



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

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

**INCREMENTO DE LA SOLUBILIDAD DEL ALBENDAZOL
POR MEDIO DE
 β -CICLODEXTRINA Y UN PROMOTOR DE ABSORCIÓN**

T E S I S

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. F. B. CÉSAR RIVAS GONZÁLEZ



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.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad nacional Autónoma de México por la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado dentro de sus aulas y laboratorios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para el desarrollo de este proyecto de investigación.

A la Dra. Ma. Josefa Bernad Bernad por el apoyo y consejos brindados para el desarrollo de este trabajo.

A los miembros del jurado por sus valiosos comentarios y observaciones.

Al Departamento de Química Inorgánica y Nuclear y al T.L. Alberto Huerta Delfino.

**A MIS PADRES Y HERMANOS
POR SU INAGOTABLE
APOYO Y CARIÑO**

El presente trabajo de tesis se realizó en el laboratorio 002 de Nuevos Sistemas de Liberación de Fármacos, ubicado en la planta baja del edificio "F" de la Facultad de Química de la UNAM.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	vii
RESUMEN	viii
CAPITULO 1 INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2 ANTECEDENTES	
1 NEUROCISTICERCOSIS	2
2 ALBENDAZOL	3
2.1 Características fisicoquímicas	3
2.2 Clasificación biofarmacéutica	3
2.3 Farmacocinética	3
2.4 Toxicidad y efectos adversos	4
2.5 Mecanismos de acción del albendazol	4
2.5.1 Inhibición del metabolismo energético	4
2.5.2 Inhibición de la polimerización de la tubulina	4
3 PREPARACIONES FARMACAUTICAS CON ALBENDAZOL	5
4 QUÍMICA SUPRAMOLECULAR	5
5 CICLODEXTRINAS	6
5.1 Descubrimiento	6
5.2 Preparación de las ciclodextrinas	7
5.3 Derivados de ciclodextrinas	8
5.4 Características de las ciclodextrinas	9
5.4.1 Conformación y dimensiones	9
5.4.2 Propiedades fisicoquímicas	11

5.4.2.1 Solubilidad	11
5.4.3 Toxicidad de las CDs	12
5.4.4 Aplicaciones de las ciclodextrinas	12
5.4.4.1 Aplicaciones no farmacéuticas	12
5.4.4.2 Aplicaciones farmacéuticas	13
5.4.4.3 Ciclodextrinas como promotores de solubilidad	15
5.4.4.3.1 Estudio de solubilidad de fases	15
5.4.5 Complejos de inclusión	16
5.4.5.1 Formación de complejos de inclusión con CDs	16
5.4.5.2 Preparación de complejos de inclusión con CDs	18
5.4.5.3 Caracterización de los complejos de inclusión	19
5.4.6 Uso de polímeros en preparados farmacéuticos	21
5.4.7 Efecto de polímeros hidrosolubles sobre la formación de complejos CD-huésped	22
CAPÍTULO 3	
OBJETIVOS	
OBJETIVO GENERAL	25
OBJETIVOS PARTICULARES	25
CAPÍTULO 4	
PARTE EXPERIMENTAL	
1 REACTIVOS	27
2 MATERIAL Y EQUIPOS	27
3 METODOLOGÍA	28
3.1 Estudios de mecánica molecular	28
3.2 Preparación de curva de calibración	28
3.3 Estudios de solubilidad de fases	28
3.3.1.Sistema β -CD y Abz	28
3.3.2 Sistema polímero y Abz	29
3.3.3 Sistema polímero β -CD:Abz	30
3.4 Preparación de complejos de inclusión (β -CD:Abz)	31

3.4.1 Mezcla física	31
3.4.2 Amasado	31
3.5 Preparación de formulaciones con diferentes proporciones de polímero	31
3.5.1 Preparación por medio de mezcla física	31
3.5.2 Preparación por medio de la técnica amasado	32
3.6 Cinéticas de disolución	33
3.7 Caracterización de las formulaciones	33
3.7.1 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	33
3.2.2 Espectroscopia infrarrojo (IR)	33
CAPÍTULO 5	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
1 MECANICA MOLECULAR	35
2 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA CUANTIFICAR LA CANTIDAD DE ALBENDAZOL	36
3 ESTUDIOS DE SOLIBILIDAD DE FASE	37
3.1 Sistema β -CD y Abz	37
3.2 Sistema polímero y Abz	38
3.3 Sistema polímero β -CD:Abz	39
4 CINÉTICAS DE DISOLUCIÓN	40
4.1 Mezclas físicas	40
4.2 Amasados	44
5 CARACTERIZACIONES	46
5.1 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	46
5.2 Espectroscopia IR	53
CAPÍTULO 6	57
CONCLUSIONES	
REFERENCIAS	59

ABREVIATURAS

~	Aproximadamente
Å	Ángstrom (1 Å = 10 ⁻¹⁰ m)
Abz	Albendazol
AbzSO	Sulfoxido de albendazol
CDs	Ciclodextrinas
CGTasa	Ciclodextrina glicosil transferasa
cm	Centímetros
cmc Na	Carboximetilcelulosa de sodio
DL ₅₀	Dosis letal 50
DM-β-CD	Dimetil-beta-ciclodextrina
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
g	gramos
g/L	gramos por Litro
h	Horas
hpmc	Hidroxipropil-metilcelulosa
HP-β-CD	Hidroxipropil-beta-ciclodextrina
HP-γ-CD	Hidroxipropil-gamma-ciclodextrina
IR	Infrarrojo
Kg	Kilogramos
K _{int}	Constante de interacción
M	Concentración Molar
mL	miliLitros
°C	Grados centígrados
OH	Grupo hidroxilo
PEG-400	Poli-etilenglicol 400
PEG-6000	Poli-etilenglicol 6000
pvp K30	Poli-vinil pirrolidona
SBE-β-CD	Sulfobutiléter-beta-ciclodextrina
Saf-pH 7.5	Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.5
SNC	Sistema nervioso central
USP	Farmacopea de Estados Unidos
UV	Ultravioleta
α-CD	Alfa ciclodextrina
β-CD	Beta ciclodextrina
γ-CD	Gamma ciclodextrina
λ	Longitud de onda
μm	micrómetro
π	Enlace pi

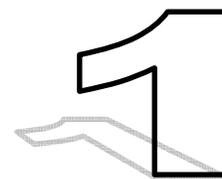
RESUMEN

El presente trabajo investiga la posibilidad de mejorar la eficiencia de la complejación de la β -Ciclodextrina (β -CD) y el Albendazol (Abz) por la adición de un tercer componente (polímero hidrosoluble). Estudios de solubilidad de fase fueron realizados con el fin de investigar la interacción de β -CD:Abz y β -CD:Abz-polímero. El uso de β -CD combinado con polímero resulta claramente más efectivo sobre la solubilidad del Abz en solución amortiguadora de fosfatos.

Estudios de cinética de disolución y los estudios de caracterización muestran que el aumento en la eficiencia de complejación se debe a los polímeros usados en este estudio (cmc-Na, hpmc, pectina y pvp k30), los cuales incrementan la eficiencia de la complejación, por disminución de la cristalinidad de β -CD y Abz, lo que favorece una mejor interacción entre dichas moléculas.

Se observó también que la cantidad de polímero, así como el método de preparación de la formulación influyen en la eficiencia del complejo, siendo los amasados los que mejores resultados presentan sobre el aumento en la solubilidad del Abz .

CAPÍTULO



INTRODUCCIÓN

La neurocisticercosis es una enfermedad causada por las larvas del *T. solium*, la cual causa daños severos al sistema nervioso central (SNC). El fármaco de elección para el tratamiento de la neurocisticercosis es el Albendazol (Abz), fármaco con baja solubilidad en fluidos gastrointestinales, lo cual genera baja biodisponibilidad, debido a que la cantidad de fármaco disuelto es baja entonces la cantidad disponible para ser absorbida es pequeña, por lo que se propone elaborar nuevas formulaciones con diferentes excipientes con el fin de mejorar la solubilidad del Abz.

Actualmente, se sabe que los excipientes no son sustancias inertes y pueden interactuar con el principio activo, modificando las propiedades fisicoquímicas de este último. Un ejemplo son las ciclodextrinas, sustancias que favorecen la solubilidad de fármacos hidrófobos, dichas sustancias son moléculas cíclicas formadas de unidades de D-glucopiranosas, que tienen la característica de presentar una cavidad hidrofóbica, capaz de interactuar con moléculas poco polares, por medio de enlaces no covalentes, formando un complejo de inclusión llamado supramolécula.

En este trabajo se propone el uso de β -CD con el fin de aumentar la solubilidad del Albendazol. Además de las ciclodextrinas, se propone el uso de polímeros hidrosolubles, los cuales han demostrado, favorecer la formación de complejos entre ciclodextrina:fármaco, logrando mejorar la solubilidad de fármacos poco solubles. Por tal motivo se propone usar β -CD y polímeros hidrosolubles con el fin de aumentar la solubilidad de Abz en medio acuoso y favorecer que una mayor cantidad de fármaco este disponible para ser absorbido y alcanzar el efecto terapéutico deseado, logrando con esto disminuir la dosis de fármaco y con ello evitar efectos adversos.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

1 NEUROCISTICERCOSIS

La neurocisticercosis es la parasitosis más frecuente del sistema nervioso central (SNC) que constituye un problema de salud pública en muchos países, entre los cuales se encuentra México. La cisticercosis se adquiere por la ingesta principalmente alimentos contaminados con huevecillos de *T. solium*¹. Se producen complicaciones si la fase larvaria llegan al torrente circulatorio y se enquistan en tejidos como ojo, tejido celular subcutáneo, músculo estriado y SNC siendo este último donde se presentan mayores problemas²⁻⁴. Comúnmente la cisticercosis cerebral se asocia con: crisis convulsivas, hidrocefalia, cefalea, vómito, epilepsia defectos visuales y reacciones inflamatorias que van de moderados a severos que puede culminar en la muerte del individuo⁵⁻⁸.

El fármaco cisticida de elección es el Albendazol (15 a 30 mg /kg/día durante 8 días). Por su bajo costo, mayor permeabilidad de la barrera hematoencefálica y no interacción con corticoesteroides, quedando como alternativa trapeutica secundaria el praziquantel. En varios estudios comparativos se ha probado la superioridad del Albendazol, por su mayor porcentaje de destrucción de quistes parenquimatosos y por su capacidad de destruir quistes subaracnoideos en comparación con praziquantel^{9,10}.

2 ALBENDAZOL

El Albendazol es un agente antiparasitario de amplio espectro, pertenece al grupo de los 2-benzimidazolcarbamatos de metilo, los cuales poseen una gran actividad en contra de nematodos y cestodos que infectan el tracto gastrointestinal de humanos y animales **Fig.1**.

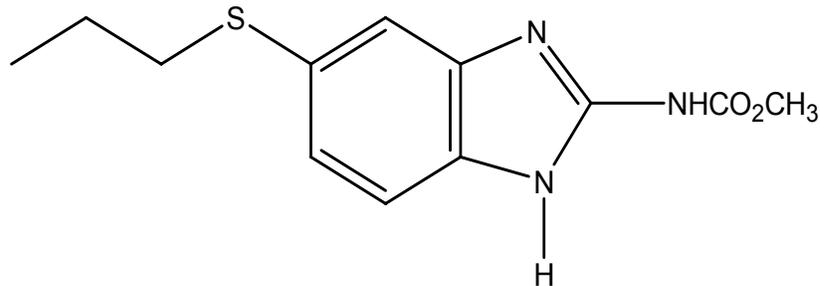


Fig.1 Estructura química del Albendazol N-[5-(Propiltio)-1H-benzimidazol-2-il] carbamato de metilo

2.1 Características fisicoquímicas

El Albendazol ($C_{12}H_{15}N_3O_2S$), CAS. 54965-21-8. Es un polvo blanco a amarillo claro, de masa molecular de 265.34 g/mol, punto de fusión de 208-210°C, es prácticamente insoluble en agua, soluble medios orgánicos¹¹.

2.2 Clasificación biofarmacéutica

El Abz se ha clasificado biofarmacéuticamente dentro de la clase II, es decir es un fármaco de baja solubilidad acuosa y alta permeabilidad, lo que lo hace un buen candidato para formar complejos de inclusión con beta-ciclodextrina (β -CD), con el fin de mejorar su solubilidad y velocidad de disolución.

2.3 Farmacocinética

El Abz es el fármaco de elección en el tratamiento de la enfermedad hidatídica y neurocisticercosis¹². Se ha descrito que la absorción se ve favorecida, cuando se administra con una dieta rica en grasa, observándose un aumento en la biodisponibilidad. Una vez absorbido llega a circulación, donde tiene un alto grado de unión a proteínas plasmáticas superior al 50%, con un volumen de distribución alto, alcanzando tejidos bien irrigados. La mayor parte del fármaco es rápidamente metabolizado en el hígado principalmente a Sulfóxido de Albendazol (AbzSO), su

principal metabolito, al que se le atribuye la actividad cisticida y en menor cantidad a otros metabolitos¹³. Estudios realizados por Jung y colaboradores, demuestran que después de una administración de Abz, no se detectan niveles plasmáticos de este fármaco, mientras que aproximadamente después de tres horas, la concentración de AbzSO alcanza su concentración plasmática máxima y presenta un tiempo de vida media entre 10 y 15 hr¹⁴, esto se es metabolizado en el hígado por el efecto del primer paso. Para ser excretado posteriormente en orina y en menor cantidad en heces¹².

2.4 Toxicidad y efectos adversos

La DL₅₀ del Abz en ratas es de 2.4 g/kg. El Abz administrado en seres humanos a dosis de 10 mg/Kg/día por un periodo de 30 días es bien tolerado. Sin embargo al aumentar la dosis a 15 mg/Kg/día se reportan efectos adversos que incluyen diarrea, náusea, vómito, dolor de cabeza y dolor epigástrico. A dosis más altas y uso prolongado como el caso de la enfermedad hidatídica afecta las funciones del hígado y se han reportado que causa alopecia, ictericia, urticaria y leucopenia. Tanto Abz y AbzSO exhiben toxicidad fetal asociado a su actividad antimicrotubular^{12,15}.

2.5 Mecanismos de acción del Albendazol

2.5.1 Inhibición del metabolismo energético

Diversos estudios han demostrado que Abz actúa sobre ciertas enzimas parasitarias tales como fumarato reductasa, malato deshidrogenasa, succinato deshidrogenasa. El bloqueo de estas enzimas inhibe la generación de energía mitocondrial en forma de adenosín trifosfato. En consecuencia el parásito muere por la ausencia de energía disponible^{16,17}.

2.5.2 Inhibición de la polimerización de la tubulina

El Abz y AbzSO presentan una elevada afinidad por la tubulina de las células de los parásitos impidiendo de esta forma el crecimiento de los microtúbulos evitando la mitosis¹⁶. La inhibición de la mitosis puede producir una desaparición de los microtúbulos citoplasmáticos bloqueando de esta manera el transporte de sustancias

alimenticias que el parásito absorbe como alimento. Cabe mencionar que estos fármacos también presentan afinidad por la tubulina de los mamíferos, por lo que se le atribuye efecto teratógeno. Debido a su mecanismo de acción, que implica una perturbación de la estructura y función microtubular durante la división mitótica, se esperan anormalidades embrionarias y fetales cuando se administra a hembras gestantes en aplicaciones veterinarias, mientras el uso está restringido en mujeres embarazadas, ya que en estas fases existe gran cantidad de divisiones mitóticas y migraciones celulares en las que interviene la tubulina como factor principal¹⁷.

3 PREPARACIONES FARMACÉUTICAS CON ALBENDAZOL

Una de las limitantes al usar Abz es su baja solubilidad en medio acuoso lo cual hace que varíe la biodisponibilidad. La estrategia para resolver este problema es tomar en cuenta las propiedades fisicoquímicas del fármaco así como la vía de administración al desarrollar nuevas formulaciones farmacéuticas. Con el fin de aumentar la solubilidad de fármacos poco solubles como el Abz, se incluyen el ajuste del pH, síntesis de profármacos, liofilización, uso de tensoactivos, sistemas coloidales, uso de disolventes orgánicos y formación de complejos^{18,19}. El Abz se ha formulado en suspensiones, en las cuales se manipula el pH, de tal manera que una cantidad de Abz permanezca estable en el lugar de su absorción aumentando la biodisponibilidad²⁰⁻²². Otros investigadores han usado microesferas como sistemas acarreadores que aumentan la cantidad de este fármaco disuelto en el sitio de absorción²³⁻²⁵. Las ciclodextrinas (CDs) se han usado en el desarrollo de formulaciones farmacéuticas debido a la capacidad de formar complejos de inclusión, mejorando en muchas ocasiones las propiedades fisicoquímicas de moléculas de interés farmacológico entre ellos el Abz^{26,27}.

4 QUÍMICA SUPRAMOLECULAR

Fue el Profesor J. M. Lehn quien definió a la química supramolecular como la química más allá de la molécula, la cual estudia entidades organizadas de alta complejidad que resultan de la interacción de dos o más especies químicas que

forman un complejo unido por fuerzas intermoleculares tales como interacciones electrostáticas, interacciones ión-metal, enlaces de hidrogeno, interacciones π - π , interacciones hidrofóbicas y fuerzas de van der Waals. En la naturaleza existe una gran diversidad de interacciones químicas en las que participan enlaces no covalentes, formando asociaciones moleculares, como enzima-sustrato y antígeno-anticuerpo. De esta manera surgieron las bases para considerar una nueva rama de la química, la química supramolecular²⁸⁻³⁰.

Un área importante de la química supramolecular es la formación de complejos de inclusión, en donde una molécula actúa como anfitrión y otra como huésped. Entre las moléculas con capacidad de hospedar a otra, se encuentran a los calixarenos, porfirinas, éteres corona y ciclodextrinas entre otros a los cuales se les llama cavitandos³⁰. Las ciclodextrinas han recibido gran atención en el área farmacéutica por la capacidad de formar complejos de inclusión con una buena cantidad de fármacos mejorando sus características fisicoquímicas.

5 CICLODEXTRINAS

5.1 Descubrimiento

Aunque las ciclodextrinas son frecuentemente consideradas como un nuevo grupo de excipientes farmacéuticos, estos se conocen desde hace más de cien años, fueron descubiertas por Villiers en 1891^{31,32}. Años más tarde Schardinger encontró dos polisacáridos cristalinos a los que llamo “dextrina cristalina α ” y “dextrina cristalina β ”. Freudenberg y Jacobi al trabajar en la purificación de la fracción α y β aislaron una nueva fracción a la que llamaron “ γ dextrina”, siendo el mismo Freudenberg quien propuso una estructura cíclica³². Actualmente es bien conocido que las CDs son polisacáridos de peso molecular bajo y que pertenecen a una clase denominada oligosacáridos³³. Las tres principales CDs naturales constan de seis, siete y ocho unidades de D-glucosa unidas mediante enlaces α -1,4, conocidas como “ α -CD, β -CD y γ -CD” respectivamente, de modo que forman un anillo muy similar a los éteres corona **Fig. 2**. Dicha conformación le permite formar un hueco a manera de receptáculo en donde una gran cantidad de moléculas pueden ser albergadas³⁴.

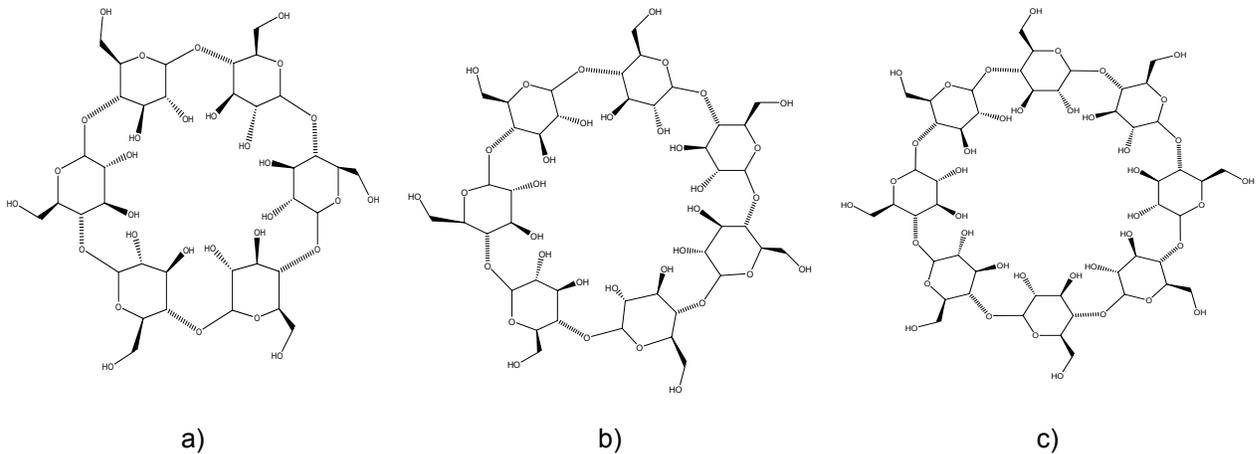


Fig.2 Estructura de las tres ciclodextrinas naturales a) α -ciclodextrina, b) β -ciclodextrina y c) γ -ciclodextrina.

Estudios realizados en 1948 por Freudenberg y Cramer sugirieron que podrían existir moléculas de ciclodextrina de más unidades de D-glucosa. Tal suposición fue confirmada en 1965 por French, quien reportó el aislamiento y caracterización de ciclodextrinas de hasta doce unidades glucosilicas³². Cabe mencionar que además de la existencia de ciclodextrinas mayores existen compuestos derivados de las tres ciclodextrinas naturales cuyas características fisicoquímicas difieren respecto a la de las ciclodextrinas originales^{34,35}.

5.2 Preparación de las ciclodextrinas

Schardinger descubrió el papel importante del *Bacillus macerans* en la formación de las ciclodextrinas, ya que es el productor de la enzima ciclodextrina glicosil transferasa (CGTasa), la cual es capaz de degradar la fracción de amilasa del almidón, hidrolizando la hélice y enlazando sus extremos, formando de esta manera oligosacáridos cíclicos **Fig.3**³⁶⁻³⁸.

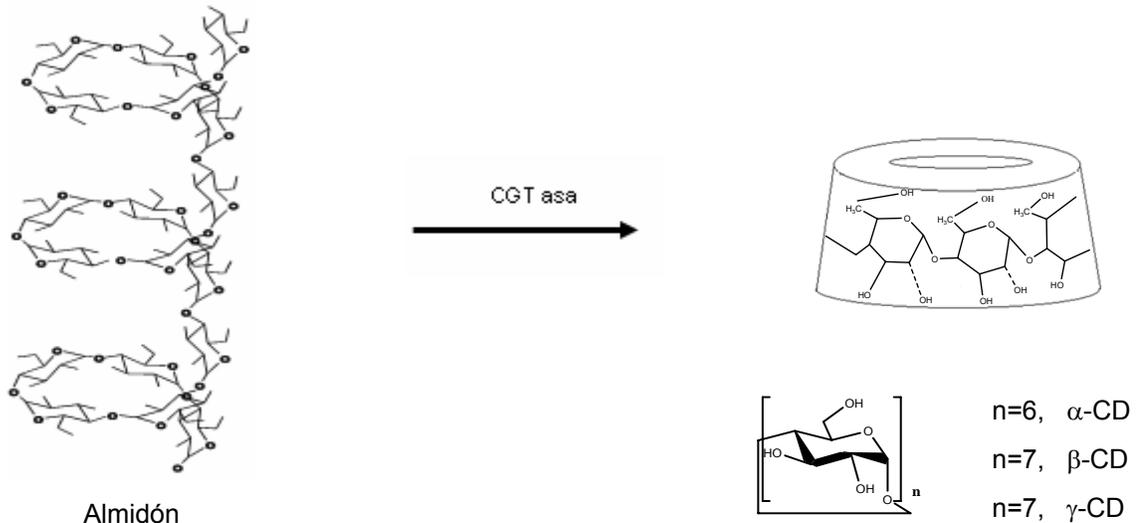


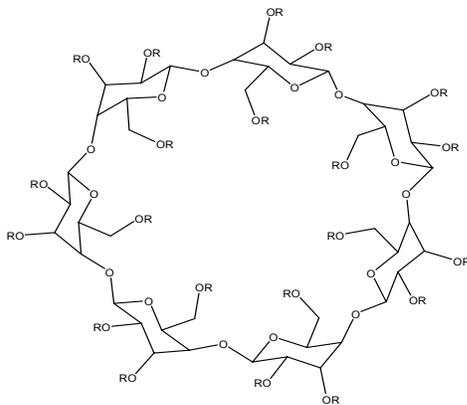
Fig. 3. Formación de dextrinas cíclicas a partir de la degradación del almidón por parte de CGT asa³⁵.

5.3 Derivados de ciclodextrinas

Cada unidad de glucopiranososa de las CDs tiene tres grupos hidroxilo (OH), los cuales son diferentes en reactividad y funciones. Por ejemplo la β -CD posee 21 grupos hidroxilo, que pueden ser modificados por una gran variedad de grupos sustituyentes tales como: alquil, hidroxialquil, carboxialquil, amino, tio, tosil, glucosil, etc. Dicha preparación de derivados puede ser a través de reacciones químicas o enzimáticas^{34,39-43}.

Una de las principales motivaciones para la síntesis de derivados de las ciclodextrinas naturales es mejorar propiedades físicas y químicas, por ejemplo la hidroxipropil beta ciclodextrina (HP- β -CD) es menos toxica y es mas soluble que su predecesor la β -CD^{40,41}. La principal aplicación farmacéutica de los derivados de ciclodextrinas, se haya en la mayor capacidad formación de complejos de inclusión con moléculas de interés farmacológico, así como de reducir la toxicidad de las ciclodextrinas cuando se administra por vía parenteral^{42,44}.

En la **Fig. 4** se presentan algunos los derivados para la β -CD.



Sustituyente	Nombre de la ciclodextrina
R=	
-H	β -ciclodextrina
$-\text{CH}_2\text{CHOHCH}_3$	2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina
$-(\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-\text{Na}^+$	Sulfobutileter- β -ciclodextrina sal de sodio
$-\text{CH}_3$	Metil β -ciclodextrina

Fig. 4 Estructura de la β -ciclodextrina y algunos de sus derivados más importantes^{35,39}

5.4 Características de las ciclodextrinas

5.4.1 Conformación y dimensiones

Las ciclodextrinas se encuentran unidas por enlaces α -1,4 glucosídicos. Debido a la falta de rotación entre los enlaces que unen las unidades de glucopiranosas, presentan una estructura de cono truncado con un orificio hidrofóbico en el centro y una superficie externa hidrofílica^{45,46}. Las ciclodextrinas tienen para (n) unidades de glucosa, (n) grupos (OH) primarios en (CH₂OH) del C6 y 2n grupos (OH) secundarios en C2 y C3, todos los grupos hidroxilo primarios se sitúan en el borde más estrecho de la CD, mientras en el borde donde, como se muestra en la Fig. 5^{35,47,48}.

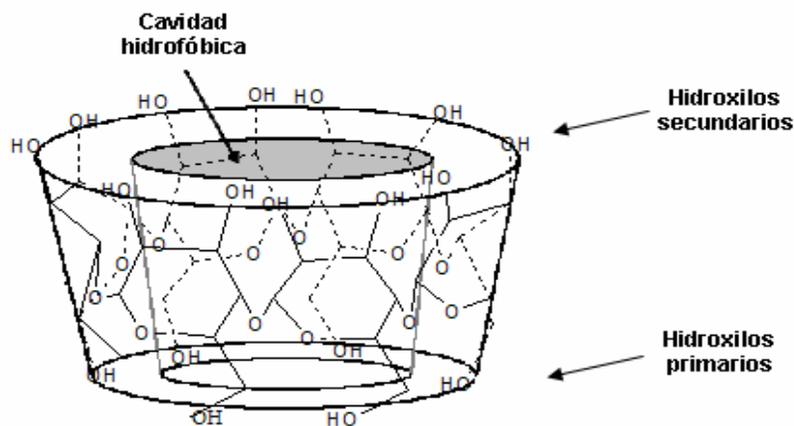


Fig. 5 Estructura y conformación de la α -ciclodextrina

Debido a que los grupos hidrofílicos ocupan ambos bordes del cono, vuelven a la ciclodextrina soluble en agua. Mientras que el interior de la cavidad es de carácter hidrofóbico ya que esta cubierta por los hidrógenos de los grupos metino C3-H y C5-H y metileno C6-H₂, así como por oxígenos tipo eter del O4, es por esta característica que las cavidades proporcionan una matriz hidrofóbica en solución acuosa, adecuada para albergar una molécula poco polar^{35,49,50}.

Las dimensiones de las ciclodextrinas dependen del número de unidades de glucosa, el hecho que no existan ciclodextrinas menores a seis unidades glucosídicas se debe a factores estéricos. Ciclodextrinas mayores a ocho unidades glucosídicas son posibles y se designan como δ, ε, ζ, η y θ-ciclodextrinas y se componen de nueve, diez, once, doce y trece unidades de glucopiranosas respectivamente^{31,45}.

El tamaño de las ciclodextrinas resulta muy importante, ya que han sido estudiadas como moléculas anfitrionas o acarreadoras, por lo que si la ciclodextrina es muy pequeña, como en el caso de α-CD algunas moléculas huésped no podrán ser incluidas, el caso contrario es que al ser muy grande la cavidad, podrá albergar a más de una molécula haciendo difícil la estabilidad del complejo. Las dimensiones y algunas otras características estructurales de las ciclodextrinas naturales se enlistan en la **Tabla 1**^{35,41,51}.

Tabla 1. Características físicas de las tres principales CDs^{35,39}

	α-CD	β-CD	γ-CD
Masa molecular (g/mol)	973	1153	1297
Numero de glucosas	6	7	8
Volumen interior, Å ³	174	262	427
Moléculas de agua incluidas	6	11	17
Diámetro de la cavidad, Å	5.7	7.8	9.5
Altura del toroide, Å	7.9	7.9	7.9

5.4.2 Propiedades fisicoquímicas

Las tres principales ciclodextrinas son sustancias cristalinas, homogéneas, no higroscópicas y solubles en agua, con puntos de fusión entre 240 °C y 250 °C característica debida a su estable red estructural⁵¹.

5.4.2.1 Solubilidad

La solubilidad de las CDs se debe a la presencia de grupos (OH) presentes en los carbonos C2, C3 y C6 de las unidades de glucopiranosas que forman la ciclodextrina, estos grupos (OH) forman enlaces de hidrógeno con el agua. Sin embargo, estos mismo grupos (OH) presentes en C2 son propensos a enlazarse con los grupos (OH) en C3 de la unidad de glucopiranosas adyacente, formando un cinturón de enlaces de hidrogeno intramolecular^{35,52}. Debido a que la β -CD se forma de siete unidades de glucopiranosas, es menos simétrica que α -CD, y γ -CD, por lo que la formación de enlaces de hidrogeno intramolecular debido a los grupos (OH), resulta en una estructura compacta y rígida que no tiene buena interacción con los puentes de hidrogeno del agua, lo que hace a la β -CD menos soluble que las otras dos ciclodextrinas naturales⁵³⁻⁵⁵. En la **Tabla 2** se muestran algunas propiedades fisicoquímicas de las tres principales CDs³⁵.

Tabla 2 Principales propiedades fisicoquímicas y solubilidad de las CDs^{35,51}

Propiedad	α -CD	β -CD	γ -CD
Punto de fusión (°C)	255-260	255-262	240-245
pKa a 25 °C	12.33	12.20	12.08
Momento bipolar (D)	2.233	2.311	3.544
Solubilidad g/100mL			
Agua a 25 °C	14.5	1.85	23.2
Agua a 35 °C	20.4	2.85	39.0
Agua a 45 °C	28.5	4.40	58.5
metanol	insoluble	insoluble	>0.1
etanol	insoluble	insoluble	>0.1
2-propanol	Insoluble	insoluble	>0.1
DMSO	2	35	-
glicerina	1	4.3	-

5.4.3 Toxicidad de las CDs

El uso de CDs es seguro, dependiendo de la vía de administración, por ejemplo se sabe que la β -CD es citotóxica, al ser administrada parenteralmente, sin embargo al igual que la α -CD y γ -CD, resulta ser segura por vía oral^{35,56}.

El destino de las ciclodextrinas naturales en el tracto gastrointestinal sigue la misma degradación de los carbohidratos. La α -CD y β -CD son resistentes a la degradación ácida estomacal, así como las enzimas de la saliva, siendo hidrolizadas en el colon, mientras γ -CD es digerida en la parte superior del tracto gastrointestinal por enzimas pancreáticas. Los metabolitos primarios de la digestión de las CDs son glucosa y maltooligosacaridos que son metabolizados y absorbidos de la misma manera que el almidón. Se ha observado que una mínima fracción de α -CD y β -CD es absorbida intacta en la parte superior del intestino delgado por transporte pasivo¹⁵. La administración oral de CDs no origina una toxicidad aguda, por ejemplo la DL₅₀ en ratas vía oral es de 12.5, 18.8 y 8 g/Kg para α -CD, β -CD y γ -CD respectivamente. Y aún cuando se han reportado efectos adversos en humanos por el uso de algunos derivados de CDs al ser administrada oralmente^{27,56}. Se atribuye la mayoría de los efectos adversos de las CDs, a la capacidad de formar complejos con una gran variedad de moléculas, entre ellas, sustancias tóxicas de origen sintético o biológico, presentes en el medio ambiente, así mismo las CDs pueden capturar ciertos nutrientes, esteroides y sales biliares produciendo descompensación de tales compuestos en el organismo cuando se usan en dosis altas¹⁵.

5.4.4 Aplicaciones de las ciclodextrinas

5.4.4.1 Aplicaciones no farmacéuticas

Las CDs se usan en la industria de alimentos con varios propósitos como conservadores de sabores y colores de alimentos de origen vegetal y animal evitan la degradación de sus componentes esenciales como vitaminas y algunos ácidos grasos⁵⁷⁻⁵⁹. Debido a que la formación de complejos con CDs poseen una baja presión de vapor, se les usa en la industria cosmética para formular perfumes y desodorantes con el fin de que el olor perdure más tiempo³⁵. Esta misma

característica es usada para evitar olores desagradables de algunos pesticidas y al mismo tiempo controlan su liberación^{60,61}. Se sabe también que pueden actuar como catalizadores en reacciones químicas como hidrólisis, oxidación y sustitución, así como en la purificación mezclas racémicas y separación de compuestos de interés^{34,35}.

5.4.4.2 Aplicaciones farmacéuticas

Sin duda el desarrollo farmacéutico es el campo de aplicación más amplio de las ciclodextrinas y algunos de sus derivados principalmente los derivados de la β -CD son usados para elaborar distintas formulaciones^{62,63}.

Varios trabajos proponen el uso de ciclodextrinas con diferentes propósitos, tomando en cuenta la vía de administración, la forma farmacéutica y la clasificación biofarmacéutica de los fármacos. Las ciclodextrinas tendrán diferentes grados de efecto, siendo usadas principalmente para aumentar la solubilidad acuosa, estabilidad, absorción y biodisponibilidad de fármacos, previenen la interacción fármaco-fármaco o fármaco-aditivo y reducen efectos adversos^{57,64}.

Debido a las diferentes vías de administración se pueden encontrar diferentes trabajos en los cuales las CDs mejoran las características de los fármacos.

Vía oral

Siendo la vía de administración más usada, ya que implica una mayor aceptación por parte del paciente, varios sistemas de liberación de fármacos se han diseñado para esta vía. La β -CD y algunos derivados como HP- β -CD y SBE- β -CD logran aumentar la biodisponibilidad por vía oral de celecoxib⁶⁵, rofecoxib⁶⁶ y ketoprofeno^{67,68}, además de evitar úlceras gástricas las ciclodextrinas causadas por este tipo de fármacos. Las CDs modificadas que favorecen la solubilidad de fármacos hidrófobos como el miconazol^{69,70}, paclitaxel⁷¹ e indometacina⁷². La degradación enzimática proteínas y hormonas como insulina⁷³, 17 β -estradiol⁷⁴ y testosterona⁷⁵ es evitada por medio de β -CD y HP- β -CD aumentan la biodisponibilidad del evitando el efecto del primer paso del tracto gastrointestinal.

Vía Intravenosa

Se ha reportado que la HP- β -CD y DM- β -CD poseen una mayor solubilidad, por lo que resulta ser segura, para administrar fármacos poco solubles y estables como pancreastatin⁷⁶ y 17 β -estradiol⁷⁷, logrando una mayor biodisponibilidad.

Vía Nasal y Pulmonar

Se ha reportado la administración de fármacos por esta vía aprovechando su gran área de absorción, un ejemplo lo es el midazolam, un derivado de benzodiazepinas el cual es solubilizado por SBE- β -CD y administrado vía nasal a voluntarios humanos absorbiéndose rápidamente, logrando un efecto sistémico⁷⁸. Skiba y colaboradores proponen el desarrollo de microesferas que contiene complejo β -CD amikacina con el fin de atacar infecciones locales⁷⁹. Siendo β -CD también usada con salbutamol en el tratamiento de asma y obstrucción crónica pulmonar⁸⁰.

Vía Oftálmica

Se ha encontrado que HP- β -CD promueven la biodisponibilidad al mejorar la permeabilidad ocular del fármacos tales como nitrato de poliacarquina y ganciclovir reduciendo la irritación y daño corneal^{39,81}.

Vía Dérmica y Transdérmica

Esta ruta es usada con el fin de lograr un efecto local o sistémico evitando el efecto del primer paso, aunque el transporte del fármaco está limitado por la poca permeación a través del estrato córneo. Recientemente se ha reportado la liberación dérmica de péptidos y proteínas. Por ejemplo con la combinación de β -CD y azona, se logra una gran absorción percutánea de acetato de nafarelin, algunos péptidos y una hormona luteinizante⁴¹.

Las ciclodextrinas son capaces de aumentar la permeabilidad diclofenaco⁸², ketoprofeno⁸³ e hidrocortisona a través de la piel y favorecer la retención de agentes bloqueadores de rayos UV⁴⁹.

5.4.4.3 Ciclodextrinas como promotores de solubilidad

Las CDs encuentran su mayor aplicación en el área farmacéutico como promotores de solubilidad de fármacos poco solubles, por la formación dinámica, no covalente de la formación de complejos de inclusión³².

5.4.4.3.1 Estudio de solubilidad de fases

Este tipo de estudio fue desarrollado por Higuchi y Connors. La metodología evalúa el efecto del ligando o molécula anfitriona sobre la solubilidad de un sustrato o huésped, en un medio de disolución acuoso. En este trabajo de tesis tenemos como ligando a la β -CD y el sustrato es el Abz. Esta interacción de asociación, es gobernada por una constante de interacción (K_{int}), la cual se obtiene, de la relación entre, la concentración de huésped asociada a la molécula del anfitrión. Es decir que concentración de huésped es capaz de interaccionar con una cantidad determinada de anfitrión, de tal manera que la interacción de ambas especies, se pueda graficas en diagramas, llamados diagramas de solubilidad de fases **Fig 6**^{39, 54}.

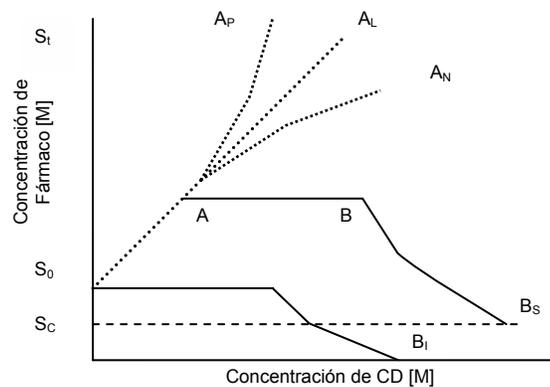


Fig 6 Diagrama de solubilidad de fases

En los cuales se mide la cantidad de huésped disuelto con respecto a la concentración de anfitrión presente en el medio. Como se observa, los diagramas de solubilidad de fase muestra diferentes perfiles. De manera general se obtienen dos tipos, los perfiles tipo A marcados con línea discontinua, los cuales muestran la formación de complejos solubles y los tipo B marcados con la línea continua que indican la formación de complejos con baja solubilidad. En la presente tesis se

realizan estudios de solubilidad de fase para evaluar que cantidad de Albendazol es disuelta por una cantidad conocida de β -CD y polímeros hidrosolubles propuestos en este trabajo.

5.4.5 Complejos de inclusión

Un complejo de inclusión es la asociación que se forma entre una molécula huésped y un anfitrión. Esta combinación se caracteriza por la ausencia de enlaces químicos ordinarios (covalentes). El criterio esencial es simplemente que la molécula huésped es susceptible de incluirse por su tamaño y polaridad en una molécula anfitriona.

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

- ⊕ Complejos de inclusión polimoleculares
- ⊕ Complejos de inclusión monomoleculares
- ⊕ Complejos de inclusión macromoleculares

Los *complejos de inclusión* polimoleculares se subdividen en dos tipos: los tipo túnel y tipo caja. De manera general se constituyen por moléculas individuales del anfitrión apiladas unidas por puentes de hidrogeno formando canales o estructuras de cajas que envuelven a las moléculas huésped^{35,45}.

Los *complejos de inclusión monomoleculares* generalmente interactúan una sola molécula huésped con una molécula anfitrión. Un ejemplo son los anfitriones (ciclodextrinas) cuando forman complejos de inclusión con un huésped (fármaco)⁸⁴.

Los *complejos de inclusión macromoleculares* se refieren a la asociación de varias moléculas tales como las zeolitas, dextranos, geles de sílice y otras sustancias.

El interés de esta tesis solo recae en los complejos de inclusión tipo monomoleculares y específicamente a los formados con las ciclodextrinas.

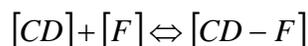
5.4.5.1 Formación de complejos de inclusión con CDs

La conformación estructural de las CDs hace que el orificio que forman sea como una cápsula vacía en las que se pueden incluir moléculas de tamaño semejante a la cavidad de la ciclodextrina y formar un complejo de inclusión. La formación de

complejos de inclusión esta basado en la relación estructura y selectividad de las moléculas involucradas, así como de los parámetros que influyen en la incorporación del huésped tales como efectos estéricos, propiedades electrónicas, hidratación etc, por ejemplo la formación de complejos en solución esta casi siempre asociada con un relativo valor negativo del ΔH mientras ΔS puede ser negativo o positivo⁴⁵. La formación del complejo es un proceso dinámico, por lo tanto el huésped continuamente se asocia y disocia del anfitrión, en este caso cabe mencionar que la formación de complejo no ocurre en un medio orgánico ya que el huésped tendrá mayor afinidad por el disolvente que por la cavidad de la ciclodextrina⁴¹.

La formación de complejos de inclusión puede definirse como la asociación de moléculas de un substrato con las de un ligando para formar una nueva especie, llamada *complejo de inclusión*, que muestra una estequiometría definida dependiendo de la capacidad del anfitrión por albergar a un cierto numero de moléculas huésped, que generalmente se observa una asociación molar uno a uno entre el huésped y el anfitrión y la asociación la define la *constante de interacción* K_{int} mientras sus propiedades fisicoquímicas pueden ser diferentes de los compuestos que las formaron³⁴. La constante de interacción es la propiedad fundamental que describe el grado de interacción entre la molécula huésped y la anfitriona³⁹.

Una amplia variedad de fármacos forman complejos de inclusión con una estequiometría 1:1, la cual se denota como K_{int} de acuerdo al siguiente equilibrio⁸⁵.



De donde la constante de complejación esta dada por el equilibrio entre las diferentes especies.

$$K_{int} = \frac{[CD - F]}{[CD][F]}$$

Donde

[CD-F] denota la formación del complejo de inclusión ciclodextrina-fármaco

[CD] es la concentración del ciclodextrina libre

[F] es la concentración de fármaco libre

K_{int} es la constante de complejación o interacción expresada en M^{-1}

La mayoría de los complejos de inclusión presentan constantes que son del orden $10^2 M^{-1}$ ^{39,86}. La determinación de la constante se hace por una gran variedad de métodos, por ejemplo técnicas espectroscópicas, electroquímicas, termodinámicas, cromatográficas y cambio en la solubilidad de la molécula huésped por el efecto de la complejación con la CD⁵⁴.

5.4.5.2 Preparación de complejos de inclusión con CDs

La preparación de complejos de inclusión con ciclodextrinas puede ser realizado en fase sólida o líquida bajo varias condiciones como presión, temperatura, pH. A continuación se mencionan algunas de las técnicas empleadas en farmacia para la formación de complejos de inclusión entre fármacos y ciclodextrinas.

Fase Líquida

Co-precipitado

Una cantidad de ciclodextrina se disuelve en agua y la molécula huésped se adiciona mientras se agita la solución de tal manera que al aumentar la cantidad de soluto éste se precipite junto con la ciclodextrina, posteriormente se filtra y se seca el precipitado.

Mezcla de disolventes

Esta técnica consiste en disolver a la ciclodextrina en agua y el fármaco en un disolvente orgánico, una vez que se tiene las dos soluciones se mezcla y se calienta la disolución final con el fin de evaporar primero la fase orgánica y después la fase acuosa y tener un sólido.

Fase Sólida

Liofilización

El fármaco es adicionado en una solución de ciclodextrina, dicha solución es congelada a $-50^{\circ}C$ y se somete a un proceso de liofilización.

Molienda

Se coloca la ciclodextrina y el fármaco en un molino y se deja moler durante un determinado tiempo se sabe que la aplicación de fuerza favorece la formación de complejos de inclusión.

Fusión del huésped

Se funde al huésped manejando algunas variables como temperatura y presión durante el proceso sin llegar a la descomposición del fármaco, se adiciona la cantidad requerida de ciclodextrina, posteriormente se deja que la mezcla se fusione y se lava el exceso de alguno de los componentes.

Mezcla física

Este método comprende la mezcla de la ciclodextrina y el fármaco ambos en polvo. Los cuales se someten a un proceso de mezclado durante un tiempo determinado.

Amasado

En esta técnica se coloca la ciclodextrina en un mortero o en un mezclador adecuado posteriormente se le adiciona una cantidad pequeña de agua con el fin de formar una pasta, posteriormente se incorpora la cantidad de fármaco deseado y se mezclan los dos componentes. El complejo inicial hidratado (CD-agua) es energéticamente menos favorable que el complejo (CD-huésped) que continuamente se esta formando durante el continuo proceso mecánico-químico de amasado.

5.4.5.3 Caracterización de los complejos de inclusión

Para determinar si se ha formado el complejo de inclusión entre la ciclodextrina y el fármaco es necesario realizar algunos estudios de caracterización. En la mayoría de los trabajos relacionados se hace uso de espectroscopia infrarrojo (IR), difracción de RX, calorimetría diferencial de barrido (DSC), las cuales son las más comunes. Sin embargo, también podemos utilizar otras como la microscopia electrónica, RMN, fluorescencia, UV, etc. Para este trabajo solo se usan las técnicas de calorimetría diferencial de barrido (DSC), espectroscopía IR y espectroscopía UV, las cuales se describen brevemente a continuación.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido (DSC), es usada para medir el flujo de calor dentro y fuera de una muestra, así que la respuesta de los materiales frente al calor depende de las características y propiedades de cada material. Los fenómenos observados son transiciones de los materiales que se estudian tales como cristalización, sublimación, ebullición, etc., la integración de la curva proporciona la energía involucrada en la transición.

La calorimetría diferencial de barrido ha encontrado un gran uso en aplicaciones farmacéuticas con el fin de caracterizar materias primas o formulaciones. Para el caso de un complejo formado entre dos compuestos, en muchos casos el pico característico de la sustancia de estudio desaparecerá o cambiara de posición lo que es indicativo de la formación de un complejo entre la molécula huésped y la molécula anfitrión. Por ejemplo el termograma del fenofibrato comparado con el termograma de una combinación de polímero y fenofibrato, muestra en este último un cambio en el área del pico del fenofibrato, lo que se demuestra que se ha formado un complejo entre este fármaco y el polímero⁸⁷. En otros estudios se ha observado la total inclusión de polímeros dentro de ciclodextrinas donde el pico característico desaparece completamente del termograma teniendo un alto grado de complejación entre las dos moléculas⁸⁸.

Espectroscopia de Infrarrojo

La espectroscopia de infrarrojo IR constituye una técnica de amplio uso que se basa en la excitación de los modos de vibración de las moléculas por la absorción de la radiación infrarroja. Aunque ésta comprende longitudes de onda (λ) entre el visible y las microondas, la región del infrarrojo medio entre $4000-500\text{ cm}^{-1}$ es la más empleada. Durante la excitación es necesaria una variación del momento dipolar de la molécula para que se produzca una absorción en el IR que puede asociarse a vibraciones de tensión (simétrica o asimétrica) o de deformación. La detección de los grupos funcionales presentes es la principal aplicación de esta técnica⁸⁹. Las observaciones incluyen, cambios en los picos característicos de los grupos funcionales de los complejos formados, en comparación con los espectros IR de las

materias primas por separado con el fin de determinar si se ha formado el complejo de inclusión entre la ciclodextrina y la molécula huésped.

Espectroscopia de UV

En la espectroscopia ultravioleta, se mide la cantidad de luz absorbida en función de la longitud de onda utilizada (λ), esta técnica es una herramienta principal para estudiar equilibrios químicos y cinéticos, donde se selecciona la longitud de onda característica del huésped y se observan los cambios en la forma y/o tamaño del espectro de absorción, hasta llegar al equilibrio en donde una cantidad de huésped estará interactuando con una cantidad de anfitrión⁹⁰.

5.4.6 Uso de polímeros hidrosolubles en preparados farmacéuticos

Los polímeros hidrosolubles han sido usados ampliamente en sistemas farmacéuticos como adyuvantes, para formar suspensiones y emulsiones, floculantes, adhesivos, recubrimientos logrando liberación controlada y vectorización de algunos fármacos⁹¹. En estudios recientes se ha reportado el uso de polímeros hidrosolubles como promotores de solubilidad, absorción y biodisponibilidad de fármacos poco solubles, favorecen además la formación de complejos de inclusión entre ciclodextrinas y fármacos poco solubles sin competir por la cavidad de la ciclodextrina como se menciona a continuación^{55,92,93}.

El uso de estos polímeros hidrosolubles se reporta en una gran cantidad de trabajos publicados donde se han preparado dispersiones sólidas con este tipo de excipientes, entre los cuales podemos encontrar derivados de celulosa como etilcelulosa, carboxi-metilcelulosa (cmc) e hidroxipropil-metilcelulosa (hpmc), poli-etilenglicol, polisacáridos, poli-vinil pirrolidona (pvp), etc.

El uso de polisacáridos como goma karaya y goma guar favorecen la solubilidad y biodisponibilidad de nimodipina y mebendazol respectivamente por vía oral en comparación de la administración del fármaco solo^{94,95}. La elaboración de hidrogeles que contienen pectina dependientes de los cambios de pH son utilizados con el fin de liberar el principio activo en un sitio determinado⁹⁶⁻⁹⁸. Mitchel y colaboradores, por medio de compactación, usando hpmc lograron aumento en la velocidad de

disolución de naproxeno, nifedipina y carbamazepina, tres fármacos poco solubles⁹⁹. Mientras la pvp ha demostrado por si sola, aumento en la velocidad de disolución de piroxicam y promover la solubilidad de otros fármacos poco solubles¹⁰⁰.

5.4.7 Efecto de polímeros hidrosolubles sobre la formación de complejos CD-huésped

Se ha reportado que el uso de polímeros hidrosolubles aumenta la solubilidad de fármacos poco solubles en medio acuoso, también se ha reportado que dichos polímeros son capaces de favorecer la formación de complejos de inclusión entre CDs y fármacos poco hidrosolubles. Por ejemplo pvp en combinación con β -CD y HP- β -CD favorecen la velocidad de disolución de celecoxib, valdecoxib y naproxeno¹⁰¹⁻¹⁰³. La hpmc favorece la formación y la solubilidad de complejos de inclusión entre sulfametizol y ciclodextrina¹⁰⁴. La aplicación de PEG-400 y ciclodextrinas mejora la solubilidad de progesterona, obteniendo una mayor biodisponibilidad¹⁰⁵ y el PEG-6000 promueve la estabilidad de los complejos de inclusión de glimepirida con β -CD, HP- β -CD y SBE- β -CD¹⁰⁶.

El empleo de polímeros hidrosolubles como se ha visto, incrementa la solubilidad de fármacos hidrófobos, de tal manera que una mayor cantidad de fármaco estará dispuesta para su absorción. Con el fin de aumentar la solubilidad del Abz, en este trabajo de tesis se propone el uso de polímeros hidrosolubles: cmc-Na, hpmc, pectina y pvp-k30, de los cuales a continuación se presenta la estructura molecular, algunos usos y características de los polímeros antes mencionados^{11,48}.

Carboximetilcelulosa de Sodio (cmc-Na)

Características

Es una sal del policarboximetil éter de celulosa, es un polvo blanco o casi blanco, sin olor, prácticamente insoluble en acetona, etanol (95%), éter y tolueno, soluble en agua, con punto de fusión de 227 °C. es usada en formulaciones orales, tópicas y parenterales, en cosméticos y en productos alimenticios. Estudios en animales han demostrado que puede producir inflamación por administración subcutánea. La DL₅₀

por vía oral en cerdos de guinea es 16 g/Kg y en rata es de 27 g/Kg. La estructura química de la cmc-Na se muestra en la **Fig. 7**⁵¹.

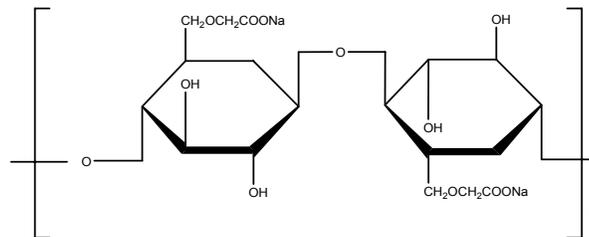


Fig. 7 Estructura de arboximetilcelulosa de Sodio.

Hidroxiopropilmetilclulosa (hpmc)

Características

Es un polvo blanco sin olor ni sabor, soluble en agua prácticamente insoluble en cloroformo, etanol y eter. En la **Fig. 8** se muestra la estructura química de hpmc. Punto de fusión de 190-200 °C. Es usada como excipiente en formulaciones orales y tópicas, en cosméticos y alimentos es un material no toxico e irritante, aunque altas dosis por vía oral producen diarrea. Intraperitonealmente la DL₅₀ en ratón es de 5 g/Kg y en rata es de 5.2 g/Kg⁵¹.

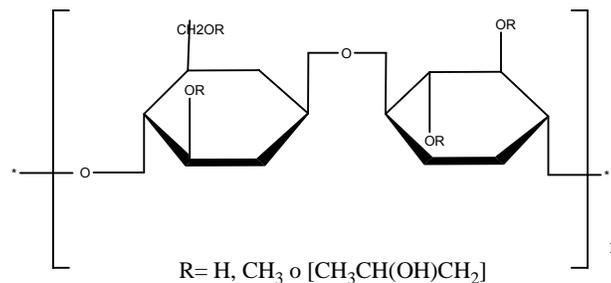


Fig. 8 Estructura de hidroxipropilmetilcelulosa

Pectina USP

Características

Es un producto purificado de hidratos de carbono, consiste principalmente de ácido poligalactúronico parcialmente metoxilado **Fig. 9**.

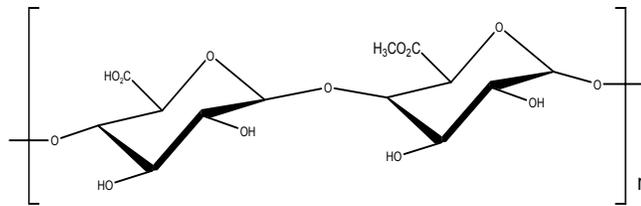


Fig. 9 Estructura de pectina

Es un polvo fino o grueso de color amarillo claro. Soluble en agua, casi insoluble en etanol y en otros disolventes orgánicos, la pectina se usa principalmente en productos alimenticios y cosméticos, y en la elaboración de hidrogeles en algunas formas farmacéuticas. Generalmente es no toxica e irritante, aunque la DL_{50} vía subcutánea es de 6.4 g/kg en ratón⁵¹.

Polivinilpirrolidona (pvp)

Características

Es un polímero sintético que consiste principalmente de grupos lineales de 1-vinil-2-pirrolidinona **Fig. 10**, es un polvo blanco, higroscópico, soluble en agua, etanol y cloroformo, de baja viscosidad en solución acuosa, con punto de fusión de aproximadamente 150 °C.

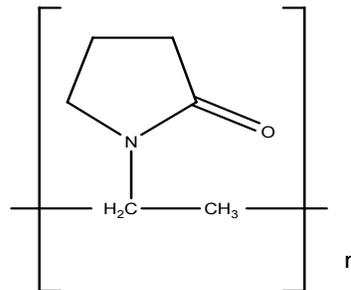


Fig. 10 Estructura de pvp

Se usa en formulaciones farmacéuticas orales, es considerada no toxica por vía oral ya que no se absorbe en el tracto gastrointestinal, aunque se reportan reacciones adversas por inyección intramuscular. La DL_{50} vía intraperitoneal es de 12 g/Kg en ratón⁵¹.

CAPÍTULO

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Realizar la preparación de complejos de inclusión β -ciclodextrina, Albendazol y un promotor que favorezca la solubilidad, velocidad de disolución y absorción del fármaco, para su posible uso en estudios in vivo.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- ✦ Evaluar la interacción entre β -ciclodextrina y Abz por medio de modelado molecular.
- ✦ Evaluar el efecto de β -ciclodextrina y polímeros hidrosolubles sobre la solubilidad del Abz en estudios de solubilidad de fases.
- ✦ Preparar complejos de inclusión β -CD:Abz, en fase sólida por el método de mezcla física y amasado.

OBJETIVOS

- ✦ Preparar formulaciones que contengan β -CD:Abz-polímero, con el fin de evaluar el efecto de los distintos polímeros sobre la formación del complejo de inclusión.
- ✦ Evaluar el efecto de los polímeros hidrosolubles sobre la cantidad de Abz liberado de los complejos de inclusión, por medio de estudios de cinética de disolución.
- ✦ Realizar la caracterización de las formulaciones por medio de calorimetría diferencial de barrido (DSC) y espectroscopía al infrarrojo (IR-FT).

CAPÍTULO 4

PARTE EXPERIMENTAL

1 REACTIVOS

Los reactivos empleados en esta tesis fueron utilizados directamente del contenedor sin purificación previa. Se utilizó: fosfato de sodio monobásico monohidratado (JT.Baker), hidróxido de sodio (JT. Baker), ácido fosfórico (Mallinckrodt), pectina USP (Helm), poli-vinilpirrolidona (pvp k30), hidroxipropilmetilcelulosa (hpmc) y carboximetilcelulosa de sodio (cmc-Na) (Sigma-Aldrich), β -ciclodextrina (Cerestar), el Albendazol fue donado por Smith Kline and Beecham de México, tabletas de Albendazol 200 mg (Zentel, GlaxoSmithKline México) Lote 58011056 y agua destilada.

2 MATERIAL Y EQUIPOS

Material de vidrio de laboratorio, Filtros tipo cartucho 0.45 μ m Durapore de Millipore, baño de agitación con temperatura controlada (Heto-Maxi Shake), potenciómetro (Conductronic pH 120) y baño de recirculado (Haake DC10) Los estudios de Ultravioleta se realizaron en el equipo UV-Visible (Ocean Optics S-2000), la caracterización IR se realizó con el equipo (Bruker), la calorimetría diferencial de barrido (DSC) se realizó en el equipo (Shimatzu modelo DSC-60). La simulación de los complejos de inclusión se realizó con el programa Hyperchem 7.0. Los datos obtenidos fueron tratados con los programas Origin 7.0 y Excel 2003.

3 METODOLOGIA

3.1 Estudios de mecánica molecular

Con el fin de evaluar la interacción entre las moléculas de Abz y de la β -CD, efectuar un estudio teórico de mecánica molecular con el programa Hyperchem 7. Con los siguientes parámetros: un gradiente RMS de 0.01 kcal/(Åmol), el algoritmo usado es Polar-Ribiere, en condiciones de vacío. La mecánica molecular es un método que utiliza a la mecánica clásica para determinar la estructura de una molécula y algunas de sus propiedades. Y la cual considera que los átomos interaccionan unos con otros y describe estas interacciones con una serie de funciones analíticas¹⁰⁹⁻¹¹².

3.2 Preparación de curva de calibración

Preparar una solución stock de Abz en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.5, cuya concentración sea de 2.65×10^{-2} g/L. A partir de la solución stock antes preparada se toma las alícuotas correspondientes para obtener las siguientes concentraciones de Abz, 7.95×10^{-4} , 1.33×10^{-3} , 1.86×10^{-3} , 2.65×10^{-3} , 5.30×10^{-3} , 7.95×10^{-3} , 1.06×10^{-2} , 1.33×10^{-2} , 1.59×10^{-2} , 1.86×10^{-2} , 2.12×10^{-2} , 2.39×10^{-2} , 2.65×10^{-2} g/L. Leer a una longitud de onda entre 290-310 nm, que es la región de máxima absorbancia que presenta el Abz .

3.3 Estudios de solubilidad de fases

3.3.1 Sistema β -CD y Abz

1. Preparar 50 mL de disolución de β -CD en solución amortiguadora de fosfatos, con las concentraciones que se muestran en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Concentraciones de β -CD en solución amortiguadora de fosfatos

Concentración de β -CD (g/L)
0
3.7
7.4
11.1
14.8
18.5

2. Tomar una alícuota de 5 mL de cada una de las diferentes disoluciones y llevarla a un tubo de ensayo (realizar esta operación por cuadruplicado) y adicionar 0.1g de Abz a cada tubo.
3. Agitar los tubos a 200 rpm durante 7 días a una temperatura controlada de 25°C
4. Pasado este tiempo filtrar el contenido de los tubos por medio de una membrana millipore de 45 μ m
5. Cuantificar la cantidad de Abz por medio de espectroscopia de UV respecto a la curva de calibración antes preparada

3.3.2 Sistema Polímeros y Abz

Con el fin de evaluar el efecto de los polímeros hidrosolubles sobre la solubilidad del Abz, se preparan disoluciones con los distintos polímeros en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.5, en relación peso/volumen, como se observa en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Concentraciones de polímeros para realizar estudios de solubilidad de fase de sistema polímero-Abz

Concentraciones de trabajo de polímero en relación % p/v

pvp k30	cmc-Na	hpmc	pectina USP
0.2	0.1	0.05	0.1
0.4	0.2	0.10	0.2
0.6	0.3	0.15	0.3
0.8	0.4	0.20	0.4
1.0	0.5	0.25	0.5
1.2	0.6	0.30	0.6
1.4	0.7	0.35	0.7
1.6	0.8	0.40	0.8
1.8	0.9	0.45	0.9
2.0	1.0	0.50	1.0

Una vez que se tienen las disoluciones de los diferentes polímeros realizar los mismos pasos del punto **3.3.1**, a partir del punto número 2.

3.3.3 Sistema Polímero β -CD:Abz

1. Preparar disoluciones de los diferentes polímeros hidrosolubles, de la misma manera como se muestra en la **Tabla 4**.
2. Tomar una alícuota de 5 mL de cada una de las diferentes disoluciones y llevarla a un tubo de ensayo (realizar esta operación por cuadruplicado) y adicionar a cada tubo 0.162 g de β -CD y 0.038 g de Abz.
3. Agitar los tubos a 200 rpm durante 7 días a una temperatura controlada de 25°C
4. Pasado este tiempo filtrar el contenido de los tubos por medio de una membrana millipore de 45 μ m
5. Cuantificar la cantidad de Abz, por medio de espectroscopia de UV respecto a la curva de calibración antes preparada

3.4 Preparación de complejos de inclusión (β -CD:Abz)

Preparar por dos métodos diferentes los cuales son mezcla física y amasado en relación 1:1 molar de β -CD y Albendazol.

3.4.1 Mezcla física

La mezcla β -CD-Abz se realiza en relación 1:1 molar, con base en las siguientes consideraciones: La masa molecular de la β -CD es 1135 g/mol y la masa molecular del Abz es 265 g/mol, la suma de un mol de β -CD y una mol de Abz es 1400 g/mol, cada componente representa aproximadamente el 81% y 19% respectivamente, en relación peso/peso (p/p). Para preparar 14 g de mezcla física en una proporción 1:1 molar de β -CD:Abz, pesar 11.34 g de β -CD y 2.66 g de Abz tamizados por malla 250 μ m. Una vez pesadas las cantidades requeridas, se lleva a un mezclador de polvos, adicionando primero la β -CD y posteriormente el Abz. Mezclar durante 15 min, después transferir el complejo a un frasco de vidrio, secar a 100 °C por 3 h. Etiquetar como (mf1:1) y mantener cerrado hasta su posterior uso y caracterización.

3.4.2 Amasado

Tamizar β -CD y Abz previamente por malla 250 μ m. Pesar 11.34 g de β -CD y llevar a un mortero limpio, posteriormente adicionar poco a poco agua destilada y mezclar a manera de formar una pasta. Después adicionar 2.66 g de Abz y se mezclar hasta obtener una pasta homogénea. Posteriormente secar por 3 h a 100 °C, una vez seco se tamiza por malla 250 μ m y etiquetar como (am1:1), guardar en un frasco de vidrio hasta su posterior uso y caracterización.

3.5 Preparación de formulaciones con diferentes proporciones de polímero

3.5.1 Preparación por medio de mezcla física

Tomar la cantidad del complejo (mf1:1) preparado en el punto 3.4.1 y de acuerdo a la **Tabla 5** adicionar la cantidad correspondiente de los polímeros hidrosolubles (cmc-Na, hpmc, pectina y pvp k30).

Tabla 5. Cantidades para la elaboración de formulaciones (β -CD:Abz, polímero) por mezcla física

Cantidad de complejo β -CD:Abz 1:1 (mf1:1) (g)	Cantidad de polímero (g)	Cantidad de la formulación (g)	% de polímero en cada formulación p/p
0.975	0.025	1	2.5
0.950	0.050	1	5.0
0.900	0.100	1	10
0.800	0.200	1	20
0.700	0.300	1	30

Después de pesar cada una de las cantidades de complejo mf1:1 y de los distintos polímeros, colocar en un frasco pequeño y mezclar manualmente durante 15 min. Secar la formulación a 100 °C durante 3 h, guardar las formulaciones en frascos cerrados hasta su posterior uso y caracterización.

3.5.2 Preparación por medio de la técnica de amasado.

Tomar la cantidad del complejo (am1:1) preparado en el punto 3.4.2 de acuerdo a la **Tabla 6.**

Tabla 6. Cantidades para la elaboración de formulaciones (β -CD:Abz, polímero) por amasado

Cantidad de complejo β -CD:Abz 1:1 (am1:1) (g)	Cantidad de polímero (g)	Cantidad de la formulación (g)	% de polímero en cada formulación p/p
0.975	0.025	1	2.5
0.950	0.050	1	5.0
0.900	0.100	1	10
0.800	0.200	1	20
0.700	0.300	1	30

Llevar la cantidad de am1:1 a un mortero limpio e hidratar con agua destilada, hasta formar una pasta, posteriormente adicionar la cantidad correspondiente de polímero para cada una de las formulaciones. Secar durante 3 h a 100 °C y tamizar por medio de una malla 250 μ m, posteriormente guardar cada una de las formulaciones en frasco cerrados hasta su uso y caracterización.

Nota: Con el fin de identificarlas cada formulación, se denotan con las iniciales (mf) para mezclas físicas y (am) para los amasados, se incluye la inicial del tipo de polímero usado (cmc-Na (c), hpmc (h), pectina (p) y pvp (pv)) y el porcentaje de polímero en cada formulación. Por ejemplo *mf-c-2.5* es la formulación preparada por mezcla física que contiene 2.5% de cmc-Na en la formulación.

3.6 Cinéticas de disolución

Se emplea un método no farmacopéico, el cual consiste evaluar la velocidad de disolución del Abz de cada una de las formulaciones. Para lo cual se monta un sistema, el cual usa la celda de cuarzo sirve como contenedor, en el cual se adicionan 2 mL de solución amortiguadora de fosfatos pH 7.5 como medio de disolución, a temperatura de 37°C y agitación constante. La cantidad de Abz evaluado es 4×10^{-4} g o su equivalente de cada una de las formulaciones. Tomar la absorbancia cada 2 min a 300nm de longitud de onda en el equipo UV (Ocean Optics). y cuantificar la cantidad de fármaco disuelto con respecto a la curva de calibración.

3.7 Caracterización

Realizar la caracterización de las formulaciones que logren solubilizar una mayor cantidad de Abz. Así como de cada uno de los componentes de las formulaciones.

3.7.1 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Colocar en la charola de aluminio 1 mg de la formulación a analizar. Y se realiza la caracterización bajo las siguientes condiciones: temperatura inicial de 30 °C y una temperatura final de 300 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min y flujo de N₂. analizar los datos con el programa Origin 7.0.

3.7.2 Caracterización por espectroscopia de Infrarrojo (IR)

Secar las muestras que van a ser analizadas a 100°C por 1 h. Posteriormente se realizar una dispersión al 5% de muestra en KBr y leer en un espectrofotómetro

PARTE EXPERIMENTAL

FT/IR Bruker Vector 22, en un intervalo de 4000-400 cm^{-1} . Analizar los resultados con el programa Origin 7.0.

CAPÍTULO

5

RESULTADOS Y DISCUSION

1 MECÁNICA MOLECULAR

La mecánica molecular nos permite conocer la localización de la molécula huésped con respecto a la β -CD, en este estudio se consideraron varias opciones de entrada y acomodo del Abz dentro de la cavidad de la β -CD. Siendo la interacción más estable aquella que se logra después de correr la optimización geométrica entre β -CD y Abz, se observó que la formación del complejo esta energéticamente favorecida cuando el Abz entra a la cavidad de la β -CD por el borde más amplio en la cual se encuentran los grupos hidroxilo secundarios^{31, 35}, de tal manera que la porción carbamato del Abz entra primero y se acomoda en la cavidad de la β -CD, quedando parcialmente fuera la porción tiopropilo como se observa en la **Fig. 11a**.

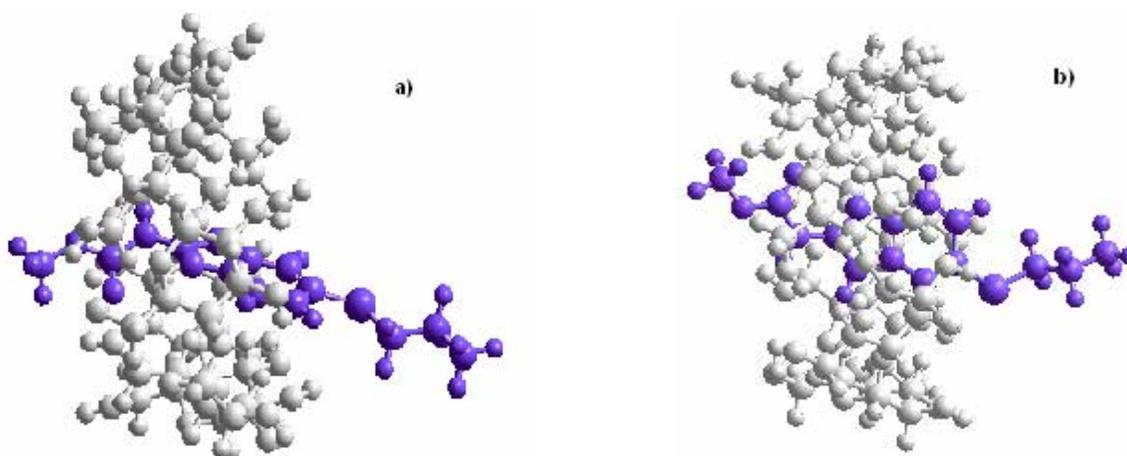


Fig.11 Localización de la molécula de Abz incluida dentro de la β -CD

La otra opción **Fig. 11b** de acomodo del Abz dentro de la cavidad de la β -CD, es cuando le entrada la hace primero la porción del tiopropil de la molécula, también por la parte de los grupos hidroxilo secundarios de la β -CD, esta segunda propuesta presenta el acomodo del Abz de manera diagonal, respecto la cavidad de la β -CD, de tal manera que la parte del carbamato permanece cerca de los grupos hidroxilo secundarios. Debido a los resultados anteriores, podemos observar que es la porción del carbamato del Abz, la que interacciona con la β -CD logrando un complejo soluble en agua.

2 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA CUANTIFICAR LA CANTIDAD DE ALBENDAZOL

Los resultados de la curva de calibración aparecen en la **Fig. 12**, la cual muestra un coeficiente de correlación $r^2=0.9972$ y una buena linealidad entre la concentración de Abz y la absorbencia a $\lambda=300$ nm, y un C.V= 0.1479. Ya que la absorbencia es directamente proporcional a la cantidad de Abz disuelto, se realiza la cuantificación para todos los experimentos de solubilidad de fases y liberación a esta longitud de onda, tomando en cuenta esta curva de calibración.

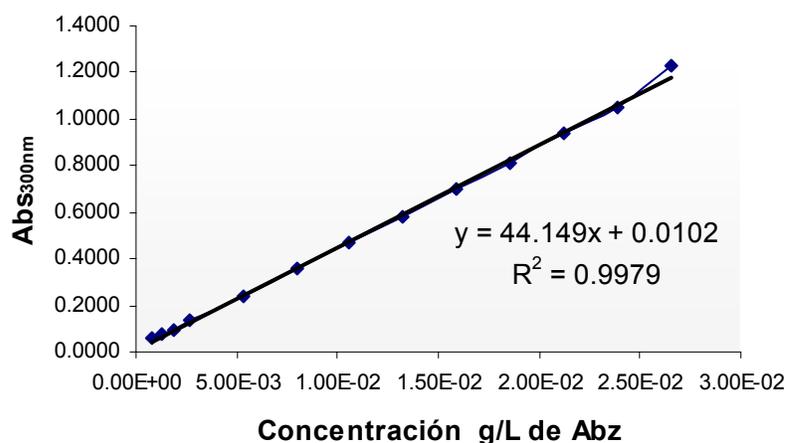


Fig. 12 Curva de calibración

3 Estudios de Solubilidad de fase

3.1 Sistema β -CD y Abz

Cuando se preparan disoluciones en medio acuoso, en las cuales se conoce la concentración de β -CD y a la cual se adiciona un exceso de una molécula hidrófoba como el Abz. Se observa, que la presencia de la β -CD favorece la solubilidad del Abz en el medio acuosos y que esta concentración de fármaco disuelto es dependiente de la concentración de β -CD presente en el medio de disolución, como se observa en la **Fig. 13** al aumentar la cantidad de β -CD en el medio aumenta la cantidad de Abz disuelto y se obtiene un perfil con una tendencia lineal tipo (A) según Higuchi-Connors³⁹, que nos sugiere la formación de un complejo soluble entre el anfitrión (β -CD) y el huésped (Abz), este último depende como ya se mencionó directamente de la cantidad de β -CD en el medio de disolución. Sin embargo la β -CD presenta una baja solubilidad en agua 1.85 g/100mL, esto limita la cantidad de Abz que puede ser disuelto, por lo que con una concentración de β -CD de de agua, o en este caso en solución amortiguadora, solo se logra disolver una concentración de 4.68×10^{-3} g/L de Abz, lo cual representa un aumento de aproximadamente diez veces la solubilidad intrínseca del Abz que es de 4.83×10^{-4} g/L, no obstante este aumento es todavía bajo por lo que el solo uso de β -CD es insuficiente para lograr una mayor cantidad de Abz disuelto.

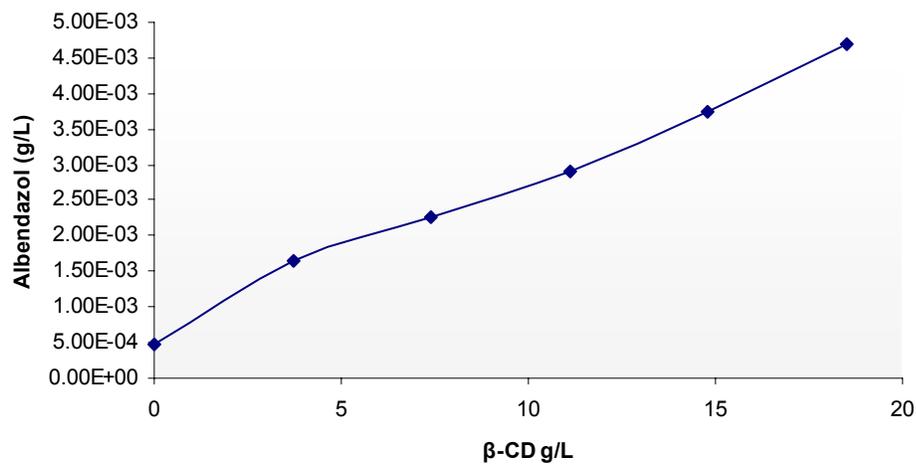


Fig. 13 Diagrama de solubilidad de fase del efecto de la β -CD sobre la solubilidad del Abz

3.2 Sistema Polímero y Abz

Los siguientes diagramas de solubilidad de fase, muestran el efecto de los polímeros sobre la solubilidad del Abz. El aumento de la concentración del polímero en el medio de disolución permite que una mayor concentración de Abz sea disuelta **Fig.14**. Los diagramas de solubilidad de fases de polímeros muestran una relación lineal y la cantidad de Abz disuelto depende directamente de la cantidad de polímero presente en el medio de disolución, en el cual podemos ordenar de manera descendente la capacidad de los polímeros sobre la solubilidad del Abz como sigue: pectina>pvp k30>hpmc~cmc-Na.

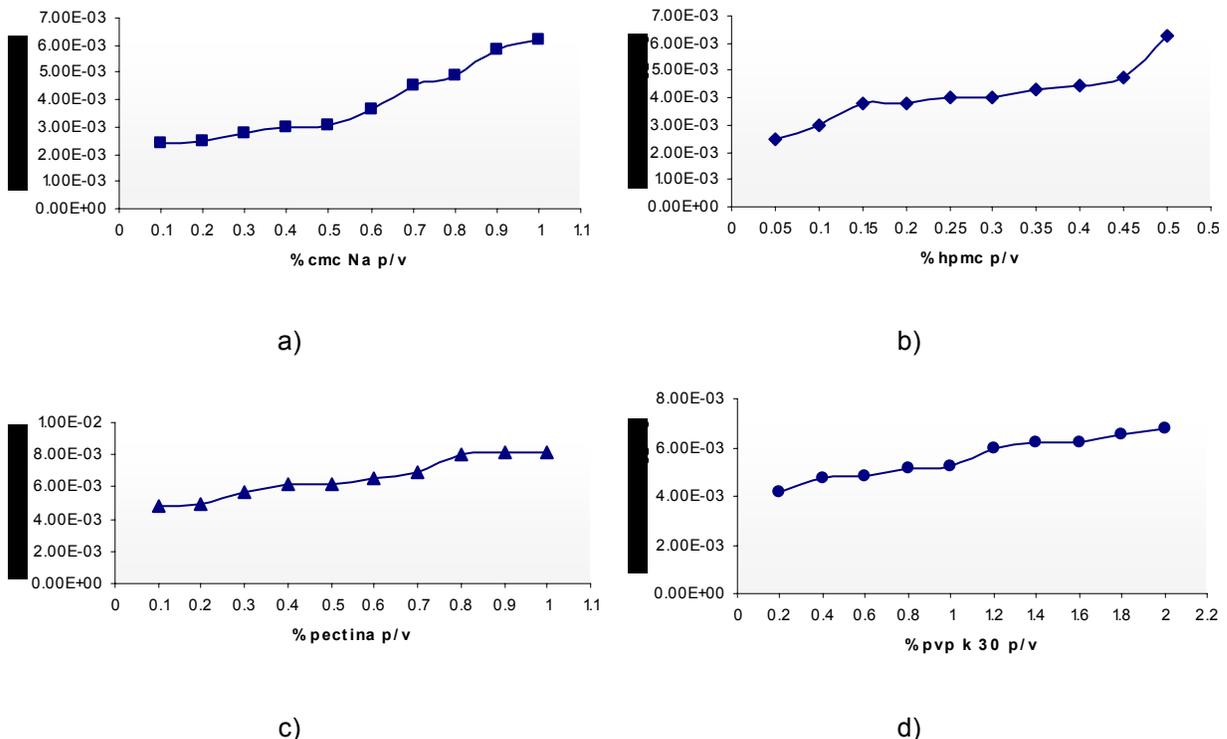


Fig. 14 Efecto de la cantidad de polímero en solución sobre solubilidad del Abz a) sistema cmc-Na, b) sistema hpmc, c) sistema pectina, d) sistema pvp k30

El aumento de la solubilidad de Abz es atribuido a un cambio en la polaridad del medio por parte de los polímeros, este aumento en la solubilidad del Abz por parte de los polímeros hidrosolubles permite que una mayor cantidad de fármaco llegue al sitio de absorción, mejorando de esta forma la biodisponibilidad⁸⁷.

3.3 Sistema Polímero β -CD :Abz

En este estudio la solubilidad de fase **Fig. 15**, se observa que una mayor cantidad de Abz es disuelto con respecto al estudio que se describe en el punto 3.2, ya que además de la presencia de β -CD, la cantidad de los distintos polímeros hidrosolubles promueven una mayor cantidad de Abz disuelto, cabe mencionar que la β -CD interacciona con el Abz formando complejos de inclusión soluble, por otra parte la adición del polímero cambia la polaridad del medio, favoreciendo que mayor cantidad de Abz sea disuelto. El polímero también es capaz de mejorar la complejación entre la β -CD y el Abz, por la disminución de la rigidez del anillo de la β -CD facilitando la entrada del fármaco, de manera tal, que la cantidad de Abz disuelta es mayor cuando cierta cantidad de polímero y β -CD esta presentes en el medio. En cuanto a los diagramas de solubilidad conservan una tendencia lineal, este comportamiento indica que ni el polímero ni la β -CD interfieren el uno con el otro sobre la solubilidad del Abz. En este estudio observamos que la pectina y pvp k30 promueven una mayor solubilidad del Abz que cmc-Na e hpmc

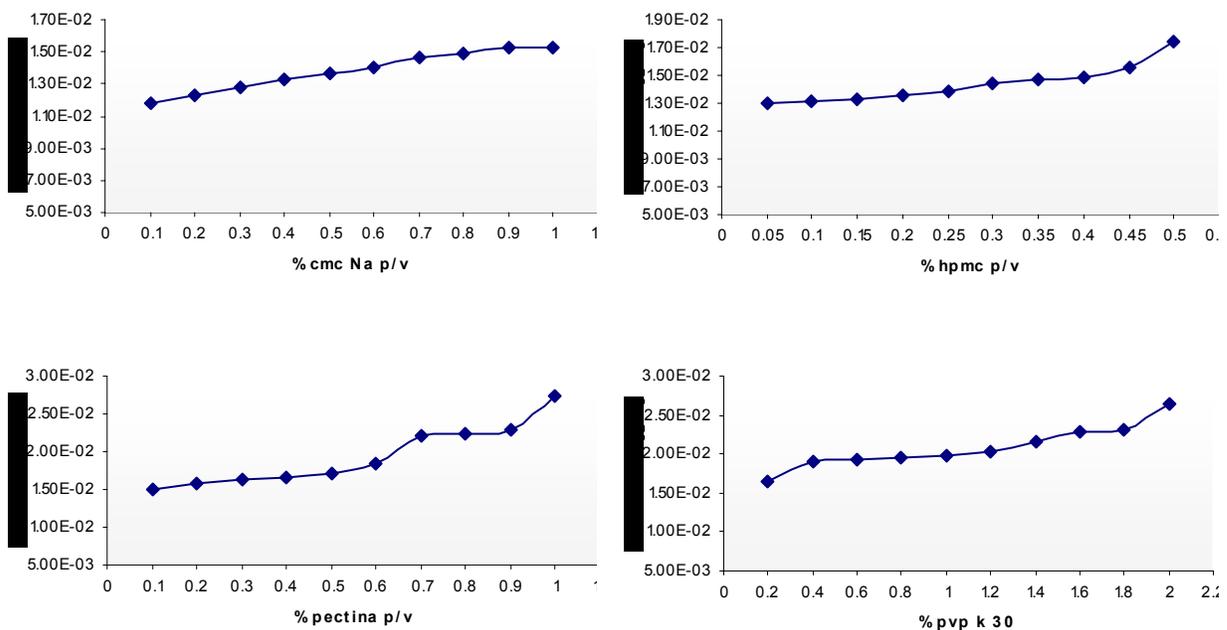


Fig. 15 Efecto de la cantidad de polímero en solución sobre solubilidad del Abz en presencia de β -CD
a) sistema cmc-Na, b) sistema hpmc, c) sistema pectina, d) sistema pvp K30

4 CINÉTICAS DE DISOLUCIÓN

En la **Fig. 16** se presenta la cinética de liberación de am1:1 y mf1:1, los cuales son comparados contra la cinética de disolución del Zentel medicamento utilizado en el tratamiento de la neurocisticercosis, así mismo se evalúa la cinética de disolución del Abz solo en solución amortiguador de fosfatos pH 7.5, el cual muestra una cinética de de orden cero, de tal manera que debido a su poca solubilidad y después de 1 h, no se logra alcanzar una buena cantidad del Abz disuelto. Por otro lado mf1:1 también presenta una baja cantidad de Abz disuelto debido a que la formación del complejo de inclusión β -CD:Abz es deficiente, por lo mf1:1 tiene el mismo perfil de disolución de orden cero que el Abz solo y no mejora de manera significativa la cantidad de Abz disuelto. am1:1 presenta un aumento en la disolución de Abz respecto al Abz solo y a Zentel, el perfil de disolución es de primer orden, alcanzando un máximo de Abz disuelto a los 10 min.

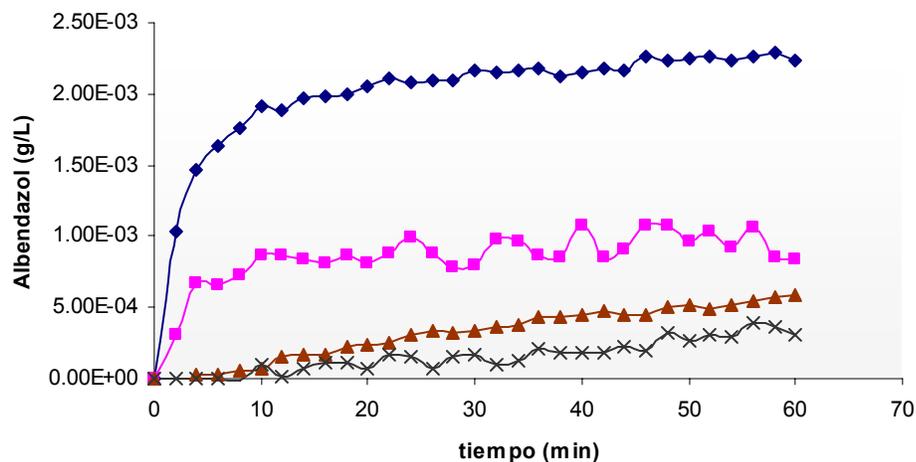


Fig. 16 Comparativo de las disoluciones de Abz(x), mf1:1(▲), Zentel (■) y am1:1(◆)

4.1 Mezclas físicas

Cuando se evalúan las formulaciones preparadas con cmc-Na: mf-c-2.5, mf-c-5, mf-c-10, mf-c-20 y mf-c-30 **Fig. 17**. Se observa que las cinéticas de disolución de estas formulaciones que contienen cmc-Na preparadas por mezclado, se comportan de

manera parecida a la cinética de disolución de mf1:1 y como se observa se tienen perfiles de disolución de orden cero con baja cantidad de Abz disuelto, con excepción de mf-c-30 la cual presenta un cambio en el perfil de disolución y llegar a un máximo de Abz disuelto los 20 min. Aproximadamente, cuando la cantidad de cmc-Na es menor a 20% presente en la formulación se presenta una disolución lenta y poco eficaz.

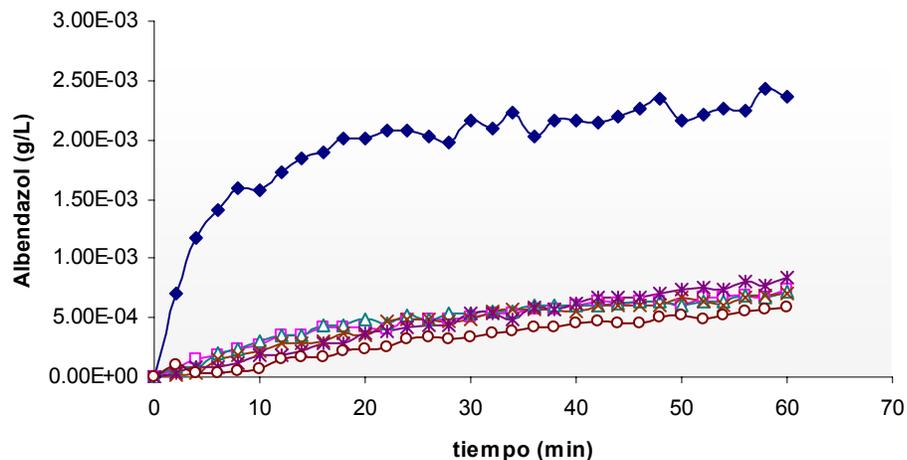


Fig. 17 Perfiles de disolución del sistema β -CD:Abz:cmc-Na, mf1:1(\circ), mf-c-2.5(\ast), mf-c-5(\triangle), mf-c-10(∇), mf-c-20(\square), mf-c-30(\blacklozenge).

Un comportamiento similar a las formulaciones preparadas con cmc-Na en los perfiles de disolución se presentan en las mezclas físicas que contienen hpmc: mf-h-2.5, mf-h-5, mf-h-10, mf-h-20 y mf-h-30 **Fig. 18**, estas mezclas físicas con excepción de mf-h-30 no logran mejorar la cantidad de Abz disuelto de mf1:1 y es solo cuando un 30 % de hpmc presente en la formulación, que se alcanza una mayor cantidad de Abz disuelta, al mismo tiempo mf-h-30 sigue una cinética de primer orden y alcanza un máximo de Abz liberado también a los 20 min.

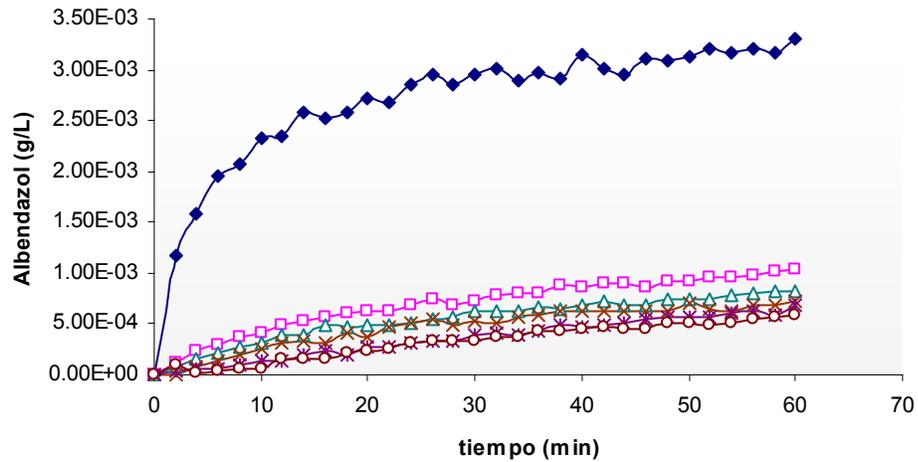


Fig. 18 Perfiles de disolución del sistema β -CD:Abz:hpmc, mf1:1(\circ),mf -h-2.5(\times), mf -h-5(\times), mf -h-10(Δ), mf -h-20(\square),mf -h-30(\blacklozenge).

En las formulaciones que contienen pectina **Fig. 19**, no se presenta una mejora en cuanto a la velocidad de disolución para mf-p-2.5, mf-p-5, y mf-p-10y mf-p-20, y presentan una pendiente muy similar a la de mf1:1, así que a estas proporciones de pectina contenida en cada una de las formulaciones menores al 30% de pectina el polímero no es capaz de que una mayor cantidad de Abz sea disuelto, solo mf-p-30 logra el objetivo, alcanzando un máximo de la concentración de Abz a los 10 min. y el perfil es de primer orden.

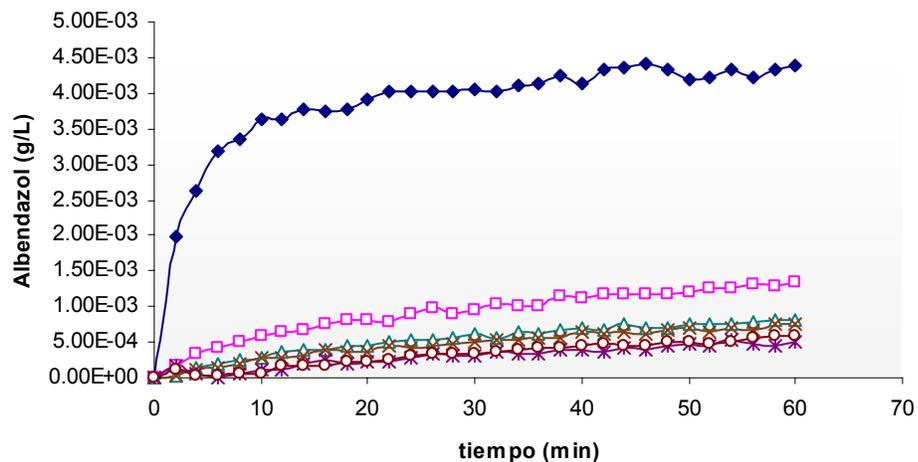


Fig. 19 perfiles de disolución del sistema β -CD:Abz:pectina, mf 1:1(\circ),mf -p-2.5(\times), mf -p-5(\times), mf -p-10(Δ), mf -p-20(\square),mf -p-30(\blacklozenge).

En las formulaciones preparadas por mezcla física con pvp k30 **Fig. 20**, se observa que mf-pv-2.5, mf-pv-5, mf-pv-10 y mf-pv-20 no mejoran la velocidad de disolución ya que no presentan una diferencia significativa con relación a mf1:1, a estas cantidades el polímero no resulta favorecer la velocidad de disolución del Abz, e igual que los sistemas anteriores, solo se logra una mejora cuando la cantidad de pvp k30 se haya presente en un 30% en la formulación, dicha cantidad de polímero logra que se alcance el máximo de disolución al 8 min, la mayor velocidad en comparación con las otras mezclas físicas.

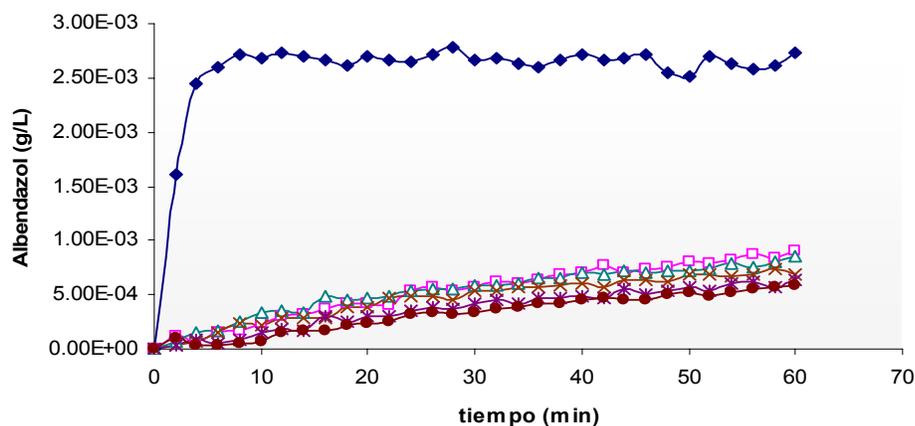


Fig. 20 Perfiles de disolución del sistema β -CD:Abz:pvp k30, mf1:1(\circ),mf -pv-2.5(\times), mf -pv-5(\ast), mf -pv-10(Δ), mf -pv-20(\square),mf -pv-30(\blacklozenge).

En general la baja solubilidad del Abz de las mezclas físicas se atribuye al mismo método de preparación, el cual es solo un mezclado de polvos el cual resulta deficiente para que β -CD y Abz interaccionen formando el complejo de inclusión, además y por lo cual al momento de disolverse cada uno de los compuestos lo hace por separado y a diferentes velocidades. Es también evidente que la disolución del Abz en este sistema de mezclas físicas depende de la misma solubilidad del polímero, como podemos observar mf-p-30 y mf-pv-30 logran aumentar la velocidad de disolución esto debido a que pectina y pvp k30 se disuelven más rápido que cmc-Na e hpmc.

4.2 Amasados

En la **Fig.21** se muestra el sistema de formulaciones preparadas por amasado que contienen cmc-Na: am-c-2.5 y am-c-5 no presentan una cantidad de Abz disuelto respecto a am1:1. am-c-10, am-c-20 y am-c-30 logran una mayor cantidad de Abz disuelto, de la misma manera la velocidad de disolución aumenta con respecto a las mezclas físicas homologas, solo cabe mencionar que am-c-30 tiene una liberación más lenta, esto debido a que el mismo polímero, retrasa la liberación del Abz en el medio de disolución.

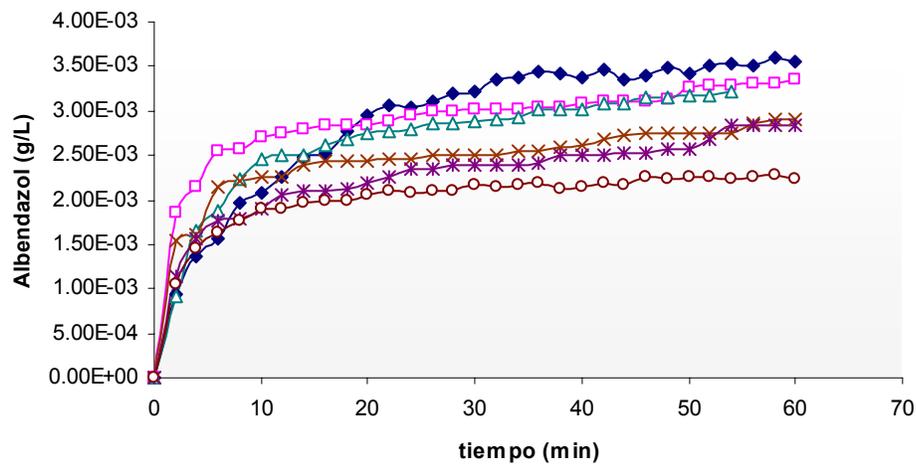


Fig. 21 Perfiles de disolución del sistema β -CD:Abz:cmc-Na, am1:1(○), am-c-2.5(✕), am-c-5(✱), am-c-10(△), am-c-20(□), am-c-30(◆)

En el sistema de amasados con hpmc **Fig. 22** se logra obtener mayor cantidad de Abz disuelto en las formulaciones que contienen de 10 a 30 % de hpmc, siendo am-h-20 y am-h-30 las que presentan una mayor cantidad de Abz disuelta, en comparación con am1:1, también se observa que se logra alcanzar una concentración máxima de Abz a los 10 min para la mayoría de las formulaciones de este sistema.

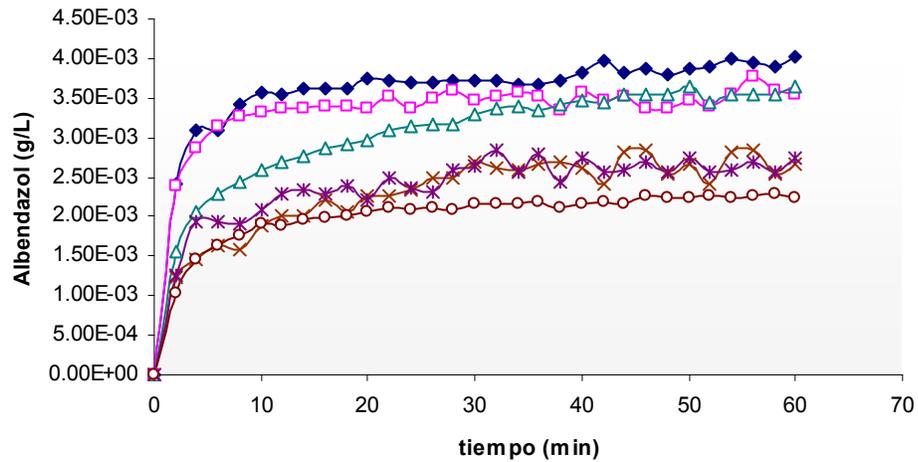


Fig. 22 Perfiles de disolución del sistema β -CD:Abz:hpmc, am1:1(\circ), am-h-2.5(\times), am-h-5(\times), am-h-10(Δ), am-h-20(\square), am-h-30(\blacklozenge).

La pectina resulta ser un buen promotor de la velocidad de disolución cuando las concentraciones de pectina en la formulación son altas como se muestra en la **Fig. 23** donde am-p-20 y am-p-30 logran una mayor cantidad de Abz disuelto con respecto al tiempo y los perfiles se ajustan a cinéticas de primer orden, y las formulaciones am-p-2.5, am-p-5 y am-p-10 no son significativamente mejores que solo am1:1, en este sistema se alcanza un máximo de Abz disuelto a los 10 min. Cabe mencionar que am-p-30 logra una mayor cantidad de fármaco disuelto, incluso la obtenida por Zentel.

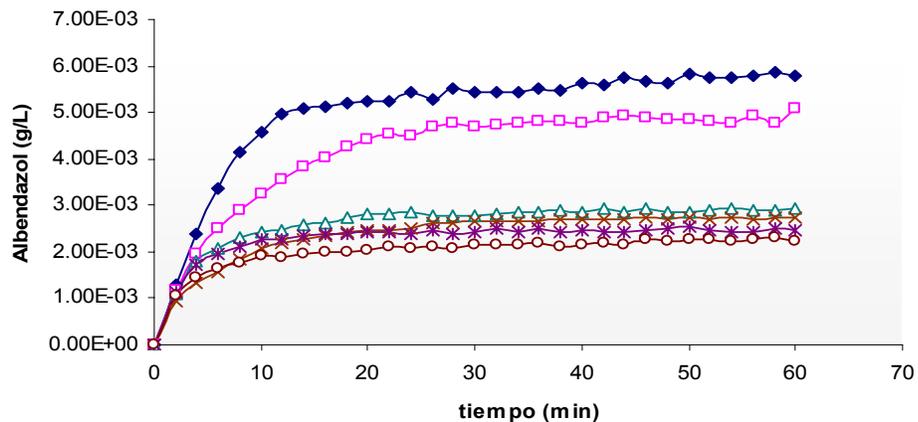


Fig. 23 Perfiles de disolución del sistema β -CD:Abz:pec, am1:1(\circ), am-p-2.5(\times), am-p-5(\times), am-p-10(Δ), am-p-20(\square), am-p-30(\blacklozenge).

En la **Fig. 24**, se muestra el sistema de amasados, los cuales contiene pvp k30 en diferentes proporciones, en comparación con los demás polímeros, pvp k30 logra un claro aumento en la velocidad de disolución de Abz respecto a am1:1, como podemos observar en este sistema se llega a una concentración máxima de Abz disuelto a los 8 min., siendo am-pv-30 la que presenta mayor cantidad de Abz disuelto.

Como es posible observar se obtiene un aumento en la solubilidad de Abz de los amasados respecto a las mezclas físicas homologas, debido a que durante el proceso de amasado se aplica mas energía al sistema, por lo que se favorece de esta manera la formación del complejo β -CD:Abz.

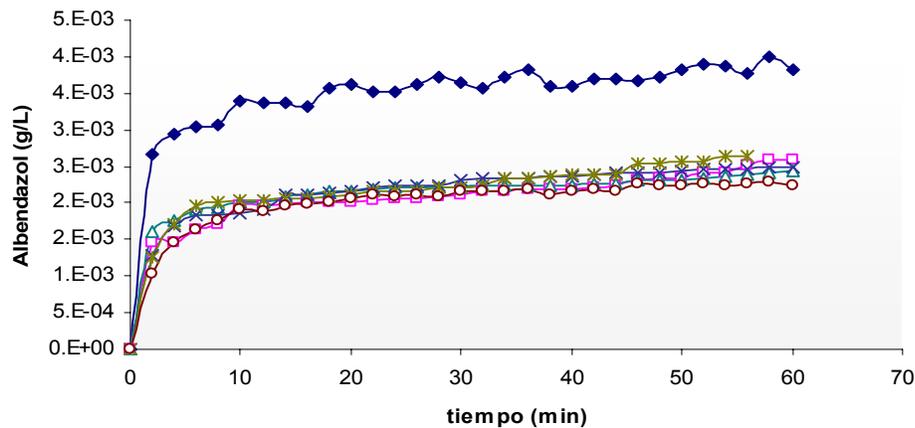


Fig. 24 Perfiles de disolución del sistema β -CD:Abz:pvp k30, am1:1(\circ), am-pv-2.5(\ast), am-pv-5(x), am-pv-10(Δ), am-pv-20(\square), am-pv-30(\blacklozenge).

5 CARACTERIZACIÓN

5.1 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Estudios de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se llevaron a cabo con el fin de evaluar la formación de complejo β -CD:Abz y el efecto de los polímeros sobre este complejo.

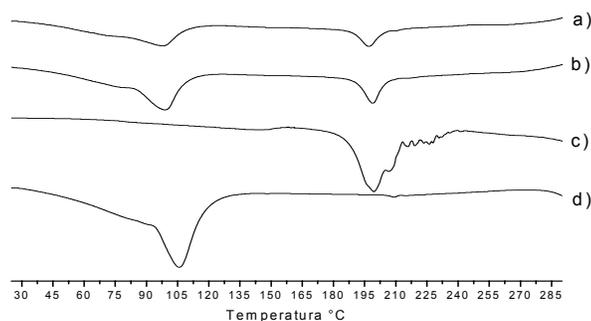


Fig. 25 Termogramas correspondientes a las muestras a) am1:1, b) mf 1:1, c) Abz1 y d) β -CD

En la **Fig. 25** se observa el termograma de β -CD, el cual presenta un pico endotérmico a 105 °C el cual se atribuye a la evaporación de agua. El Abz muestra un pico 200 °C que corresponde al punto de fusión del Abz, mientras los pequeños se deben a impurezas, por otro lado, mf1:1 y am1:1 presentan una menor área bajo la curva del pico endotérmico correspondiente al Abz a 200 °C, siendo mas pequeño en am1:1, lo cual nos muestra que el Abz esta siendo complejado dentro de β -CD.

DSC Mezclas físicas

En la **Fig. 26** se muestra el termograma de am-c-30 con un pico endotérmico a 200 °C, el cual no presenta una gran diferencia con respecto a mf1:1, esto debido a que el polímero no logra favorecer la complejación entre β -CD:Abz, sin embargo si mezclamos solo Abz con cmc-Na obtenemos un termograma en el cual se muestra que el polímero es capaz de disminuir el punto de fusión del Abz, esto debido a que el polímero actúa sobre la estructura del Abz disminuyendo la cristalinidad de este, por otro lado el termograma de cmc-Na sola y una mezcla con β -CD no proporcionan picos en un intervalo de temperatura entre 120 y 270 °C que interfieran con el pico típico para Abz que aparece a 200 °C.

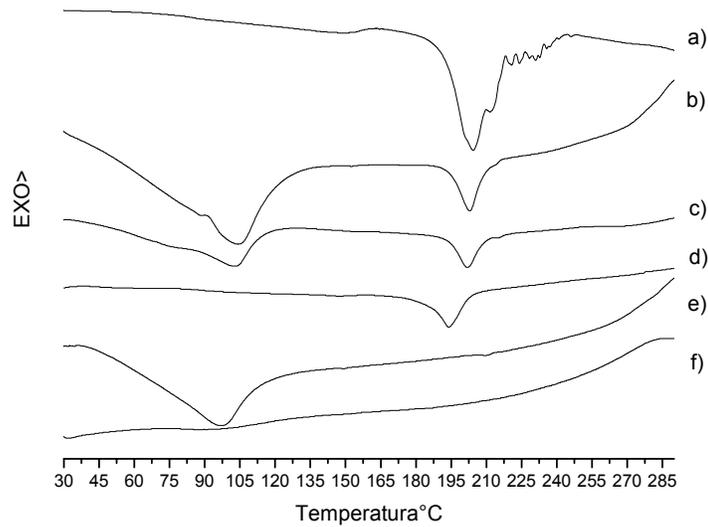


Fig. 26 Termogramas correspondientes a las muestras: a) Abz, b) mf1:1, c) mf-c-30, d) Abz-cmc-Na, e) β -CD- cmc-Na, f) cmc-Na

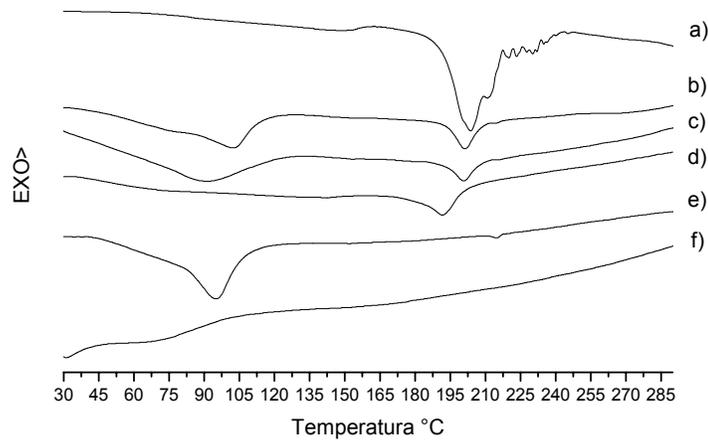


Fig. 27 Termogramas correspondientes a las muestras: a) Abz, b) mf1:1, c) mf-h-30, d) Abz-hpmc, e) β -CD-hpmc, f) hpmc

Cuando se comparan el termograma de la formulación mf1:1 en **Fig.27**, con respecto al termograma del Abz solo, se observa una disminución en el área bajo la curva lo

que indica que la molécula de Abz esta siendo complejada dentro de la β -CD, cuando hpmc esta presente no se mejora el complejo y el termograma de mf-h-30 es similar al de mf1:1. Por otro lado, hpmc por si solo abate la temperatura de fusión del Abz a 195 °C, lo que puede contribuir en la solubilidad del Abz además de la formación del complejo con la β -CD.

En la **Fig. 28** se muestran el termograma de mf-p-30 el cual es similar a mf1:1 con un pico endotérmico a 200 °C el cual presenta un área bajo la curva menor que el termograma de Abz solo.

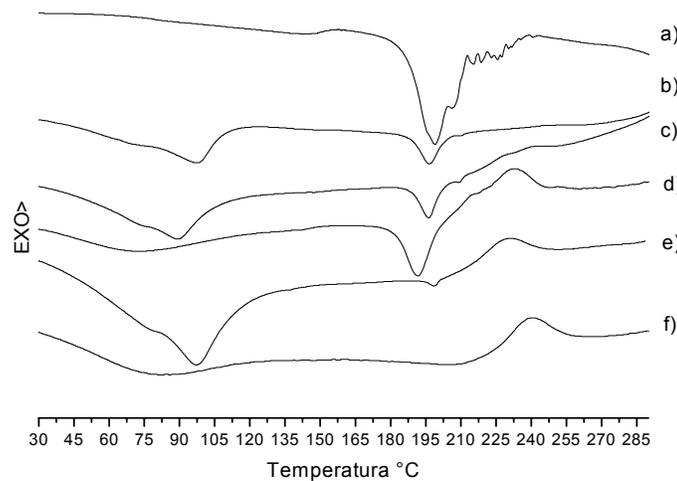


Fig. 28 Termogramas correspondientes a las muestras: a) Abz, b) mf1:1, c) mf-p-30, d) Abz-pectina, e) β -CD-pectina, f) pectina

De igual manera que en los casos anteriores la pectina no logra tener efecto sobre el complejo de inclusión y el termograma de mf-p-30, no presenta diferencia respecto a mf1:1, por otro lado pectina en una mezcla con Abz logra abatir el punto de fusión a 197 °C disminuyendo la cristalinidad del Abz, los termogramas para pectina y una mezcla con β -CD también se muestra y se observa que o existen pico a 200 °C que puedan interferir con el pico de Abz el cual aparece típicamente e esta temperatura.

La **Fig. 29** muestra el termograma de mf-pv-30, en este caso el polímero si tiene efecto sobre la formación del complejo, ya que el área bajo la curva en mf-pv-30 disminuye respecto al que se observa del termograma de MF1:1. También se presenta disminución del punto de fusión a 194 °C, dicha disminución se debe a la presencia del pvp k30, el cual favorece la formación el complejo entre Abz y β -CD y tiene la capacidad de afectar la cristalinidad del Abz como podemos ver en el termograma de la mezcla de Abz-pvp k30, el polímero logra bajar la temperatura de fusión del Abz a 195 °C, dicha baja en el punto de fusión depende del efecto de pvp k30 sobre la cristalinidad del Abz y β -CD logrando que las molécula sean menos rígidas e interactúan entre ellas para lograr un mejor complejo.

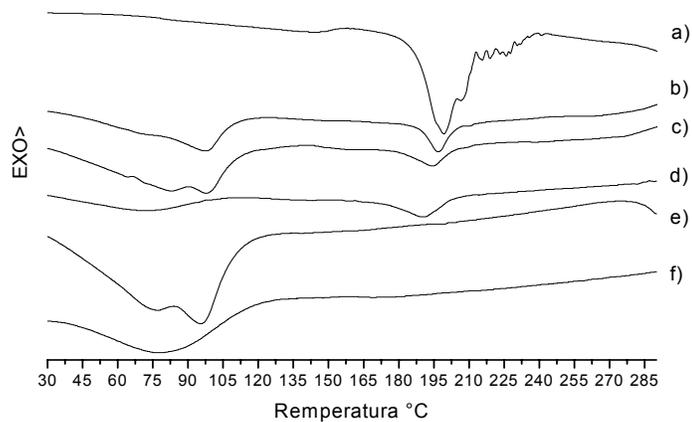


Fig. 29 Termogramas correspondientes a las muestras: a) Abz, b) mf1:1, c) mf-pv-30, d) Abz-pvp k30, e)pvp k30

Por otra parte al analizar los termogramas de las formulaciones preparadas por el método de amasado encontramos evidencia de que esta técnica es mas eficiente para la formación de complejo de inclusión entre el fármaco y la ciclodextrina.

DSC Amasados

En la **Fig. 30** se muestra el termograma correspondiente al amasado am-c-30, presenta menor área bajo la curva comparado con am1:1 indicativo que el Abz esta siendo incluido dentro de la β -CD con más eficiencia, también podemos observar que el punto de fusión disminuye a 197 °C por la presencia de cmc-Na. En tanto de un amasado preparado solo con Abz-cmc-Na también presenta la disminución en el punto de fusión, pero sin la disminución en el área bajo la curva, por lo que cmc-Na solo favorece la inclusión del Abz dentro del β -CD.

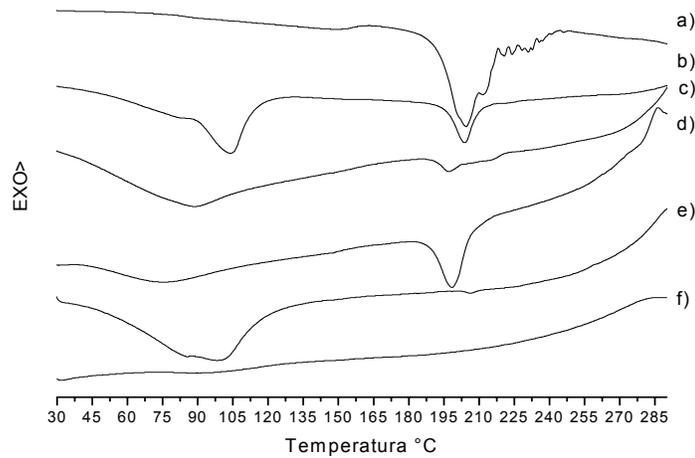


Fig. 30 Termogramas correspondientes a las muestras: a) Abz, b) am1:1, c) am-c-30, d) Abz -cmc-Na, e) β -CD-cmc-Na, e) cmc-Na

En la **Fig. 31** observamos que la hpmc presenta mejora de la complejación del Abz con la ciclodextrina, como se puede apreciar en el termograma correspondiente a am-h-30 donde la disminución del área bajo la curva y la disminución del punto de fusión a 197 °C es reflejo de este fenómeno.

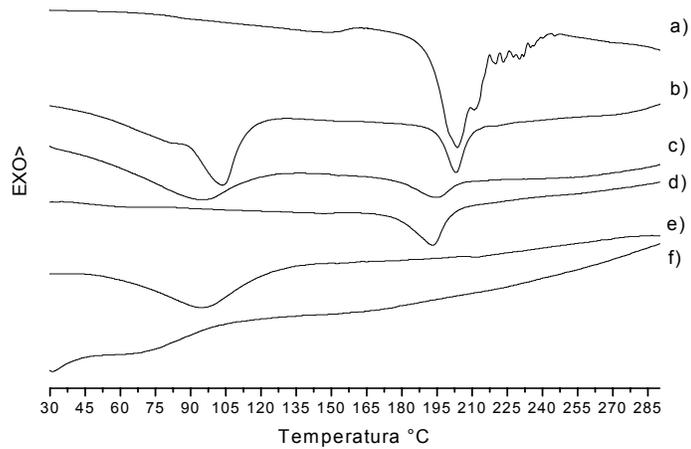


Fig. 31 Termogramas correspondientes a las muestras: a) Abz, b) am1:1, c) am-h-30, d) Abz-hpmc, e) β -CD-hpmc, f) hpmc

El uso de la pectina con el fin de facilitar la interacción del Abz y β -CD, parece lograr mejores resultados, los cuales se observan en la **Fig. 32**, el termograma de am-p-30 presenta una disminuida área bajo la curva, respecto a la am1:1 por lo que la pectina promueve en alto grado la formación del complejo de inclusión cuando se prepara por el método de amasado, en cuanto al efecto sobre el Abz, la pectina logra que el punto de fusión disminuya apareciendo a los 195 °C en el termograma de Abz-pectina.

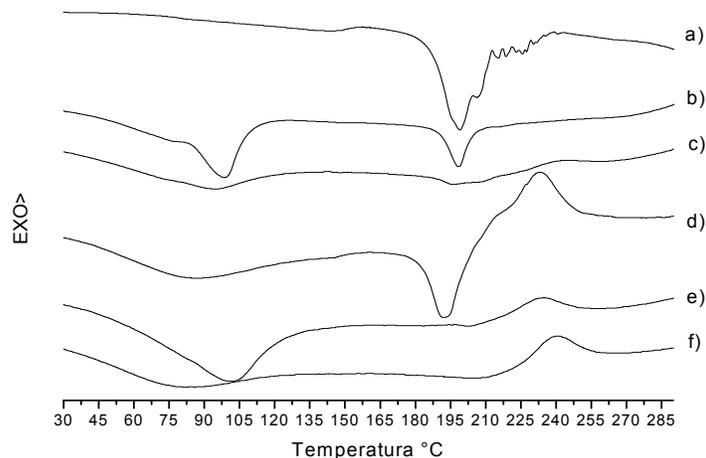


Fig. 32 Termogramas correspondientes a las muestras: a) Abz, b) am1:1, c) am-p-30, d) Abz-pectina, e) β -CD-pectina, f) pectina

Finalmente en la **Fig. 33**, la pvp-k30 demuestra favorece la complejación entre β -CD y Abz, esto es evidente si comparamos el termograma de am1:1 y am-pv-30, en este último se observa disminución del área bajo la curva del pico endotérmico correspondiente al Abz, también se observa una disminución de la temperatura de fusión del Abz en am-pv-30 a 193 °C.

De acuerdo a los resultados anteriores se espera que las formulaciones hechas por el método de amasado logren una mayor cantidad de Abz disuelto, ya que la formación de complejo entre la β -CD y Abz es más eficiente en comparación con las formulaciones preparadas por mezcla física.

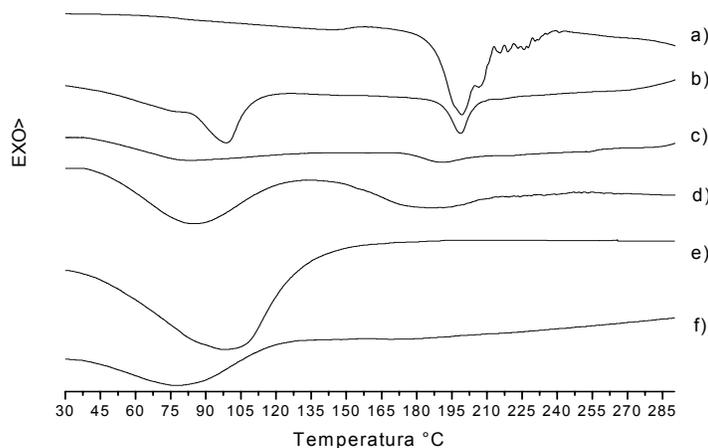


Fig. 33 Termogramas correspondientes a las muestras: a) Abz, b) am1:1, c) am-pv-30, d) pvp k30:Abz, e) pvp k30

5.2 ESPECTROSCOPIA IR

El espectro de Abz se muestra en la **Fig. 34** se observa el IR típico para albendazol el cual muestra vibración de alargamiento en 3326 cm^{-1} debido al grupo (NH) del carbamato, mientras que la banda ancha centrada a 2679 cm^{-1} se debe al grupo (NH) del imidazol, así como una banda a 1714 del (C=O) del carbamato.

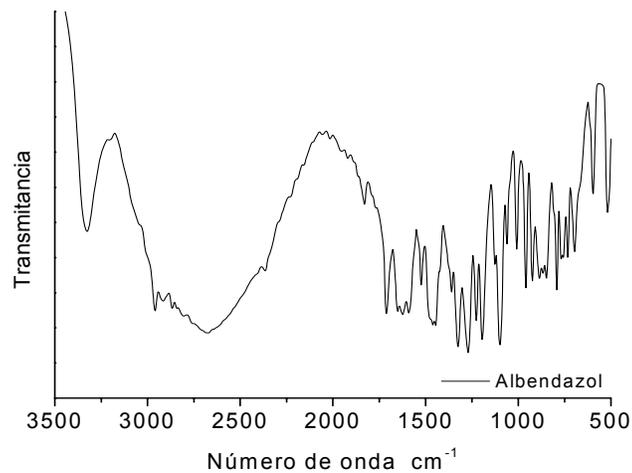


Fig. 34 Espectro Ir del Albendazol

De manera general los espectros IR de las formulaciones preparadas por el metodo de mezcla fisica no presentan cambio al compararlo con el espectro IR de mf1:1.y del Abz, las formulaciones preparadas por el método de mezcla física con una relación de 30% de polímero, se muestran en **Fig. 35**.

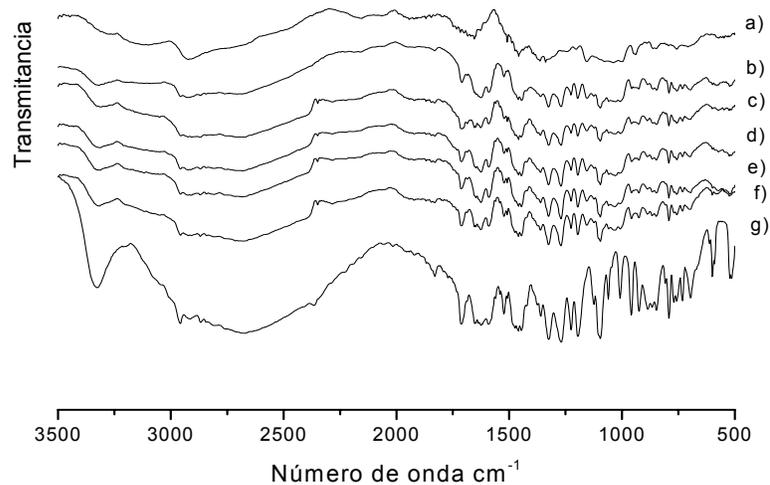


Fig.35 Espectros IR, efecto de polímero sobre la formación de complejo de inclusión en las diferentes formulaciones preparadas por mezcla fisica: a)β-CD, b)mf1:1, c)mf-pvp-30, d)mf-p-30, e)mf-h-30, f)mf-c-30, g)Abz

Donde para todas las muestras es mas evidente la disminuci3n de la intensidad de las bandas a 3326 cm^{-1} , la cual corresponde al (NH) del carbamato, si la comparamos con el espectro del Abz solo en el cual presenta un alargamiento, mientras las bandas a 1714 cm^{-1} debida al (C=O) y 2679 cm^{-1} , no muestran un cambio significativo, esto lo interpretamos como que estos grupos funcionales no est3n interactuando con la β -CD para formar el complejo de inclusi3n. No obstante, la disminuci3n de la intensidad de la banda a 3326 , es debida a que en esa misma 3rea se localizan las vibraciones para los (OH) de la β -CD, el cual ejerce un efecto sobre las vibraciones del albendazol, lo anterior indica que existe un complejo de inclusi3n ente la β -CD y el Abz y que la porci3n del Abz que esta interactuando con la ciclodextrina es el grupo (NH) del carbamato, enlaz3ndose por puentes de hidrogeno con el (OH) de la β -CD. Aun cuando la formaci3n se presenta interacci3n entre Abz y β -CD, las mezclas f3sicas son deficientes, ya que como se puede observar en todos los casos de las formulaciones preparadas por este m3todo las mezclas f3sicas en la region de los 3326 cm^{-1} la banda se reduce pero no desaparece por lo que si en buena parte el grupo amino (NH) del grupo carbamato interactúa con el (OH) secundario de la β -CD una buena cantidad de Abz queda sin incluirse dentro de la β -CD. Siendo la mezcla f3sica un m3todo deficiente para la formaci3n de complejos de inclusi3n.

En la **Fig. 36** se muestran los espectros de IR para las formulaciones de amasado.

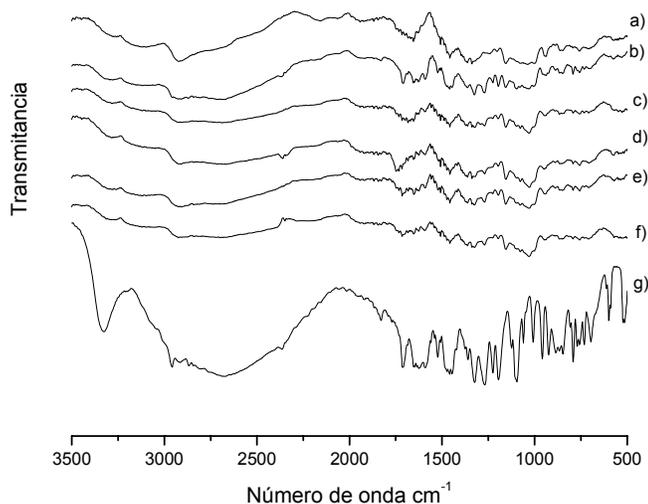


Fig.36 Espectros IR, efecto de polímero sobre la formación de complejo de inclusión en las diferentes formulaciones preparadas por amasado: a)β-CD, b)am1:1, c)am-pvp-30, d)am-p-30, e)am-h-30, f)am-c-30, g)Abz

En la **Fig. 36** se observa en el espectro de am1:1 que es evidente una gran disminución de las banda perteneciente al grupo (NH) del carbamato en 3326 cm^{-1} , de igual forma la banda ancha centrada a 2679 cm^{-1} que es debida al grupo (NH) del imidazol, por lo cual pensamos que estos dos grupos funcionales están participando en la formación del complejo de inclusión, por la formación de, puentes de hidrogeno con los grupos (OH) de la β-CD.

Por otro lado las diferentes formulaciones que contienen los diferentes polímeros presentan espectro parecidos. Por ejemplo los espectros de am-c-30 y am-h-30 presentan la desaparición de las bandas perteneciente al grupo (NH) del carbamato en 3326 cm^{-1} y la banda ancha centrada a 2679 cm^{-1} que es debida al grupo (NH) del imidazol, esto debido a la presencia de polímero. Por otra parte en los espectros de am-p-30 y am-pv-30 además de presentar la desaparición de las perteneciente al (NH) del carbamato en 3326 cm^{-1} y la banda a 2679 cm^{-1} que es debida al grupo (NH) del imidazol se observa que la banda perteneciente el (C=O) a 1714 cm^{-1} , desaparece, por lo que se cree que pectina y pvp k30 mejoran aun mas la complejación entre la β-CD y el Abz.

CAPÍTULO



CONCLUSIONES

Se realizaron estudios de solubilidad de fases, en los cuales se observa que el aumento en la cantidad de Abz disuelto depende de la cantidad de β -CD presente en el medio de disolución. Sin embargo la baja solubilidad de la β -CD limita que una mayor cantidad de Abz sea disuelta. Por lo que la adición de cmc-Na, hpmc, pectina y pvp k30, favorecen la complejación β -CD:Abz logrando una mayor cantidad de Abz disuelto.

Por lo tanto formulaciones conteniendo β -CD, Abz y polímero fueron preparadas en estado sólido por medio de mezclado físico y amasado.

De las cuales se puede concluir que:

- ✦ El amasado es un mejor método para la formación del complejo de inclusión que la mezcla física, debido a que la energía que se aplica durante el amasado logra que una mayor cantidad de Abz interaccione con la β -CD, por lo que en pruebas de estudios de cinética de disolución los amasados muestran una mayor cantidad de Abz disuelto en comparación con las mezclas físicas.
- ✦ La caracterización de las formulaciones por DSC permite observar que la presencia de polímeros, abate la cristalinidad tanto de β -CD y Abz, resultado

que se ve reflejado en la disminución del punto de fusión del Abz y el aumento en la eficiencia del complejo de inclusión.

- ✦ Finalmente existe una concordancia entre la espectroscopia IR y el estudio de mecánica molecular, donde se observa que son los grupos amino del carbamato e imidazol del Abz los que interaccionan con la β -CD

1. Flisser, A., Madrazo, I., Delgado, H. (1997) Cisticercosis Humana. 1ª edicion. El Manual Moderno. México. 61-64
2. Montemor, MR., Gasparetto, EL., Faoro, LN. (2000) Neurocisticercosis clinical and pathological study of 27 necropsies cases. *Arq. Neuro-Psiquiatria.* 58(3):883-889
3. Augenklinik, LM. (1999) Enlargement of an extraocular eye muscle: a symptom of cysticercosis. *Epilepsia.* 40(10):1464-1465
4. Ferreira, M., Costa-Cruz J., Nishioka, S., (1994) Neurocysticercosis in Brazilian: reporter of 10 cases. *Trop Med Parasitol.* 45(1):49-50
5. García, H., González, A., Evans, C., Gilman, R. (2003) Taenia solium cysticercosis. *Lancet.*362:547-556
6. Del Brutto, OH. (1999) Neurocisticercosis. *Rev Neurol.* 29:456-466
7. Pal, D., Carpio, A. (2000) Neurocysticercosis and epilepsy in developing countries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 68:137-143
8. White, A. (2000) Neurocysticercosis: updates on epidemiology, pathogenesis, diagnosis and management. *Ann Rev Med.* 51:187-206
9. Sotelo, J., Jung, H., (1998) Pharmacokinetic optimization of the treatment of neurocysticercosis. *Clin Pharmacokinet.* 34(6):503-515
10. <http://www-lab.biomedicas.unam.mx/cistimex/>
11. FEUM. (2000) Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Tomo.1. 7ª edición, SSA, 628-629
12. Katzung, B.G., (1998) Farmacología Básica y Clínica. 6ª edición. El Manual Moderno. México. 981-985
13. Jung, H., Medina, L., García, L., Fuentes, I., Moreno, R. (1998) Absorption studies of albendazole and some physicochemical properties of drug and its metabolite albendazole sulphoxide. *J Pharm Pharmacol.* 50:43-48
14. Jung, H., Hurtado. M., Sanchez, M., Medina, M., Sotelo, J. (1992) Clinical pharmacokinetics of albendazole in patients with brain cysticercosis. *J Clin Pharmacology.* 32:28-31

15. Menon, K.I., (2002) Assesment of the Antiprotozoal Activity of some Tubulin Inhibitors Following Cyclodextrin Complexation. Tesis Doctoral. Murdoch University. Australia. 6-10, 48-50
16. Lacey, E. (1990) Mode of Action of Benzimidazoles. *Parasitology Today*. 6(4):112-115
17. Bettencourt-Preto, S.C., (2001) Caracterización Farmacológica del Albendazol Sulfóxido y sus Enantiómeros en Ovejas y Ratas. Análisis del Metabolismo Ruminal. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. España. 3-9
18. Sweetana, S., and Akers, M. J. (1996) Solubility Principles and Practices for Parenteral Drug Dosage Form Development. *J Pharm Sci and Technology*. 50(5): 330-342
19. Hite, M. Turner, S., and Federici C., (2003) Part: 1 Oral Delivery of Poorly Soluble Drugs. *PMPS Summer*. 38-40
20. Torrado, S., Torrado, S., Cadorniga, R., Torrado, J.J., (1996) Formulation parameters of albendazole solution. *Int Journal of Pharmaceutics*. 140: 45-50
21. García, J.J., Bolás, F., Torrado, J.J., (2002) Bioavailability and efficacy characteristics of two different oral liquid formulations of albendazole. *Int Journal of Pharmaceutics*. 250: 351-358
22. Virkel, G., Imperiale, F., Lifschitz, A., Pis, A., Alvarez, A., Merino, G., (2003) Effect of Amphiphilic Surfactant Agents on the Gastrointestinal Absorption of Albendazole in Cattle. *Biopharm and Drug Disposition*. 24:95-103
23. Torrado, S., Torrado, S., Torrado, J.J., Cadórniga, R., (1996) Preparation, dissolution and characterization of albendazole solid dispersions. *Int Journal of Pharmaceutics*. 140: 247-250
24. Kalaiselvan, R., Mohanta, , G.P., Manna, P.K., Manimekalai, A., (2006) Solid-phase preparation and characterization of albendazole solid dispersion. *Ars. Pharm*. 47(1):91-107
25. Jain, S.K., Rai, G., Saraf, D.K., Agrawai, G.P., (2004) The preparation and valuation of albendazole microspheres for colonic delivery. *Pharmaceutical Tech*. 66-71

26. Castillo, J.A., Palomo-Canales, J., García, J.J., Lastres, J.L., Bolas, F., and Torrado, J.J., (1999) Preparation and characterization of albendazole β -cyclodextrin complexes. *Drug Development and Industrial Pharm.* 25(12) 1241-1248
27. Rigter, I.M., Schipper, H.G., Koopmans, R.P., van Kan, H.J.M., Frijlink, H.W., Kager, P.A., Guchelaar, H.J., (2004) Relative bioavailability of three newly developed albendazole formulations: a randomized crossover study with healthy volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 1051-1054
28. Beer, P., Gale, P., Smith. (1999) *Supramolecular Chemistry.* Oxford University Press. Nueva York. 2-6
29. Lehn, J. M. (1985) *Supramolecular Chemistry: Receptors, catalysts, and carriers.* *Science.* 227: 849-856
30. Lehn, J. M. (1994) *Supramolecular Chemistry.* *Proc. Indian Acad. Sci.* 106(5):915-922
31. Lambertsen-Larsen. K., (2002) Large Cyclodextrins. *J Inclusion Phenomena Macrocyclic.* 43:1-13
32. Loftsson, T., Duchêne, D., (2007) Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int. Journal of Pharmaceutics.* 329: 1-11
33. Morrison, R.T., Boyd, R.N., (1990) *Química Organica.* Addison Wesley. México. 1315-1317
34. Szejtli, J., (2004) Past, present, and future of cyclodextrin research. *Pure Appl. Chem.* 76(10): 1825-1845
35. Contreras-Quiñones, H.J., (2001). *Ciclodextrinas: Naturaleza, propiedades y aplicaciones (Versión 1).* Universidad de Guadalajara. México. 12-17, 28-32
36. Nepogodiev, S. A., and Stoddart, J. F., (1998) "Chemistry of cyclic oligosaccharides". *Carbohydrate Chemistry* . Blackie Academic and Professional. UK. 322-325
37. Vögtle, F. (1993) *Supramolecular Chemistry.* John Wiley and Sons. UK. 135-141

38. Rosso, A. M., Ferrarotti, S. A., Krymkiewicz, N., Nudel, B. C. (2002) Optimization of Bath Culture conditions for cyclodextrin glucanotransferase production from *Bacillus circulans* DF 9R. *Micro. Cell Factories*. 1: 1-9
39. Challa, R., Ahuja, A., Khar, R.K., (2005) Cyclodextrins in Drug Delivery: An Update Review. *AAPS PharmSciTech*. 6(2): E329-E357
40. Uekama, K., (2004) Desing and Evaluation of Cyclodextrin-Based Drug Formulation. *Chem Pharm. Bull*. 52(8): 900-915
41. Shimpi, S., Chauhan, B., Shimpi, P., (2005) Cyclodextrins: Applications in defferent routes of drug administration. *Acta Pharm*. 55: 139-156
42. Stella, V. J. and Rajewski, R. A., (1997) Cyclodextrins: Their Future in Drug Formulation and Delivery. *Pharamceutical Research*. 14(5): 556-567
43. Monnaert, V., Betbeder, D., Fenart, L., Bricout, H., Lenfant, A. M., Landry, C., Cecchelli, R., Monflier, E., Tilloy, S., (2004) Effect of γ - and Hydroxypropyl- γ -cyclodextrins on the Transport of Doxorubicin an in Vitro Model of Blood-Brain Barrier. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 311:1115-1120
44. Perry, C. S., Charman, S. A., Prankerd, R. J., Chiu, F. C. K., Scanlon, M. J., Chalmers, D., Charman, W. N. (2005) The Binding Interaction of Systemic Ozonide Antimalarials with Natural and Modified β -Cyclodextrins. *Journal of Pharmaceutical Sci*. 95(1): 146-158
45. Dodziuk, H., (2006) Cyclodextrins and Their Complexes. Wiley-VCH. Germany. 17-21
46. Loftsson, T., and Brewster, M. E., (1996) Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins 1. *Journal of Pharmaceutical Sci*. 85(10):1017-1025
47. Manunza, B., Deiana, S., Pintore. M., Gessa, C., (1997) Structure and internal motion of solvated beta-cyclodextrine:a molecular dynamics study. *J. of Molecular Structure*. 419: 133-137
48. Saenger, W., Steiner, T., (1998) Cyclodextrin Inclusion Complexes: Host-Guest Interactions and Hydrogen- Bonding Networks. *Acta Cryst*. A54: 798-805

49. Loftsson, T., Jarho, P., Másson, M., Järvinen, T (2005) Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2(2): 335-351
50. Teranishi, K., (2002) Regioselective 2^A-2^D-Disulfonylations of Cyclodextrins for Practical Bifunctionalization on the Secondary Hydroxyl Face. *Journal of Inclusion and Macrocyclic Chemistry.* 44: 313-316
51. Nash, R.A., (2006) Handbook of Pharmaceutical Excipients; Rowe, R, Sheskey, P.J., Owen, S. O., Eds. 5^a ed. *Am. Pharm. Assoc. and Pharm. Press: London.* 217-221
52. Mosher, G. Thompson, D. O.,(2006) Complexation and Cyclodextrins. *Encyclopedia of Pharmaceuticsl Technology.* 531-558
53. Loftsson, T., Magnúsdóttir, A., Másson, M., Sigurjonsdottir, J. F., (2002) Self-Asocioation and Cyclodextrin Solubilization of Drugs. *Journal of Pharmaceutical Sci.* 91(11): 2307-2316
54. Loftsson, T., Másson, M., Brewster, M. E., (2003) Minireview: Self-Association of Cyclodextrins and Cyclodextrins Complexes. *Journal of Pharmaceutical Sci.* 93(5): 1091-1099
55. Szejtli, J. (1998) Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical Reviews.* 98(5): 1743-1754
56. Irie, T., Uekama, K. (1997) Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins III. Toxicological Issues and Safety Evaluation. *Journal of Pharmaceutical Sci.* 86(2): 147-162
57. http://www.cyclolab.hu/page.htm?whatsnew_0.htm.
58. Lee, D. K., Ahn, J., and Kwak, H. S. (1999) Cholesterol Removal from Homogenized Milk With β -Cyclodextrin. *J. Dairy. Sci.* 82: 2327-2330
59. Alvarez-Parrilla, E., De la Rosa, L. A., Torres-Rivas, F., García, J., González-Aguilar, G., (2005) Complexation of Apple Antioxidants: chlorogenic acid, quercetin and rutin by β -cyclodextrin. *J Inclusion Phenom and Macrocyclic Chem.* 53(1): 121-129
60. Szente, L., Magisztrak, H., Szejtli, J., (1990) Formulation of controlling agents with β -cyclodextrin. *Pesticide Science.* 28(1): 7-16

61. Lezcano, M., Al-Soufi, W., Novo, M., Rodriguez-Nuñez, E., Vazquez, J. (2002) Complexation of several Benzimidazole-Type Fungicides with α - and β -Cyclodextrins. *J. Agric. Food Chem.* 50: 108-112
62. Loftsson, T., (2003) Cyclodextrins and the Biopharmaceutical Classification System of Drug. *J Inclusion Phenom and Macrocyclic Chem.* 44:63-67
63. Loftsson. T., Brewster, M. E., Másson, M. (2004) Role of Cyclodextrins in Improving Oral Drug Delivery. *Am. J. Drug Delivery.* 2(4): 261-275
64. Loftsson, T., O'Fee, R., (2003) Cyclodextrins in Solid Dosage Form. *Business Briefing: PharmaTech.* 44: 63-67
65. Reddy, M. N., Rehana, T., Ramakrishna, S., Chowdary, K. P. R., Diwan, P. V.,(2003) β -Cyclodextrin Complexes of Celecoxib: Molecular Modeling Characterización, and Dissolution Studies. *AASP PharmSciTech.* 6(1)1-9
66. Baboota, S., Dhaliwal, M., Coolí, K. (2004) Physicochemical Characterización, In Vitro Dissolution Behavior, and Pharmacodynamic Studies of Rodecoxib-cyclodextrin Inclusion Compounds. Preparation and Properties of Rodecoxib Hydroxypropyl- β -cyclodextrin Inclusion Complex: A Technical Note. *AAPS PharmSciTech.* 6(1):E83-E90
67. Tayade, P. T., Vavia, P. R. (2006). Inclusion Complexes of Ketoprofen with β -cyclodextrins: Oral Pharmacokinetics of Ketoprofen in Human. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.* March-April: 164-170
68. Ahn, H. J., Kim, K. M., Choi, S. J., Kim, C. K. (1997). Effect of Cyclodextrin Derivatives on Bioavailability of Ketoprofen. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 23(4): 397-401
69. Piel, G., Hayatte, M. P, Pavón, E., Evrard, B., Van Hess, T., Hanssonville, S. H., De Mol, P., Delattre, L. (2001) In Vitro comparison of the antimycotic activity of a miconazole-HP- β -cyclodextrin solution with a miconazole surfactant solution. *Journal of Antimicrobial Chemistry.* 48: 83-87
70. Barillaro, V., Evrard, B., Delattre, L., Piel, G. (2005) Oral Bioavailability in Pigs of a Miconazole/Hydroxypropyl- γ -cyclodextrin/L-tartaric Acid Inclusion Complex

- Produced by Supercritical Carbon Dioxide Processing. *The AAPS Journal*. 7(1): E149-E155
71. Hamada, H., Ishihara, K., Masuoka, N., Mikuni, K. and Nakajima, N., (2006) Enhancement of water-solubility and bioactivity of paclitaxel using modified cyclodextrin. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 102(4): 369-371
 72. Casella, R., Williams, D. A, Jambhekar, S. S. (1997) Solid-satate- β -cyclodextrin complexes containing indomethacin ammonia and water. II. Solubility studies. *Int Journal of Pharmaceutics*. 165: 15-22
 73. Shefi, A. T., Sunita, P. V., Chandra, P. S., Valsala, K. J. (2002) Betacyclodextrin complexed insulin loaded alginate microspheres-oral delivery system. *Trends Biomater. Artif. Organs*. 15(2): 48-53
 74. Hoon, T. J., Dawood, M. Y., Dawood, K., Ramos, J., Batenhorst, R. L. (1993). Bioequivalence of a 17 beta-estradiol hydroxypropyl-beta-cyclodextrin complex in postmenopausal women. *J. Clin. Pharmacol*. 33: 1116-1121.
 75. Pitha, H., Harman, S. M., Michel, M. E. (1986). Hydrophilic cyclodextrin derivatives enable effective oral administration of steroidal hormones. *Journal of Pharmaceutical Sci*. 75: 165-167
 76. Torres-Labandeira, J. J., Davignon, P., Pitha, J. (1991) Oversaturated solutions of drug in hydroxypropylcyclodextrins: parenteral preparation of pancratistatin. *Journal of Pharmaceutical Sci*. 80(4): 384-386.
 77. Rajewski, R. A. and Stella, J. V. (1996). Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. II. In Vivo Drug Delivery. *Journal of Pharmaceutical Sci*. 85(11):1142-1169
 78. Loftsson, T., Guðmundsdóttir, H., Sigurjónsdóttir, J. F., Sigurðsson, H. H., Sigfússon, S. D., Másson, M., Stefánsson, E. (2001). Cyclodextrin solubilization of benzodiazepines: formulation of midazolam nasal spray. *Intl Journal of Pharmaceutics*. 212: 29-40
 79. Skiba, M., Bounoure, F., Barbot, C., Arnaud, P., Skiba, M. (2005) Development of cyclodextrin microspheres for pulmonary drug delivery. *J. Pharm. Pharm Sci*. 8(3): 409-418

80. Srichana, T., Suedee, R. and Reanmongkol, W.,(2001). Cyclodextrin as a potential drug carrier in salbutamol dry power aerosols: the in-vitro deposition and toxicity studies of the complex. *Respiratory Medicine*. 95(6): 513-519
81. Tirucherai, G., Mitra, A. K. (2003) Effect of Hydroxypropyl Beta Cyclodextrin Complexation on Aqueous Solubility, Stability, and Corneal Permeation of Acyl Ester Prodrugs of Ganciclovir. *AAPS PharSciTech*. 4(3): 1-12
82. Dias, M. M. R., Raghavan, S. L., Pellett, M. A., Hadgraft, J. (2003). The effect of β -cyclodextrin on the permeation of diclofenac from supersaturated solutions. *Int Journal of Pharmaceutics*. 263: 173-181.
83. Sridevi, S., Vaman, Diwam, P. V. R. (2002) Optimizad transdermal delivery of ketoprofen using pH and hydroxypropyl- β -cyclodextrin as co-enhancers. *Eur J Pharm Biopharm*. 54: 151-154
84. Frank, S., G. (1975) Inclusión Compounds. *Journal of Phamaceutical Sci*. 64: 1585-1604
85. Connors, K. A. (1997) The Stability of Cyclodextrins Complexes in Solution. *Chemical Rev*. 97:1325-1357
86. Rao, V. M., Stella, V. J. (2002) When can Cyclodextrins be Considered for Solubilization Purposes?. *Journal of Pharmaceutical Sci*. 92(5):927-932
87. Patel, A. R., Vavia, P. R. (2006) Effect of Hidrophilic Polymer on Solubilization of Fenofibrate by Cyclodextrin Complexation. *J Inclusion Phenom and Macrocyclic Chem*. 56: 247-251
88. Rusa. C. C., Fox, J., Tonelli , A. (2003) Competitive Formation of Polymer-Cyclodextrin Inclusión Compounds. *Macromolecules*. 36: 2742-2747
89. Skoog D. (2001) Química Analítica 7a ed. McGrawHill. México. 618-619.
90. Duerst, M. D. (2002) Spectroscopic Methods of Análisis- Infrared Spectroscopy. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 2519-2534
91. Florence, A. T. and Attwood, D. (1998). *Physicochemical Principles of Pharmacy*. MacMillan Press. USA. 308-344.
92. Savolainen, J., Järvinen, K., Taipale, H., Jarho, P., Loftsson, T., Järvinen, T. (1998). Co-Administration of a Water-Soluble Polymer Increase the Usefulness

- of Cyclodextrins in Solid Oral Dosage Form. *Pharmaceutical Research*. 15(11): 1696-1701
93. Loftsson, T., Friðriksdóttir, H. (1997). The effect of water-soluble polymers on the aqueous solubility and complexing abilities of β -cyclodextrin. *Int Journal of Pharmaceutics*. 163: 115-121
 94. Murali, G., et-al. (2002). In Vivo Evaluation of Modified Gum Karaya as a Carrier for Improving the Oral Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drug, Nimodipine. *AAPS PharmSciTech*.3(2): 1-9
 95. Krishnaiah, Y. S. R., Raju, P. V., Kumar, B., Bhaskar, P., Satyanarayana, V., (2001). Development of colon target drug delivery systems for mebendazole. *Journal of Controlled Release*. 77:87-95
 96. Aydin, Z., Akbuga, J. (1996). Preparation and evaluation of pectin beads. *Internacional Journal of Pharmaceutics*.137:133-136 Aydin, Z., Akbuga, J. (1996). Preparation and evaluation of pectin beads. *Int Journal of Pharmaceutics*.137:133-136
 97. Itoh, K., Hirayama, T., Takahashi, A., Kubo, W., Miyazaki, S., Dairaku, M., Togashi, M., Mikami, R., Attwood, D. (2006). In situ gelling pectin formulations for oral drug delivery at high gastric pH. *Int Journal of Pharmaceutics*. Article in Press.
 98. Chourasia. M. K., Jain, S. K. (2002) Pharmaceutical approaches to colon target drug delivery systems. *J. Pram. Pham Sci*. 6(1): 33-66
 99. Mitchell, S. A., Reynolds, T., Dasbach, T. P. (2002) A compaction process to enhance dissolution of poorly water-soluble drugs using hydroxypropyl methylcellulose. *Int Journal of Pharmaceutics*. 250: 3-11
 100. Tantishaiyakul, V., Kaewnopparat, N., Ingkatawornwong, S. (1999) Properties of solid dispersions of piroxicam in polyvinylpyrrolidone. *Int Journal of Pharmaceutics*. 181: 143-151
 101. Modi, A., Tayade, P. (2006) Enhancement of dissolution profile by solid dispersion (Kneading) Technique. *AAPS PharmSciTech*. 7(3): E2-E6
 102. Chowdary, K, P, R., Vijaya-Srinivas, S. (2006) Effect of Polyvinylpyrrolidone on Complexation and Dissolution Rate of β - and Hydroxypropyl- β -

- Cyclodextrin Complexes of Celecoxib. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 6(5): 631-634
103. Mura, P., Faucci, M. T., Bettinetti, G. P. (2000). The influence of polyvinylpyrrolidone on naproxen complexation with Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin. *Eur Journal of Pharmaceutical Sciences*. 13: 187-194
104. Pose-Vilarnovo, B., Rodríguez-Tenreiro, C., Perez-Marcos, M. B., Torres-Labandeira, J. J. (2002). Sulphamethizole-Cyclodextrin-Hydroxy Propylmethyl Cellulose Multicomponent Complexes. *J. Therm Anal Cal*. 68: 657-667
105. Nandi, I., Bateson, M., Bari, M., Joshi, H. (2003). Synergistic Effect of PEG-400 and Cyclodextrin to Enhance Solubility of Progesterone. *AAPS PharmSciTech*. 4(1): 1-5
106. Ammar, H. O., Salama, H. A., Mahmoud, A. A. (2006). Implication of Inclusion complexation of glimepiride in cyclodextrin-polymer system on its dissolution, stability and therapeutic efficacy. *Int Journal of Pharmaceutics*. 320: 53-57
107. Manuza, B., Deiana, S., Pintore, M., Gessa, C. (1998) A molecular modeling study of the interaction between β -cyclodextrin and the organophosphothioate pesticide parathion. *Glycoconjugate Journal*. 15: 293-296
108. Pinto, L. M. A., et-al (2004) Elucidation of Inclusion compounds between β -cyclodextrin/local anaesthetics structure: a theoretical and experimental study using differential scanning calorimetry and molecular mechanics. *Journal of Molecular Structure*. 678: 63-66
109. Alvira, E., Mayoral, J. A., García J.I. (1997) Molecular modeling study of β -cyclodextrin inclusion complexes. *Chemical Physics Letters*. 271: 178-184
110. Barbiric, D. J., Castro, E. A., de Rossi, R, H. (2000) A molecular mechanics study of 1:1 complexes between azobenzene derivatives and β -cyclodextrin. *Journal of Molecular Structure*. 532: 171-181