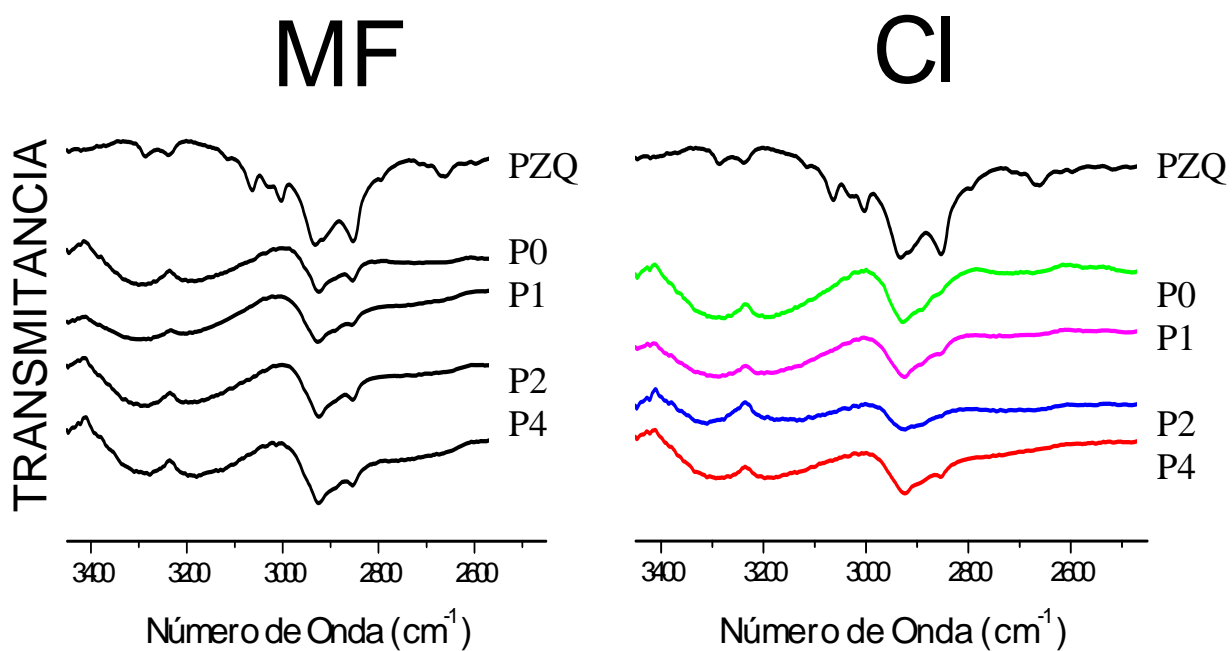


Gráfica 5. Espectros de IR de las MF's y los CI entre praziquantel y γ -CD en diferentes presiones en la

relación molar 1:1. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)



Gráfica 6. Espectros de IR de las MF's y los CI entre praziquantel y γ -CD en diferentes presiones en la relación molar 1:5. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)

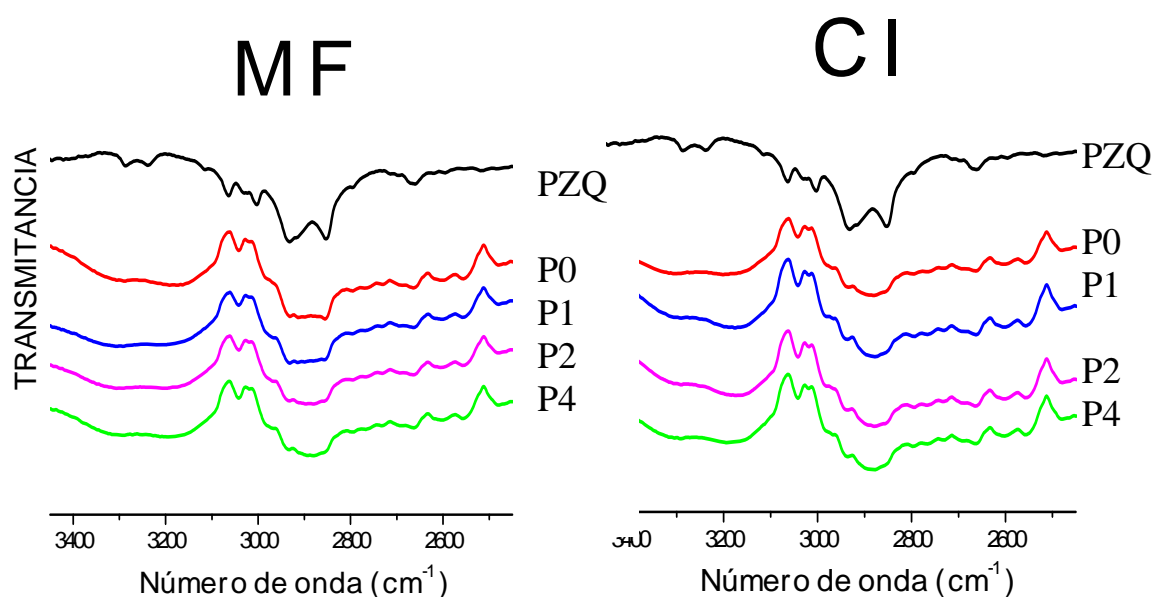


Gráfica 7. Espectros de IR de las MF's y los CI entre praziquantel y γ -CD en diferentes presiones en la relación molar 1:10. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)

Las observaciones en los complejos de inclusión PZQ- γ -CD son semejantes a las que se muestran con las mezclas físicas variando la presión. Aunque si bien, la disminución de intensidad es menos significativa. Esto se puede deber a que la complejación resultante a raíz del amasado inicial solo puede mejorarse un poco a diferencia de las mezclas físicas. También se observa que la disminución en las intensidades de las bandas al parecer no tiene una relación con la fuerza de compresión. Por tanto sólo basta realizar la compresión para favorecer la interacción entre el fármaco y la ciclodextrina.

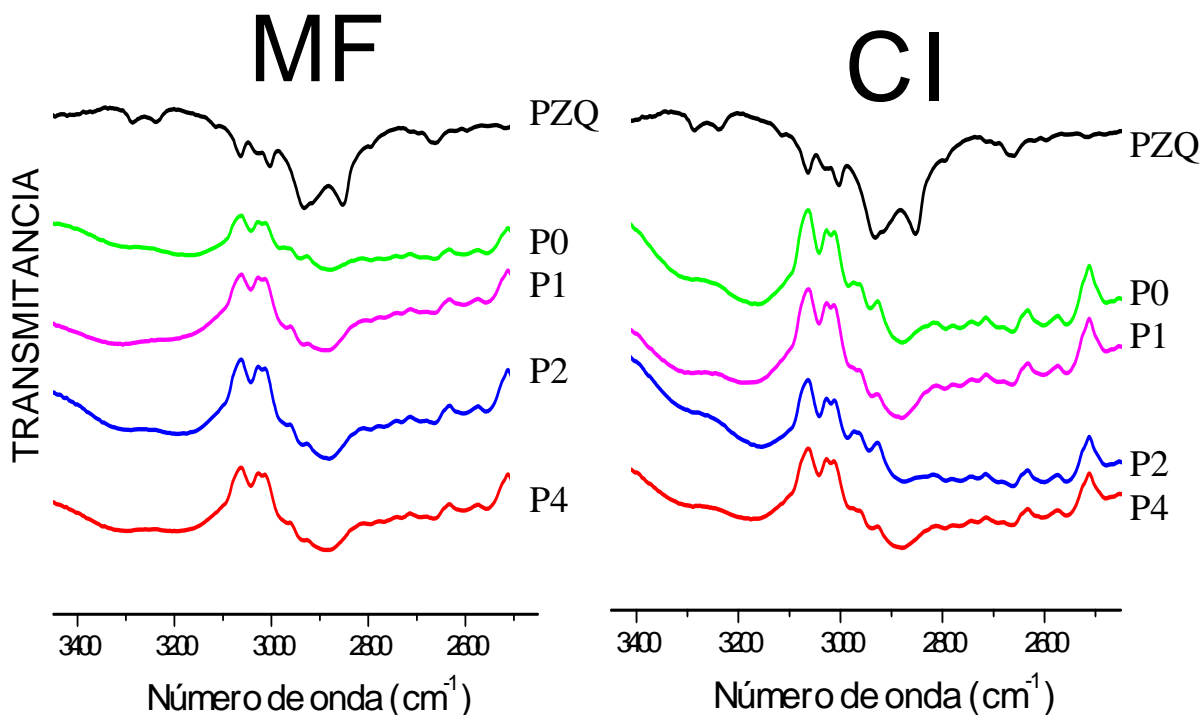
En el caso del efecto de la relación molar a presión diferente de cero se observa que a mayor cantidad de ciclodextrina mayor es la complejación. Lo anterior nos indica que podemos aprovechar un efecto combinado de la relación molar y la aplicación de la fuerza de compresión para obtener mejores resultados en la complejación del PZQ por la γ -CD.

Las Gráficas 8-9 muestran los espectros de los sistemas PZQ-HP- β -CD. La interpretación de los resultados, ya sean mezclas físicas o CI, es difícil de realizar puesto que no hay cambios aparentes en los espectros de IR. Lo anterior indica que en este caso en particular esta técnica no es de gran utilidad para estudiar el efecto de la fuerza de compresión sobre la interacción fármaco-CD³⁷.

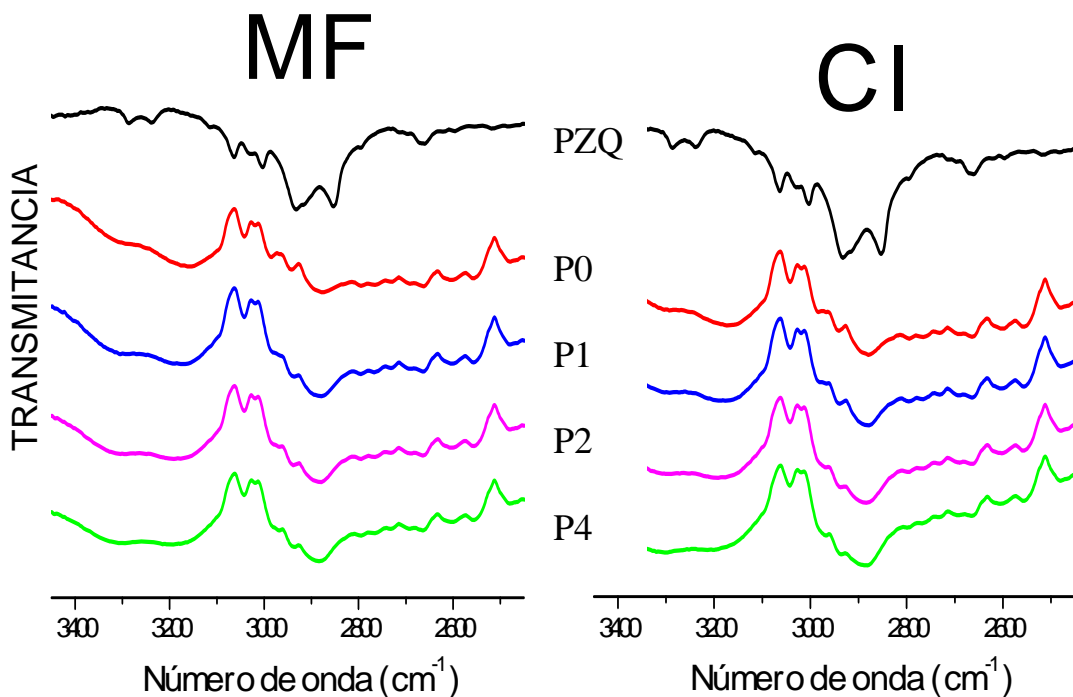


Gráfica 8. Espectros de IR de las MF's y los CI entre praziquantel y HP- β -CD en diferentes presiones en

la relación molar 1:1. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)



Gráfica 9. Espectros de IR de las MF's y los CI entre praziquantel y HP-β-CD en diferentes presiones en la relación molar 1:5. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)



Gráfica 10. Espectros de IR de las MF's y los CI entre praziquantel y HP-β-CD en diferentes presiones en

la relación molar 1:10. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4).

También hemos de hacer referencia que en estudios realizados previamente¹²⁹ se demostró que la interacción PZQ- α -CD o PZQ- β -CD se veía influenciada por el método de preparación, la relación molar y por efecto de la fuerza de compresión, de tal manera que mediante el método de amasado con ambas CD en la relación 1:5 y después de aplicar una fuerza de compresión de 1Ton, la interacción aumenta y esto se confirmó cualitativamente mediante IR, DSC, DPRX.

Finalmente la tabla siguiente resume el efecto de la relación molar y la fuerza de compresión en los sistemas descritos anteriormente.

CD	Técnica	Mezclas físicas (MF)			Complejos de inclusión (CI)		
		<i>Relación molar ciclodextrina-praziquantel</i>					
γ -CD	IR						
	Presión	1:1	1:5	1:10	1:1	1:5	1:10
	P0	1✓	1✓	2✓	2✓	3✓	3✓
	P1	1✓	2✓	2✓	3✓	4✓	4✓
	P2	2✓	2✓	2✓	3✓	4✓	4✓
HP- β -CD	P4	2✓	2✓	2✓	3✓	4✓	4✓
	P0	3✓	3✓	3✓	3✓	3✓	3✓
	P1	3✓	3✓	3✓	3✓	3✓	3✓
	P2	3✓	3✓	3✓	3✓	3✓	3✓
	P4	3✓	3✓	3✓	3✓	3✓	3✓

Valores relativos de interpretación de la interacción PZQ-CD asignando arbitrariamente el valor de 1 a la MF en relación molar 1:1 en cada.

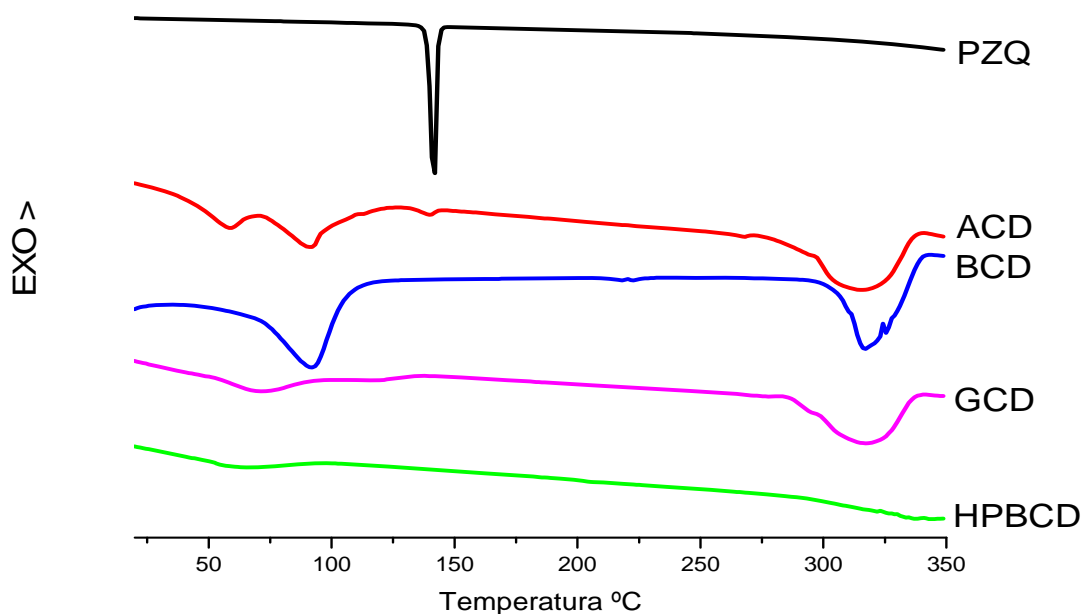
5.2 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

Como ya se mencionó en los antecedentes, el análisis térmico mediante DSC es una herramienta útil para caracterizar los complejos de inclusión entre ciclodextrinas y moléculas huésped y poderlos diferenciar de una simple mezcla física⁶⁴. En este caso la caracterización de los complejos de inclusión está descrita por la desaparición, disminución o desplazamiento del pico debido a la fusión del praziquantel³⁷. La Gráfica 11 muestra los perfiles térmicos del PZQ y las CD's. En el caso del PZQ observamos que se trata de una molécula anhidra, cristalina, con un pico endotérmico de fusión en 141°C y sin presencia de transiciones cristalinas o vítreas^{72, 75}. Por otra parte, las ciclodextrinas utilizadas (γ -CD y HP- β -CD) muestran las típicas bandas anchas endotérmicas debidas a la evaporación de moléculas de agua por debajo de 100°C y la descomposición en 320°C⁶⁴, así mismo, no presentan ningún tipo de fenómeno en el intervalo de 120-170°C que pudiese intervenir en la interpretación de los resultados.

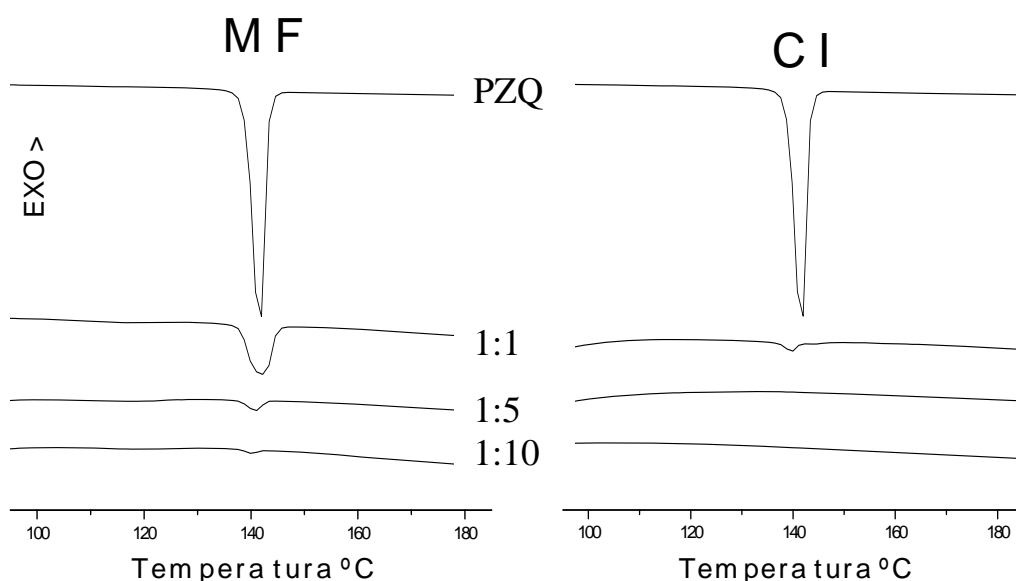
5.2.1 Caracterización y efecto de la relación molar P0

Sistemas PZQ- γ -CD y PZQ HP- β -CD

En la Gráfica 12 comparamos los termogramas de las mezclas físicas y los complejos de inclusión en las diferentes relaciones molares (1:1, 1:5 y 1:10) para los sistemas PZQ- γ -CD. Se observa que para la relación 1:1 permanece el pico de fusión y



Gráfica 11. Termogramas del praziquantel y las CD's. Praziquantel (PZQ), α -CD (ACD), β -CD (BCD), γ -CD (GCD) HP- β -CD (HPBCD).

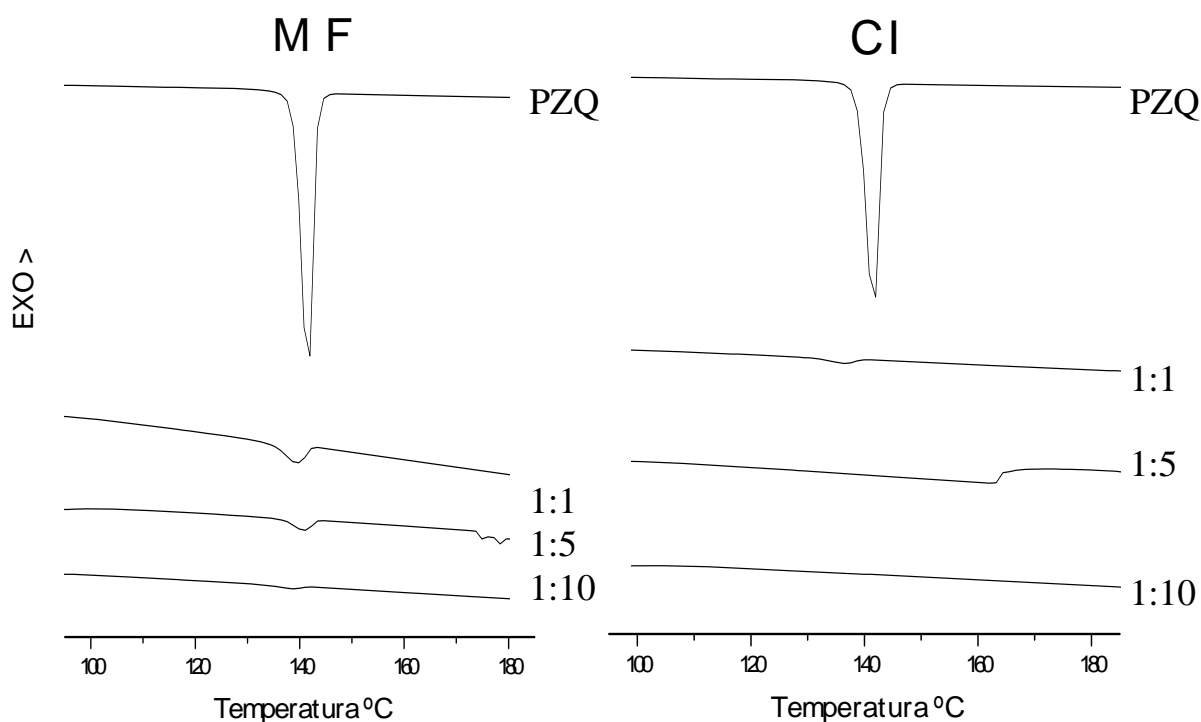


Gráfica 12. Termogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y γ -CD en diferentes relaciones molares (1:1, 1:5 y 1:10) a la presión normal de trabajo (P0).

en el CI se presenta una menor área bajo la curva, lo cual indica que el PZQ interacciona mejor con la γ -CD mediante el método de amasado; sin embargo no se puede inferir la total formación de complejo de inclusión pues como se observó mediante IR las bandas características del PZQ no desaparecen en su totalidad lo cual indica que estas moléculas de PZQ no están incluidas en la cavidad de la CD. Las MF en las relaciones 1:5 y 1:10 mantienen visible el pico de fusión del PZQ, lo cual nos dice que si bien, la concentración de CD favorece la interacción, la técnica de mezcla física no. En los CI al parecer el pico de fusión llega a desaparecer, por lo que se podría aseverar que por el método de amasado se favorece de mejor manera la interacción PZQ- γ -CD. El orden resultante de complejación es $1:10 \geq 1:5 > 1:1$.

La Gráfica 13 muestra el comportamiento de los sistemas PZQ-HP- β -CD. Se observa que en la relación 1:1 el pico de fusión del PZQ permanece en la MF a 139°C y en el CI a 137°C, sin embargo el ABC del CI es menor que en la MF. Estas variaciones en el punto de fusión y el ABC nos dice que la técnica de amasado favorece la interacción fármaco-CD. En el caso de la relación molar 1:5 el pico de fusión del PZQ en la MF se presenta a 139°C y desaparece en el CI, mientras que en la relación 1:10

desaparece en ambos casos. Lo cual indica que la encapsulación es más eficiente con esta ciclodextrina⁵².



Gráfica 13. Termogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y HP-β-CD en diferentes relaciones molares (1:1, 1:5 y 1:10) a la presión normal de trabajo (P0).

Se podría decir que para esta ciclodextrina no sería necesario aplicar el método de amasado a partir de la relación 1:10 para lograr una interacción semejante entre las dos moléculas en ésta relación molar.

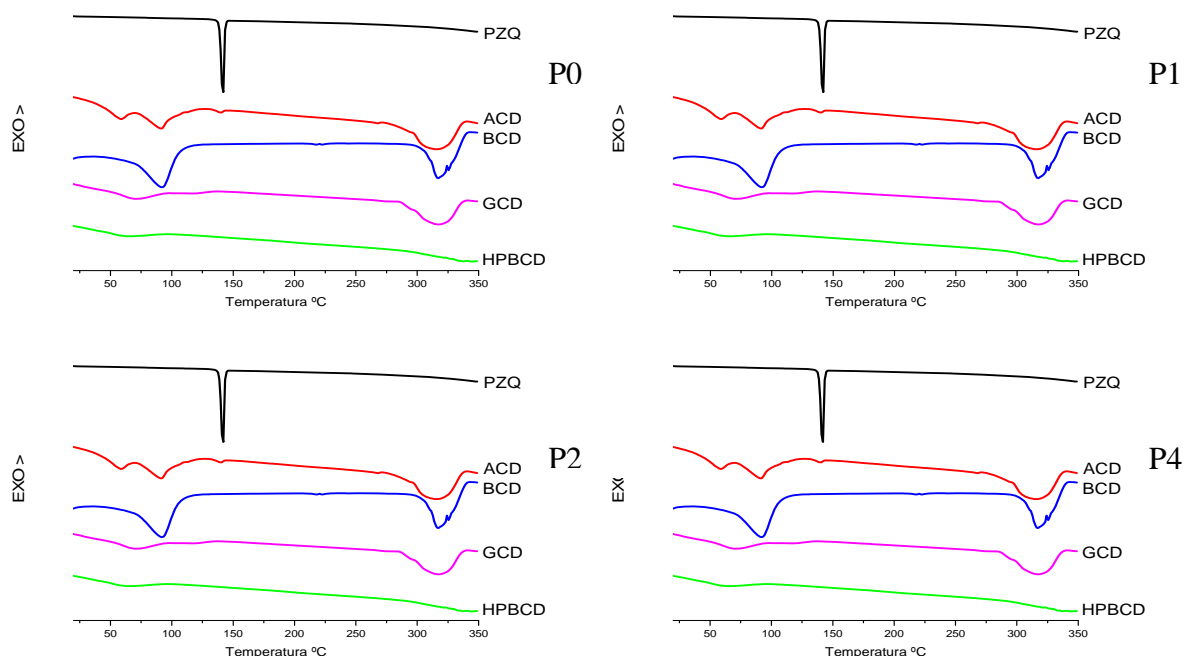
5.2.2 Efecto de la fuerza de compresión

La Gráfica 14 presenta los termogramas del PZQ, α-CD, β-CD, γ-CD y HP-β-CD a las diferentes presiones. Esta Gráfica demuestra que la fuerza de compresión no provoca ningún cambio estructural que pueda detectarse mediante DSC y que pueda interferir con los resultados obtenidos.

Sistemas PZQ-γ-CD y PZQ HP-β-CD

En las Gráficas 15-20, se compara la influencia de la presión en las mezclas físicas y los complejos de inclusión para los sistemas PZQ-γ-CD y PZQ-HP-β-CD. Los resultados muestran que al aplicar la fuerza de compresión en cualquier relación molar y ya sea la MF o el CI, el ABC debido al pico de fusión del PZQ disminuye con respecto

al área que se observa en condiciones normales. En el caso de PZQ- γ -CD la Gráfica 15 muestra el efecto de la compresión en la relación 1:1.



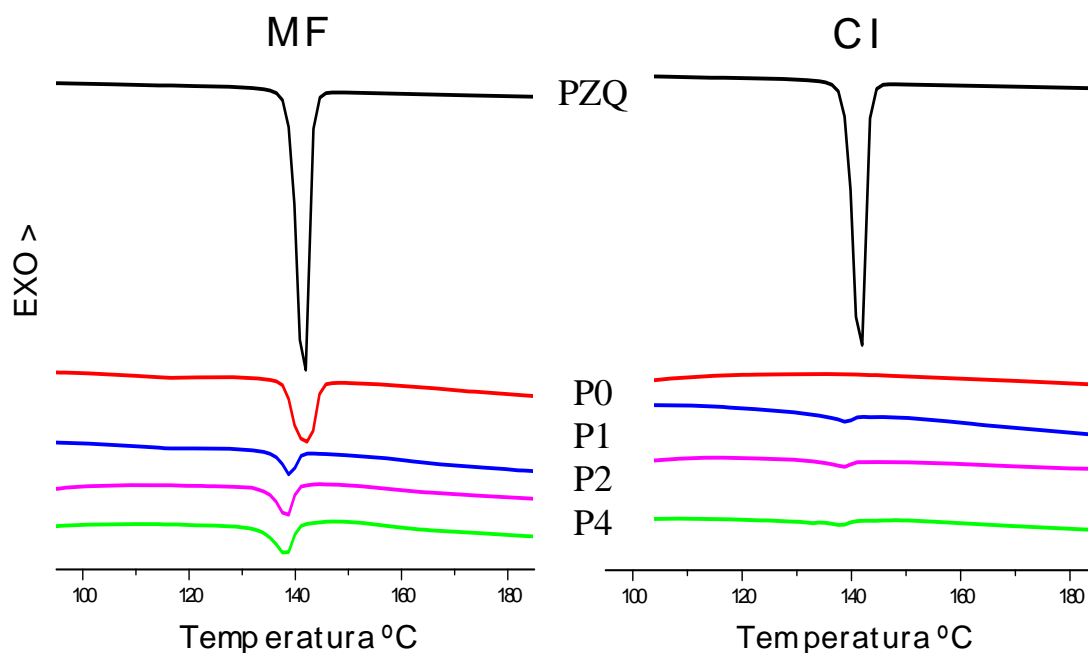
Gráfica 14. Termogramas del praziquantel y las CD's a diferentes presiones. Condiciones normales (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4). Praziquantel (PZQ), α -CD (ACD), β -CD (BCD), γ -CD (GCD) HP- β -CD (HPBCD).

En las MF disminuye el área bajo la curva a partir de 1Ton/fza y parece permanecer constante con los demás valores de compresión y los puntos de fusión disminuyen de 141°C a 137°C; los hechos anteriores indican que la compresión aumenta la complejación. La misma tendencia se mostró en los complejos de inclusión.

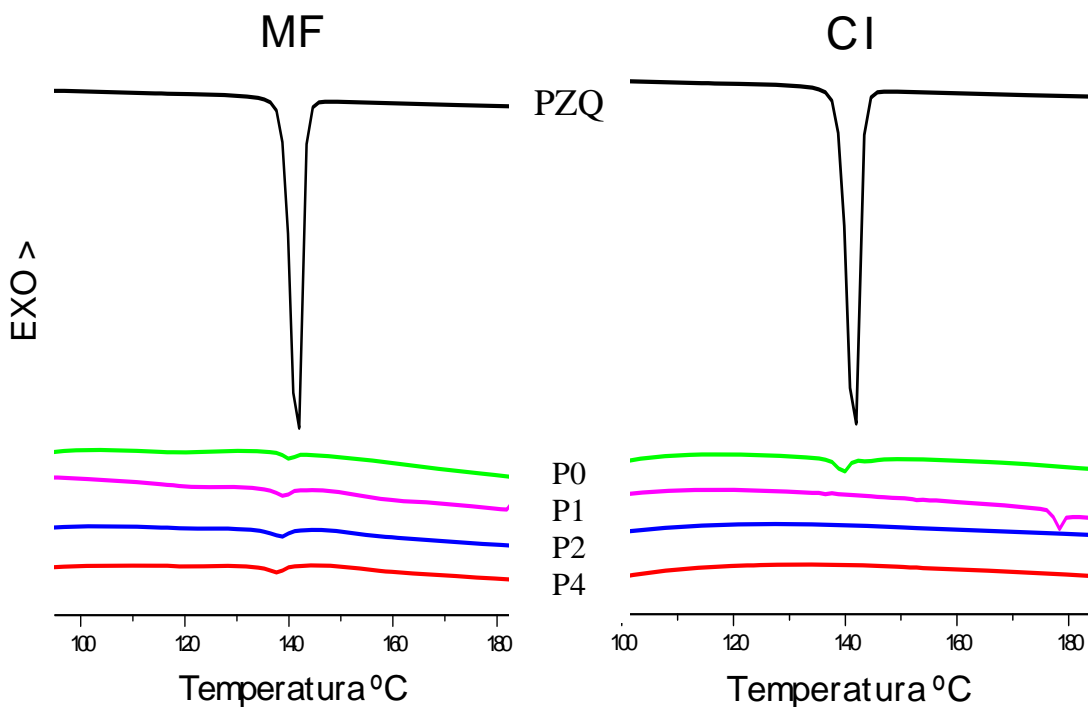
En las relaciones 1:5 y 1:10 (Gráfica 16 y 17) para ambos casos el efecto de la compresión fue menos marcado puesto que la concentración de CD favorece por sí misma la interacción entre ambas moléculas. Las MF mantienen el pico de fusión del PZQ y éste se desplaza hasta 137°C.

En el caso de las MF vemos que aunque se aumente la cantidad de CD y se ejerza presión de 1Ton, el pico permanece lo cual indica que estos valores tanto de presión y de relación molar no son suficientes para llegar a una inclusión completa de las moléculas del PZQ en la cavidad de la γ -CD. Los CI se comportan con una tendencia similar a la que se presenta en las MF.

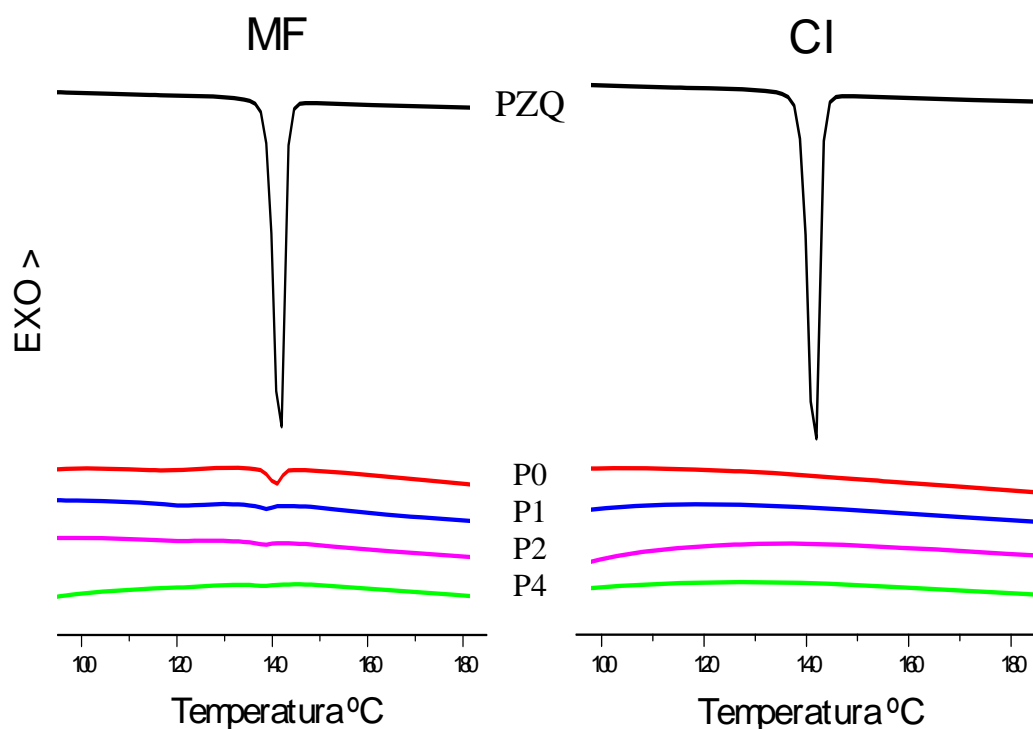
Aquí se demuestra que el factor geométrico juega un papel importante en la inclusión de moléculas hidrofóbicas dentro de la cavidad de las CD⁷¹, es decir cuando la



Gráfica 15. Termogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y γ -CD en diferentes presiones en la relación molar 1:1. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)



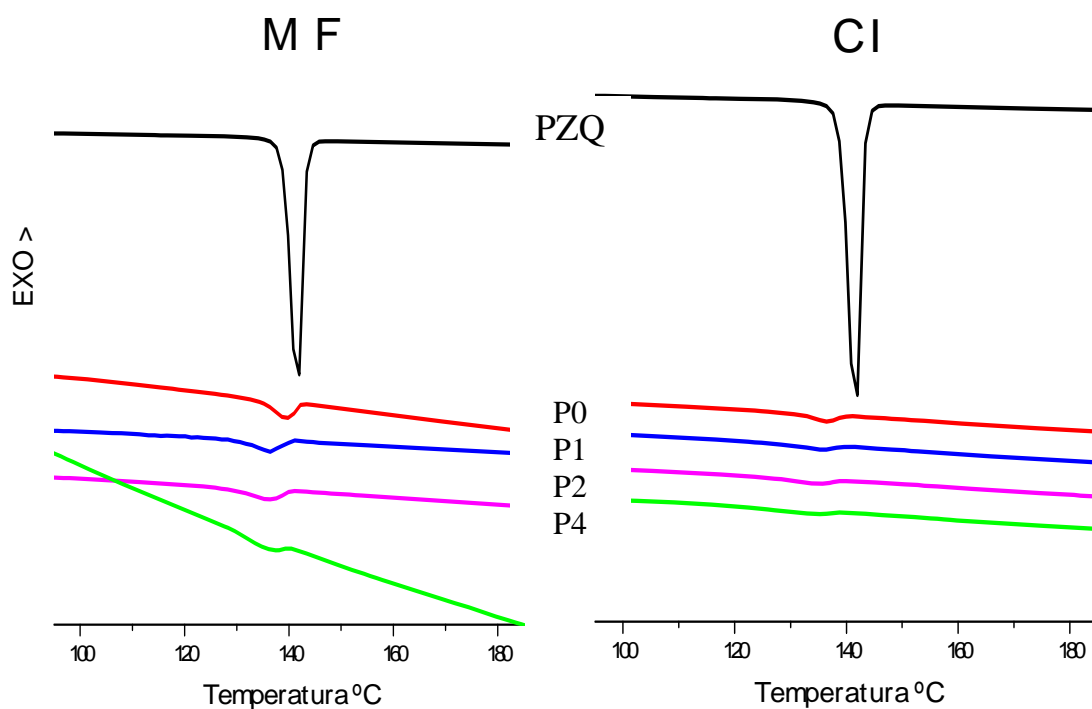
Gráfica 16. Termogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y γ -CD en diferentes presiones en la relación molar 1:5. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4).



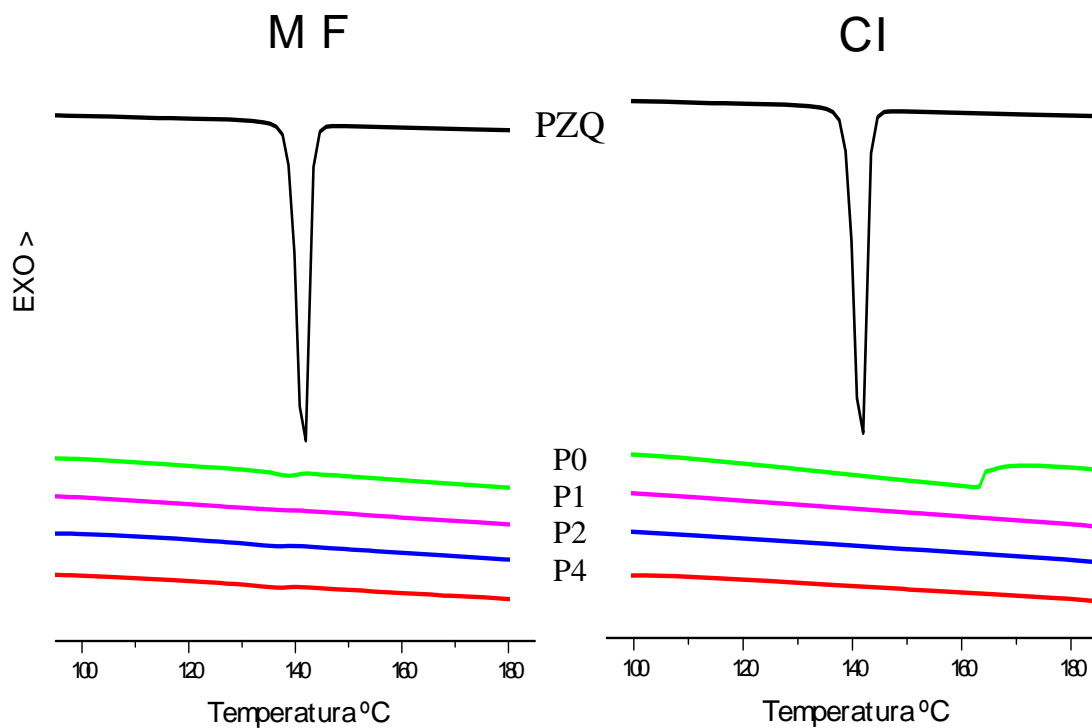
Gráfica 17. Termogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y γ -CD en diferentes presiones en la relación molar 1:10. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)

cavidad es una limitante⁷⁰, la relación molar y la presión ejercida no son determinantes para conseguir la completa inclusión del PZQ, pues como ya se ha observado con la γ -CD, en ningún caso desaparece el pico endotérmico debido a la fusión del PZQ, puesto que con esta CD parece no haber la complementariedad estérica y esto implica que la estabilidad sea menor y por tanto exista mayor número de moléculas sin incluir en el equilibrio.

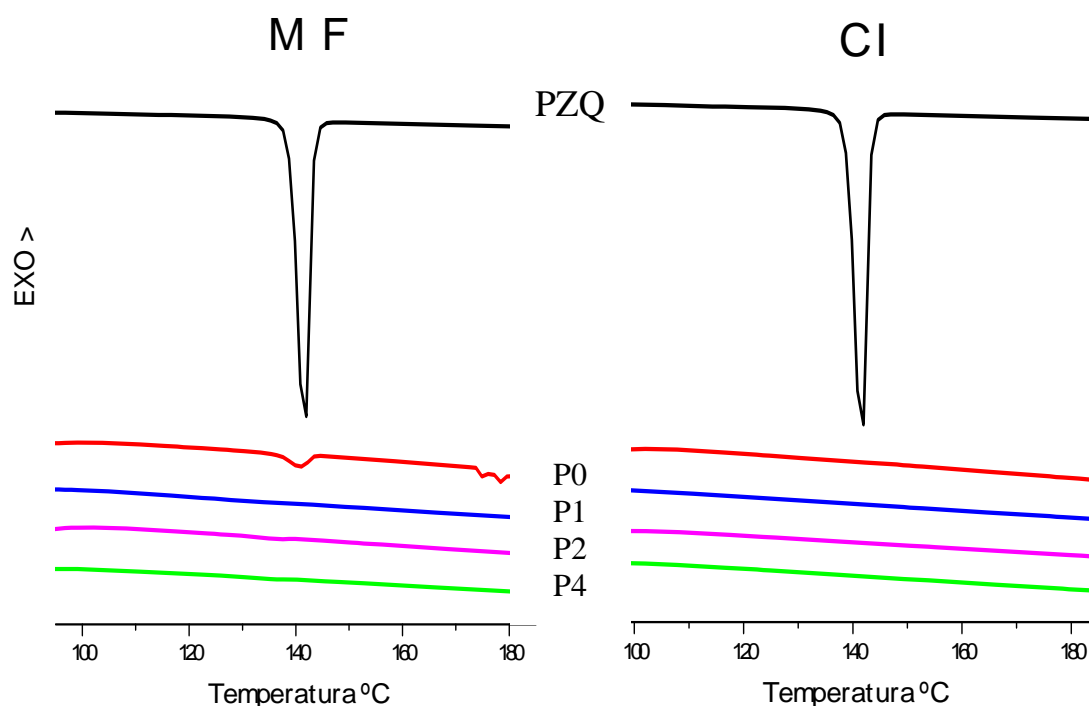
Por su parte, los sistemas PZQ-HP- β -CD muestran que en la relación 1:1 (Gráfica 18) el efecto de la compresión no logra desaparecer el pico de fusión del PZQ en las MF y los CI, aunque si bien, el ABC sí disminuye e inclusive casi desaparece cuando se aplicó la compresión más fuerte. No obstante, la compresión sí favorece la interacción fármaco-CD puesto que los puntos de fusión se modifican después de aplicar las diferentes fuerzas de tal manera que en las MF cambia de 139°C a 136°C en todas las compresiones aplicadas, mientras que en los CI se desplaza a 135°C. Con estos resultados se puede ver que la compresión tiene mayor efecto en las MF que en los CI ya que la variación del punto de fusión es de 3°C en las MF y tan solo de 1°C en los CI puesto que con el amasado se logra una eficiente complejación.



Gráfica 18. Termogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y HP- β -CD en diferentes presiones en la relación molar 1:1. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)



Gráfica 19. Termogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y HP- β -CD en diferentes presiones en la relación molar 1:5. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)



Gráfica 20. Termogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y HP- β -CD en diferentes presiones en la relación molar 1:10. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)

En el caso de la relación molar 1:5 (Gráfica 19) y 1:10 (Gráfica 20) el pico de fusión del PZQ desaparece, tanto en la MF como en el CI, después de aplicar las compresiones. Este comportamiento demuestra que la fuerza de compresión favorece la interacción entre ciclodextrinas y moléculas huésped tales como el PZQ.

Para el caso de la HP- β -CD no fue posible analizar el efecto de la relación molar pues los resultados presentados anteriormente muestran que a diferentes presiones en la mayoría de los casos desaparecía el pico endotérmico correspondiente a la fusión del PZQ.

Finalmente la tabla siguiente resume el efecto de la relación molar y la fuerza de compresión en los sistemas descritos anteriormente.

CD	Técnica	Mezclas físicas (MF)			Complejos de inclusión (CI)		
	DSC	<i>Relación molar ciclodextrina-praziquantel</i>					
	<i>Presión</i>	<i>1:1</i>	<i>1:5</i>	<i>1:10</i>	<i>1:1</i>	<i>1:5</i>	<i>1:10</i>
<i>γ-CD</i>	<i>P0</i>	1✓	3✓	4✓	4✓	4✓	5✓
	<i>P1</i>	2✓	3✓	4✓	4✓	5✓	5✓
	<i>P2</i>	2✓	3✓	4✓	4✓	5✓	5✓
	<i>P4</i>	2✓	3✓	4✓	4✓	5✓	5✓
	<i>P0</i>	2✓	4✓	4✓	3✓	5✓	5✓
<i>HP-β-CD</i>	<i>P1</i>	3✓	4✓	5✓	4✓	5✓	5✓
	<i>P2</i>	3✓	4✓	5✓	4✓	5✓	5✓
	<i>P4</i>	3✓	4✓	5✓	4✓	5✓	5✓

Valores relativos de interpretación de la interacción PZQ-CD asignando arbitrariamente el valor de 1 a la MF en relación molar 1:1 en cada CD y no necesariamente significa mínima o máxima complejación.

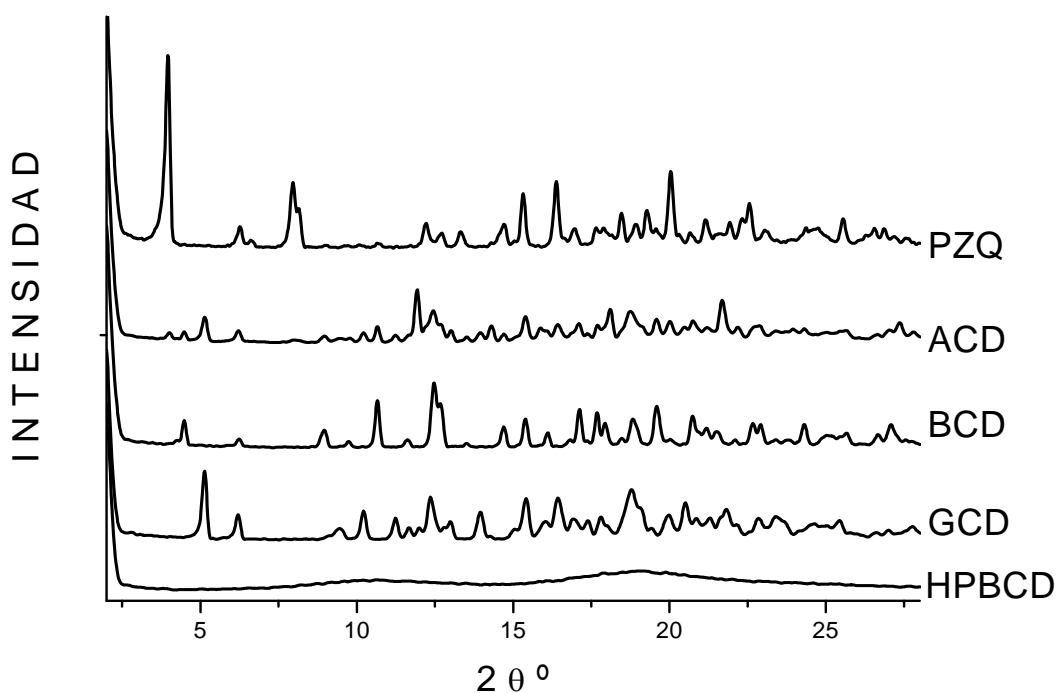
5.3 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

En la Gráfica 21 se compara el comportamiento cristalino del PZQ y las CDs. Se observa que el PZQ presenta un estado cristalino y los picos de mayor intensidad se presentan a 3.96° , 7.96° y 20.04° . Las ciclodextrinas por su parte también muestran diferente comportamiento; la γ -CD muestra picos definidos que indican un estado cristalino, la HP- β -CD presenta picos no muy bien definidos por lo que se muestra como un sistema amorfo.

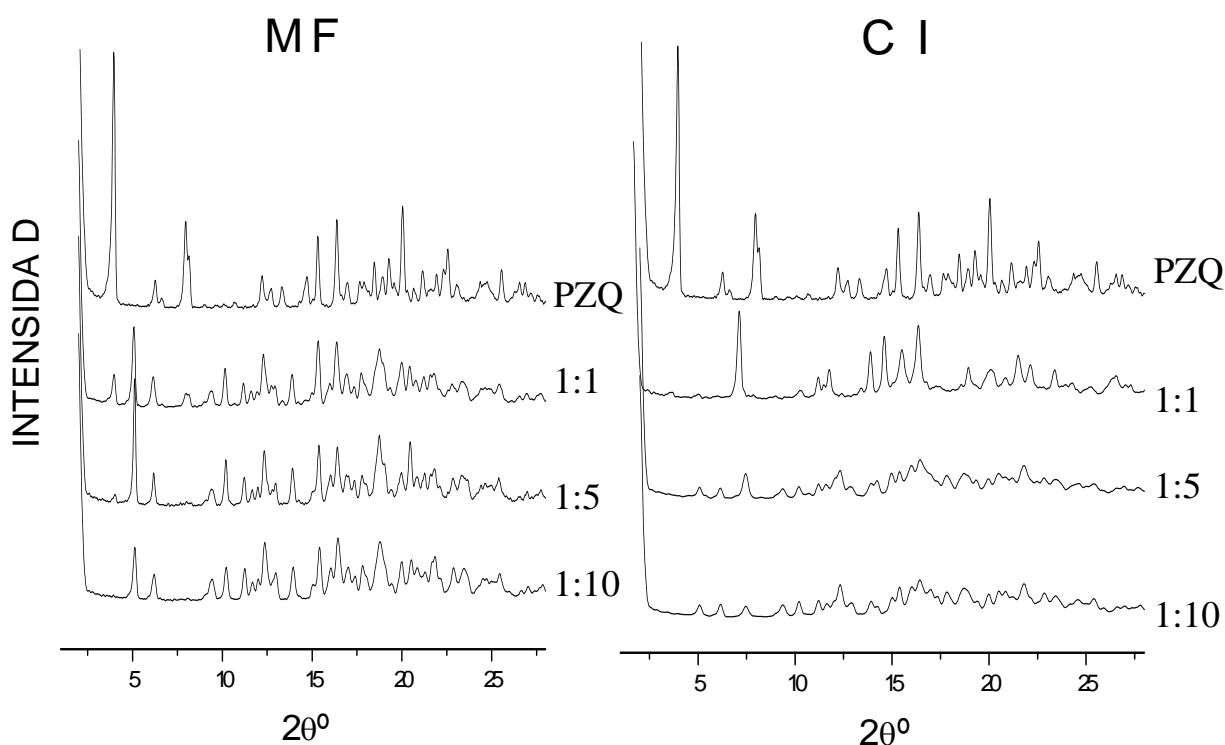
5.3.1 Caracterización y efecto de la relación molar

Sistemas PZQ- γ -CD y PZQ HP- β -CD

La Gráfica 22 muestra las MF y los CI del sistema PZQ- γ -CD en la relación molar 1:1, 1:5 y 1:10 respectivamente en las condiciones normales de trabajo.. Cuando se compara la MF y el CI en la relación 1:1 vemos que en la MF mantiene las bandas de 3.98° y 7.98° , mientras que el CI solo está presente la banda de 3.98° aunque casi desaparece. Cuando comparamos la relación 1:5 se observa que en la MF la primer banda se desplaza a 4.02° y las que se encontraban a 7.98° y 20.09° se pierden, en el caso de los CI la banda que se encontraba a 7.98° ahora aparece 7.46° y las demás bandas características desaparecen por completo.



Gráfica 21. Difractogramas del praziquantel y las CD'S. Praziquantel (PZQ), α -CD (ACD), β -CD (BCD), γ -CD (GCD) HP- β -CD (HPBCD).



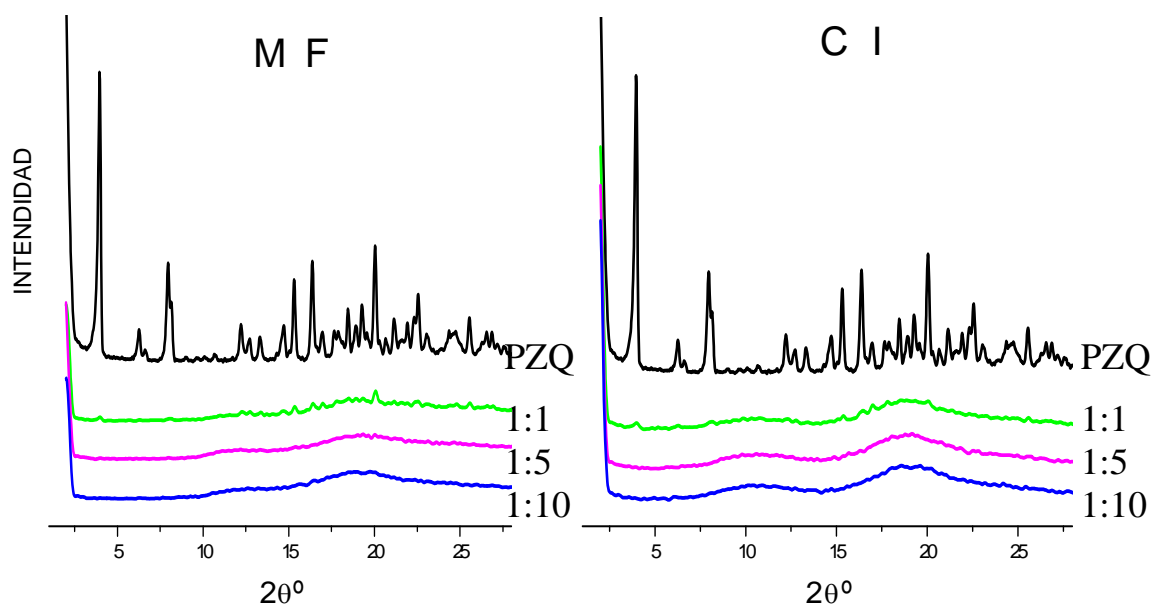
Gráfica 22. Difractogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y γ -CD en diferentes relaciones molares (1:1, 1:5 y 1:10) a la presión normal de trabajo (P0).

En la relación 1:10 desaparecen éstas bandas tanto en la MF como en el CI. Este comportamiento nos indica que el amasado de PZQ- γ -CD llega a formar una dispersión sólida, o bien, un complejo de inclusión puesto que el grado de cristalinidad se modifica cuando se forman los complejos de inclusión. Además las mezclas físicas muestran diferencias significativas con respecto a los difractogramas del PZQ y de la γ -CD, ya que el patrón de difracción de las bandas características de ambas moléculas cambia de intensidad de manera significativa, sin embargo, no se puede hablar de la formación de un auténtico complejo de inclusión ya que los demás picos no varían considerablemente, es decir, la muestra no se torna más amorfa, lo cual sería un indicativo de que se diera la inclusión puesto que la MF no favorece la interacción PZQ- γ -CD^{72, 75}. Por el contrario en los CI hay bandas que desaparecen o disminuyen considerablemente, además algunos picos correspondientes a la γ -CD también disminuyen en su intensidad, lo cual indica que hay un cambio en el estado cristalino del sistema, es decir en este caso se torna amorfo^{72, 75}

Estos resultados están en concordancia con los obtenidos en los espectros de IR y los termogramas.

En las mezclas físicas entre PZQ- γ -CD, se observa que los picos del PZQ disminuyen y son desplazados a medida que se aumenta la cantidad de CD, lo cual parece indicar que la interacción se ve favorecida cuando la cantidad de ciclodextrina aumenta¹³⁰. En los complejos de inclusión PZQ- γ -CD la relación molar aunado al amasado provoca la formación de CI entre el PZQ y ésta CD.

En la Gráfica 23 se muestran las MF y los CI entre PZQ-HP- β -CD en la relación molar 1:1, 1:5 y 1:10 respectivamente en las condiciones normales de trabajo. En la relación 1:1 la MF presenta algunas bandas de mínima intensidad del PZQ en 3.98°, 8.02° y 20.09° que indican que la cristalinidad no se ha perdido por completo, mientras que el CI solo muestra la 3.98° y 20.04°. En la MF 1:5 únicamente es perceptible la banda de 3.98° pero casi desaparece por completo, mientras que en el CI desaparecen totalmente. En el caso de la relación 1:10 no se presentan bandas definidas ni en la MF, ni en el CI, por lo que asumimos que se trata de muestras amorfas, posiblemente debido a la complejación del PZQ. Al igual que los resultados presentados en IR y DSC, se observó que la HP- β -CD tiene mejor capacidad de complejación y se favorece con la técnica de amasado, además muestra un patrón característico de un estado amorfo, lo cual, como se ha mencionado anteriormente es un indicio de complejación⁸⁹.



Gráfica 23. Difractogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y HP- β -CD en diferentes relaciones molares (1:1, 1:5 y 1:10) a la presión normal de trabajo (P0).

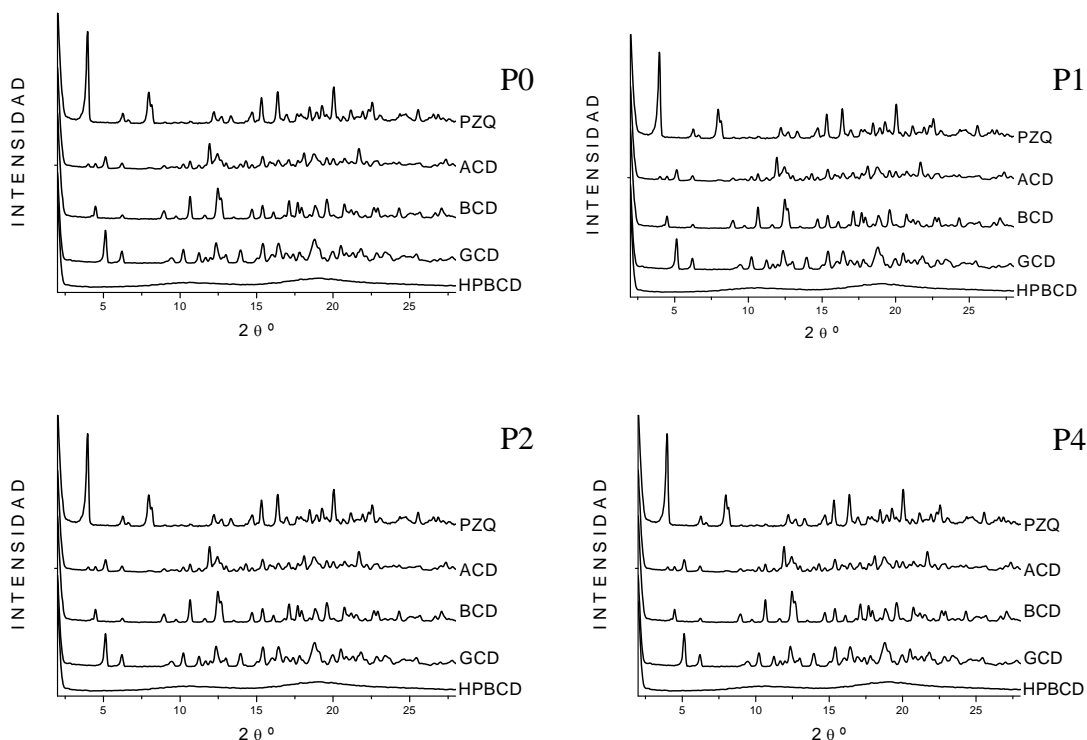
Cuando comparamos la influencia de la relación molar se observa también en las MF que a medida que aumenta la relación molar los picos del PZQ aún presentes van disminuyendo hasta desaparecer. Los resultados obtenidos con los CI muestran que las bandas presentes en la relación 1:1, desaparecen cuando aumenta la cantidad de HP- β -CD.

5.3.2 Efecto de la fuerza de compresión

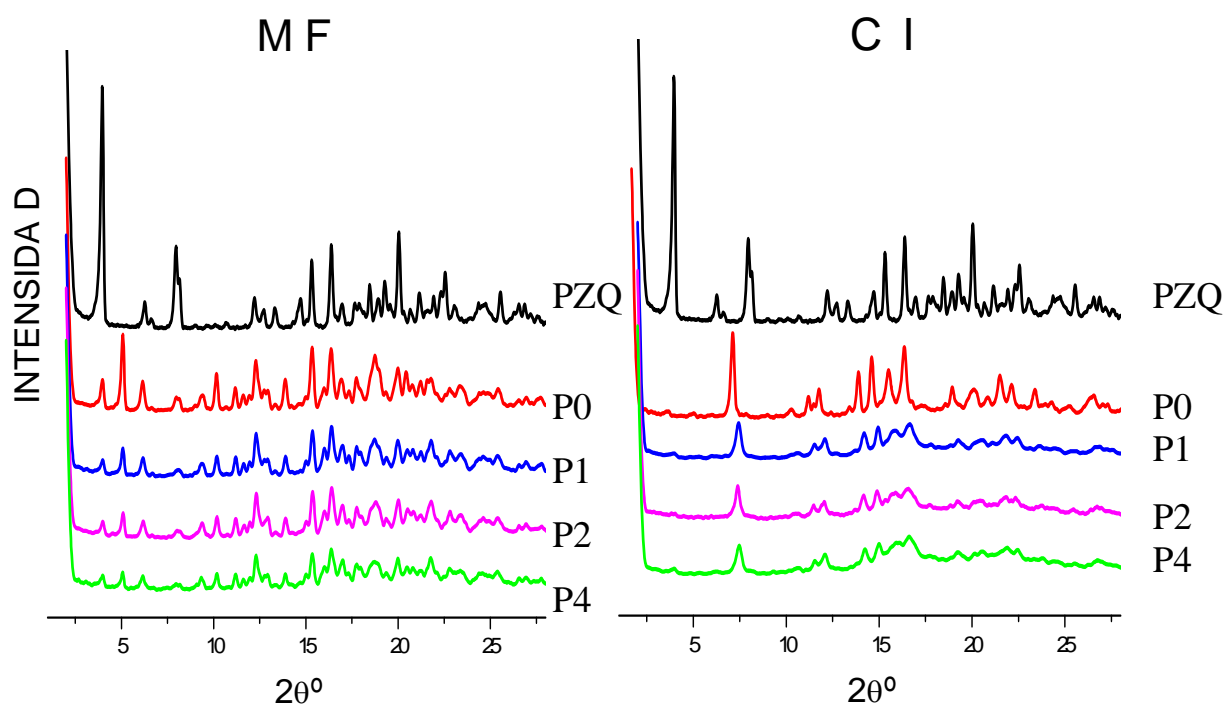
Por lo que respecta a la influencia de la compresión sobre el PZQ y las CD's la Gráfica 24 demuestra que no se altera en lo absoluto cada uno de los materiales, es decir, la aplicación de la fuerza de compresión no modifica el carácter cristalino de éstas moléculas ya que el patrón de bandas presentado permanece sin cambio alguno.

Sistemas PZQ- γ -CD y PZQ-HP- β -CD

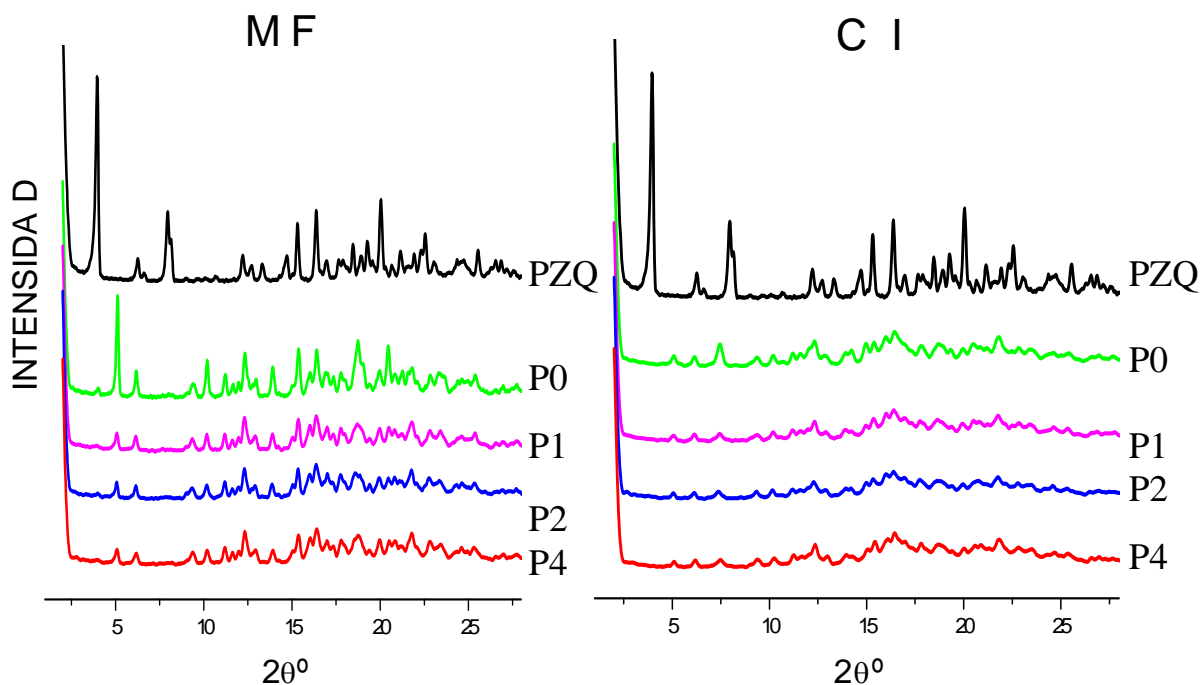
Las Gráficas 25-30 demuestran el efecto que resulta de aplicar la fuerza de compresión sobre las mezclas físicas y los complejos de inclusión en los sistemas PZQ- γ -CD y PZQ-HP- β -CD. En las muestras PZQ- γ -CD (Gráficas 25-27) se observó de manera general que la aplicación de la presión provoca un estado más amorfo, tanto



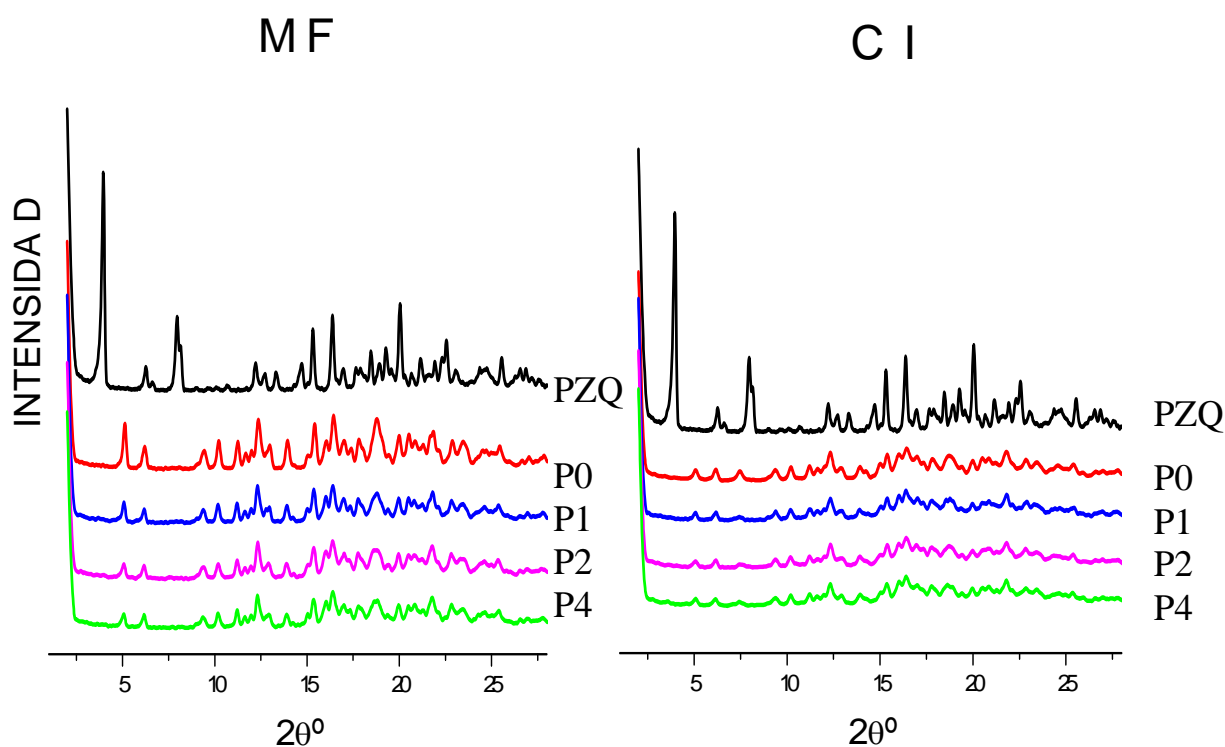
Gráfica 24. Difractogramas del praziquantel y las CD's a diferentes presiones. Condiciones normales (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4). Praziquantel (PZQ), α -CD (ACD), β -CD (BCD), γ -CD (GCD) HP- β -CD (HPBCD).



Gráfica 25. Difractogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y γ -CD en diferentes presiones en la relación molar 1:1. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)



Gráfica 26. Difractograma de las MF's y los CI entre praziquantel y γ -CD en diferentes presiones en la relación molar 1:5. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)



Gráfica 27. Difractogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y γ -CD en diferentes presiones en la relación molar 1:10. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4)

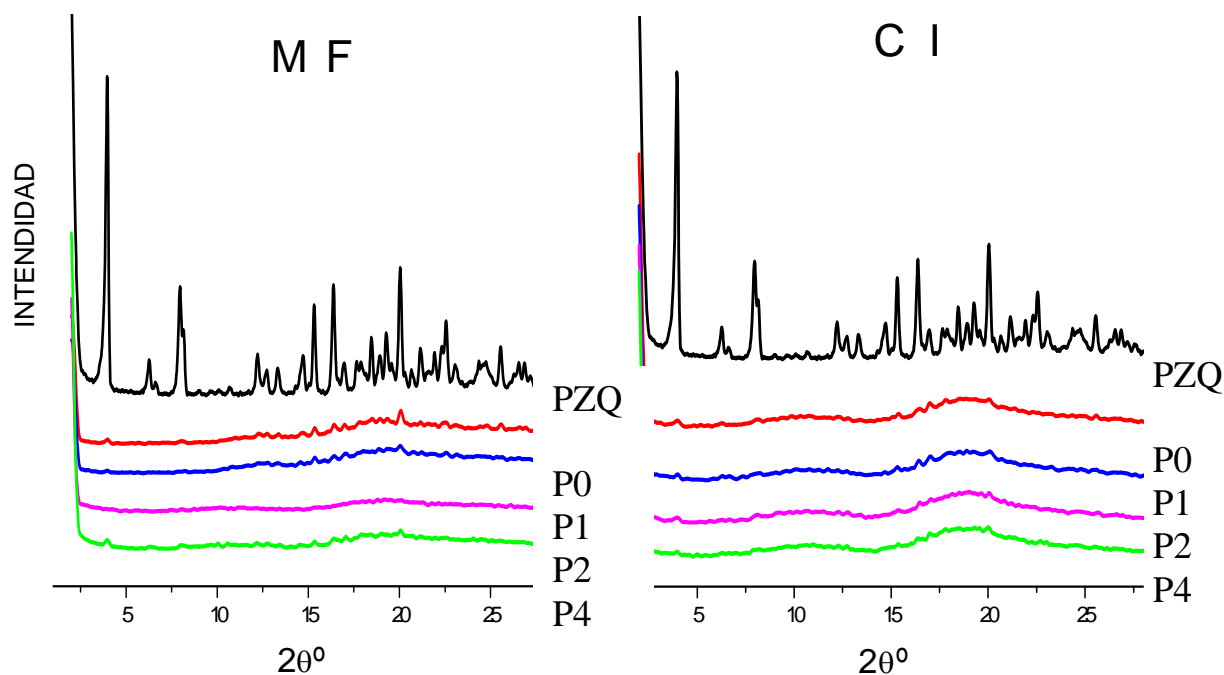
en la mezcla física como en el complejo de inclusión, es decir, al igual que los resultados mostrados con las dos técnicas anteriores, el comportamiento que encontramos fue que al aplicar la compresión hay un cambio en la interacción PZQ- γ -CD y éste se da a partir de 1Ton/fza y se mantiene constante o no se ve afectado por un valor más grande de compresión probablemente debido a que se ha alcanzado el máximo de complejación. En las MF a diferentes relaciones molares las bandas disminuyen la intensidad después de aplicar la compresión de 1Ton y no se modifica al aplicar un valor más elevado; lo que supondría que la interacción resultante es similar a la del complejo de inclusión en condiciones normales, por otra parte uno de los factores que influyen en la formación de complejos de inclusión es el método y en la mezcla física no se favorece la interacción, por lo que en este caso la influencia de la presión estaría aportando las condiciones para llevar a cabo la interacción, al menos igual que la que resulta de aplicar el método de amasado. En los CI este mismo comportamiento se puede ver posterior a la aplicación de la compresión de 1Ton y no se modifica al aplicar un valor más alto. Lo anterior sugiere

que no es necesario aplicar una presión muy alta para modificar la interacción que se está dando.

Finalmente fue evidente que en todos los casos el CI mantiene un estado más amorfo que las respectivas MF puesto que la compresión induce la interacción entre ambas moléculas no importando si ya habían sido tratadas anteriormente, aunque si bien, dependiendo del tratamiento previo, el efecto puede llegar a ser diferente. Es posible que en el CI ya se hubiera conseguido casi el máximo efecto por el amasado previo, siendo por tal motivo la MF donde se observa mayor efecto debido a la fuerza de compresión.

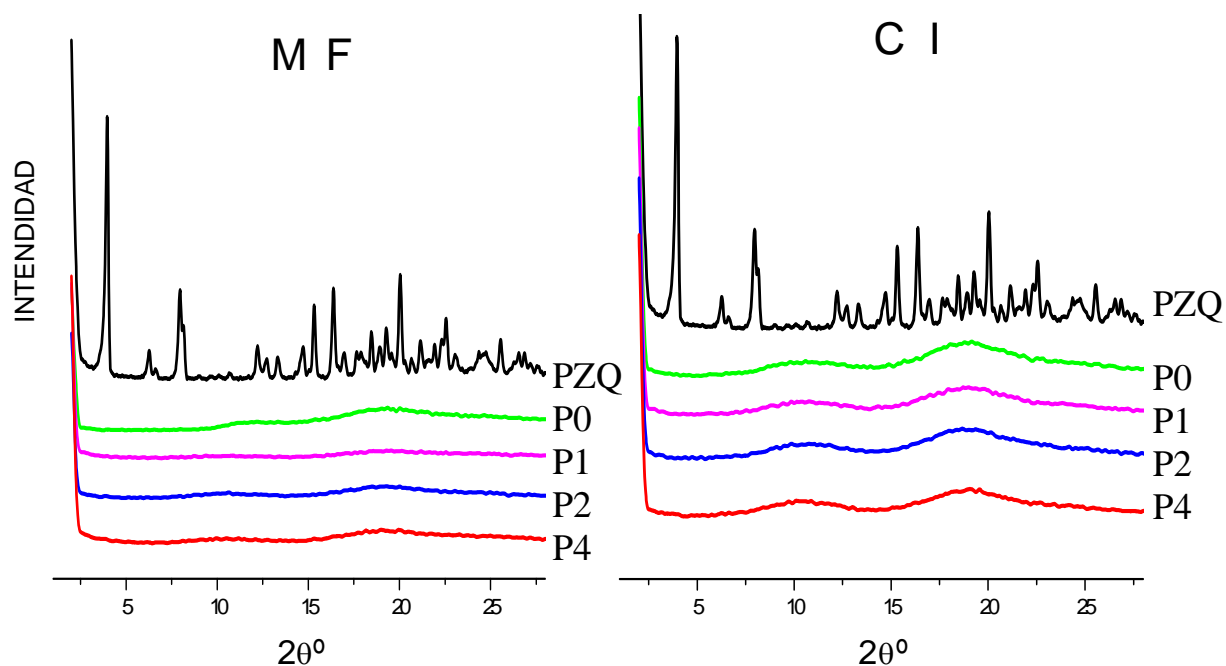
Con respecto a la influencia de la relación molar después de aplicar presión, los resultados en las MF fueron semejantes a aquellos que se obtuvieron sin aplicar presión alguna. En el caso de los CI las tendencias son las mismas., sin embargo a medida que aumenta la compresión, el estado amorfo cambia gradualmente llegando inclusive a ser mínima la diferencia en cuanto a la cristalinidad entre las MF lo cual indicaría que hay un límite en la interacción F-CD por influencia de la compresión.

Por otra parte el comportamiento que encontramos en los sistemas PZQ-HP- β -CD en la relación 1:1 se observó en la MF que la banda principal disminuye después de la aplicación de la mínima fuerza de compresión y no se altera con un valor más elevado, mientras que en los CI no parece haber cambio alguno.

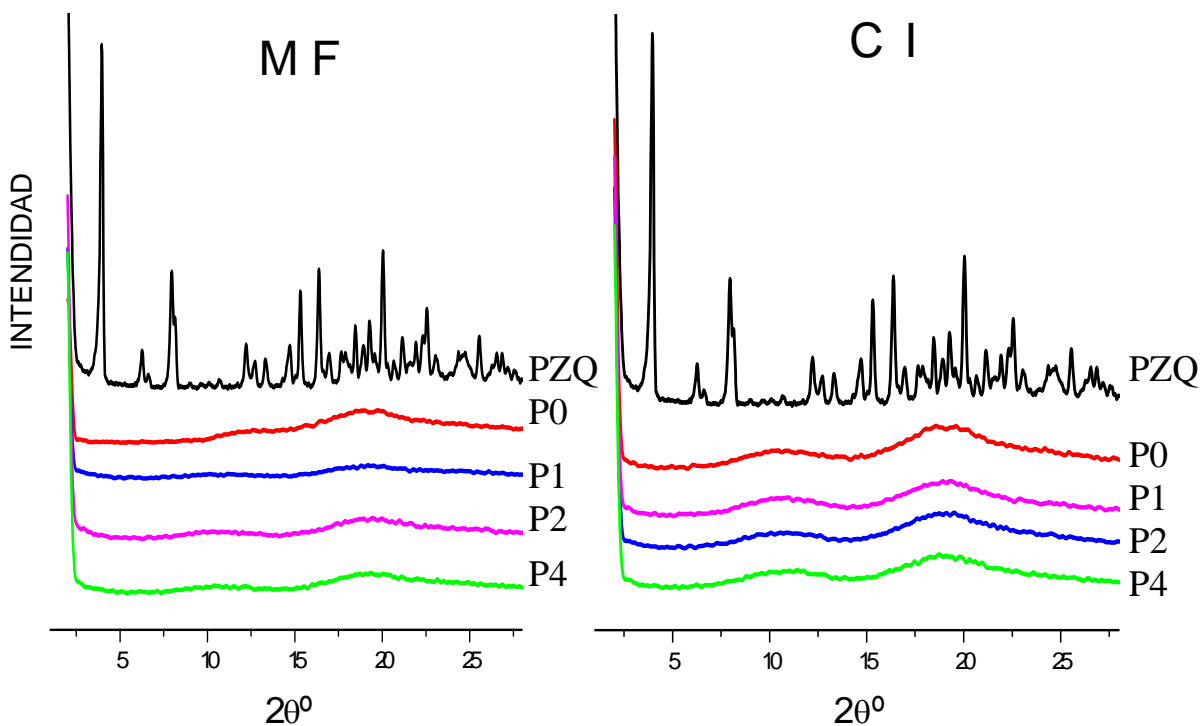


Gráfica 28. Difractogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y HP- β -CD en diferentes presiones en

la relación molar 1:1. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4).



Gráfica 29. Difractogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y HP-β-CD en diferentes presiones en la relación molar 1:5. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4).



Gráfica 30. Difractogramas de las MF's y los CI entre praziquantel y HP-β-CD en diferentes presiones en la relación molar 1:10. Praziquantel (PZQ), presión normal de trabajo (P0), 1Ton (P1), 2Ton (P2) y 4Ton (P4).

En el caso de las relaciones 1:5 y 1:10 en las MF desaparecen las bandas características después de aplicar la compresión de 1Ton, mientras que en los CI la interacción provocada por el amasado inicial no parece ser modificada por efecto de compresión alguna, lo cuál una vez más indica que la HP- β -CD encapsula eficientemente a la molécula de PZQ a partir del amasado inicial.

Cuando se examina cómo varía el comportamiento por efecto de las relaciones molares en los sistemas PZQ-HP- β -CD después de aplicar las fuerzas de compresión se observó que no hay variación considerable entre cada una de ellas ya sea en la MF o el CI, es decir, se observa que la relación molar no influye en el estado amorfo del sistema, de lo cual se deduce que a una presión constante, mayor o igual a 1 Ton, el efecto de la relación molar no modifica las interacciones de tal manera que se vean más favorecidas puesto que en cada una de ellas se da un equilibrio de igual magnitud.

Finalmente la tabla siguiente resume el efecto de la relación molar y la fuerza de compresión en los sistemas descritos anteriormente.

CD	Técnica	Mezclas físicas (MF)			Complejos de inclusión (CI)		
		<i>Relación molar ciclodextrina-praziquantel</i>					
γ -CD	<i>Presión</i>	<i>1:1</i>	<i>1:5</i>	<i>1:10</i>	<i>1:1</i>	<i>1:5</i>	<i>1:10</i>
	<i>P0</i>	1✓	2✓	3✓	3✓	4✓	5✓
	<i>P1</i>	2✓	3✓	4✓	4✓	5✓	5✓
	<i>P2</i>	2✓	3✓	4✓	4✓	5✓	5✓
	<i>P4</i>	3✓	3✓	4✓	4✓	5✓	5✓
	<i>P0</i>	3✓	4✓	5✓	5✓	5✓	5✓
HP- β -CD	<i>P1</i>	3✓	5✓	5✓	5✓	5✓	5✓
	<i>P2</i>	3✓	5✓	5✓	5✓	5✓	5✓
	<i>P4</i>	3✓	5✓	5✓	5✓	5✓	5✓
	<i>P4</i>	3✓	5✓	5✓	5✓	5✓	5✓

Valores relativos de interpretación de la interacción PZQ-CD asignando arbitrariamente el valor de 1 a la MF en relación molar 1:1 en cada CD y no necesariamente significa mínima o máxima complejación.

5.4 ENSAYOS DE DISOLUCIÓN

En el caso de los comprimidos no hay resultados para las condiciones normales pues obviamente para la formación de un comprimido es necesaria la aplicación de presión. Se comentarán los resultados con α , β , y γ -CD por separado.

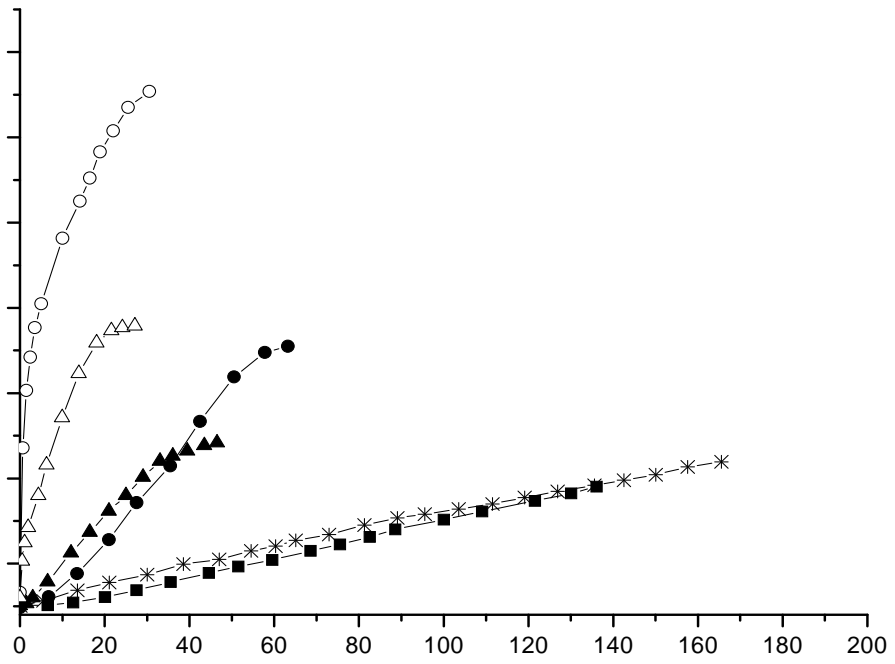
El praziquantel fue comprimido a 1ton y fue tomado como referencia en todos los casos. La disolución del comprimido de PZQ se detuvo después de 3horas ya que la pendiente permaneció sin cambio alguno durante este tiempo.

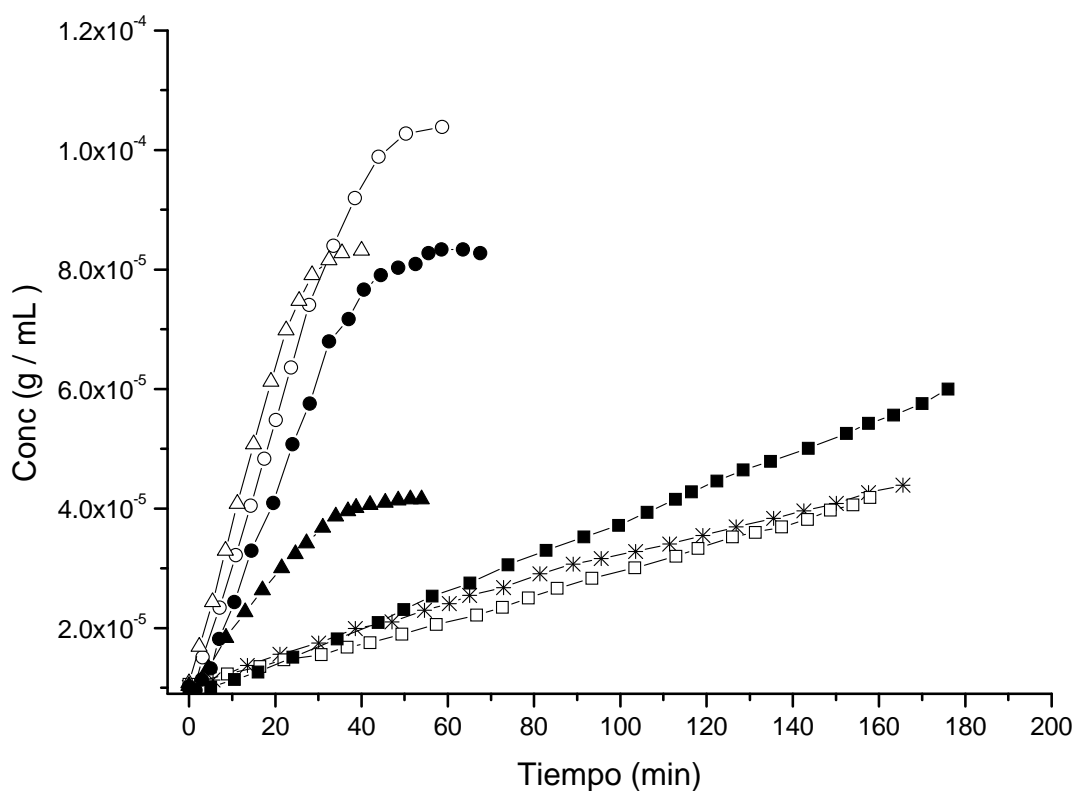
5.4.1 SISTEMAS PZQ- α -CD

Efecto de la relación molar

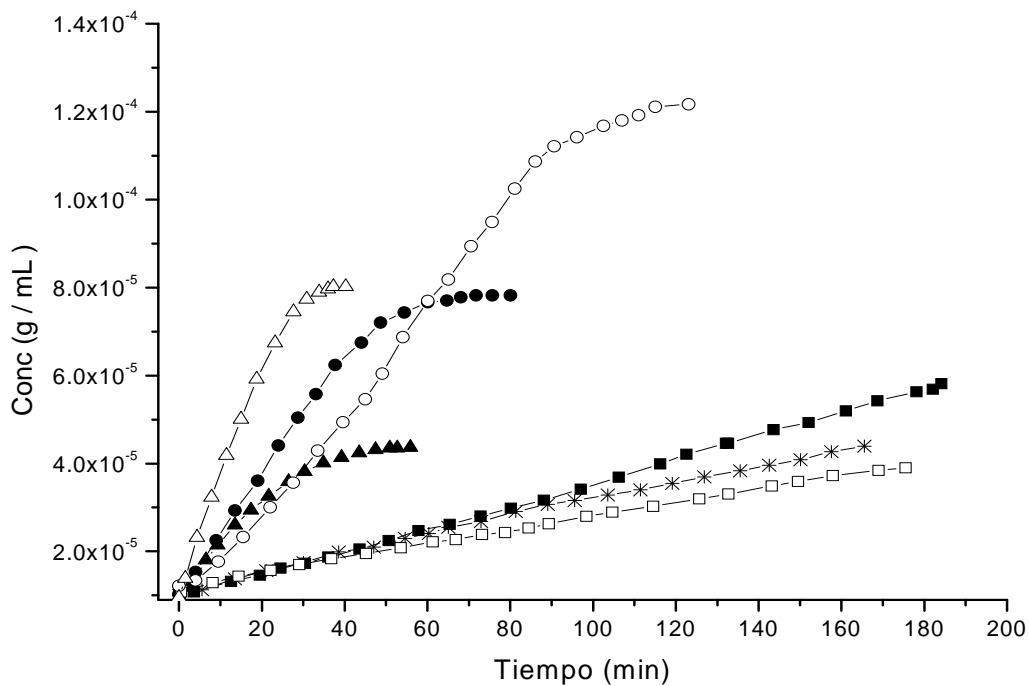
En la Gráfica 31 se muestran los comportamientos de disolución de los sistemas PZQ- α -CD estudiados a la presión de 1Ton. En la relación molar 1:1 se observa que el CI y la MF presentan pendientes semejantes, este comportamiento en la MF y el CI se deben esencialmente a que la complejación del PZQ es escasa y por ello la cinética sigue un comportamiento semejante al que presenta el PZQ solo, al menos en el tiempo de observación. En la relación 1:5 hay una mayor cinética de disolución del PZQ tanto en la MF como en el CI con respecto a la relación 1:1. En la Gráfica 31 se muestra que la cinética del CI es más rápida que la MF, inclusive ésta última presenta mejor disolución

RESULTADOS Y DISCUSIÓN





Gráfica 32. Disolución de las MF y CI entre PZQ y α -CD en diferentes relaciones molares a la presión de 2Ton (P2). PZQ (\times), MF 1:1(■), MF 1:5(●), MF 1:10(▲), CI 1:1(□), CI 1:5(o) y CI 1:10(Δ).



Gráfica 33. Disolución de las MF y CI entre PZQ y α -CD en diferentes relaciones molares a la presión de 4Ton (P4). PZQ (\times), MF 1:1(■), MF 1:5(●), MF 1:10(▲), CI 1:1(□), CI 1:5(o) y CI 1:10(Δ).

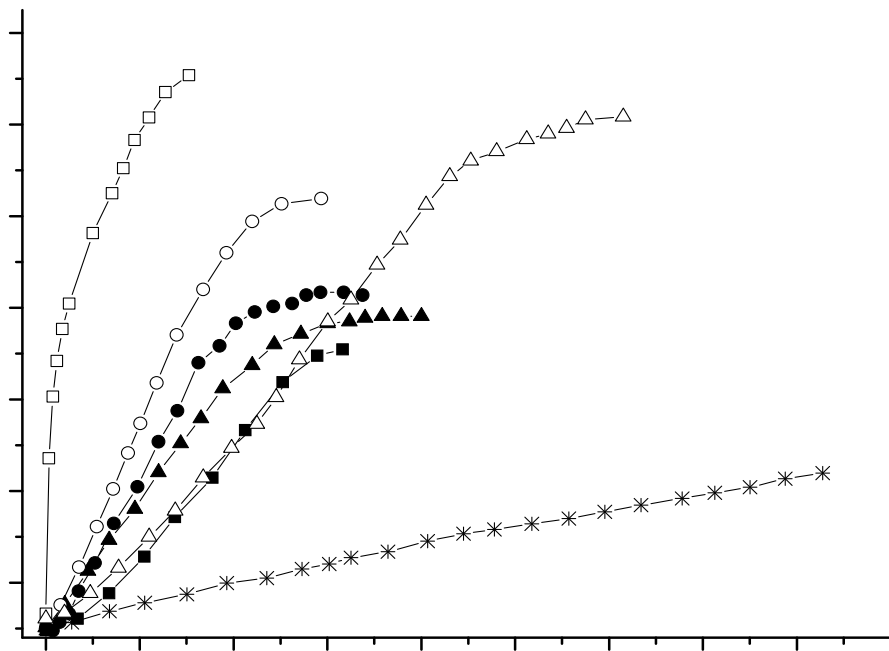
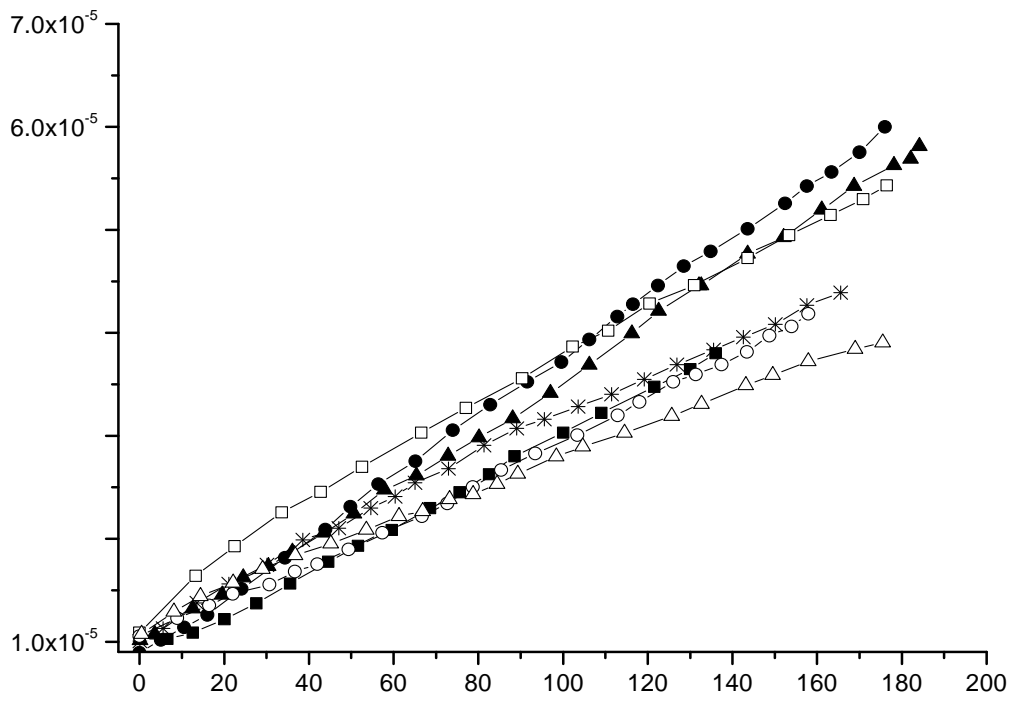
compresión afecta *directamente* la disolución de los comprimidos y en el caso del CI además de modificar las interacciones que provocan la complejación, también hay un aumento en las fuerzas de cohesión de las partículas las cuales son responsables de limitar la disolución del comprimido.

Para el caso de la presión de 4Ton (Gráfica 33) los resultados también son similares a los anteriores. De lo anterior se puede suponer que el arreglo molecular en las MF es diferente que en los CI puesto que las diferencias en la disolución indican que la entidad que está siendo solvatada es diferente, además el efecto de la fuerza de compresión provoca cambios distintos en ambos sistemas, MF o CI, los cuales pueden ser debidos a tal acomodo.

Efecto de la compresión

Cuando se comparan las disoluciones en la misma relación molar al aplicar diferentes presiones se observa, tanto en las mezclas físicas como en los complejos de inclusión, en la relación 1:1 (Gráfica 34) no hay evidencia estadística que nos indique una correlación entre la fuerza de compresión con la velocidad de disolución, inclusive parece no afectar en las cinéticas pues todas ellas son semejantes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

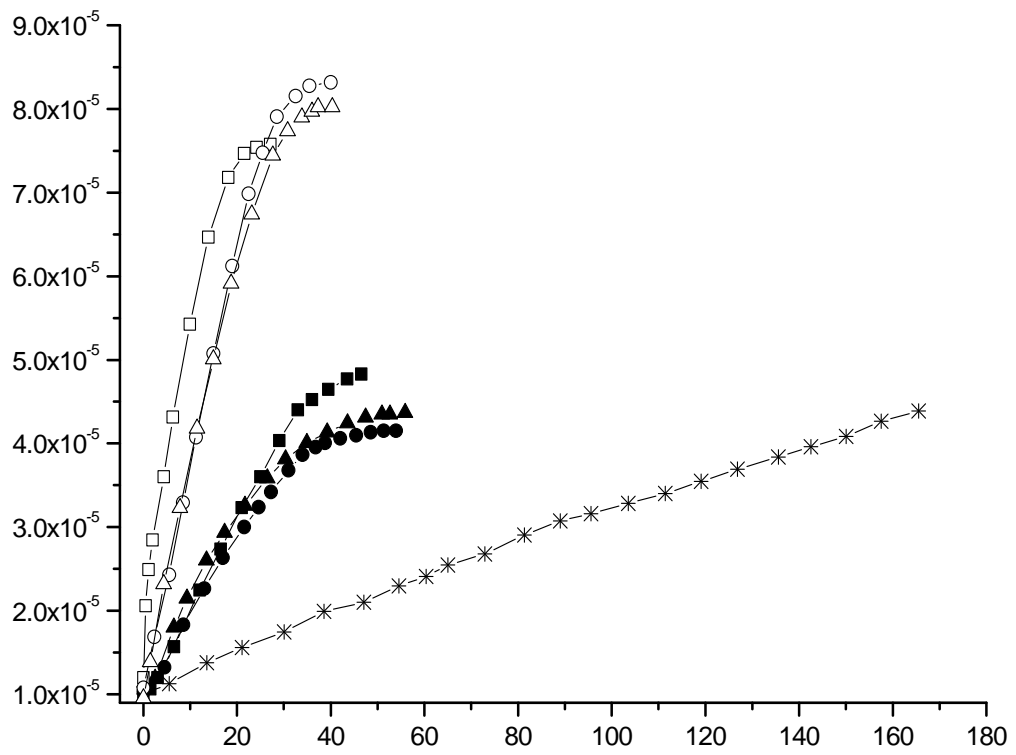


Por otro lado en la relación 1:5 (Gráfica 35) la compresión sí afecta el perfil de disolución. En las MF la aplicación de P2 favorece la complejación mejorando con ello la disolución, sin embargo al aplicar P4 aunque se mejorase la complejación la presión limita la disolución. En los CI la presión disminuye la velocidad de disolución presentándose la tendencia $P1 > P2 > P4$, lo cual sugiere que en estos sistemas resultantes del amasado la fuerza de compresión aumenta la cohesión entre las partículas y por tanto la velocidad de disolución se ve limitada.

En lo que se refiere a la relación 1:10 la Gráfica 36 muestran los perfiles que se obtuvieron y se observa que en este caso la fuerza de compresión no afecta de manera significativa la velocidad de disolución.

En este caso la relación molar es el principal factor en el comportamiento de disolución, lo cual indicaría que en estas condiciones la fuerza de compresión no afecta el equilibrio formado previamente.

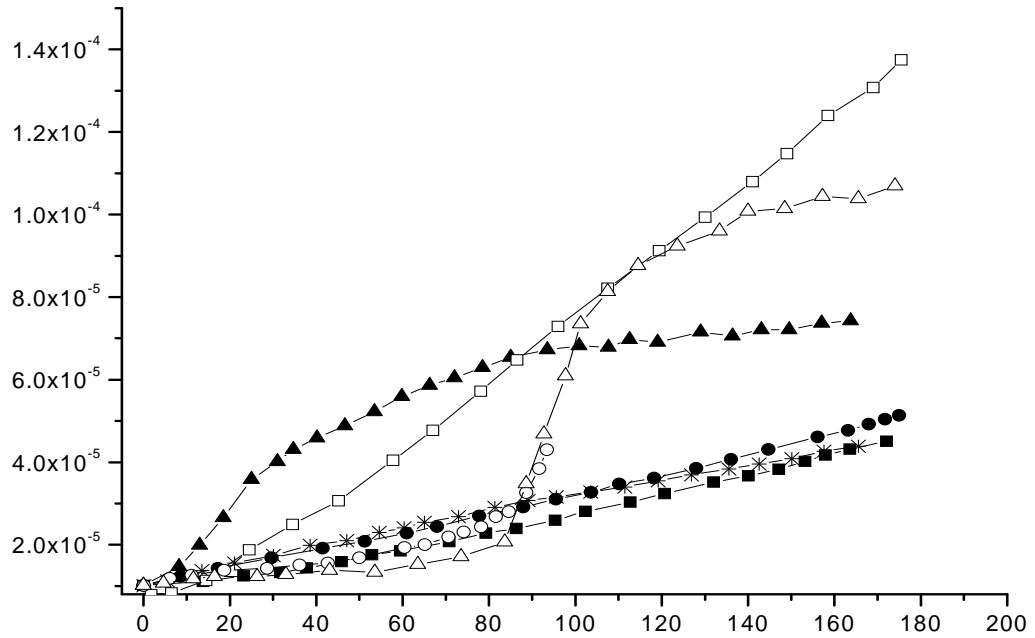
Finalmente los resultados que se han mostrado indican que lo más viable para emplear el método de amasado en la interacción PZQ- α -CD es la relación 1:5 o 1:10 aplicando una presión de 1Ton.



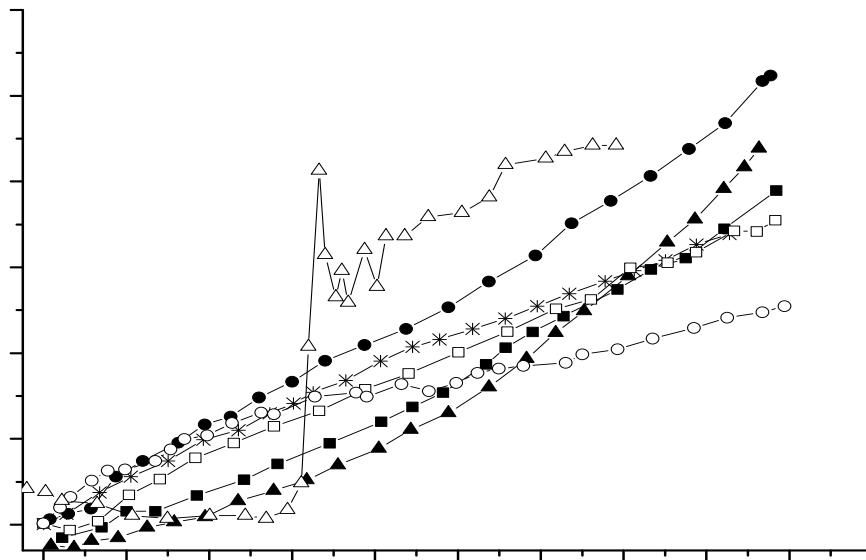
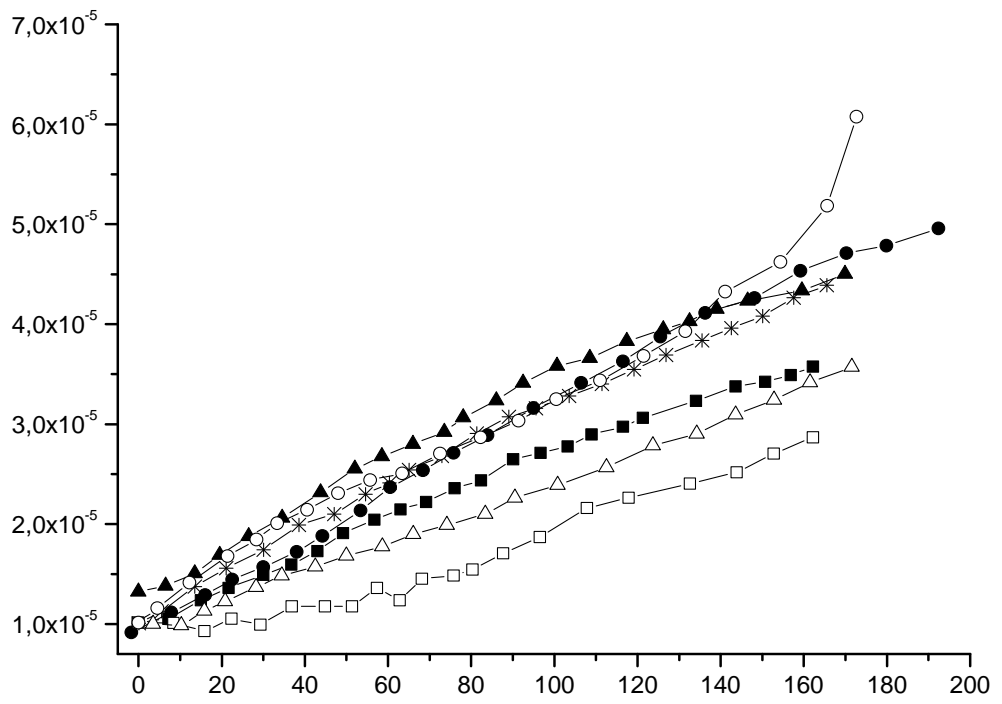
β

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

efecto “burst” y al cabo de media hora hay una disminución de la velocidad de disolución, mientras que en el CI se observa el mismo comportamiento que la relación 1:5.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

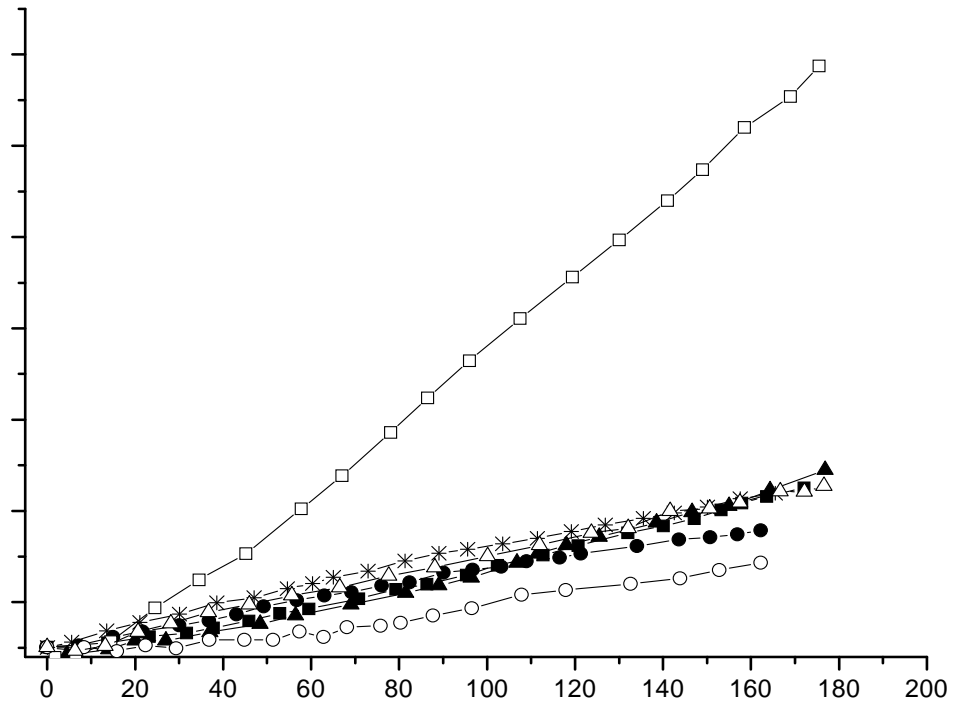


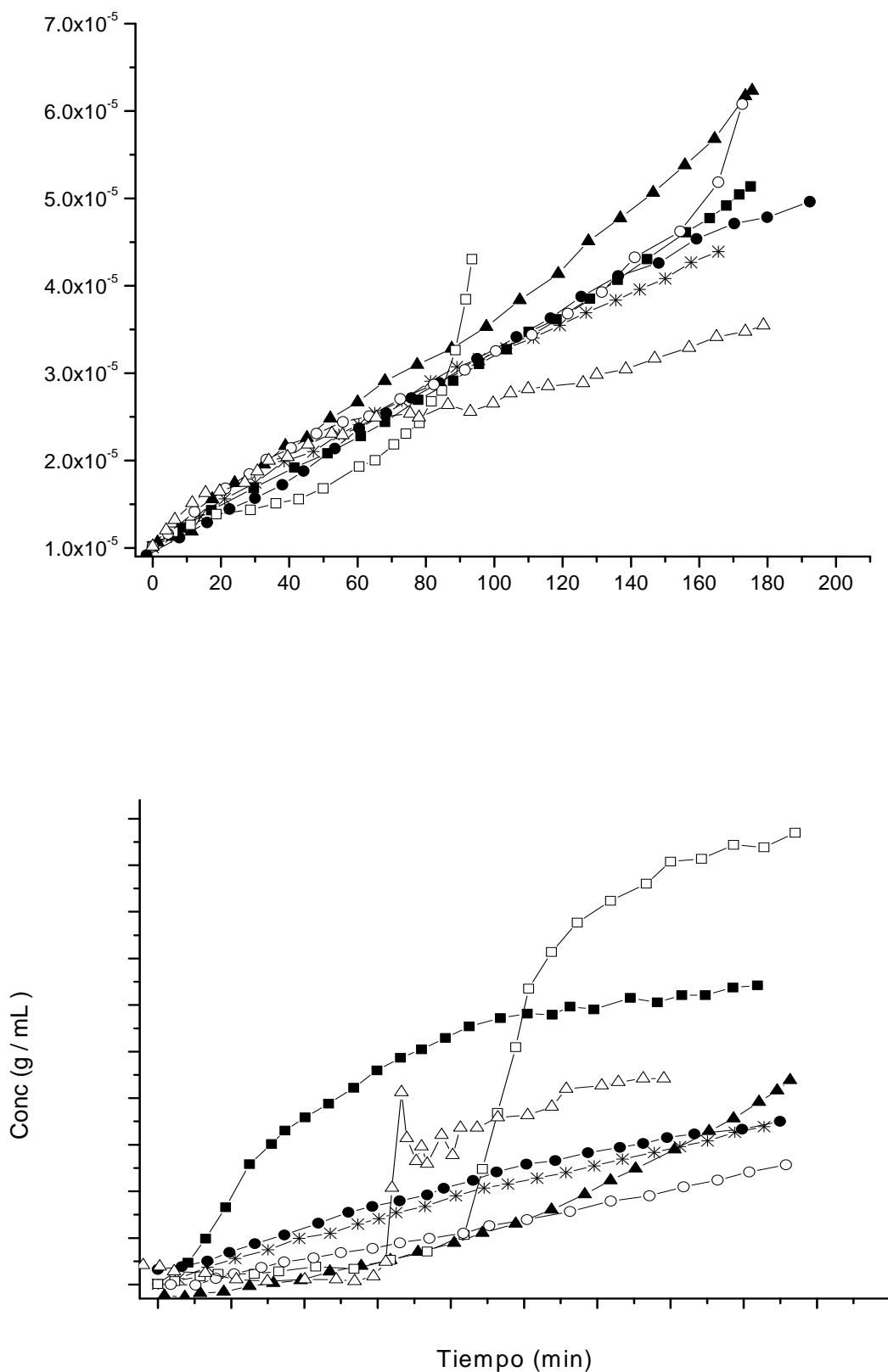
Efecto de la presión

Cuando se compara las disoluciones en la misma relación molar al aplicar diferentes presiones vemos que en las mezclas físicas en la relación 1:1 (Gráfica 40) no hay cambios. Para el caso de los complejos de inclusión se muestra que cuando aumenta la presión disminuye la velocidad de disolución, lo cual sugiere que en estos sistemas resultantes del amasado la fuerza de compresión aumenta la cohesión entre las partículas. Por otro lado en la relación 1:5 (Gráfica 41) la compresión también afecta los perfiles de disolución de manera semejante al caso anterior. Sin embargo en los CI el tiempo de humectación aumenta al incrementar la fuerza de compresión, lo cual apoyaría lo mostrado por técnica anteriores donde se indicó que a mayor presión mayor complejación. Sin embargo posteriormente el comportamiento se asemeja a las MF (indica que las fuerzas de cohesión gobiernan el proceso).

En lo que se refiere a la relación 1:10 la Gráfica 42 muestra los perfiles que se obtuvieron al aplicar diferentes presiones. En las MF sí se observa que al aplicar presión la velocidad de disolución disminuye. En los CI se observaron tiempos de latencia el cual fue mayor después de aplicar la fuerza de 1ton.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN





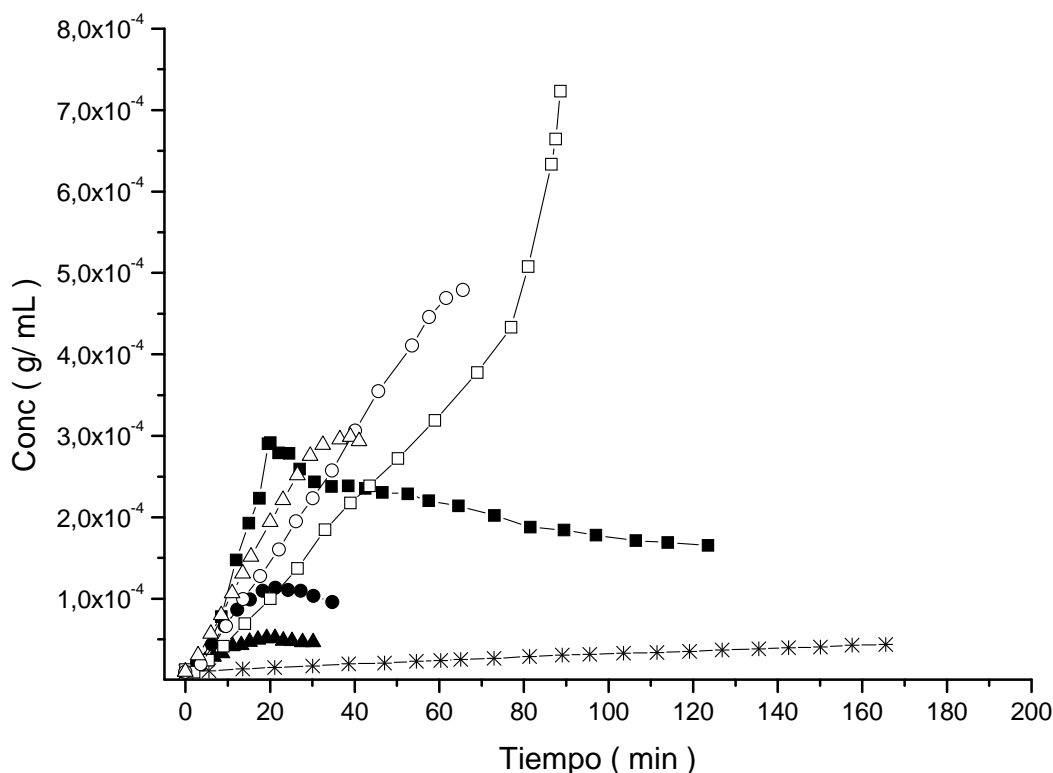
Gráfica 42. Disolución de las MF y CI entre PZQ y β -CD en la relación molar 1:10 a diferentes presiones. PZQ (x), MF P1(■), MF P2(●), MF P4(▲), CI P1(□), CI P2(o) y CI P4(Δ).

Finalmente los resultados que se han mostrado indican que lo más viable para emplear el método de amasado en la interacción PZQ- β -CD es la relación 1:1 aplicando una presión de 1Ton.

5.4.3 SISTEMAS PZQ- γ -CD

Efecto de la relación molar

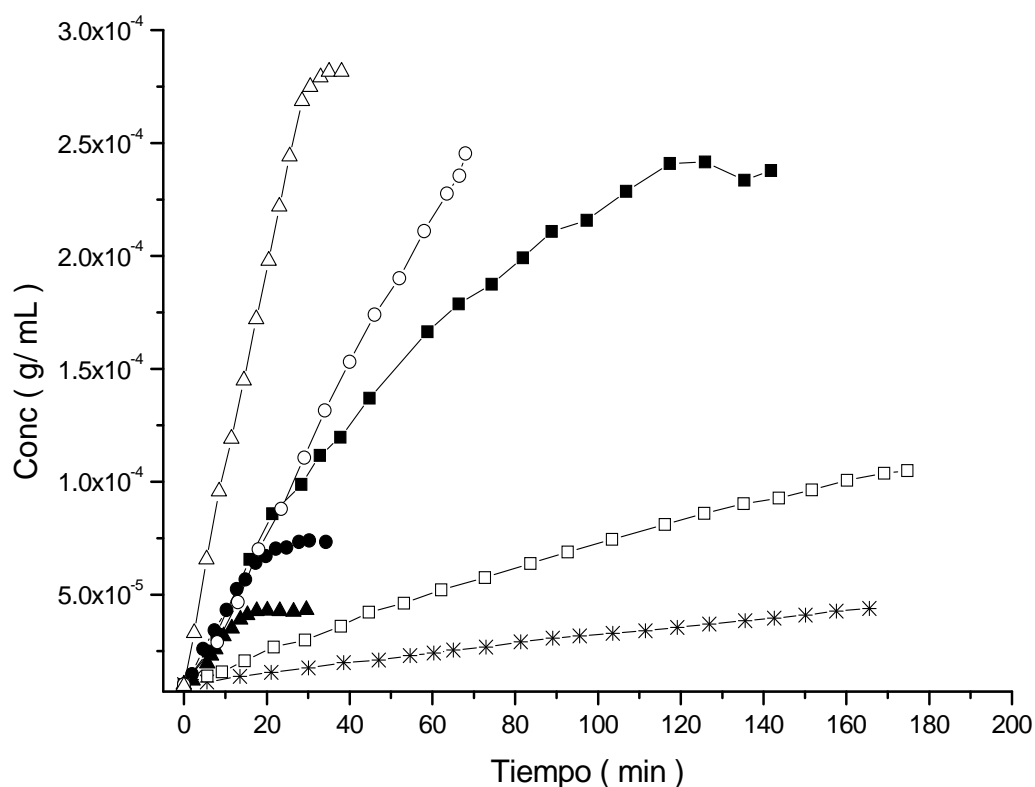
La Gráfica 43 presenta los resultados de los sistemas PZQ- γ -CD en la presión de 1ton. Se observa que el perfil de disolución del PZQ solo es menor que cualquiera de las MF o CI. En la relación 1:1 se observa que en la MF hay una rápida disolución lo que provoca que al inicio el perfil sea mas rápido que el CI. Este comportamiento en la MF se puede deber a que la γ -CD actúa como desintegrador y el área superficial aumenta y en consecuencia las partículas entran en contacto con el medio de favoreciendo la disolución, mientras que en el CI hay una disolución de la γ -CD y el PZQ en conjunto, es decir como una sola entidad lo cual nos dice que hay la formación de CI entre estas dos moléculas y por ende se alcanza una mayor solubilidad en menor tiempo. Por otra parte, en las relaciones 1:5 y 1:10 la solubilidad alcanzada en el CI es más elevada que la MF, en cuanto a la constante de velocidad pareciera que ambos casos tienen la misma pendiente sin embargo con el paso del tiempo la pendiente de la MF decae. Este comportamiento aunado a la caracterización antes discutida nos indica que mediante el método de amasado se favorece la interacción PZQ- γ -CD de tal manera que se incluye



Gráfica 43. Disolución de las MF y CI entre PZQ y γ -CD en diferentes relaciones molares a la presión de 1Ton (P1). PZQ (\times), MF 1:1 (\blacksquare), MF 1:5 (\bullet), MF 1:10 (\blacktriangle), CI 1:1 (\square), CI 1:5 (\circ) y CI 1:10 (\triangle).

una parte hidrofóbica del PZQ y por tanto al llevarse a cabo la disolución se favorece su incorporación en el medio. Cuando comparamos las MF entre sí se observa que en todas las relaciones molares estudiadas se obtuvo una disolución más efectiva que el PZQ per se, sin embargo a medida que aumenta la relación molar, la velocidad de disolución no parece modificarse. La misma tendencia se observó cuando se compara los CI entre sí. En la Gráfica 44 se muestran los comportamientos de disolución de los sistemas PZQ- γ -CD estudiados en la presión de 2Ton. En el caso de la relación molar 1:1 se observa que la MF posee una constante de velocidad superior a la del CI. Este efecto podría deberse a que también la fuerza de compresión afecta *directamente* la disolución de los comprimidos y en el caso del CI además de modificar las interacciones que provocan la complejación, también hay un aumento en las fuerzas de cohesión de las partículas las cuales son responsables de limitar la disolución del comprimido.

Por otra parte, en la relación 1:5 también existe una disolución total del PZQ tanto en la MF como en el CI y en ambos casos fue mucho más rápido que en la relación 1:1 y en este caso las pendientes parecen ser las mismas en el inicio de la disolución, lo cual puede ser debido a que la cantidad de CD presente y la fuerza de compresión



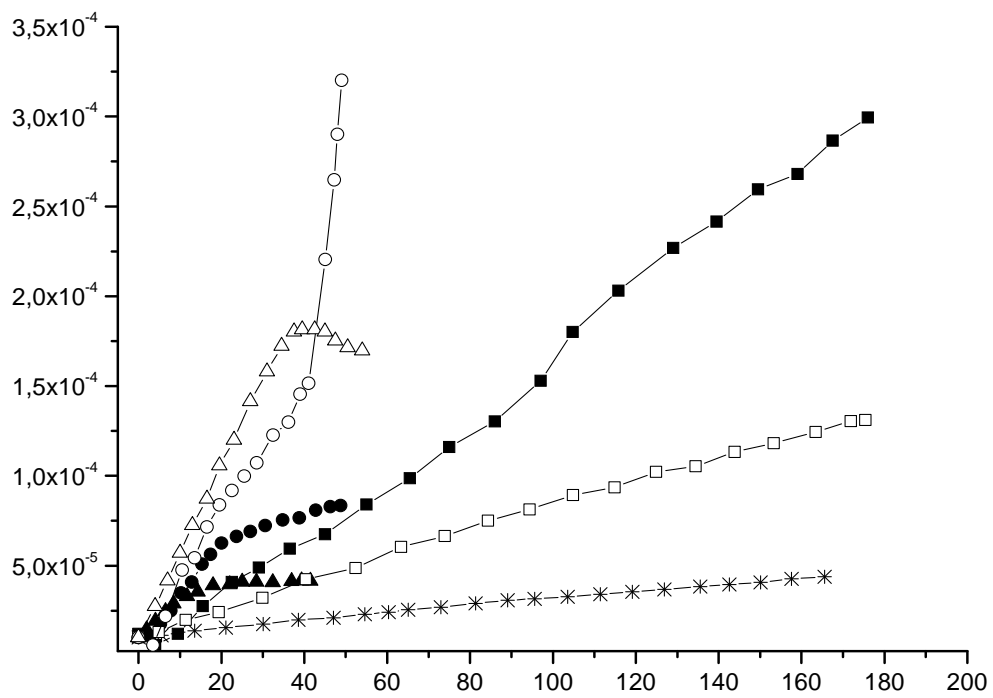
Gráfica 44. Disolución de las MF y CI entre PZQ y γ -CD en diferentes relaciones molares a la presión de 2Ton (P2). PZQ (\times), MF 1:1 (\blacksquare), MF 1:5 (\bullet), MF 1:10 (\blacktriangle), CI 1:1 (\square), CI 1:5 (\circ) y CI 1:10 (Δ). favorecen la complejación en ambos casos. En el caso de la relación 1:10 los resultados también indican que la MF se disuelve más lentamente que el CI, pero más rápido que el PZQ solo y al igual que en el caso anterior la ciclodextrina favorece la disolución del activo, cabe mencionar que en este caso la diferencia de fármaco disuelto entre el CI y la MF llega a ser casi de un orden de magnitud.

Al comparar las mezclas físicas se observa que éstas presentan mejor disolución que el PZQ solo y a medida que aumenta la cantidad de ciclodextrina la pendiente no parece modificarse, más bien hay variaciones en la solubilidad alcanzada, lo cual indicaría que este valor de compresión no afecta significativamente la velocidad de disolución de las MF. En los complejos de inclusión el comportamiento fue contrario a lo observado en la P1, la relación 1:1 tuvo una menor velocidad de disolución que en los demás casos siendo el orden de disolución 1:10 > 1.5 > 1.1. En estas condiciones la cantidad de ciclodextrina si es factor que afecte de manera proporcional a la disolución.

Para el caso de la presión de 4Ton los resultados se muestran en la Gráfica 45. En el caso de la relación molar 1:1 se observa que el CI presenta una pendiente menor a

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

la que se presenta en la MF y esta diferencia es mayor o igual a la que se presenta en la aplicación de la P2.



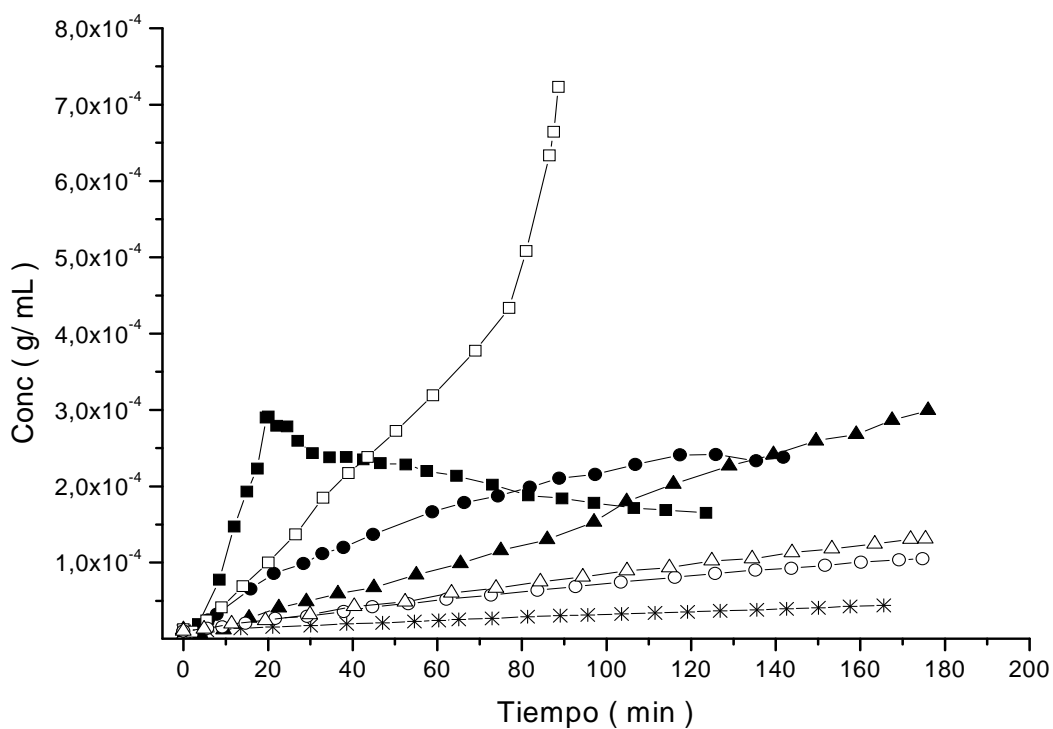
Por su parte en los complejos de inclusión también la relación 1:1 presenta una peor disolución que en la relación molar 1:5 o 1:10, lo que significa que al aumentar la concentración de CD el proceso mejora radicalmente. En esta presión la relación molar sí influye sobre la disolución de los comprimidos.

Efecto de la fuerza de compresión

Por otro lado cuando comparamos las disoluciones en la misma relación molar al aplicar diferentes presiones vemos tanto para las mezclas físicas como para los CI que en la relación 1:1 (Gráfica 46) parece haber una correlación de la fuerza de compresión con la constante de velocidad pues estas son $P1 > P2 > P4$, ya que el aumento en la fuerza de compresión provoca un incremento en la fuerzas de cohesión-adhesión en las partículas que constituyen el comprimido.

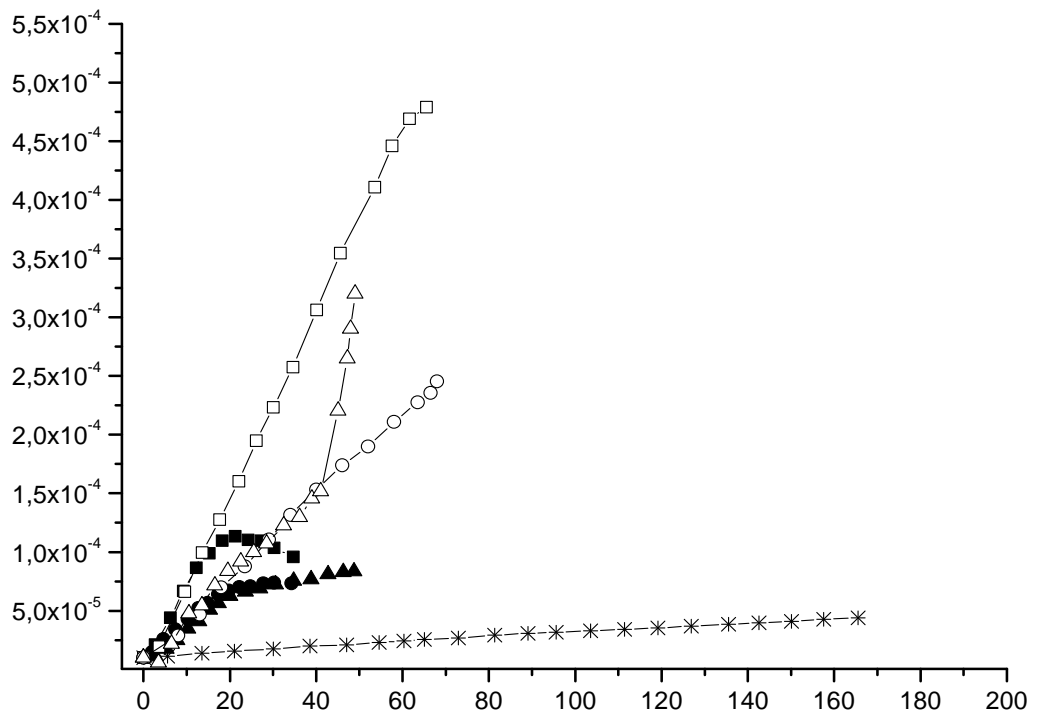
Por lo anterior en los sistemas PZQ- γ -CD en cantidades equimolares la presión de 1Ton es mejor en cuanto a la disolución se refiere, sea MF o CI.

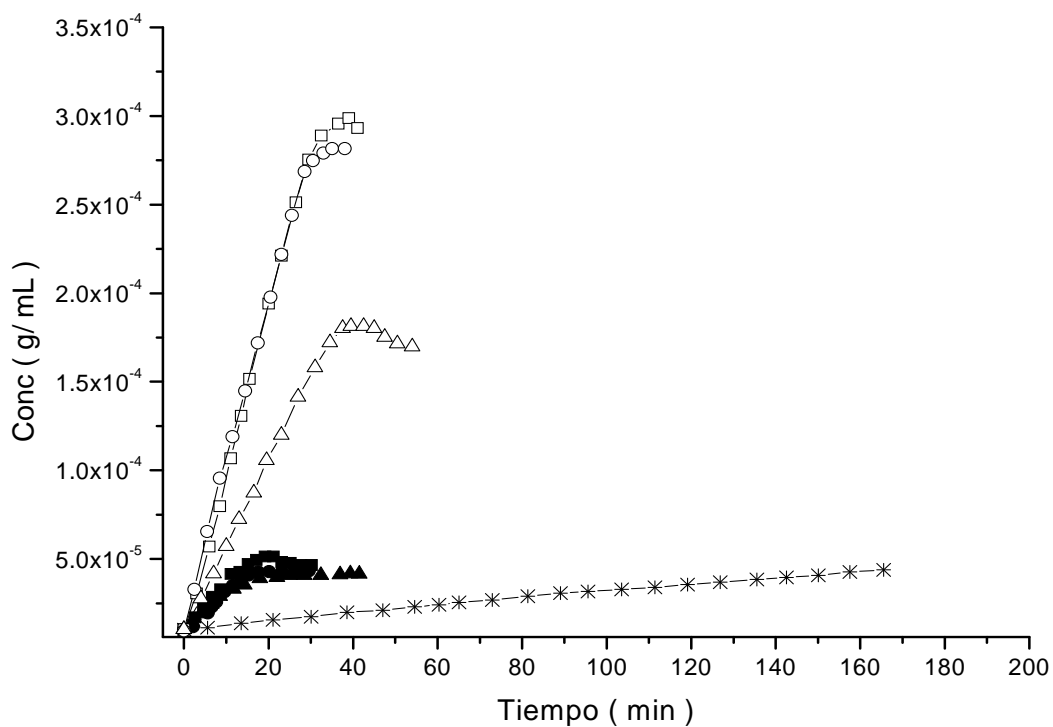
En la relación 1:5 (Gráfica 47) la compresión no parece afectar en gran medida el perfil de disolución pues en este caso las diferencias de una presión con respecto una de otra como en el caso de la MF son poco significativas, sin embargo al igual que en el caso anterior el orden de disolución que se observó en las MF fue $P1 > P2 \approx P4$. En los CI los perfiles difieren poco uno de otro y en este caso todos son mayores al PZQ solo, al igual que la relación anterior al aumentar la presión disminuye la velocidad de



Gráfica 46. Disolución de las MF y CI entre PZQ y γ -CD en la relación molar 1:1 a diferentes presiones. PZQ (x), MF P1(■), MF P2(●), MF P4(▲), CI P1(□), CI P2(o) y CI P4(Δ).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN





Gráfica 48. Disolución de las MF y CI entre PZQ y γ -CD en la relación molar 1:10 a diferentes presiones. PZQ (\times), MF P1(■), MF P2(●), MF P4(▲), CI P1(□), CI P2(o) y CI P4(Δ).

6 CONCLUSIONES

Los resultados mostrados anteriormente indican la importancia de la fuerza de compresión durante la producción de tabletas utilizando ciclodextrinas como aditivos puesto que se puede dar la formación de complejos de inclusión durante el proceso de compresión en la fabricación de tabletas. De esta manera se puede optimizar la complejación realizada previamente por el método de amasado, lo que trae como consecuencia cambiar favorablemente algunas propiedades fisicoquímicas de las moléculas huésped con fines farmacéuticos, en cuyo caso favorecería a los fármacos cuya velocidad de disolución sea una limitante para su absorción, además de mejorar otras características fisicoquímicas y reológicas que ya se mencionaron en los antecedentes de este trabajo.

Por tanto, mediante este trabajo también se puede concluir que:

- La optimización de complejos de inclusión entre ciclodextrinas y praziquantel puede darse como resultado de ejercer una presión dada sobre una mezcla física.
- La fuerza de compresión aplicada sobre los complejos de inclusión realizados por el método de amasado aumenta la eficacia de la complejación.
- La fuerza de compresión representa un mecanismo alternativo para favorecer la formación de complejos de inclusión entre ciclodextrinas y praziquantel.
- En ambos casos a mayor fuerza de compresión, la optimización es mejor, no obstante la relación al parecer no es proporcional.
- La capacidad de complejación por medio de la técnica de amasado es HP- β -CD > γ -CD > β -CD > α -CD, cuando se utiliza praziquantel como molécula huésped.

7 PERSPECTIVAS

El praziquantel es una molécula que presenta características desfavorables como son baja solubilidad, baja velocidad de disolución, mal sabor y poca fluidez, las cuales dificultan su formulación y elaboración en una forma farmacéutica definida, que garantice estabilidad, seguridad y eficacia. Por lo anterior es importante conocer los excipientes adecuados que son parte de la formulación; las Ciclodextrinas, por ejemplo, son excipientes que modifican favorablemente algunas propiedades desventajosas que presentan ciertos fármacos, como pueden ser, baja solubilidad, baja velocidad de disolución, mal sabor y poca fluidez.

Esta tesis ha presentado algunos estudios de caracterización entre ciclodextrinas y praziquantel que han confirmado la inclusión del fármaco, lo cual da la pauta para sugerir el uso de ciclodextrinas para mejorar algunas características que muestra el praziquantel.

- ▲ El praziquantel es un fármaco catalogado como clase II y puede mejorar su cinética de disolución haciendo uso de la ciclodextrinas. Si lo anterior es cierto, el régimen posológico podría ser susceptible de una modificación positiva.
- ▲ Además cabe la posibilidad de disminuir el sabor desagradable cuando se administre una tableta ya que el fármaco es complejado y no interaccionaría directamente con los receptores del sabor
- ▲ Mejora la fluidez de este fármaco, con ello se puede disminuir el porcentaje de excipientes en una formulación sólida, ya sea una cápsula o tableta
- ▲ Por lo antes mencionado es importante continuar recavando información acerca de la interacción entre ciclodextrinas y praziquantel, por lo que se sugiere llevar a cabo otros estudios de disolución, análisis de percolación, microscopía y espectroscopía fotoelectrónica de rayos X para complementar la información aquí presentada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dayan, A.D. Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics. *Acta Tropica* **86**, 141-159 (2003).
2. Hardman, J.G. *Goodman and Gilman Las Bases Farmacológicas de la terapéutica*, Vol. 2, Edn. 10th. (McGrawHill, México D.F.; 2000).
3. Andrews, P. Mechanism of antischistosomal activity. *Pharmacology and Therapeutics*. **29**, 129-156 (1985).
4. Frayha, G.J., Smyth, J.D., Gobert, J.G. & Savel, J. The mechanisms of action of antiprotozoal and anthelmintic drugs in man. *Vascular Pharmacology* **28**, 273-299 (1997).
5. Cioli, D. & Pica-Mattoccia, L. Praziquantel. *Parasitology. Research* **90**, S3-S9 (2003).
6. W.H.O Who Model Formulary. Anti-infective drugs: Anthelmintics. *WHO Drug Information* **16**, 113-156 (2002).
7. Seubert, J., Pohlke, R. & Loebich, F. Synthesis and properties of praziquantel, a novel broad spectrum anthelmintic with excellent activity against Schistosomes and Cestodes. *Experientia* **33**, 1036-1037 (1977).
8. Thomas, H. & Goennert, R. The efficacy of praziquantel against cestodes in animals. *Zeitschrift fur Parasitenkunde* **52**, 117-127 (1977).
9. Piotr Roszkowski, J.K.M.a.Z.C. Enantioselective synthesis of (R)-(-)-praziquantel (PZQ). *Tetrahedron: Asymmetry* **17**, 1415-1419 (2006).
10. Ma, C., Zhang, Q.F., Tan, Y.B. & Wang, L. Total synthesis of (-)-praziquantel: An anthelmintic drug. *Journal of Chemical Research*, 186-187 (2004).
11. Ei-Arini, S.K. & Leuenberger, H. Dissolution properties of praziquantel- β -cyclodextrin systems. *Pharmaceutical Development and Technology* **1**, 307-315 (1996).
12. Meier, H. & Blaschke, G. Investigation of Praziquantel metabolism in isolated rat hepatocytes. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **26**, 409-415 (2001).
13. Schepmann, D. & Blaschke, G. Isolation and identification of 8-hydroxypraziquantel as a metabolite of the antischistosomal drug praziquantel. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **26**, 791-799 (2001).
14. Masimirembwa, C.M., Naik, Y. S. & Hasler, J. A Effect of chloroquine on the pharmacokinetics and metabolism of praziquantel in rats and in humans. *Biopharmaceutics & Drug Disposition* **15**, 33-43 (1994).
15. Metwally, A., Bennett, J.L., Botros, S. & Ebeid, F. Effect of cimetidine, bicarbonate and glucose on the bioavailability of different formulations of praziquantel. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research* **45**, 516-518 (1995).
16. Sotelo, J. & Jung, H. Pharmacokinetic optimisation of the treatment of neurocysticercosis. *Clinical Pharmacokinetics* **34**, 503-515 (1998).
17. McTigue, M.A., Williams, D.R. & Tainer, J.A. Crystal structures of a schistosomal drug and vaccine target: Glutathione S-transferase from *Schistosoma japonica* and its complex with the leading antischistosomal drug praziquantel. *Journal of Molecular Biology* **246**, 21-27 (1995).

18. Cioli, D. Chemoterapy of Schistosomiasis. *Parasitology Today* **14**, 418-442 (1998).
19. Rufer, A.C., Thiebach, L., Baer, K., Klein, H.W. & Hennig, M. X-ray structure of glutathione S-transferase from *Schistosoma japonicum* in a new crystal form reveals flexibility of the substrate-binding site. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications* **61**, 263-265 (2005).
20. Greenberg, R.M. Ca²⁺ signalling, voltage-gated Ca²⁺ channels and praziquantel in flatworm neuromusculature. *Parasitology* **131** (2005).
21. Pica-Mattoccia, L. *et al.* Cytochalasin D abolishes the schistosomicidal activity of praziquantel. *Experimental Parasitology* **115**, 344-351 (2007).
22. Cunha, V.M.N. & Noe?l, F. Praziquantel has no direct effect on (Na⁺⁺K⁺)-ATPases and (Ca²⁺-Mg²⁺)-ATPases of *Schistosoma mansoni*. *Life Sciences* **60** (1997).
23. Hrkova G., Velebny, S. & Kogan, G. Antibody response in mice infected with *Mesocestoides vogae* (syn. *Mesocestoides corti*) tetrathyridia after treatment with praziquantel and liposomised glucan. *Parasitology Research* **100**, 1351-1359 (2007).
24. Xiao, S.H., Shao, B.R. & Xu Pan, Y.Q.Q.R. Mode of action of praziquantel on *Schistosoma japonicum*. *Acta Pharmacologica Sinica* **1**, 51-55 (1980).
25. Tallima, H. & El Ridi, R. Praziquantel binds *Schistosoma mansoni* adult worm actin. *International Journal of Antimicrobial Agents* **29**, 570-575 (2007).
26. Tay Zavala, J. *Parasitología Médica*. (Mendez Editores, México; 2002).
27. Flisser Ana, M.I., Delgado Héctor. *Cisticercosis Humana*. (El Manual Moderno, México D.F.; 1997).
28. Matsumoto, J. Adverse effects of praziquantel treatment of *S. japonicum* infection: involvement of host anaphylactic reactions induced by parasite antigen release. *International Journal of Parasitology* **32**, 461-471 (2002).
29. Nega, B., Svein, G., Fekadu, A. & Hailu, B. Praziquantel side effects an efficacy related to *S. mansoni* egg loads and morbidity in primary school children in north-east Ethiopia. *Acta Tropica* **72**, 53-63 (1999).
30. Andersen, F.L., Conder, G.A. & Marsland, W.P. Efficacy of injectable and tablet formulations of praziquantel against immature *Echinococcus granulosus*. *American Journal of Veterinary Research* **40**, 700-701 (1979).
31. Basedow, A.M., Moschl, G.A. & Schmidt, P.C. Sorbitol instant: An excipient with unique tableting properties. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **12**, 2061-2089 (1986).
32. Kaojareern, S., Nathakarnkikool, S. & Suvanakoot, U. Comparative bioavailability of praziquantel tablets. *DICP* **23**, 29-32 (1989).
33. Ammar, H.O., El-Ridy, M.S., Ghorab, M. & Ghorab, M.M. Evaluation of the antischistosomal effect of praziquantel in a liposomal delivery system in mice. *International Journal of Pharmaceutics* **103**, 237-241 (1994).
34. Akbarieh, M., Besner, J.G., Galal, A. & Tawashi, R. Liposomal delivery system for the targeting and controlled release of praziquantel. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **18**, 303-317 (1992).

35. Mourao, S.C., Costa, P.I., Salgado, H.R.N. & Gremiao, M.P.D. Improvement of antischistosomal activity of praziquantel by incorporation into phosphatidylcholine-containing liposomes. *International Journal of Pharmaceutics* **295**, 157-162 (2005).
36. El-Arini, S.K. & Leuenberger, H. Dissolution properties of praziquantel-PVP systems. *Pharmaceutica Acta Helvetiae* **73**, 89-94 (1998).
37. Becket, G., Schep, L.J. & Tan, M.Y. Improvement of the in vitro dissolution of praziquantel by complexation with α -, β - and γ -cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics* **179**, 65-71 (1999).
38. Maggi, L., Machiste, E.O., Torre, M.L. & Conte, U. Formulation of biphasic release tablets containing slightly soluble drugs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **48**, 37-42 (1999).
39. Hong, S.T. *et al.* Sustained-release praziquantel tablet: Pharmacokinetics and the treatment of clonorchiasis in beagle dogs. *Parasitology Research* **91**, 316-320 (2003).
40. Passerini, N., Albertini, B., Perissutti, B. & Rodriguez, L. Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel. *International Journal of Pharmaceutics* **318**, 92-102 (2006).
41. Mainardes, R.M. & Evangelista, R.C. PLGA nanoparticles containing praziquantel: Effect of formulation variables on size distribution. *International Journal of Pharmaceutics* **290**, 137-144 (2005).
42. Mainardes, R.M. & Evangelista, R.C. Praziquantel-loaded PLGA nanoparticles: Preparation and characterization. *Journal of Microencapsulation* **22**, 13-24 (2005).
43. Mainardes, R.M., Chaud, M.V., Gremiao, M.P.D. & Evangelista, R.C. Development of praziquantel-loaded PLGA nanoparticles and evaluation of intestinal permeation by the everted gut sac model. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* **6**, 3057-3061 (2006).
44. Balzoni, V.S.F. *Supramolecular Photochemistry*. (Horwood Limited, 1991).
45. Lehn, J.M. Supramolecular chemistry: Receptors, catalysts, and carriers. *Science* **227**, 849-856 (1985).
46. Vögtle, F. *Supramolecular Chemistry*. (John Wiley and Sons, Germany; 1991).
47. Szejtli, J. Introduction and General Overview of Cyclodextrin. *Chem. Rev.* **98** (1998).
48. Szejtli, J. *Cyclodextrin Technology*. (Kluwer Academic, U.S.A.; 1988).
49. Loftsson, T. & Duchêne, D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics* **329**, 1-11 (2007).
50. Mosher, G. & Thompson, D.O. in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Vol. 1. (ed. J. Swarbrick) (Marcel Dekker, U.S.A.; 2002).
51. Loftsson, T. & Brewster, M.E. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **85**, 1017-1025 (1996).
52. Stella, V.J. & Rajewski, R.A. Cyclodextrins: Their future in drug formulation and delivery. *Pharmaceutical Research* **14**, 556-567 (1997).

53. Gonzalez, J.R. *et al.* Comparison of the stability, efficacy, and adverse effect profile of the innovator 0.005% latanoprost ophthalmic solution and a novel cyclodextrin-containing formulation. *Journal of Clinical Pharmacology* **47**, 121-126 (2007).
54. Van der Schoot, S.C. *et al.* EO-9 bladder instillations: Formulation selection based on stability characteristics and in vitro simulation studies. *International Journal of Pharmaceutics* **329**, 135-141 (2007).
55. Johnson, J.L.H., He, Y., Jain, A. & Yalkowsky, S.H. Improving cyclodextrin complexation of a new antihepatitis drug with glacial acetic acid. *AAPS PharmSciTech* **7** (2006).
56. Badawy, S.I.F. *et al.* Formulation of solid dosage forms to overcome gastric pH interaction of the factor Xa inhibitor, BMS-561389. *Pharmaceutical Research* **23**, 989-996 (2006).
57. Wang, X., He, H., Leng, W. & Tang, X. Evaluation of brain-targeting for the nasal delivery of estradiol by the microdialysis method. *International Journal of Pharmaceutics* **317**, 40-46 (2006).
58. Moyano, J.R., Arias-Blanco, M.J., Gines, J.M. & Giordano, F. Study of the complexation behaviour of gliclazide with partially methylated α -cyclodextrin in solution and solid state. *International Journal of Pharmaceutics* **157**, 239-243 (1997).
59. Castillo, J.A. *et al.* Preparation and characterization of albendazole β -cyclodextrin complexes. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **25**, 1241-1248 (1999).
60. Miyake, K. *et al.* Improvement of solubility and oral bioavailability of rutin by complexation with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Pharmaceutical Development and Technology* **5**, 399-407 (2000).
61. Samy, E.M., Hassan, M.A., Tous, S.S. & Rhodes, C.T. Improvement of availability of allopurinol from pharmaceutical dosage forms I - Suppositories. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **49**, 119-127 (2000).
62. Funasaki, N., Uratsuji, I., Okuno, T., Hirota, S. & Neya, S. Masking mechanisms of bitter taste of drugs studied with ion selective electrodes. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **54**, 1155-1161 (2006).
63. Szejtli, J. & Szente, L. Elimination of bitter, disgusting tastes of drugs and foods by cyclodextrins. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **61**, 115-125 (2005).
64. Giordano, F., Novak, C. & Moyano, J.R. Thermal analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds. *Thermochimica Acta* **380**, 123-151 (2001).
65. Mosinger, J., Tomankova, V., Nemcova, I. & Zyka, J. Cyclodextrin in Analytical Chemistry. *Analytical Letters* **34**, 1979-2004 (2001).
66. Connors, K.A. The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution. *Chemical Reviews* **97**, 1325-1358 (1997).
67. Loftsson, T., Måsson, M. & Brewster, M.E. Self-Association of Cyclodextrins and Cyclodextrin Complexes. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **93**, 1091-1099 (2004).
68. Junquera, E. & Aicart, E. Physical Methods for the Determination of Stability Constants, in *Encyclopedia of Surface and Colloidal Science* 4090-4104 (Marcel Dekker, U.S.A.; 2002).
69. Rao, V.M. & Stella, V.J. When can cyclodextrins be considered for solubilization purposes? *Journal of Pharmaceutical Sciences* **92**, 927-932 (2003).

70. Arias-Blanco, M.J., Moyano, J.R., Perez-Martinez, J.I. & Gines, J.M. Study of the inclusion of gliclazide in α -cyclodextrin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **18**, 275-279 (1998).
71. Mura, P. *et al.* Effects of the host cavity size and the preparation method on the physicochemical properties of ibuprofen-cyclodextrin systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **25**, 279-287 (1999).
72. Mura, P., Faucci, M.T., Manderioli, A. & Bramanti, G. Influence of the preparation method on the physicochemical properties of binary systems of econazole with cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics* **193**, 85-95 (1999).
73. Mura, P. *et al.* Interactions of ketoprofen and ibuprofen with β -cyclodextrins in solution and in the solid state. *International Journal of Pharmaceutics* **166**, 189-203 (1998).
74. Liu, L. & Guo, Q.-X. The Driving Forces in the Inclusion of Cyclodextrins. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **42**, 1-14 (2002).
75. Mura, P., Faucci, M.T., Parrini, P.L., Furlanetto, S. & Pinzauti, S. Influence of the preparation method on the physicochemical properties of ketoprofen-cyclodextrin binary systems. *International Journal of Pharmaceutics* **179**, 117-128 (1999).
76. Diaz, D., Bernad Bernad, M.J., Mora, J.G. & Escobar Llanos, C.M. Complexation and solubility behavior of albendazole with some cyclodextrins. *Pharmaceutical Development and Technology* **3**, 395-403 (1998).
77. Moore, E., Bergamo, R. & Casella, R. Direct compression tablets containing a series of four β -cyclodextrin complexes formed by neutralizing an acidic drug. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **26**, 1259-1270 (2000).
78. Jarho, P., Vander Velde, D. & Stella, V.J. Cyclodextrin catalyzed deacetylation of spironolactone is pH and cyclodextrin dependent. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **89**, 241-249 (2000).
79. Junquera, E. & Aicart, E. Thermodynamic analysis of the binding of a hepatoprotectant drug, thiocotic acid, by β -cyclodextrin. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **88**, 626-631 (1999).
80. Zia, V., Rajewski, R.A. & Stella, V.J. Effect of cyclodextrin charge on complexation of neutral and charged substrates: Comparison of (SBE)7m- β -CD to HP- β -CD. *Pharmaceutical Research* **18**, 667-673 (2001).
81. Stella, V.J., Rao, V.M., Zannou, E.A. & Zia, V. Mechanisms of drug release from cyclodextrin complexes. *Advanced Drug Delivery Reviews* **36**, 3-16 (1999).
82. Ghorab, M.K. & Adeyeye, M.C. Elucidation of solution state complexation in wet-granulated oven-dried ibuprofen and β -cyclodextrin: FT-IR and ¹H-NMR studies. *Pharmaceutical Development and Technology* **6**, 315-324 (2001).
83. Fernandes, C.M., Vieira, M.T. & Veiga, F.J.B. Physicochemical characterization and in vitro dissolution behavior of nicardipine-cyclodextrins inclusion compounds. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **15**, 79-88 (2002).
84. Hutin, S. *et al.* Analysis of a kneading process to evaluate: Drug substance-cyclodextrin complexation. *Pharmaceutical Technology* **28**, 112-124 (2004).

85. Nalluri, B.N., Chowdary, K.P.R., Murthy, K.V.R., Hayman, A.R. & Becket, G. Physicochemical characterization and dissolution properties of nimesulide-cyclodextrin binary systems. *AAPS PharmSciTech* **4** (2003).
86. Veiga, F., Fernandes, C. & Maincent, P. Influence of the preparation method on the physicochemical properties of tolbutamide/cyclodextrin binary systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **27**, 523-532 (2001).
87. Heise, H.M. Spectroscopic Methods of Analysis-Diffuse Reflectance Spectroscopy, in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Vol. 3. (ed. J. Swarbrick) (Marcel Dekker, U.S.A.; 2002).
88. Duerst, M.D. Spectroscopic Methods of Analysis-Infrared Spectroscopy, in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Vol. 3. (ed. J. Swarbrick) 2519-2534 (Marcel Dekker, U.S.A.; 2002).
89. Suryanarayanan, R. X-Ray Powder Diffractometry, in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Vol. 3. (ed. J. Swarbrick) (Marcel Dekker, U.S.A.; 2002).
90. Nakai, Y. Molecular behavior of medicinals in ground mixtures with microcrystalline cellulose and cyclodextrins. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **12**, 1017-1039 (1986).
91. Giron, D. Thermal Analysis of Drug and Drug Products, in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Vol. 3. (ed. J. Swarbrick) (Marcel Dekker, U.S.A.; 2002).
92. Giodarno, F.B., Bruni, G. & Bettinetti, G.P. Solid State Microcalorimetry on Drug-Cyclodextrin Binary Systems. *Journal of Thermal Analysis* **38**, 2683-2691 (1992).
93. Chun, I.K. & Yun, D.S. Inclusion complexation of hydrocortisone butyrate with cyclodextrins and dimethyl- β -cyclodextrin in aqueous solution and in solid state. *International Journal of Pharmaceutics* **96**, 91-103 (1993).
94. Irie, T. & Uekama, K. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. III. Toxicological issues and safety evaluation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **86**, 147-162 (1997).
95. Gerloczy, A., Fonagy, A. & Keresztes, P. Absorption, distribution, excretion and metabolism of orally administered ^{14}C - β -cyclodextrin in rat. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research* **35**, 1042-1047 (1985).
96. Gerloczy, A., Hoshino, T. & Pitha, J. Safety of oral cyclodextrins: Effects of hydroxypropyl cyclodextrins, cyclodextrin sulfates and cationic cyclodextrins on steroid balance in rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **83**, 193-196 (1994).
97. Irie, T., Tsunenari, Y., Uekama, K. & Pitha, J. Effect of bile on the intestinal absorption of α -cyclodextrin in rats. *International Journal of Pharmaceutics* **43**, 41-44 (1988).
98. Olivier, P., Verwaerde, F. & Hedges, A.R. Subchronic toxicity of orally administered beta-cyclodextrin in rats. *Journal of the American College of Toxicology* **10**, 407-419 (1991).
99. Duchene, D., Vaution, C. & Glomot, F. Cyclodextrins, their value in pharmaceutical technology. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **12**, 2193-2215 (1986).
100. Jarvinen, T., Jarvinen, K., Schwarting, N. & Stella, V.J. β -Cyclodextrin derivatives, SBE4- β -CD and HP- β -CD, increase the oral bioavailability of cinnarizine in beagle dogs. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **84**, 295-299 (1995).

101. Medlicott, N.J., Foster, K.A., Audus, K.L., Gupta, S. & Stella, V.J. Comparison of the effects of potential parenteral vehicles for poorly water soluble anticancer drugs (organic cosolvents and cyclodextrin solutions) on cultured endothelial cells (HUV-EC). *Journal of Pharmaceutical Sciences* **87**, 1138-1143 (1998).
102. Ma, D.Q., Rajewski, R.A. & Stella, V.J. New injectable melphalan formulations utilizing (SBE)7m- β -CD or HP- β -CD. *International Journal of Pharmaceutics* **189**, 227-234 (1999).
103. Ma, D.Q., Rajewski, R.A., Vander Velde, D. & Stella, V.J. Comparative effects of (SBE)7m-beta-CD and HP-beta-CD on the stability of two antineoplastic agents, melphalan and carmustine. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **89**, 275-287 (2000).
104. Samy, E.M., Hassan, M.A., Tous, S.S. & Rhodes, C.T. Improvement of availability of allopurinol from pharmaceutical dosage forms. Part 1. Suppositories. *European Journal of Pharmaceutics & Biopharmaceutics* **49**, 119-127 (2000).
105. Chutimaworapan, S., Ritthidej, G.C., Yonemochi, E., Oguchi, T. & Yamamoto, K. Effect of water-soluble carriers on dissolution characteristics of nifedipine solid dispersions. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **26**, 1141-1150 (2000).
106. Filipovic-Grcic, J. *et al.* Chitosan microspheres with hydrocortisone and hydrocortisone-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **9**, 373-379 (2000).
107. Cavalli, R., Peira, E., Caputo, O. & Gasco, M.R. Solid lipid nanoparticles as carriers of hydrocortisone and progesterone complexes with β -cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics* **182**, 59-69 (1999).
108. McCormack, B. & Gregoriadis, G. Drugs-in-cyclodextrins-in-liposomes: approach to controlling the fate of water insoluble drugs in vivo. *International Journal of Pharmaceutics* **162**, 59-69 (1998).
109. Jivraj, M., Martini, L.G. & Thompson, C. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. *Pharmaceutical Science and Technology Today* **3**, 58-63 (2000).
110. Uekama, K., Oh, K. & Irie, T. Stabilization of isosorbide 5-mononitrate in solid state by β -cyclodextrin complexation. *International Journal of Pharmaceutics* **25**, 339-346 (1985).
111. El Shaboury, M.H. Physical properties and dissolution profiles of tablets directly compressed with β -cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics* **63**, 95-100 (1990).
112. Saleh, S.I. β -Cyclodextrin as a direct compression excipient compared to conventional ones. *Journal de Pharmacie de Belgique* **48**, 371-377 (1993).
113. Pande, G.S. & Shangraw, R.F. Characterization of β -cyclodextrin for direct compression tableting. *International Journal of Pharmaceutics* **101**, 71-80 (1994).
114. Pande, G.S. & Shangraw, R.F. Characterization of β -cyclodextrin for direct compression tableting: II. The role of moisture in the compactibility of β -cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics* **124**, 231-239 (1995).
115. Maggi, L., Conte, U. & Bettinetti, G.P. Technological properties of crystalline and amorphous α -cyclodextrin hydrates. *International Journal of Pharmaceutics* **172**, 211-217 (1998).

116. Munoz-Ruiz, A. & Paronen, P. Time-dependent densification behavior of cyclodextrins. *Journal of Pharmacy & Pharmacology* **48**, 790-797 (1996).
117. Tsai, T., Wu, J.S., Ho, H.O. & Sheu, M.T. Modification of physical characteristics of microcrystalline cellulose by codrying with β -cyclodextrins. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **87**, 117-122 (1998).
118. Wu, J.S., Ho, H.O. & Sheu, M.T. Influence of wet granulation and lubrication on the powder and tableting properties of codried product of microcrystalline cellulose with β -cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **51**, 63-69 (2001).
119. Suihko, E. *et al.* Deformation behaviors of tolbutamide, hydroxypropyl- β -cyclodextrin, and their dispersions. *Pharmaceutical Research* **17**, 942-948 (2000).
120. Suihko, E. *et al.* Complexation with tolbutamide modifies the physicochemical and tableting properties of hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics* **215**, 137-145 (2001).
121. Tasic, L., Pintye-Hodi, K. & Sabo-Revesz, P. Evaluation of compression behavior of paracetamol tablets produced with β -cyclodextrin dispersions. Part II: Energy distribution study of tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **23**, 1153-1158 (1997).
122. Khan, K.A. & Rhodes, C.T. Effect of variation in compaction force on properties of six direct compression tablet formulations. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **65**, 1835-1837 (1976).
123. Comoglu, T., Goenuel, N. & Baykara, T. The effects of pressure and direct compression on tableting of microsponges. *International journal of Pharmaceutics* **242**, 191-195 (2002).
124. Collen, E. The Influence of Varying Precompaction and Main Compaction Profile Parameters on the Mechanical Strength of Compacts. *Pharmaceutical Development and Technology* **5**, 495-505 (2000).
125. Garekani, H.A., Ford, J.L., Rubinstein, M.H. & Ali, R.R. Effect of Compression Force, Compression Speed, and Particle Size on the Compression Properties of Paracetamol. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **27**, 935-942 (2001).
126. Shangraw, R.F., Pande, G.S. & Gala, P. Characterization of the tableting properties of β -cyclodextrin and the effects of processing variables on inclusion complex formation, compactibility and dissolution. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **18**, 1831-1851 (1992).
127. Ghorab, M.K. & Adeyeye, M.C. Enhancement of ibuprofen dissolution via wet granulation with β -cyclodextrin. *Pharmaceutical Development and Technology* **6**, 305-314 (2001).
128. Heinz, R., Wolf, H., End, L. & Kolter, K. Formulation and development of Tablets Based on Ludipress and Scale-Up from Laboratory to Production Scale. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **26**, 513-521 (2000).
129. Miranda Calderón, J.E. Tesis: Evaluación del efecto de la fuerza de compresión en la formación de complejos de inclusión entre ciclodextrinas y praziquantel. Facultad de Química (Universidad Nacional Autónoma de México) México, D.F.; 2004.
130. Rajewski, R.A. & Stella, V.J. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. Part 2. In vivo drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **85**, 1142-1169 (1996).