



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

de

**FACULTAD DE QUÍMICA**

DESARROLLO DE UNA FORMULACIÓN DE SOLUCIÓN ORAL  
PEDIÁTRICA DE FUROSEMIDA MEDIANTE EL EMPLEO DE  
CICLODEXTRINAS

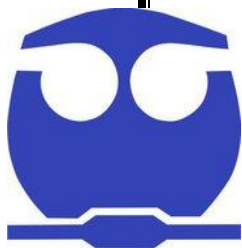
**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A:

**JACQUELINE ARROYO HERNÁNDEZ**



MÉXICO, D.F.

2011



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **JURADO ASIGNADO:**

Presidente: **Carolina Muñoz Padilla**  
Vocal: **Ernestina Hernández García**  
Secretario: **María Josefa Bernad Bernad**  
1er suplente: **Raúl Lugo Villegas**  
2do suplente: **Iván Alejandro Franco Morales**

## **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

Instituto Nacional de Pediatría. Torre de investigación “Joaquín Gravioto”, laboratorio de farmacología, tercer piso. Insurgentes Sur 3700-C, Col. Insurgentes Cuicuilco, Del. Coyoacan, C.P. 04530, México, D.F.

Asesora del tema: **M. en F. Ernestina Hernández García**

Supervisor técnico: **Francisca Trujillo Jiménez**

Sustentante: **Jacqueline Arroyo Hernández**

*“La grandeza de un hombre no se mide de los  
pies a la cabeza, sino de la cabeza al cielo”*

*Napoleón Bonaparte*

# ***DEDICATORIAS***

## **A mi abuelito Jesús**

En donde quiera que estés mi viejito lindo, te agradezco infinitamente que siempre estuvieras junto a mí, por haberme dado un ejemplo de vida y de fuerza, gracias por enseñarme que todo en esta vida es posible, por compartir conmigo tantas hermosas experiencias, tantos conocimientos, tantas risas, tantos detalles. Gracias por jamás abandonarme, porque en mi corazón y en mi mente siempre estas...

## **A mi mamá**

El ángel más hermoso sobre la tierra, mamá a ti te debo absolutamente todo mi ser, simplemente no existen palabras para decirte cuanto llevo de ti. Gracias por todo tu tiempo, tu dedicación y tu esfuerzo por educarnos de la mejor manera a mi y a mis hermanas, gracias por tus palabras de aliento, por tu sonrisa que me alegra el día, gracias por estar en mi vida y llenarme de tanta dicha...

## **A mi papá**

El mejor amigo, el papá que todos quisieran tener, gracias por apoyarme siempre, por entenderme y por escucharme, por enseñarme que todo es posible, por alentarme cuando tu Chuy esta triste, por demostrarme que no importa cuantas desgracias tengas en la vida, siempre es hermoso tener una sonrisa...

## **A mis abuelitas Elena y Ana**

Mis angelitos que me llenan de ternura, gracias por consentirme, escucharme, por darme todo ese cariño por el que vale la pena vivir una y mil veces...

## **A mis hermanitas**

A mi Maggie, gracias por transmitirme tanta energía, por hacerme reír con tus locuras, por escucharme, por confiar en mí y por todos tus sabios consejos, eres la alegría de la casa. A mi Fatis porque ver crecer a un ángel es lo más hermoso que me ha pasado, gracias

por hacerme reír con tus ocurrencias, por preocuparte por mí y por darme esos múltiples besos y abrazos que llenan de alegría mis días...

### **A mis tíos**

Gracias tío Fer, Marita, madrina Marie, Candido, Yolis, Lilia, Lalo, Ricardo, Lucha y Peche por todo su apoyo y cariño, en todos los recuerdos lindos de mi vida siempre están ustedes presentes...

## ***AGRADECIMIENTOS***

### **A Tina**

Gracias por la paciencia, por su apoyo, por su confianza y por los conocimientos compartidos.

### **A mis amigos**

Por ayudarme a pasar más amena la vida, por compartir conocimientos, experiencias y sonrisas conmigo, por estar cuando me hizo falta un regaño, un hombro, un chiste, una fiesta, gracias Cynthia, Néstor, Lalo, Bety, Humberto, Tonatiuh, Sergio, Rogelio, Javis, Adriana, Jonathan, Mariel, Faby y Queta.

### **A Marisela y al Sr. Ventura**

Por su apoyo y confianza para terminar este trabajo.

	Página
Introducción	1
Objetivos	4
Capítulo I Antecedentes	6
Capítulo II Metodología experimental	33
Capítulo III Resultados y análisis	49
Capítulo IV Conclusiones	68
Anexos	70
Referencias	78

# Introducción



## INTRODUCCIÓN.

Actualmente en México el sector salud no dispone de formas farmacéuticas pediátricas para fármacos de uso común en hospitales, tal es el caso de la furosemida, la cual es administrada a partir de una forma farmacéutica oral para adultos (tabletas, cápsulas o tabletas recubiertas), o las que se encuentran disponibles para administración intramuscular o intravenosa (inyectable). En ocasiones, las tabletas tienen que ser fragmentadas para dar la dosis terapéutica pediátrica y a consecuencia de esto, las propiedades del medicamento se ven alteradas, llegando incluso a representar un riesgo para el paciente; además de que el sabor suele ser desagradable, impidiendo el apego al tratamiento; ya que son rechazados en dosis posteriores.

De acuerdo a esto, se plantea trabajar en el desarrollo de nuevas formas farmacéuticas especiales para la población pediátrica con el fin de garantizar la eficacia y seguridad en la administración de dichos fármacos.

Por lo anterior se propone el desarrollo de una formulación en solución oral de furosemida, basados en los resultados de un estudio de utilización de medicamentos realizado en el área de farmacia hospitalaria de dos hospitales de la ciudad de México, donde se determinó que la furosemida es uno de los fármacos más comúnmente administrados a partir de la presentación para adultos, debido a que actualmente no se cuenta con una formulación pediátrica disponible en el mercado.<sup>10</sup>

Por su estructura química, la furosemida es prácticamente insoluble en agua y fotosensible; por lo que es necesario emplear vehículos que modifiquen dicha característica, para lo cual proponemos realizar modificaciones farmacotécnicas tales como la formación de complejos de inclusión (CI) con ciclodextrina (CD). De acuerdo con la literatura, éstas incrementan la solubilidad del fármaco, la biodisponibilidad y la estabilidad del mismo, además disminuyen los efectos secundarios y enmascaran el sabor desagradable.<sup>11</sup>

Los objetivos de este trabajo son, establecer cuál de los métodos para la formación de CI (amasado, evaporación y spray drying), qué proporción molar (furosemida:CD) y qué tipo de CD (HP- $\beta$ -CD,  $\alpha$ -CD y  $\beta$ -CD) son adecuados para obtener el CI más estable con la furosemida; así como desarrollar una solución oral para pacientes pediátricos.

Para lograr estos objetivos se deben utilizar herramientas tales como cromatografía en capa fina, ensayos de solubilidad, estudios de Espectrofotometría de Infrarrojo, Difracción de Rayos X y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), así como estudios de preformulación, formulación y estabilidad.

Con el desarrollo de esta formulación se podría mejorar la dosificación a pacientes pediátricos, cuidando no sólo la economía sino la integridad del paciente, brindando herramientas para que el médico pueda satisfacer las necesidades de tratamientos.

# Objetivos

OBJETIVOS.

*Objetivo general.*

Desarrollar una solución oral pediátrica de furosemida mediante la formación de CI con CDs, que mejorarán la solubilidad y la estabilidad del fármaco.

*Objetivos particulares.*

Evaluar la formación del CI de furosemida con tres tipos diferentes de CD ( $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD y HP- $\beta$ -CD) por espectrofotometría de UV, para determinar cuál de ellas solubiliza en mayor cantidad la furosemida y poder ser utilizada en la formulación.

Determinar mediante un ensayo de disolución cuál es la proporción molar de furosemida:CD adecuada para la formación del CI soluble.

Evaluar los CI obtenidos a partir de tres métodos diferentes (amasado, evaporación y spray drying) empleando como técnicas de análisis: DSC, difracción de rayos X y espectrofotometría de IR, para seleccionar el más indicado en la elaboración de la solución oral pediátrica.

Seleccionar los componentes de la formulación que sean compatibles con el CI (furosemida:CD), y que permitan la obtención de un producto estable de acuerdo con los resultados de los estudios de ciclado térmico.

# Antecedentes

## ANTECEDENTES.

### *Diuréticos.*

Los diuréticos son fármacos que aumentan la excreción de sodio y agua. Estos compuestos reducen la reabsorción de  $\text{Na}^+$  y (generalmente)  $\text{Cl}^-$  del filtrado, el aumento de la pérdida de agua es secundario al incremento de la excreción de  $\text{NaCl}$  (natriuresis).<sup>7</sup>

Los diuréticos son prescritos en caso de edema, que es la manifestación clínica del exceso de líquido intersticial; éste se forma como un ultrafiltrado de plasma a través de las paredes capilares y tiene esencialmente la misma concentración de sodio que el plasma. El incremento de la acumulación de líquido intersticial ocurre en trastornos que causan elevación de la presión hidrostática (insuficiencia cardíaca congestiva), presión osmótica capilar disminuida (hipoalbuminemia) o aumento de permeabilidad capilar. Los edemas también se pueden generar por retención primaria de sodio a causa de una enfermedad renal (como glomerulonefritis aguda).

Los agentes diuréticos se clasifican de acuerdo a su estructura química, su sitio de acción o ambos. Existen los llamados diuréticos de asa, de tiacida, inhibidores de anhidrasa carbónica, de recambio de  $\text{K}^+$  y diuréticos osmóticos.<sup>1</sup>

Los diuréticos de asa son los diuréticos más potentes y pueden inducir la excreción del 15 al 25 % de  $\text{Na}^+$ . Estos fármacos actúan fundamentalmente en la porción gruesa de la rama ascendente, donde inhiben el transporte de  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$  de la membrana luminal al combinarse con el lugar de unión del  $\text{Cl}^-$ . Producen una disminución de la reabsorción de estos iones y una disminución en la hipertonicidad del intersticio. Entre los fármacos más conocidos de esta clase está la furosemida, la bumetanida, el ácido etacrínico y la torsemida.<sup>1,2,7</sup>

El principal mecanismo de acción de la furosemida es el bloqueo del cotransportador  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ , cambiando concomitantemente la concentración de electrolitos tanto dentro como fuera de la célula. Adicionalmente existe un cambio

en el potencial eléctrico de la célula, que altera la dinámica del transporte de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  (Ver figura 1).<sup>1</sup>

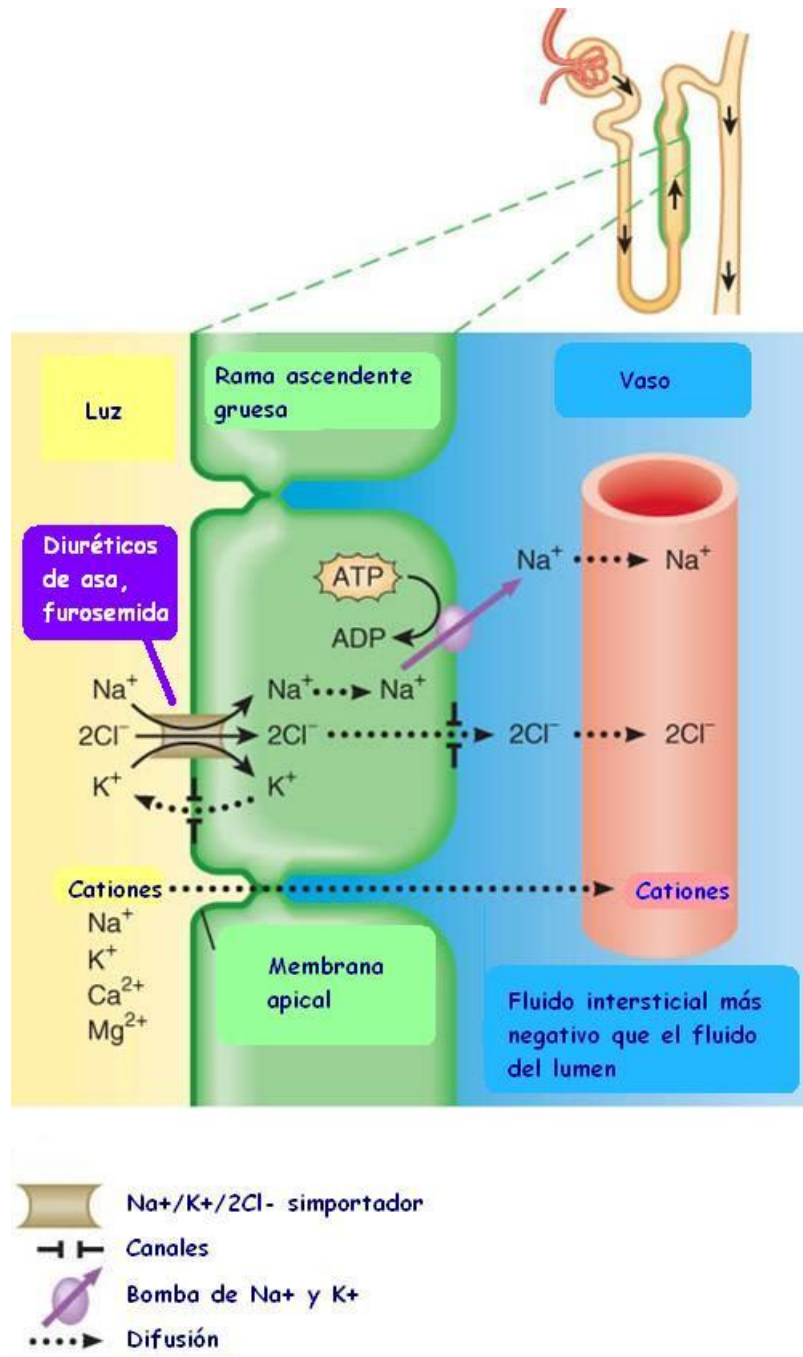
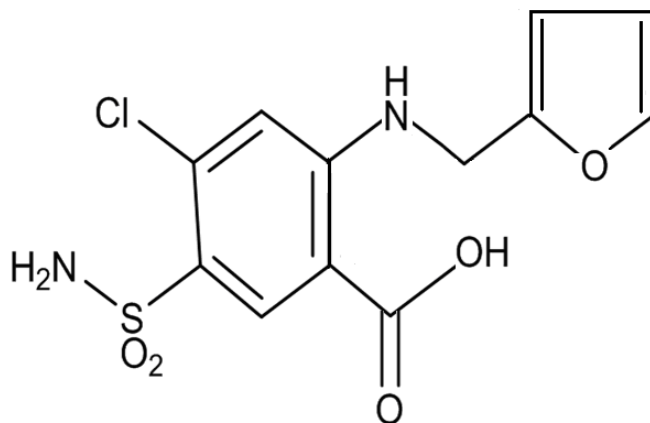


Figura 1. Transporte de iones en la rama ascendente gruesa del asa de Henle; se muestra el lugar de acción de los diuréticos de asa.<sup>7</sup>

La bomba de sodio es el principal mecanismo de transporte activo y  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $2\text{Cl}^-$  entran a través de un sistema de cotransporte. El cloruro sale de la célula por los canales de cloruro basolaterales. Parte del  $\text{K}^+$  regresa a la luz a través de canales de potasio de la membrana apical y parte del  $\text{Na}^+$  se absorbe de forma paracelular, a través de la unión hermética (Ver figura 1).<sup>7</sup>

*Furosemida.*



**Figura 2. Estructura molecular de la furosemida.**

También conocida como Ácido 4-cloro-N-furfural-5-sulfamoilantranílico y como Ácido 5-(aminosulfonil)-4-cloro-2-[(2-furanilmetil)amino]-benzoico (Ver figura 2).

Peso molecular: 330.75 g/mol

Es un polvo cristalino, blanco o ligeramente amarillo. Soluble en soluciones de hidróxidos alcalinos, dimetilformamida y acetona; poco soluble en alcohol; ligeramente soluble en éter dietílico; casi insoluble en agua y cloroformo.<sup>3</sup>

Se puede identificar por medio de espectrofotometría de infrarrojo (IR), donde se observan bandas características a 1141, 1671 y 1562  $\text{cm}^{-1}$  que determinan la presencia del ácido carboxílico y la sulfonamida respectivamente. Por espectrofotometría de ultravioleta (UV) se observa la longitud de onda máxima absorbencia a 271 nm, sin diferir más del 3.0 % en condiciones de basicidad.<sup>3,4</sup>



La furosemida es un diurético potente de rápida acción. La reabsorbe el tubo digestivo de manera rápida, pero incompleta. En la circulación se encuentra unida a proteína en un 98 %. La excreción se hace principalmente vía secreción renal del túbulo proximal, en el sitio secretorio de los ácidos orgánicos. Como con casi todos los diuréticos, la secreción tubular renal de la furosemida es necesaria para el efecto del medicamento en la membrana luminal.<sup>1,2</sup>

Esta indicada en edemas derivados de cardiopatías y hepatopatías (ascitis), edemas derivados de nefropatías, insuficiencia cardiaca aguda, particularmente en edemas pulmonares, medida coadyuvante en edema cerebral, edemas por quemaduras, crisis hipertensiva, ayuda a la diuresis forzada en las intoxicaciones.

Se administra por vía oral y parenteral; el efecto diurético vía oral comienza dentro de la hora, alcanza su máximo en 1 o 2 horas y persiste durante 6 a 8 horas. Por vía intravenosa, el efecto diurético comienza a los 5 minutos, llega al máximo en 30 minutos y persiste durante 2 horas.

La dosis oral para adultos es de 20 a 80 mg/día; dosis usual, 40 a 80 mg/día; dosis intramuscular o intravenosa de 20 a 40 mg que pueden aumentarse en 20 mg hasta lograr el efecto deseado después de no menos de 2 horas. Dosis usual pediátrica, 2 mg/Kg como dosis única. Si la respuesta no es adecuada, se aumenta en 1 o 2 mg/Kg después de 6 a 8 horas; no deben excederse los 6 mg/Kg.<sup>2</sup>

Los efectos adversos comunes son la reducción de volumen intravascular (que puede disminuir la presión sanguínea en forma excesiva) y la hipopotasemia (asociado con arritmias cardiacas y debilidad muscular). Si se administra de manera rápida por vía intravenosa puede producir sordera.<sup>1</sup>

#### *Soluciones farmacéuticas.*

Una solución es un sistema homogéneo monofásico que consta de dos o más componentes. El disolvente, o la mezcla de disolventes, es una fase en la que se

produce la dispersión y el soluto es el componente que se dispersa en forma de moléculas o iones en el disolvente.<sup>8</sup>

*Soluciones acuosas.*

Para el desarrollo de una solución acuosa de un principio activo que no es soluble en agua se pueden utilizar diversos métodos que permiten mejorar su solubilidad, tales como:

*Cosolvencia.* Implica la alteración de la polaridad del disolvente mediante la presencia de otro disolvente miscible en el que sea soluble el compuesto. Los vehículos que se usan combinados para aumentar la solubilidad de un fármaco se denominan codisolventes.

*Control del pH.* La solubilidad de fármacos que son ácidos o bases débiles puede verse alterada por el pH del sistema. La solubilidad de una base débil puede aumentar si se reduce el pH de la solución mientras que la solubilidad de un ácido débil mejora cuando aumenta el pH.

*Adición de agentes tensioactivos.* Éstas moléculas forman diferentes tipos de micelas (sólo por arriba de la concentración micelar crítica) que van desde las estructuras esféricas simples a los liposomas y cristales líquidos más complejos. Las moléculas no polares se disuelven en el interior de la micela, que esta compuesta de una estructura hidrocarbonatada lipofílica.

*Formación de complejos.* Interacción de un fármaco poco soluble con material soluble para formar un complejo intermolecular soluble. Las ciclodretrinas (CD) son un ejemplo de moléculas que tienen la capacidad de formar complejos de inclusión (CI) con fármacos poco solubles.

*Modificación química.* Se modifica la molécula del fármaco para producir un derivado hidrosoluble.<sup>8</sup>

*Soluciones no acuosas.*

Si no es posible garantizar disolución completa del fármaco o si éste es inestable en sistemas acuosos, se pueden usar disolventes no acuosos, tales como:

Aceites de origen vegetal (aceite de almendra, de cacahuete, de oliva, de sésamo, de maíz, etc.), alcoholes polihídricos, dimetilsulfóxido, éter etílico, parafina líquida, entre otros.<sup>8</sup>

*Soluciones orales.*

Las soluciones orales son soluciones acuosas de uno o más fármacos con o sin saborizantes, aromatizantes o agentes colorantes. En la formulación se deben incluir agentes antimicrobianos. Las sustancias adicionadas deben ser inocuas en las cantidades administradas, no deben interferir con la eficacia terapéutica, ni causar toxicidad.<sup>3</sup>

Para la preparación de una solución oral se deben tomar en cuenta las propiedades fisicoquímicas del fármaco, las más importantes a considerar son la solubilidad, el pKa, la concentración y la estabilidad. Por otro lado se deben considerar también las características del vehículo, como son el pH, el olor, sabor y compatibilidad.<sup>6</sup>

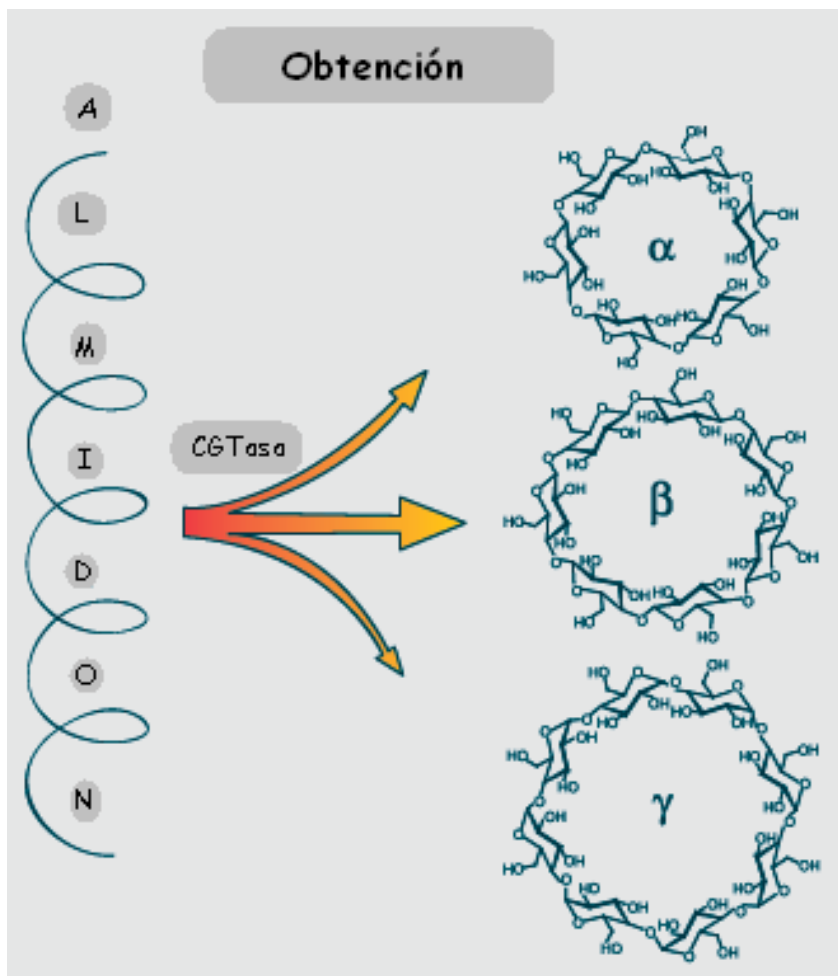
En la tabla 1 se enlistan las ventajas y desventajas de las soluciones como presentación oral.

<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Fáciles de administrar, por lo que son aceptables para su uso en pediatría y geriatría	El volumen del líquido hace difícil el transporte y el almacenamiento
El fármaco en solución está inmediatamente disponible para su absorción	La estabilidad de los componentes en disolución acuosa disminuye
Fármaco uniformemente distribuido en todo el preparado	Un medio acuoso favorece el desarrollo microbiano
La dosis se ajusta fácilmente a los requerimientos	El sabor del fármaco es más pronunciado si éste se encuentra en solución

**Tabla 1. Ventajas y desventajas de las soluciones orales.<sup>8</sup>**

### *Ciclodextrinas (CD).*

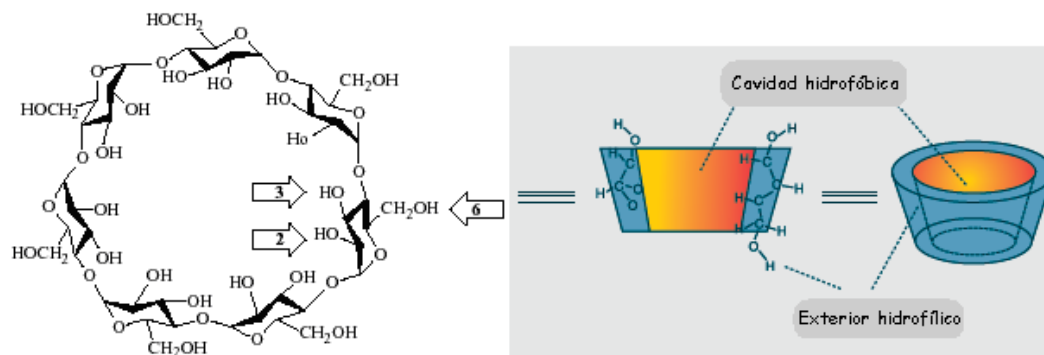
Las ciclodextrinas (CD) son oligosacáridos cíclicos conformados por 6, 7, 8 o más unidades de glucopiranosas unidas por un enlace  $\alpha$ -(1,4), denominadas como  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD y  $\gamma$ -CD respectivamente. También son conocidas como cicloamilosas, ciclomaltosas y dextrinas de Schardinger. Se obtienen como resultado de una reacción de transglucosilación intramolecular de la degradación del almidón por la enzima ciclodextrin glucanotransferasa (CGTasa) (*Ver figura 3*).



**Figura 3. Obtención de las CDs nativas a partir de la degradación del almidón por la Glucodextrin Transferasa (CGTasa).<sup>36</sup>**

En 1942 las estructuras de la  $\alpha$ -CD y la  $\beta$ -CD fueron determinadas por cristalografía con rayos X, y en 1948 la de  $\gamma$ -CD; en este mismo año se reconoció la capacidad de las CDs para formar CI con varios productos.

En el borde más amplio del anillo se encuentran los grupos secundarios hidroxilo ( $C_2$  y  $C_3$ ) y en el otro extremo del anillo el grupo hidroxilo primario ( $C_6$ ). Los hidrógenos no polares de  $C_3$  y  $C_5$  y el oxígeno el grupo éter se localizan en el interior del anillo. Esto resulta en una molécula con una cavidad hidrofóbica y un exterior hidrofílico. Tal cavidad permite alojar a una gran variedad de moléculas hidrofóbicas (*Ver figura 4*).



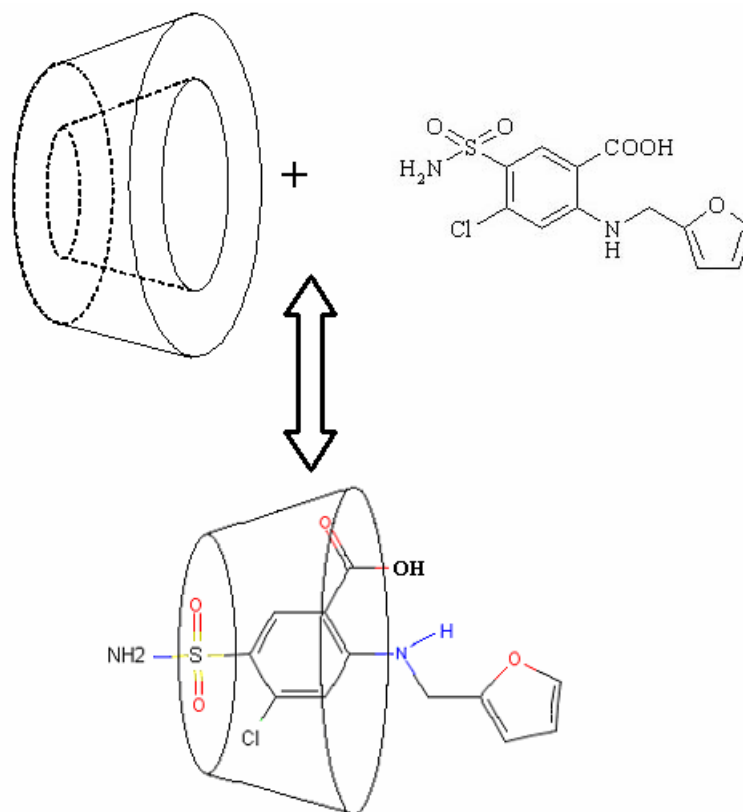
**Figura 4. Esquema de la molécula de  $\alpha$ -CD con su exterior hidrofílico y su cavidad hidrofóbica.<sup>36</sup>**

La característica principal de las CDs es la formación de complejos moleculares de inclusión (CI), resultante de un acomodo dimensional entre la cavidad de la CD y la molécula huésped, mediante uniones no covalentes.<sup>11,32</sup>

Dentro la cavidad de la CD hay moléculas de agua que son desplazadas por moléculas huésped más hidrofóbicas presentes en la solución para alcanzar una asociación apolar-apolar. La unión de las moléculas no es permanente, es más bien un equilibrio dinámico y la fuerza de unión dependerá de quien sea el huésped y el hospedero, en específico, de interacciones intermoleculares.

Las características fisicoquímicas de las moléculas huésped son modificadas, tales como: la solubilidad, la estabilidad de fármacos sensibles al efecto de oxidación, luz visible, UV y al calor; control de volatilidad y sublimación, también modifica el sabor por enmascaramiento.

Son muchos los compuestos que pueden encapsularse en la CD, incluso las cadenas alifáticas lineales o ramificadas, aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos orgánicos, ácidos grasos, compuestos aromáticos, gases, compuestos polares tales como halógenos, oxiácidos y aminas (*Ver figura 5*).<sup>11,36</sup>



**Figura 5. Esquema de la formación del CI de la  $\beta$ -CD y la furosemida.<sup>16</sup>**

Las CDs consideradas nativas poseen diferentes características que las hacen adecuadas para cierto tipo de principio activo (*Ver tabla 2*).

$\alpha$ -CD: Relativamente irritante después de la inyección intramuscular, absorción entre 2 a 3 % después de la administración por vía oral a ratas. Se metaboliza por la flora intestinal del ciego y el colon.

$\beta$ -CD: Menos irritante que la  $\alpha$ -CD después de una inyección intramuscular, muy pequeñas cantidades son absorbidas en el tracto gastrointestinal superior (1 a 2%) después de la administración oral, se metaboliza por bacterias en el ciego y el colon. Es la CD comúnmente utilizada en formulaciones farmacéuticas.

$\gamma$ -CD: Irritación insignificante en la administración intramuscular, es degradada a glucosa en el tracto intestinal superior, no se absorbe más del 0.1 % después de la administración oral.<sup>11</sup>

Propiedades	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
No. de unidades de glucopiranosas	6	7	8
Peso molecular (g/mol)	972	1135	1297
Solubilidad en agua a 25°C (% m/v)	14.5	1.85	23.2
Diámetro externo	14.6	15.4	17.5
Diámetro de cavidad	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
Altura	7.9	7.9	7.9
Volumen de cavidad	174	262	427

**Tabla 2. Propiedades de las CDs nativas.**<sup>36</sup>

Se pueden obtener CDs derivadas a partir de las nativas mediante metilaciones, hidroxialquilaciones, aminaciones, esterificaciones o eterificaciones de los grupos hidroxilo primario y secundario. Las CDs nativas contienen 18( $\alpha$ -CD) 21( $\beta$ -CD) y 24( $\gamma$ -CD) grupos hidroxilo que están disponibles para modificaciones. Los grupos hidroxilo menos reactivos son los que están en la posición de C<sub>3</sub> y C<sub>6</sub>.<sup>12</sup>

Dependiendo de los sustituyentes, la solubilidad de la CD derivada es diferente de las nativas. Comúnmente sufren un cambio en el volumen de la cavidad hidrofóbica que permite mejorar: la formación de los CI, la estabilidad, la protección a la luz y al oxígeno, y el control de la actividad química de la molécula huésped.<sup>11,36</sup>

La hidroxipropil- $\beta$ -CD (HP- $\beta$ -CD) se obtiene de la reacción de la  $\beta$ -CD con óxido de propileno. La estructura básica del macrociclo se mantiene intacta, el óxido de propileno reacciona al azar con los grupos hidroxilo de la  $\beta$ -CD que resulta en una mezcla de compuestos con respecto al número y al grado de sustitución de los



grupos hidroxilo. Controlar la cantidad de óxido de propileno permite también controlar el grado de sustitución o el número de grupos hidroxipropilo por cada molécula de CD.<sup>36</sup>

La habilidad de la formación de los CI está en función de dos factores:

1. La estereoquímica, depende del tamaño relativo de la CD para el tamaño de la molécula huésped y de los grupos funcionales del huésped.
2. Las interacciones termodinámicas entre los diferentes componentes del sistema: la CD, el huésped y el disolvente.<sup>11</sup>

La formación de CI con fármacos hidrofóbicos se da por un proceso de equilibrio cuantitativamente descrito por una constante de asociación o estabilidad ( $K_{a:b}$ ), obtenida mediante la siguiente ecuación:

$$K_{a:b} = \frac{[S_a CD_b]}{[S]^a [CD]^b}$$

Donde  $a$  y  $b$  representan la relación molar del fármaco huésped (S) y la CD.<sup>8</sup>

La constante de disociación puede ser usada para comparar la unión efectiva de las diferentes CDs, y la podemos obtener mediante el diagrama de solubilidad de fases, método descrito por Higuchi y Connors, entre otras técnicas.

El método consiste en adicionar el fármaco de interés en exceso en un medio acuoso que contenga la CD disuelta en concentración creciente, en diferentes viales. La mezcla se agita a temperatura constante a un tiempo determinado y se somete a ensayos para calcular la concentración de fármaco disuelto en el medio. Un diagrama de solubilidad de fases se construye tomando como variable independiente la concentración de la CD y la dependiente la concentración del fármaco en solución (*Ver figura 6*).<sup>11,12</sup>

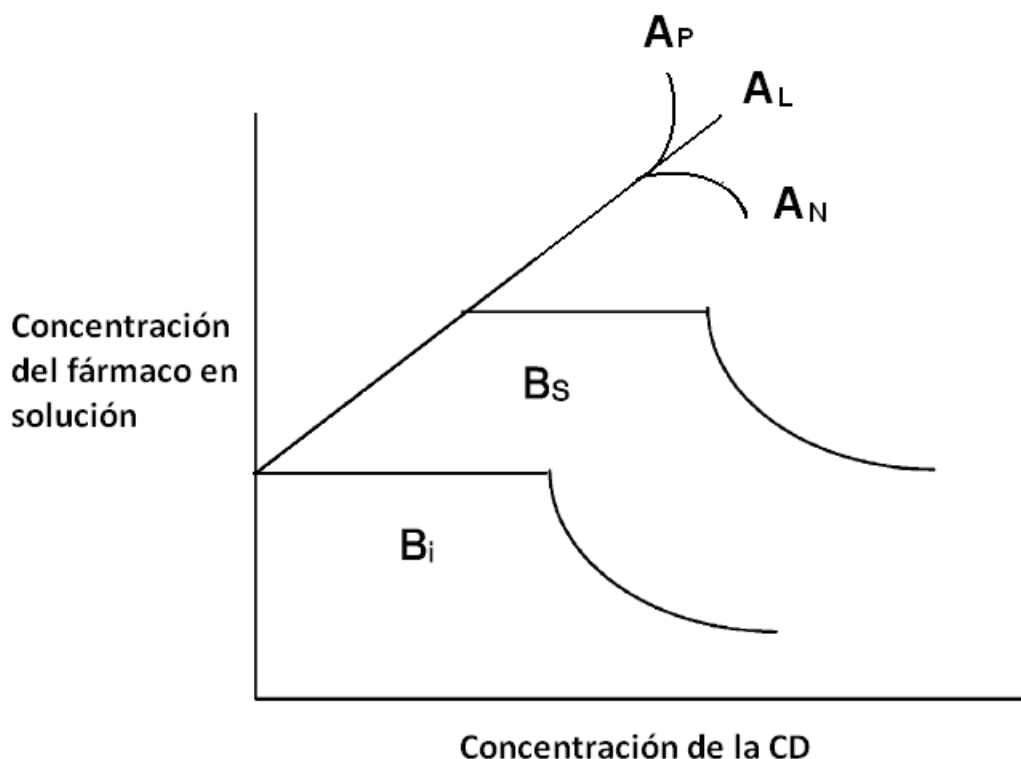


Figura 6. Diagrama de solubilidad de fases.<sup>12</sup>

Del diagrama de solubilidad de fases resultan dos tipos de curvas, la A y la B. La curva tipo A indica la formación de un CI soluble, mientras que la tipo B, un CI poco soluble.<sup>11</sup>

La curva A se subdivide en A<sub>L</sub>, que indica un incremento lineal de solubilidad del fármaco en función de la concentración de la CD. A<sub>p</sub> indica una desviación positiva de la isoterma (los CI formados tienen más de una molécula de CD) y A<sub>N</sub> una desviación negativa de la isoterma (representa una disminución de la solubilidad dependiente de la concentración de la CD). La desviación negativa de la linealidad puede resultar de una auto-asociación o de una alta concentración de agente complejante que causa alteraciones en la naturaleza del disolvente.<sup>11,12,31</sup>

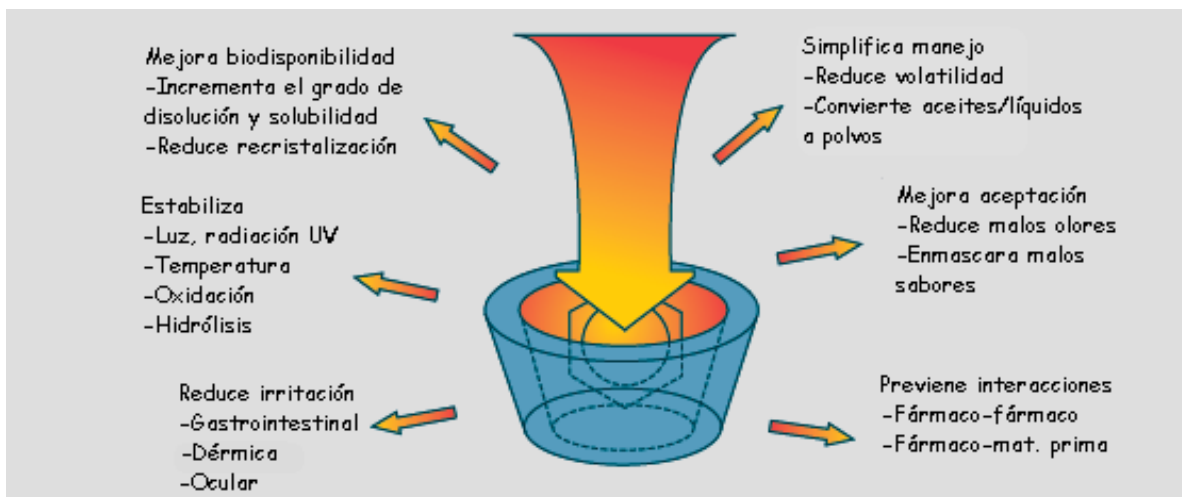
Los diagramas tipo B son aparecen cuando los CI formados tienen solubilidad limitada.<sup>12</sup>

En  $B_s$  la línea inicial es similar a la observada con los diagramas tipo A, donde aparentemente la solubilidad del huésped incrementa con la formación del CI. Le sigue una meseta que indica que la solubilidad del huésped es aparentemente constante debido a la precipitación del complejo con disolución concomitante del huésped sólido. Cuando todo el huésped sólido ha sido consumido, más adición de la CD resulta de la depresión del huésped en la solución por la formación y simultánea precipitación del complejo. En algunos casos el CI puede ser tan insoluble que no inicia aparente solubilidad del huésped y entonces es observado el diagrama  $B_i$ . Si la CD no es altamente soluble, el cambio en la curva puede ser causado por saturación con respecto a la CD.<sup>13</sup>

Mientras que la  $\beta$ -CD a menudo da lugar a curvas tipo B, debido a la pobre solubilidad de la CD misma, la HP- $\beta$ -CD por lo general produce CI solubles (sistemas tipo A).<sup>12</sup>

#### *Aplicación de las CDs.*

Estabilizan sustancias sensibles a la luz y al oxígeno, modifican la reactividad química de las moléculas huésped, fijan moléculas muy volátiles, mejoran la solubilidad de las sustancias, pueden transformar sustancias líquidas a polvos, protegen de la degradación por microorganismos a las sustancias, enmascaran el mal olor, sabor, color o pigmentación de las sustancias (*Ver figura 7*). En el área cosmética, se usan para hacer prolongar el olor de los perfumes, estabilizar la formulación de pasta de dientes y para liberación controlada de ingredientes activos de cremas para la piel.



**Figura 7. Ventajas del uso de las CDs.**

*Biodisponibilidad.*

La complejación es un proceso rápidamente reversible. En solución acuosa, el complejo es continuamente formado y disociado con un tiempo de vida del rango de milisegundos. Aun la más lenta cinética de disociación, es esencialmente instantánea. Las CDs difícilmente atraviesan la membrana celular y actúan como potenciadores incrementando la biodisponibilidad del fármaco en la superficie de la membrana biológica eliminándose de manera rápida.<sup>11,12,33</sup>

Se ha observado que 1 hora después de la administración oral de la HP-β-CD en humanos, no es detectada en plasma y orina, lo que indica que no se absorbe en el sistema gastrointestinal y que la biodisponibilidad oral en humanos es baja.<sup>25</sup>

*Seguridad de las CDs.*

Se han realizado un gran número de estudios (hematológicos, uroanálisis y necrosis) después de la administración oral de la β-CD y no se han observado efectos tóxicos significativos en ratones, ratas o perros. La α-CD y la γ-CD muestran un perfil similar al observado con la β-CD.

La HP-β-CD ha sido evaluada en ratones, ratas y perros durante 2 periodos de dosificaciones durante 1 y 2 años, en dosis altas. No fueron observados efectos

adversos excepto por un incremento en diarrea en perros tratados con dosis de 5000 mg/Kg/día.

La literatura indica que la toxicidad de la HP- $\beta$ -CD es tolerada por varias especies de animales, particularmente en dosis ordinarias y muestra limitada toxicidad, dependiendo de la dosis y la ruta de administración. La HP- $\beta$ -CD es también bien tolerada en humanos, con el principal efecto de la diarrea y con ninguno sobre la función renal.<sup>25</sup>

En los estudios realizados a las CDs nativas y derivadas no se han encontrado reportes de comportamiento mutagénico en estudios de administración oral ni parenteral.<sup>12</sup>

#### *Toxicidad de la HP- $\beta$ -CD en humanos.*

Una gran variedad de estudios clínicos han reportado que la HP- $\beta$ -CD es tolerada y segura para los pacientes que recibieron una dosis oral diaria de 4 a 8 g durante dos semanas. Dosis orales diarias de 16 a 24 g por 14 días en voluntarios, producen un incremento de incidencia de heces blandas y diarrea. Por lo tanto, basados en estos resultados clínicos, la HP- $\beta$ -CD es considerada como no tóxica en dosis diarias menores a 16 g.<sup>25</sup>

#### *CI entre fármacos y diferentes CDs.*

Estudios previos han demostrado que la solubilidad acuosa de la furosemida incrementa por la inclusión en  $\beta$ -CD, así como también su eficacia terapéutica. Las técnicas de co-precipitación y de secado por liofilización favorecen la formación de CI solubles de furosemida y  $\beta$ -CD. Tal complejación se debe a la introducción del anillo fenilo de la furosemida en la cavidad no polar de la  $\beta$ -CD, lo mismo ocurre con la HP- $\beta$ -CD.<sup>16,18</sup>

La solubilidad del CI furosemida:HP- $\beta$ -CD incrementa dependiendo del método de preparación y de la relación molar; el método de spray drying y el de ultrasonificación en una relación molar de 1:2 dan óptimos resultados.<sup>17</sup>

Por lo tanto, el incremento en la disolución y solubilidad de la furosemida depende del tipo de derivado de  $\beta$ -CD, de la relación molar y el método de preparación.<sup>27</sup>

### *Adición de sustancias estabilizadoras.*

El agregar polímeros solubles, como la polivinilpirrolidona (PVP) a una solución en presencia del CI formado entre  $\beta$ -CD y nitroimidazoles incrementa la constante de estabilidad. Se piensa que el PVP cubre el CI e interactúa con la CD por medio de enlaces intramoleculares de hidrógeno, que resulta en un complejo ternario más ordenado. La geometría del CI no cambia en presencia de PVP, ya que sólo el anillo de imidazol de los nitroimidazoles entra a la cavidad de la  $\beta$ -CD y la cadena lateral se mantiene fuera de ella.<sup>19,21</sup>

La presencia de PVP al 0.1 % (m/v) en un sistema con naproxeno (NAP) y HP- $\beta$ -CD, permite un incremento en la constante de estabilidad, por arriba de un 60% con respecto al correspondiente sistema binario. En un sistema ternario, la solubilidad de NAP a diferentes pH, incrementa linealmente en función de la concentración de cada CD examinada, y se muestra un caso típico de un perfil de  $A_L$ , independiente del pH, lo que nos permite conocer el comportamiento de los sistemas binarios y ternarios.<sup>20,22</sup>

La combinación estratégica de pH y PVP con la CD puede lograr mejores resultados en términos de eficiencia de solubilidad hacia el NAP.<sup>22</sup>

Se han estudiado sistemas ternarios con aminoácidos, CD y NAP para evaluar el incremento de solubilidad, de los cuales el más efectivo fue la Arginina ya que muestra un claro efecto sinérgico con el CI para elevar la solubilidad de este, cuya constante de estabilidad resultó ser 3.6 veces mayor a la del sistema binario.<sup>23</sup>

Se ha demostrado que la adición de elementos como la polivinilpirrolidona (PVP) al sistema binario de furosemida: HP- $\beta$ -CD estabiliza el CI final.<sup>17</sup>

*CD y agentes conservadores.*

La presencia de conservadores puede tener efectos sobre la estabilidad del complejo y la eficacia del conservador. Esto debido a los siguientes mecanismos:

Primeramente, la molécula del conservador puede desplazar a la molécula del fármaco de la cavidad de la CD y segundo, la complejación del conservador reduce o elimina su actividad antimicrobiana. Esta interacción depende de la habilidad de las moléculas del conservador para formar CI con las CDs.<sup>24</sup>

Se ha estudiado la interacción entre conservadores comúnmente utilizados y se ha demostrado, por ejemplo, que la presencia de conservadores insolubles en agua, tales como el clorobutanol, el metilparabeno y el propilparabeno, reducen la solubilidad del CI. En el caso de la adición de cloruro de benzalconio, gluconato de clorhexidina, timerosal, acetato de fenilmercurio, el bronopol, que son solubles en agua, existe bajo efecto sobre la complejación de los fármacos y la HP- $\beta$ -CD, por lo que el uso de éstos es adecuado incluso en altas concentraciones.<sup>24,26</sup>

En general, el efecto antimicrobiano de sustancias lipofílicas es mayormente afectado por la presencia de las CDs que el efecto antimicrobiano de los conservadores hidrofílicos.<sup>24</sup>

*Técnicas de preparación de CI.*

*Co-precipitación.* Es la técnica más ampliamente utilizada. La CD se disuelve en agua, la molécula huésped es adicionada con agitación a la solución de la CD. El complejo se solubiliza elevando la temperatura y después se precipita por enfriamiento. El precipitado se recupera por decantamiento, centrifugación o filtración. Tiene la desventaja de que por la baja solubilidad de la CD, tal es el caso de la  $\beta$ -CD, se usan grandes cantidades de agua, además de elevar costos ya que se requiere energía para calentar y enfriar.

*Mezcla de complejación.* No necesariamente se requiere disolver la CD para formar un complejo. La CD se puede agregar al agua hasta en un 50-60% sólida. La fase acuosa es saturada con la CD, entonces se agrega el fármaco y se

mezcla, el complejo se formará entre las moléculas solubilizadas de CD y el fármaco. El complejo soluble se separa de la solución saturada mediante filtración, se precipita y se recupera como en el método anterior. El tiempo requerido para la formación del complejo es variable y depende de la molécula huésped. La principal ventaja radica en baja cantidad de agua requerida y el tamaño del tanque de fabricación.<sup>11</sup>

*Mezcla de disolventes.* Esta técnica consiste en disolver la CD en agua y el fármaco en un disolvente que sea miscible con el agua para después mezclarlos y evaporarlos.<sup>14</sup>

*Amasado.* Una pequeña cantidad de agua es adicionada a la CD para formar una pasta. Se puede utilizar un mortero y un pistilo o a gran escala, con un amasador. El amasamiento de la mezcla depende de la molécula huésped. El complejo obtenido se seca directamente o se lava con una pequeña cantidad de agua y se colecta por filtración o centrifugación.

*Mezcla húmeda y calentamiento.* Se usa una pequeña cantidad de agua o simplemente no se adiciona. La cantidad de agua varia de acuerdo a la cantidad de agua de hidratación de la CD, y la adicionada en la molécula huésped que oscila entre los 20-25 % con respecto a su base seca. La molécula huésped y la CD se mezclan fuertemente y se colocan en un contenedor que es sellado y calentado a 100 °C. La cantidad de agua adicionada, el grado de mezclado y el tiempo de calentamiento tiene que ser optimizado por la molécula huésped. La principal desventaja de esta técnica es que no se puede usar con fármacos termolábiles.

*Mezclado en seco.* Algunas moléculas pueden ser complejadas simplemente adicionándolas a la CD y mezclándolas juntas. Es un buen método para la complejación de aceites o líquidos. La cantidad de tiempo de mezclado requerido es variable y depende de la molécula huésped. Generalmente se realiza a temperatura ambiente y es una variable del método de amasado. La ventaja de este método es que no se necesita agregar agua, a menos que se tengan que



realizar enjuagues. La desventaja es el riesgo del apelmazamiento en gran escala, resultando una mezcla insuficiente para el proceso de complejación.<sup>11</sup>

*Técnicas de secado de los CI.*

Éstas dependerán de las características del fármaco a complejar.

*Evaporación.* Se realiza generalmente con la ayuda de un equipo rotaevaporador y/o una estufa. Para moléculas con punto de ebullición por abajo de los 100°C, se debe usar una temperatura baja durante el secado. Algunas moléculas pueden perderse durante el secado cuando éste se realiza a una temperatura que se encuentre a pocos grados por debajo del punto de ebullición de la molécula huésped.<sup>11</sup>

*Secado por aspersion (Spray drying).* Los complejos pueden secarse también por aspersion. La precipitación debe ser controlada para evitar la formación de partículas que bloqueen el atomizador o la boquilla del aspersor.<sup>11</sup>

*Secado a bajas temperaturas.* Un desecador o liofilizador pueden ser usados para secar complejos. Las bajas temperaturas pueden minimizar la perdida de moléculas extremadamente volátiles. El liofilizador es especialmente usado para moléculas termolábiles.<sup>11</sup>

*Métodos de análisis de los CI.*

Existen diversos métodos para el análisis de los CI, entre los cuales destacan el de Calorimetría Diferencial de Barrido (sus siglas en inglés DSC), Difracción de Rayos X (RX) y Espectrofotometría de Infrarrojo (IR).

Un análisis comparativo a través de estos métodos, entre el principio activo y las muestras de los CI preparados, nos permitirá determinar la efectividad del método de elaboración del mismo.

*Calorimetría diferencial de barrido.* En este método, la muestra y el material de referencia se someten a una temperatura cuyas variaciones están perfectamente programadas, sin embargo, cuando se detecta una transición en la muestra, se

añade o se sustrae energía al recipiente de la muestra o del material de referencia, para mantener ambas sustancias a la misma temperatura. Debido que este suministro de energía es exactamente equivalente en magnitud a la energía absorbida o desprendida por la transición que se produce, un registro de esta energía de equilibrio proporciona una medición calorimétrica directa de la energía de transición.<sup>15,37</sup>

*Método de Difracción de Rayos X.* Los rayos X son radiaciones electromagnéticas entre los rayos UV y gamma en el espectro electromagnético (rango de longitud de onda 0.01 y 100 Å). La difracción de rayos X es muy usada para caracterizar sólidos farmacéuticos. La difracción es un fenómeno de dispersión, cuando los rayos X inciden sobre los sólidos, los rayos se dispersan en todas direcciones. Cada producto tiene un patrón de difracción característico, por lo que esta técnica es utilizada para identificación y caracterización de fases sólidas, la técnica también es capaz de revelar las diferencias de cristalinidad de compuestos. En una mezcla sólida, el patrón de bandas de cada polvo es producido independientemente del otro constituyente, por lo tanto la difracción de una mezcla de polvos será la suma del patrón de difracción de los constituyentes individuales.<sup>14,15</sup>

*Espectrofotometría de IR.* La región IR abarca radiaciones de longitudes de onda entre 0.7 y 500 µm, en números de onda, entre 14 000 cm<sup>-1</sup> y 20 cm<sup>-1</sup>. El intervalo espectral de mayor uso es la región del IR medio, que cubre frecuencias de 200 a 400 cm<sup>-1</sup>. La espectroscopia IR implica movimientos de torsión, flexión, rotación y vibración de los átomos de una molécula. Al interactuar con la radiación IR, algunas porciones de la radiación incidente se absorben a determinadas longitudes de onda. La multiplicidad de las vibraciones que ocurren en forma simultánea produce un espectro de absorción altamente complejo, que depende de las características de los grupos funcionales constitutivos de una molécula, así como de la configuración total de los átomos.<sup>15</sup>

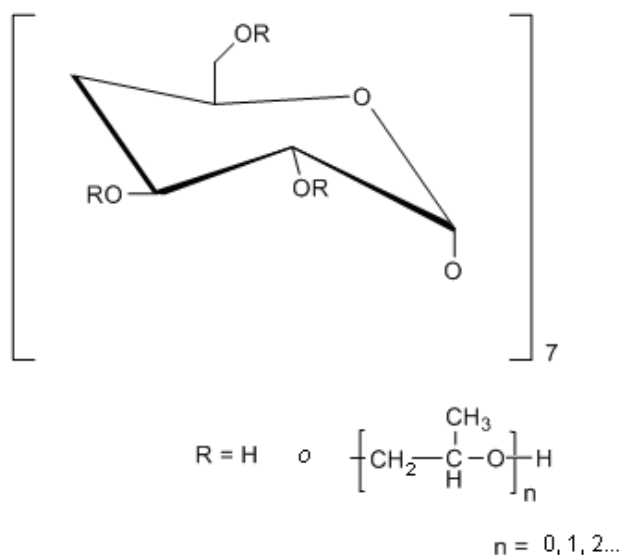
*Hidroxiopropil β-ciclodextrina (HP-β-CD).*

PM  $C_{54}H_{102}O_{39} = 1374$  g/mol

Número de unidades de glucopiranososa: 7

Grado típico de sustitución: 4.1-5.1

β-CD: 1.0 % máximo



**Figura 8. Estructura de la HP-β-CD.**

Usos: Ayuda a mejorar la solubilidad de moléculas poco solubles en agua, formando CI.

Solubilidad: Es muy soluble en agua, más de 60 g por cada 100 mL de agua a 25 °C. Los grupos hidroxilo e hidroxipropilo que se encuentran en el exterior de la CD, interactúan con el agua para proporcionar mayor solubilidad acuosa.

Estabilidad: es estable en bases y ácidos débiles, pero se hidroliza en ácidos fuertes. El grado de hidrólisis depende de la concentración del ácido y de la temperatura.

En presencia de glucoamilasas, γ-amilasa o β-amilasa la HP-β-CD es estable. La habilidad de las α-amilasa para hidrolizar a esta CD es limitada, ya que la

sustitución genera impedimento estérico que no permite se lleve a cabo la hidrólisis por la enzima, por lo que a mayor grado de sustitución o cantidad de sustitución se vuelve más resistente a la hidrólisis.

Incompatibilidad: Es biocompatible y compatible con un gran número de componentes comúnmente utilizados en aplicaciones farmacéuticas.

Seguridad: No genotóxica por la prueba de AMES o *in vivo* con micronúcleos, no carcinogénica de acuerdo a estudios con ratas y ratones, no teratogénica en ratas y conejos.<sup>36</sup>

*Propilenglicol.*

También denominado 1,2-dihidroxiopropano; 2-hidroxiopropanol, metiletilenglicol, metilglicol y propano-1,2-diol.

PM  $C_3H_8O_2 = 76.09$  g/mol

Densidad: 1.038 g/mL a 20 °C

### **Figura 9. Estructura química del propilenglicol.**

Usos: Conservador (soluciones y semisólidos a una concentración de 15 a 30 %), desinfectante, humectante, solvente o cosolvente miscible en agua, estabilizador para vitaminas.

Solubilidad: Miscible con acetona, cloroformo, etanol (95 %), glicerina y agua.

Estabilidad: Químicamente estable cuando es mezclado con etanol (95 %), glicerina o agua.

Incompatibilidad: con agentes oxidantes tales como el permanganato de potasio.<sup>9</sup>

Seguridad: El propilenglicol es usado en una gran variedad de formulaciones farmacéuticas y es generalmente considerado como relativamente no tóxico, de acuerdo a ello es usado en alimentos y cosméticos de manera extensa. Es menos tóxico que otros glicoles, probablemente debido a su metabolismo y excreción. Es rápidamente absorbido en el sistema gastrointestinal, extensivamente metabolizado en el hígado principalmente a ácido láctico y pirúvico, y es excretado por la orina.<sup>9</sup>

La administración del propilenglicol a grandes volúmenes produce efectos adversos, principalmente en el sistema nervioso central, especialmente en neonatos y niños. Otros efectos adversos aislados son ototoxicidad, efecto cardiovascular, convulsiones e hiperosmolaridad. Los efectos adversos ocurren por la aplicación de grandes cantidades de propilenglicol a neonatos, niños menores de 4 años, mujeres embarazadas y pacientes con problemas hepáticos y renales.<sup>9,28,29,30</sup>

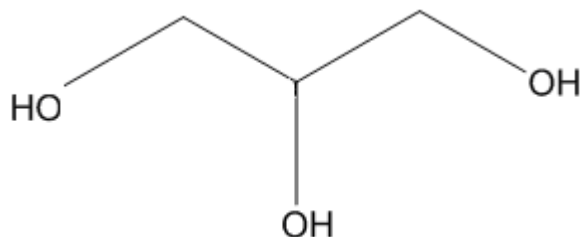
De acuerdo a datos metabólicos y tóxicos la OMS (Organización Mundial de la Salud) tiene como aceptación la administración diaria de propilenglicol en cantidades menores de 25 mg/Kg de peso.<sup>9,30</sup>

*Glicerina.*

También denominada Croderol; E422; Glicon G-100; Optim; Pricerina; 1,2,3-propantetriol y glicerol trihidroxipropano.

PM  $C_3H_8O_3 = 92.09$  g/mol

Densidad: 1.2636 g/mL a 20°C



**Figura 10. Estructura química de la glicerina.**

Usos: Conservador antimicrobiano (en soluciones orales <20 %), emoliente, humectante, solvente, agente edulcorante.

En soluciones orales, la glicerina es usada como solvente, agente edulcorante, conservador y para incrementar viscosidad.

Descripción: Es transparente, incolora, inodora, viscosa, higroscópica, sabor dulce, aproximadamente 0.6 veces más que la sucrosa.

Solubilidad: Soluble en agua, etanol (95 %) y metanol, prácticamente insoluble en benceno, cloroformo y aceites.

Estabilidad: Las mezclas de glicerina con agua, etanol y propilenglicol son químicamente estables.

Incompatibilidad: En solución puede producir lentamente sustancias de oxidación, coloración oscura en presencia de luz o en contacto con óxido de zinc y nitrato de bismuto.

Seguridad: La glicerina es consumida como parte de la dieta normal, absorbida en el intestino y metabolizada a dióxido de carbono y glicógeno o es usada en la síntesis de grasas del cuerpo. Los efectos adversos son debidos a sus propiedades deshidratantes. En grandes dosis puede producir dolor de cabeza, sed, nauseas e hiperglicemia.

Cuando es usada como un excipiente, la glicerina no esta usualmente asociada con efectos adversos y es generalmente reconocida como no tóxica y no irritante.<sup>9</sup>

*Polivinilpirrolidona.*

También conocida como E1201; colidon; *plasdon*; polividona; povidona; PVP y polímero 1-vinil-2-pirrolidinona.

PM  $(C_6H_9NO)_n = 2500-3\ 000\ 000\ g/mol$

### **Figura 11. Estructura química de la PVP.**

Usos: Desintegrante, agente solubilizador; suspensor.

La PVP es usada como agente solubilizador en formulaciones orales y parenterales y llega a mostrar incremento en la solubilidad de fármacos poco solubles.

Solubilidad: Librementemente soluble en ácidos, cloroformo, etanol, cetonas, metanol y agua; prácticamente insoluble en éter, hidrocarburos y aceites minerales.

Estabilidad: En soluciones acuosas son susceptibles al crecimiento de moho por lo que requiere de la adición de conservadores.

Incompatibilidad: Compatible en solución con un buen número de sales inorgánicas, resinas naturales o sintéticas y otros químicos. La eficacia de algunos conservadores, como por ejemplo el timerosal, puede afectarse por la formación de complejos con la PVP.

Seguridad: En dosis orales, la PVP es no tóxica ya que no es absorbida en el tracto gastrointestinal ni en la membrana mucosa.

La OMS recomienda una dosis diaria de hasta 25 mg/Kg de peso.<sup>9</sup>

# Metodología experimental



## METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

Se llevó a cabo la fabricación de una solución oral de furosemida de concentración 1 mg/mL, que de acuerdo a un estudio de utilización de medicamentos en el área de farmacia hospitalaria de dos hospitales privados, es la concentración más frecuentemente administrada.<sup>10</sup>

### *ESTUDIOS DE PREFORMULACIÓN.*

#### *Identificación del principio activo.*

La identificación del principio activo se llevó a cabo mediante los métodos de espectrofotometría de infrarrojo (IR) y espectrofotometría de ultravioleta (UV).<sup>3,4</sup>

*Espectrofotometría de IR.* El espectro de IR obtenido en el análisis de la muestra se comparó con otro de referencia, identificando las bandas características de los grupos funcionales más importantes del principio activo.

*Espectrofotometría de UV.* Se realizó el análisis de UV a la muestra en un espectrofotómetro UNICAM UV-VIS Helios  $\alpha$ , no. de serie UVA070324. Se preparó una solución de 8  $\mu\text{g/mL}$  de la muestra en NaOH 0.02 N, luego se realizó un barrido de la solución en un espectro que va de 200 a 300 nm (intervalo dentro del cual se encuentra la longitud de onda de máxima absorción de la furosemida). Los valores máximos de absorción obtenidos de forma experimental se compararon con los reportados en la literatura.

#### *Solubilidad del principio activo.*

Las pruebas de solubilidad se realizaron con una masa aproximada de 10 mg de la muestra, los disolventes utilizados fueron: alcohol etílico al 95 %, éter etílico, propilenglicol, glicerina, alcohol metílico, agua, alcohol isopropílico, 1-butanol y acetona. La prueba de solubilidad se realizó en un tiempo de 30 minutos a temperatura ambiente, se agitó en vortex durante 30 segundos a intervalos de 5 minutos.

De acuerdo a la solubilidad del fármaco en cada disolvente se le asignó un término de solubilidad (Ver tabla 3).

<b>Términos de solubilidad</b>	
Muy soluble	Menos de 1 parte
Fácilmente soluble	de 1 a 10 partes
Soluble	de 11 a 30 partes
Poco soluble	de 31 a 100 partes
Ligeramente soluble	de 101 a 1000 partes
Muy ligeramente soluble	de 1001 a 10000 partes
Casi insoluble	más de 10000 partes

**Tabla 3. Tabla de términos de solubilidad de acuerdo a la FEUM 8va edición (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos).<sup>3</sup>**

Nota: Una parte de principio activo en  $n$  partes de disolvente.

*Degradación del principio activo.*

El estudio de degradación se realizó en condiciones:

*Oxidantes (en presencia de  $H_2O_2$ ):* Se pesaron 10 mg del principio activo, los que se mezclaron con 5 mL de  $H_2O_2$ , en frasco vial de vidrio color ámbar.

*Ácidas (HCl 7 N):* Se pesaron 10 mg de principio activo y se mezclaron con 5 mL de una solución de HCl 7 N, en frasco vial de vidrio color ámbar.

*Básicas (NaOH 7 N):* 10 mg de principio activo se mezclaron con 5 mL de una solución de NaOH 7 N, en frasco vial de vidrio color ámbar.

*En ausencia y en presencia de luz:* 10 mg de principio activo disueltos en 5 mL de acetona. Una muestra se almacenó en frasco vial color ambar para la prueba de ausencia de luz y otra en vial transparente para la de presencia de luz.

El tiempo para la prueba de degradación en las condiciones antes mencionadas fue de 48 horas a temperatura ambiente.

Para detectar los compuestos de degradación se realizó una Cromatografía en Capa Fina (CCF), donde la fase móvil utilizada para la elución, fue una mezcla de Acetato de etilo : Hexano (70:30) y la fase estacionaria estaba constituida por sílica gel 60F<sub>254</sub>. Como revelador se utilizó una lámpara de luz UV.

#### *Formación del CI.*

Primeramente se realizaron pruebas para corroborar la formación del CI de furosemida con diferentes tipos de CD teniendo como proveedor a la compañía International Specialty Products (ISP). De acuerdo con los resultados se eligió una de éstas.

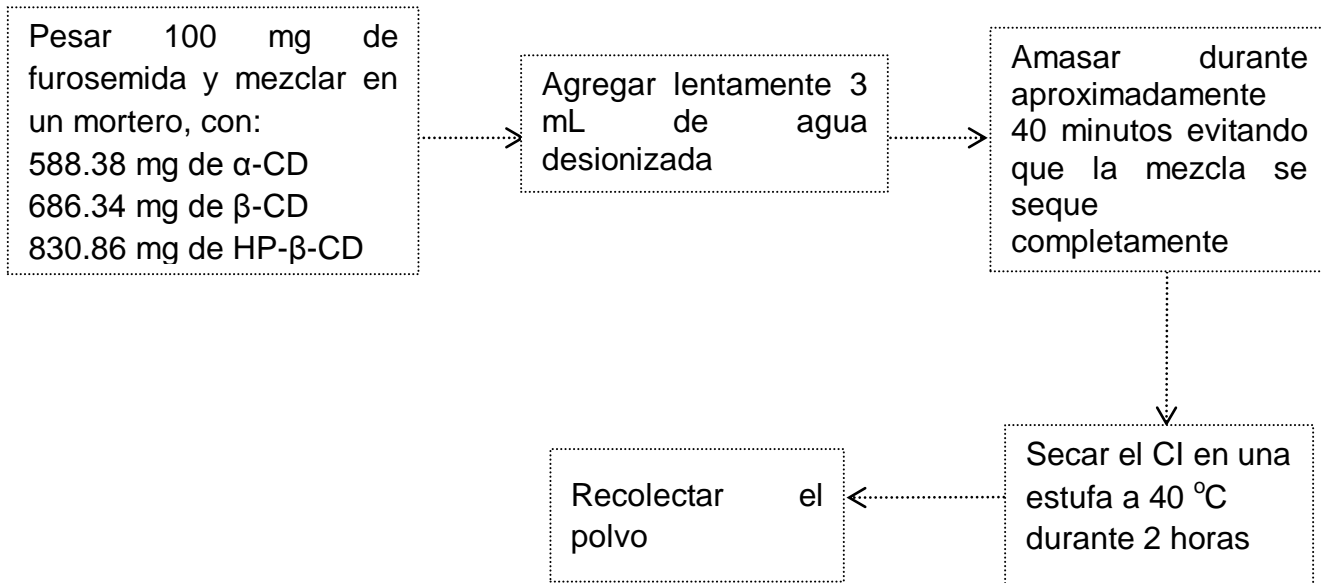
Posteriormente se realizó un breve ensayo de disolución para determinar la proporción molar de furosemida:CD a utilizar en los siguientes estudios para continuar con el desarrollo de la formulación.

Finalmente se evaluaron 3 métodos de formación de CI.

#### *Elección del tipo de CD.*

Se utilizaron 3 diferentes tipos de CDs ( $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD y HP- $\beta$ -CD) para la formación de CI mediante el método de amasado, en una proporción molar 1:2 (furosemida:CD).<sup>7</sup>

El procedimiento para la formación del CI, es el mismo para los tres tipos de CD:



Se utilizó un método gravimétrico para determinar qué CD podría solubilizar en mayor proporción al principio activo.

Después del proceso de complejación, a cada uno de los polvos obtenidos se les agregó 20 mL de agua, posteriormente se agitaron en una parrilla magnética durante 30 minutos para disolver la mayor cantidad de polvo. Pasado dicho tiempo cada una de las mezclas se filtró con papel Whatman® (40 ASHLESS Filtración Media Retención Cristalina, 15 cm de diámetro), que se encontraba completamente seco y previamente pesado a peso constante.

El papel filtro y el polvo retenido en él se secaron en una estufa a 40°C durante 2 días después de los cuales se pesaron, la cantidad retenida de polvo se relacionó con la cantidad de CI en solución y así se pudo elegir la CD para proceder con el desarrollo de la formulación.

#### *Elección de la proporción furosemida:CD*

Después de seleccionar la CD a utilizar para la formación del CI, se realizó un breve ensayo de disolución para elegir la proporción adecuada tanto de principio activo como de CD.

Se elaboró una curva de calibración con las siguientes concentraciones de furosemida en etanol al 95 % : 6, 8, 10, 12 y 14 µg/mL

Se prepararon mezclas de furosemida:HP-β-CD a diferentes proporciones (1:1, 1:1.5, 1:2, 1:2.5, 1:3 y 1:4). Para todas las mezclas se utilizaron 15 mL de agua y 25 mg de furosemida, sólo se ajustó la proporción de CD.

Para favorecer la formación del CI, estas mezclas se sometieron a sonicación por 2 horas en un equipo ultrasonificador marca BRANSON modelo 5200 con No. de serie B5200R-1. Después las mezclas se filtraron con filtros Syringe Filter Versapor® membrane, tamaño de poro de 0.5 µm, para retener el principio activo que no se disolvió. La concentración de furosemida en las soluciones filtradas se ajustó de tal manera que pudiera estar dentro del intervalo de la curva patrón (ajuste con etanol al 95 %).

Se determinó la cantidad de furosemida en la solución filtrada mediante espectrofotometría de UV. La proporción molar a la cual se detectó una mayor cantidad de furosemida en solución fue elegida para la formulación.

*Elección del método para la formación de CI.*

Se llevó a cabo la formación del CI en una proporción molar de 1:3 (furosemida:HP-β-CD) mediante tres métodos con etanol al 95 % como disolvente (Ver tabla 4).

Métodos
Amasado
Evaporación
Spray drying

**Tabla 4. Métodos de preparación de CI.**

*Método de Amasado.* Se pesaron las cantidades correspondientes a la furosemida y la CD (100 mg furosemida y 1246.3 mg de HP- $\beta$ -CD) y se depositaron en un mortero. Posteriormente los polvos se amasaron durante 40 minutos agregando poco a poco 3 mL de etanol al 95 % de tal manera que la mezcla se mantuviera húmeda todo el tiempo. Después de amasar se secó a 40°C durante 2 horas.<sup>11</sup>

*Método de Spray drying.* Se pesaron las cantidades correspondientes al principio activo y la CD (100 mg furosemida y 1246.3 mg de HP- $\beta$ -CD). Por un lado se solubilizó la furosemida en 12 mL de etanol al 95 % y por el otro la CD en 20 mL de agua desionizada. Una vez formada la solución, ambas sustancias se mezclaron y se sometieron a agitación magnética durante 30 minutos, después se sonicó por 2 horas. La mezcla se secó por aspersion a 40°C.<sup>11</sup>

*Método de evaporación.* Este método se realizó de la misma manera que el de Spray drying hasta la etapa de secado, ya que los disolventes se eliminaron con la ayuda de un rotaevaporador Yamato modelo BM100 con No. de serie A9900008, a 90 °C y una velocidad de rotación de 60 rpm.<sup>11</sup>

Los CI obtenidos se sometieron a estudios de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), difracción de RX y espectrofotometría de IR, y de acuerdo a los resultados se eligió el método adecuado para la formación del complejo.

#### *Incompatibilidad con excipientes.*

Para realizar las pruebas de incompatibilidad con excipientes, fue necesario primeramente preparar el CI mediante el método de evaporación.

#### Preparación del CI.

Para 100 mg de furosemida, se pesaron 1246.3 mg de HP- $\beta$ -CD (relación molar 1:3).

La furosemida se disolvió en 12 mL de etanol al 95 % y la CD en 20 mL de agua desionizada. Una vez disueltos estos componentes se mezclaron poco a poco con agitación magnética; la solución resultante se neutralizó con un buffer de fosfato

de sodio pH=7.6 y se mantuvo en agitación magnética durante 30 minutos. Posteriormente se sometió a sonicación durante 2 horas para finalmente evaporizar los disolventes y dejar secar el CI a 40°C por 24 horas en una estufa.

Pruebas para detectar incompatibilidad con excipientes.

Las pruebas de incompatibilidad se realizaron con cada uno de los componentes de la formulación (Ver tabla 5).

<b>Componentes de la formulación</b>
Conservador
Estabilizante
Cosolvente

**Tabla 5. Excipientes de la formulación.**

*Prueba 1.* El CI se disolvió en agua y se mezcló con cada uno de los excipientes en la misma proporción (1:1). La mezcla se dejó en reposo 2 días a temperatura ambiente en frascos transparentes.

La detección de interacción entre excipientes y CI, se realizó por CCF. Usando una fase móvil de Acetato de etilo:Hexano (70:30) y empleando una fase estacionaria de sílica gel 60F<sub>254</sub>. Las placas se revelaron en una cámara de Yodo.

*Prueba 2.* En esta prueba se hizo una combinación de excipientes como lo muestra la tabla 6, en una proporción 1:1 (CI:Excipiente) reposando la mezcla por 7 días a temperatura ambiente.

<b>Excipientes</b>	<b>CI</b>	<b>Cosolvente</b>	<b>Conservador</b>	<b>Estabilizante</b>
<b>Mezcla</b>				
<b>M1</b>	X	X	X	X
<b>M2</b>	X	X	NA	X
<b>M3</b>	X	NA	X	X
<b>M4</b>	X	X	X	NA

**Tabla 6. Mezclas para la prueba de incompatibilidad con excipientes.**

NA=No aplica

Ejemplo: M2 contiene el CI y todos los excipientes excepto conservador.

La detección de interacción entre excipientes y CI se realizó de la misma forma que para la Prueba 1, por CCF.

#### **ESTUDIOS DE FORMULACIÓN.**

A partir de los CI preparados por el método de evaporación, con etanol al 95 % como disolvente y en proporción molar 1:3 (furosemida:HP- $\beta$ -CD), se prepararon 2 formulaciones diferentes que terminaron en una formulación óptima, la cual se sometió a escalamiento y a estudios de estabilidad.

##### **Formulación 1.**

Se prepararon 100 mL de una solución con una concentración de furosemida de 1 mg/mL con las proporciones de excipientes recomendadas en la literatura (*Ver tabla 7*).



<b>Componente</b>	<b>% m/v<sup>5</sup></b>	<b>Masa o volumen</b>
Furosemida	0.1	0.1 g
HP-β-CD	1.25	1.2463 g
Glicerina	15	11.9 mL
Propilenglicol	1	0.96 mL
PVP	1	1 g
Colorante	0.16	0.16 mL
Saborizante	0.38	0.38 mL
Agua	Cbp	cbp

**Tabla 7. Formulación 1.**

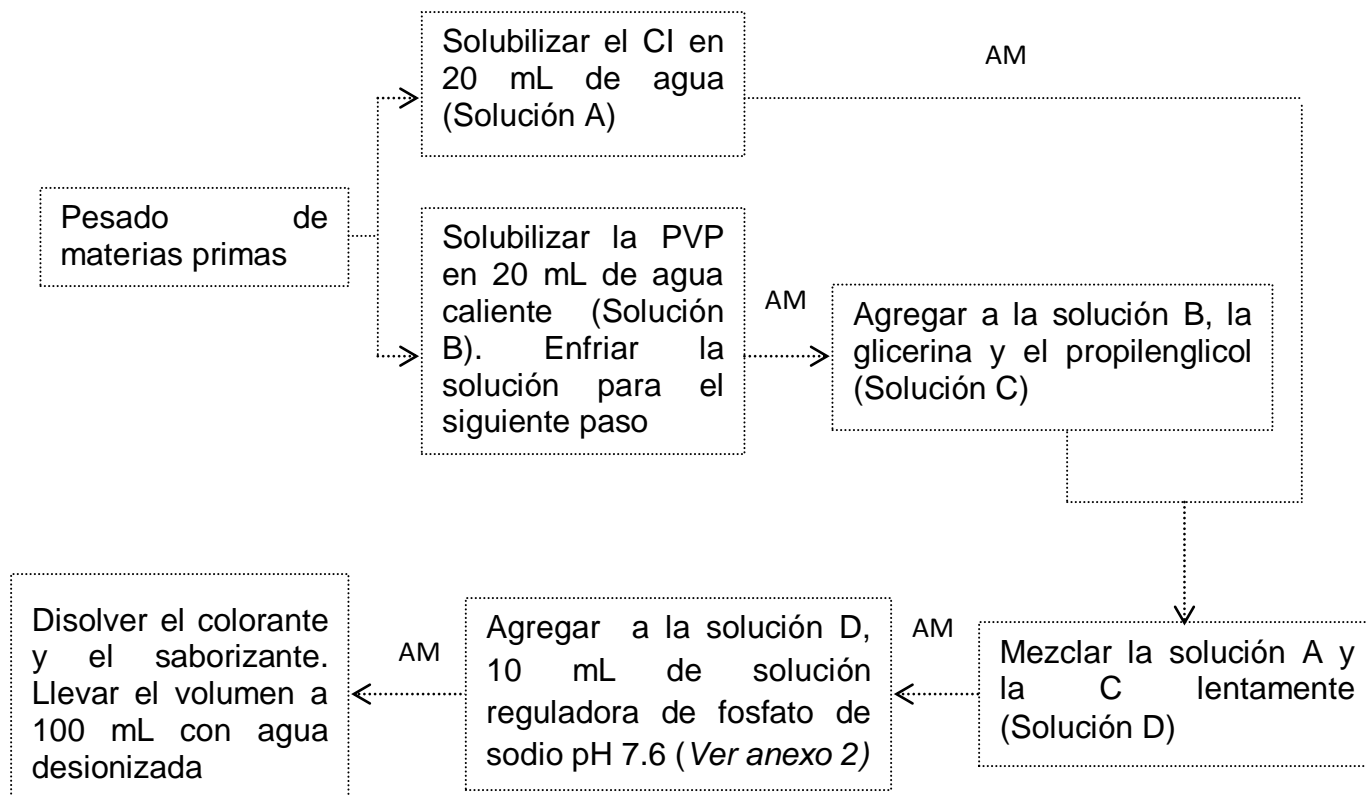
Para transformar las cantidades de excipientes de gramos a unidades de volumen, se utilizaron los datos de densidad de los excipientes líquidos (*Ver tabla 8*).

El colorante y saborizante en solución, empleados para la formulación, son de grado alimenticio; de la marca comercial Deiman S.A. de C.V.

<b>Excipiente</b>	<b>Densidad (g/mL) a 20 °C</b>
Propilenglicol	1.038
Glicerina	1.2636

**Tabla 8. Valores de densidad de los excipientes líquidos (g/mL).**

Procedimiento para la elaboración de una solución oral de furosemida.



AM=Agitación magnética

La solución final se acondicionó en frascos de vidrio color ámbar con gotero, se almacenó a temperatura ambiente durante 1 mes para su posterior inspección.

**Formulación 2.**

Se prepararon 100 mL de una solución con una concentración de furosemida de 1 mg/mL, con las proporciones de excipientes indicadas en la tabla 9.

<b>Componente</b>	<b>% m/v</b>	<b>Masa o volumen</b>
Furosemida	0.1	0.1 g
HP- $\beta$ -CD	1.25	1.2463 g
Glicerina	20	15.8 mL
Propilenglicol	1	0.96 mL
PVP	1	1 g
Colorante	0.16	0.16 mL
Saborizante	0.38	0.38 mL
Agua	cbp	cbp

**Tabla 9. Formulación 2.**

El orden de adición de los componentes y procedimiento de elaboración es el mismo que el indicado en la formulación 1. La solución se filtró en condiciones asépticas en campana de flujo laminar, con una membrana de tamaño de poro de 0.22  $\mu$ m, posteriormente se acondicionó en frascos de polietileno de mediana densidad opaco de color blanco con inserto de gotero que fue esterilizado con gas (óxido de etileno). Se almacenó a temperatura ambiente durante 1 mes para su posterior inspección visual.

*Escalamiento de la Formulación óptima (Formulación 2).*

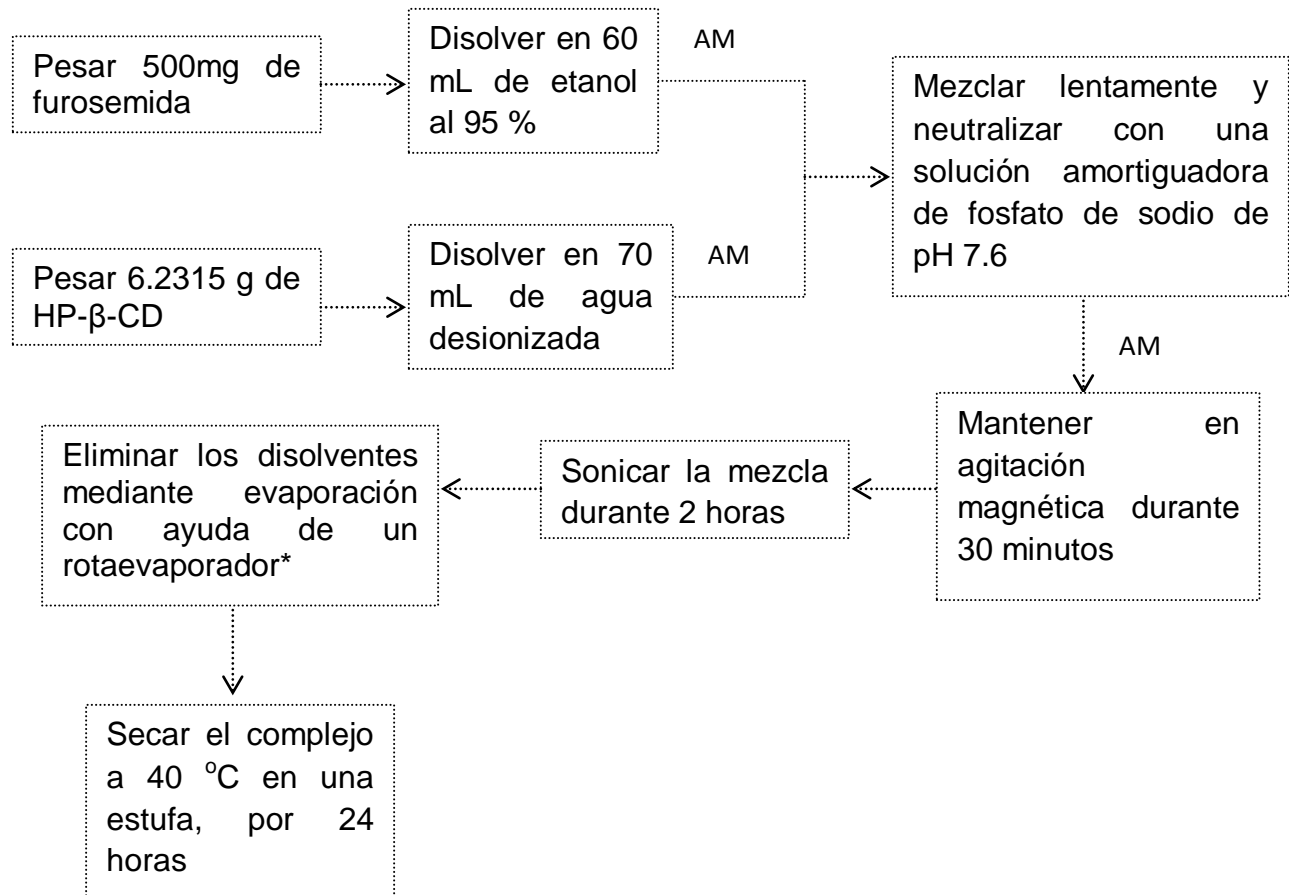
Se fabricaron 500 mL de la solución de furosemida a una concentración de 1 mg/mL. Se anexa PNO de la fabricación de la solución oral (*PNO-001 anexo No. 1*). Los excipientes y sus respectivas cantidades están indicados en la tabla 10.

<b>Componente</b>	<b>% m/v</b>	<b>Masa o volumen</b>
Furosemida	0.1	0.5 g
HP- $\beta$ -CD	1.25	6.2315 g
Glicerina	20	79.1 mL
Propilenglicol	1	4.8 mL
PVP	1	5 g
Colorante	0.16	0.8 mL
Saborizante	0.38	1.9 mL
Agua	cbp	cbp

**Tabla 10. Componentes de la solución y sus cantidades (tamaño de lote 500 mL).**

Procedimiento de preparación del CI.

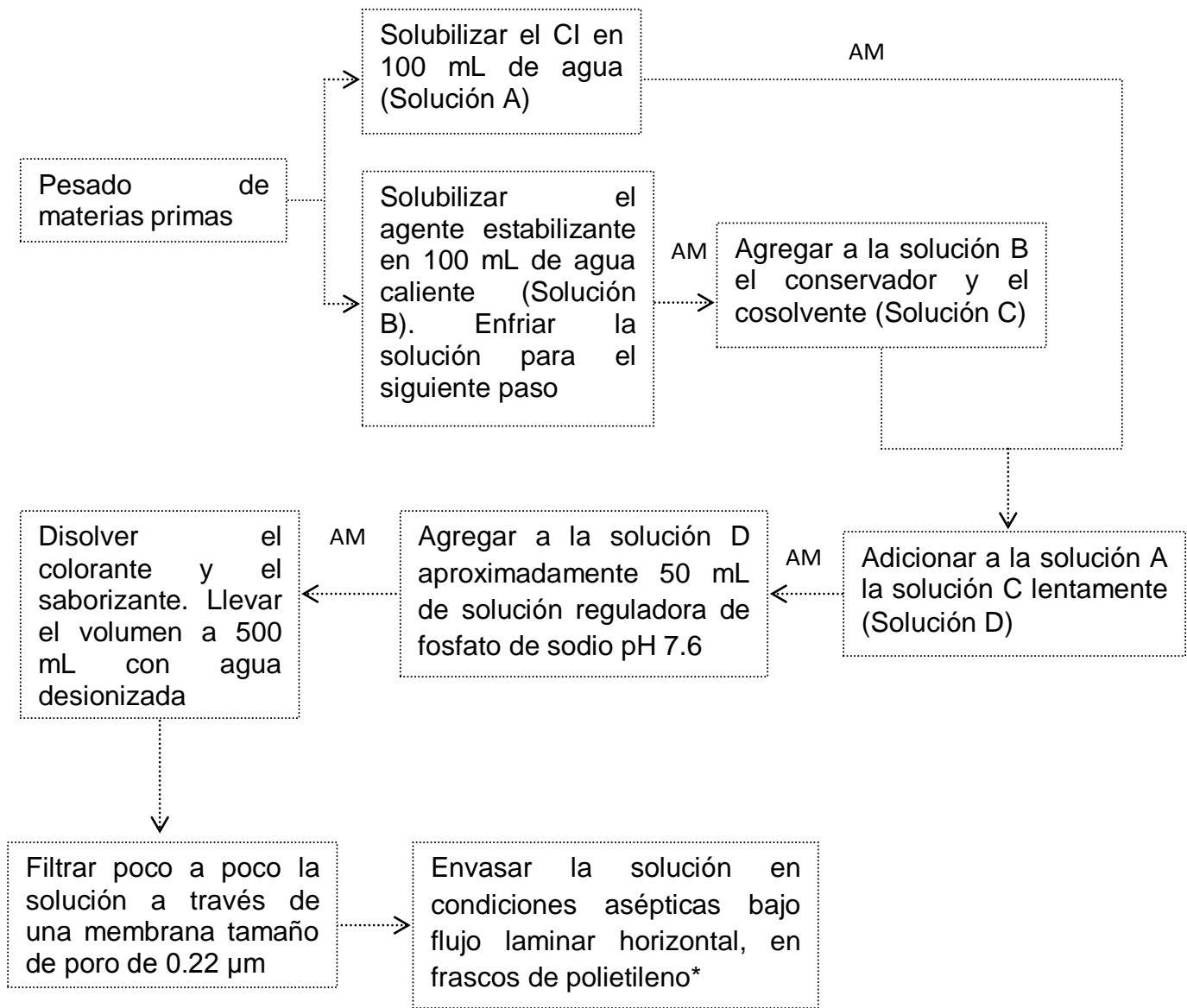
Se prepararon dos lotes de CI uno para su análisis por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) y el otro para la fabricación de la solución.



AM=Agitación magnética

\*Marca Yamato, modelo BM100 Water bath, No. serie A9900008

Diagrama de proceso de elaboración de la solución.



AM=Agitación magnética

\* Frascos de polietileno de mediana densidad opaco de color blanco con inserto de gotero, previamente esterilizados con gas (óxido de etileno).

Los frascos resultantes se sometieron a las pruebas de ciclado.

*ESTUDIOS DE ESTABILIDAD.*

*Prueba de estabilidad 1.*

Una muestra de 30 frascos de esta solución se sometió a prueba de ciclado a temperatura de 5°C (10 frascos), a 23°C (10 frascos) y a 40°C (10 frascos) durante un mes. Al inicio y al final de la prueba de ciclado se realizaron las determinaciones indicadas en las especificaciones de producto terminado para detectar cambios en la solución (*Ver tabla 11*).

<b>Parámetro</b>	<b>Especificación</b>
Apariencia de la solución	Solución homogénea, libre de partículas extrañas, coloración morada
pH	Entre 6.6 y 7.6
Índice de refracción	Entre 1.36 y 1.37
Densidad relativa	Entre 1.09 y 1.10 g/mL

**Tabla 11. Especificaciones de producto terminado.**

*Prueba de estabilidad 2.*

Una muestra de 10 frascos de la solución fabricada a escala se sometió de manera alternada a temperaturas de 5 y 40°C durante un mes.

Al inicio y al final de dicha prueba se realizaron las determinaciones indicadas en la tabla 11, para detectar algún cambio en la solución.

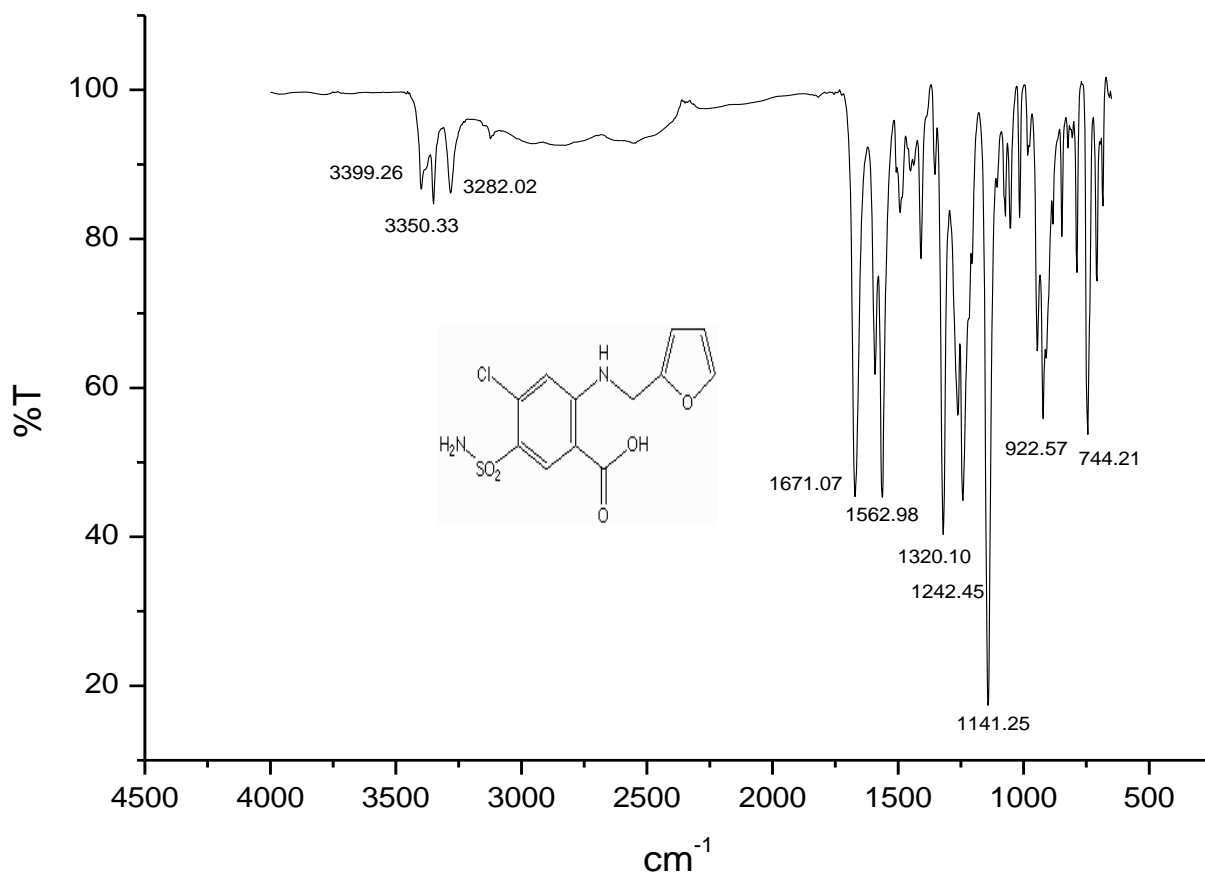
# Resultados y análisis



RESULTADOS Y ANÁLISIS.

Identificación del principio activo.

*Espectrofotometría de IR.* Los picos observados a 3399.26, 3350.33 y a 3282.02  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a las vibraciones de los enlaces C-H de la furosemina, el pico en 1671 y 1562  $\text{cm}^{-1}$  determinan la presencia de la sulfonamida, los que se encuentran en 1320.1 y 1242.45  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a la amina, mientras que 1141.25  $\text{cm}^{-1}$  indica la presencia del ácido carboxílico. Entre 922.57 - 744.21  $\text{cm}^{-1}$  se observan bandas correspondientes a vibraciones del C-H del anillo aromático.



Gráfica 1. Identificación de furosemina por el método de espectrofotometría de IR.

*Espectrofotometría de UV.* Se detectó el pico de máxima absorción a 271 nm, tal y como lo indica la bibliografía.<sup>3</sup>

*Solubilidad del principio activo.*

<b>Disolvente</b>	<b>Furosemida (mg)</b>	<b>Vol. disolvente (mL)</b>
Alcohol etílico al 95 %	10	0.75
Éter etílico	10	9.5
Propilenglicol	10	3
Glicerina	10	8
Alcohol metílico	10	0.7
Agua	6	>70
Alcohol isopropílico	6	2
1-Butanol	5	1.6
Acetona	9	4.3

**Tabla 12. Resultados de las pruebas de solubilidad del principio activo con diferentes disolventes.**

En la tabla 12 se observa que la furosemida es muy soluble en alcohol etílico al 95 % y el metílico. Fácilmente soluble en éter etílico, propilenglicol, glicerina, alcohol isopropílico, 1-butanol y en acetona; siendo poco soluble en agua. De acuerdo a estos datos se propone utilizar como disolventes acetona y etanol en análisis de preformulación, los demás se descartan por toxicidad; por otro lado se

incluyen dos disolventes farmacéuticos que pueden ser candidatos a formar parte de la formulación (glicerina y propilenglicol). La poca solubilidad del fármaco en agua sugiere el uso de un elemento que ayude a mejorarla, tal es el caso de las CD's como se mencionó anteriormente.

*Degradación del principio activo.*

<b>Condiciones</b>	<b>Rf de compuestos de degradación</b>
Furosemida estándar	0.86
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.58 y 0.36
NaOH 7 N	La muestra no eluyó, quedándose en la línea base
HCl 7N	0.67, 0.44 y 0.22
Con luz (furosemida disuelta en acetona)	0.76
Sin luz (furosemida disuelta en acetona)	0.66

**Tabla 13. Rf de los compuestos de degradación de la furosemida sometida a diferentes condiciones por 48 horas.**

De acuerdo a los Rf observados en cromatografía en capa fina, se deduce que el fármaco es fotosensible y se degrada en condiciones de acidez, basicidad y oxidativas (*Ver tabla 13*). Aunque la furosemida fue protegida de la luz se observa que al estar disuelta en un medio como acetona después de 48 horas, llega a degradarse. La degradación de la furosemida en medios con pH extremo sugiere que la solución a desarrollar debe mantenerse en un pH cercano a 7, además

tiene que estar protegida de la luz, existen compuestos que pueden realizar esta función, tal es el caso de las CD's.

*Formación del CI.*

*Elección de la CD.*

<b>Ciclodextrina (CD)</b>	<b>% Complejo disuelto</b>
$\beta$ -CD	77%
$\alpha$ -CD	74%
HP- $\beta$ -CD	80%

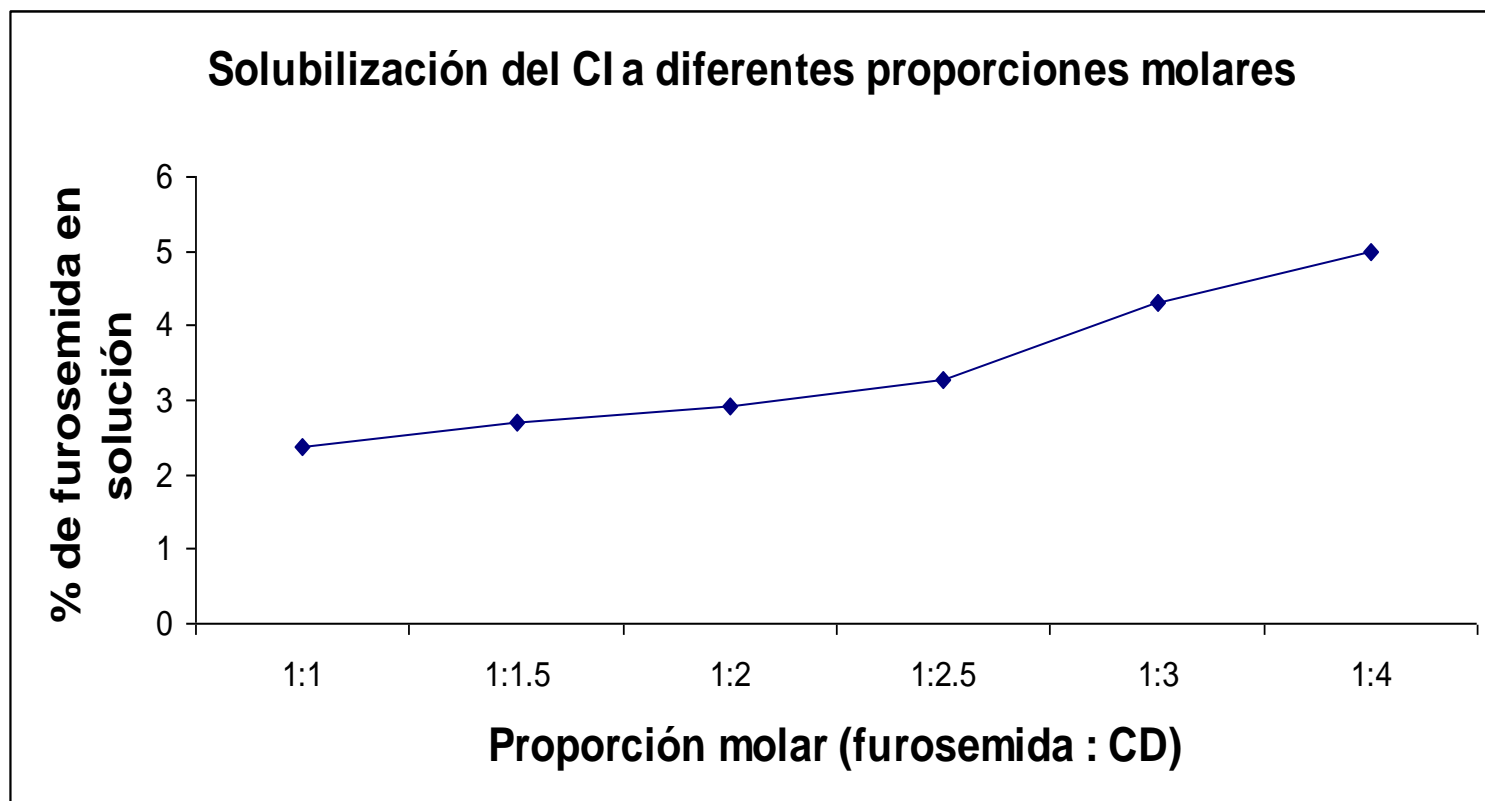
**Tabla 14. Capacidad para formar CI solubles de diferentes tipos de CDs.**

De acuerdo a los resultados anteriores la CD adecuada para la formación del CI soluble es la HP- $\beta$ -CD. La formación de CI solubles con la HP- $\beta$ -CD puede deberse a que los grupos hidroxilo e hidroxipropilo localizados en el exterior interaccionan con el agua promoviendo un incremento de la solubilidad del fármaco.

Resultados del ensayo de disolución para elección de proporción molecular (furosemida:HP- $\beta$ -CD).

<b>Proporción F:CD</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Cantidad de furosemida al inicio del estudio (mg)</b>	<b>Cantidad de furosemida en solución (mg)</b>	<b>% Furosemida disuelta</b>
1:1	0.296	24.3	0.579	2.38
1:1.5	0.331	24.8	0.666	2.69
1:2	0.357	25.0	0.729	2.92
1:2.5	0.392	25.0	0.816	3.26
1:3	0.511	25.8	1.109	4.30
1:4	0.551	24.2	1.208	5.00

**Tabla 15. Ensayo de disolución furosemida:HP- $\beta$ -CD.**



**Gráfica 2. Incremento de la cantidad de furosemida en solución en relación al uso de diferentes cantidades de CD.**

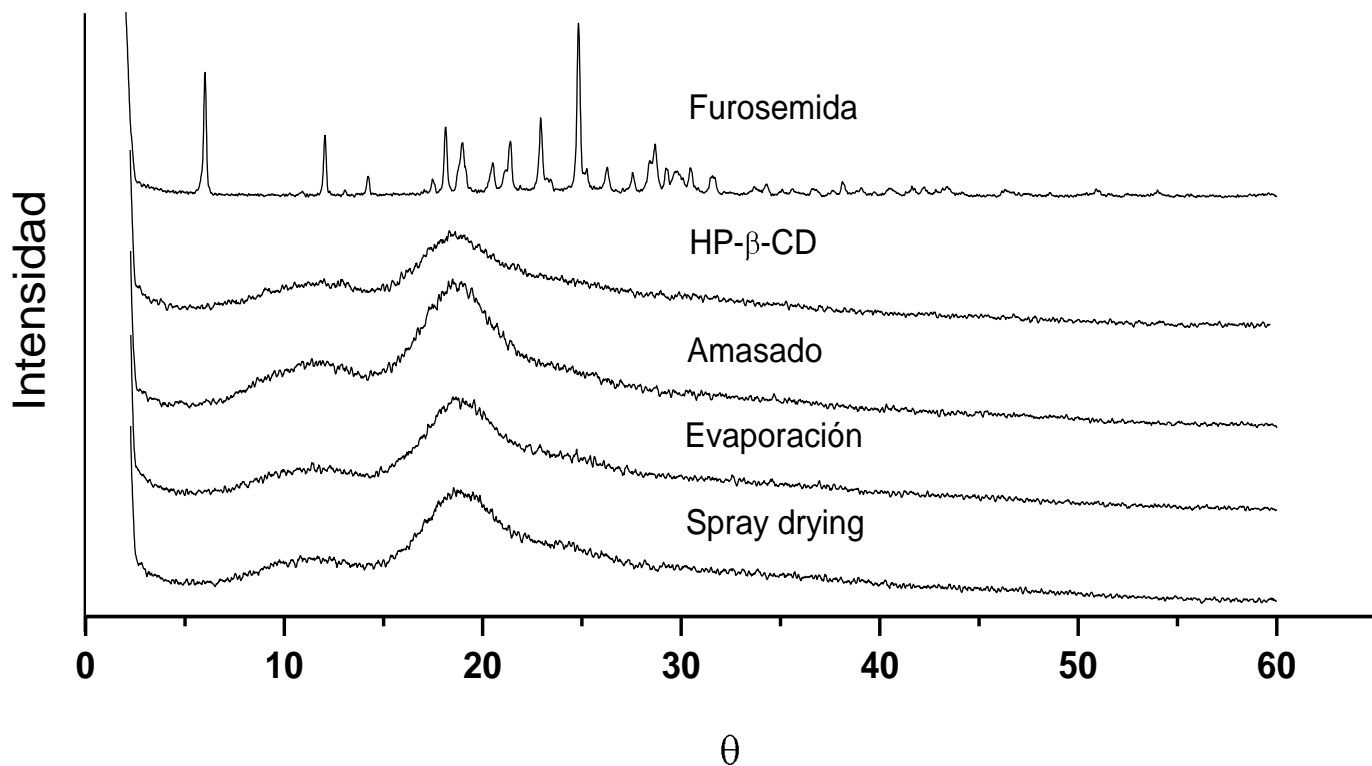
De acuerdo con los resultados a mayor cantidad de CD la solubilidad de la furosemida incrementa, ya que la probabilidad de que una molécula de fármaco se encuentre con otra de CD aumenta. Se elige la proporción 1:3, ya que es el punto en donde se observó un pronunciado incremento de la solubilidad.

*Elección del método para la formación del CI de furosemida y HP- $\beta$ -CD (relación molar 1:3).*

A continuación se muestran los espectros resultantes del análisis a los CI por difracción de RX, espectrofotometría de IR y de DSC.

Difracción de RX.

En la gráfica 3, se compara la formación del CI mediante tres técnicas diferentes: amasado, evaporación y spray drying. El espectro para la furosemida, muestra picos representativos. El espectro de la HP- $\beta$ -CD corresponde al de un polvo amorfo. Se determina la interacción entre la furosemida y la CD a través de los tres métodos ya que las señales características del fármaco no aparecen en ninguno de estos. De acuerdo a éste análisis la formación del CI en los tres métodos es factible, sin embargo se debe observar el resultado de los análisis siguientes para corroborarlo.

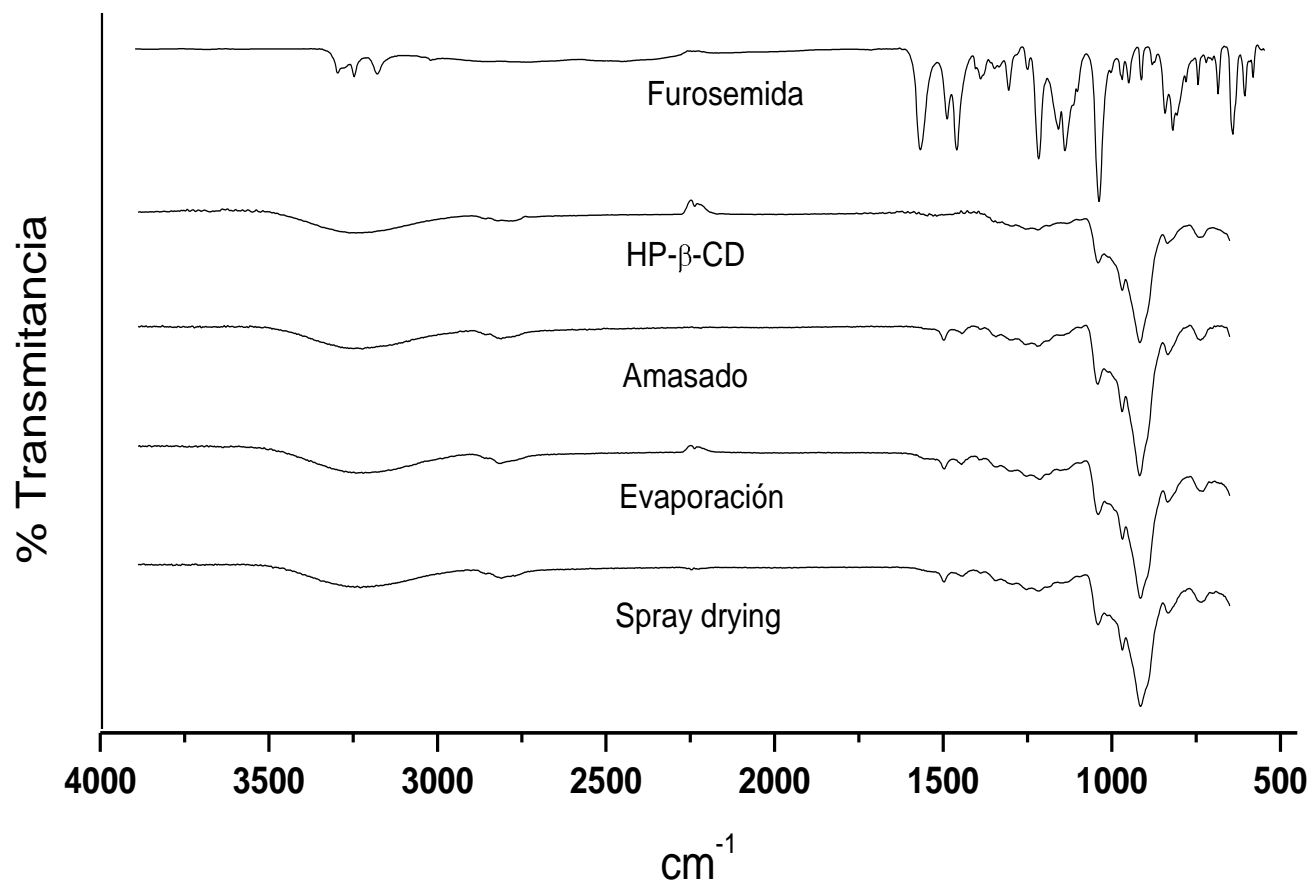


**Gráfica 3. Análisis de difracción de RX para los CI preparados mediante tres métodos diferentes: amasado, evaporación y spray drying.**

Espectrofotometría de IR.

En la gráfica 4 se analiza la formación del CI mediante tres métodos diferentes. Se determina la presencia de las bandas características de la furosemida (mencionadas en el análisis de IR para identificación). La CD presenta una banda ancha característica de la vibración del enlace O-H entre  $3200-3650\text{ cm}^{-1}$  y otra banda intensa en  $1028.7\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a la vibración del enlace C-O. Los CI formados a partir de los tres diferentes métodos presentan el mismo patrón de bandas que la CD sola, sin embargo entre  $1610-1554\text{ cm}^{-1}$  se observan bandas características de la furosemida que corresponden a la vibración del enlace N-H. Por lo tanto podemos deducir que existe interacción entre la CD y el fármaco y que los N-H de la molécula de furosemida permanece en la parte externa de la CD.



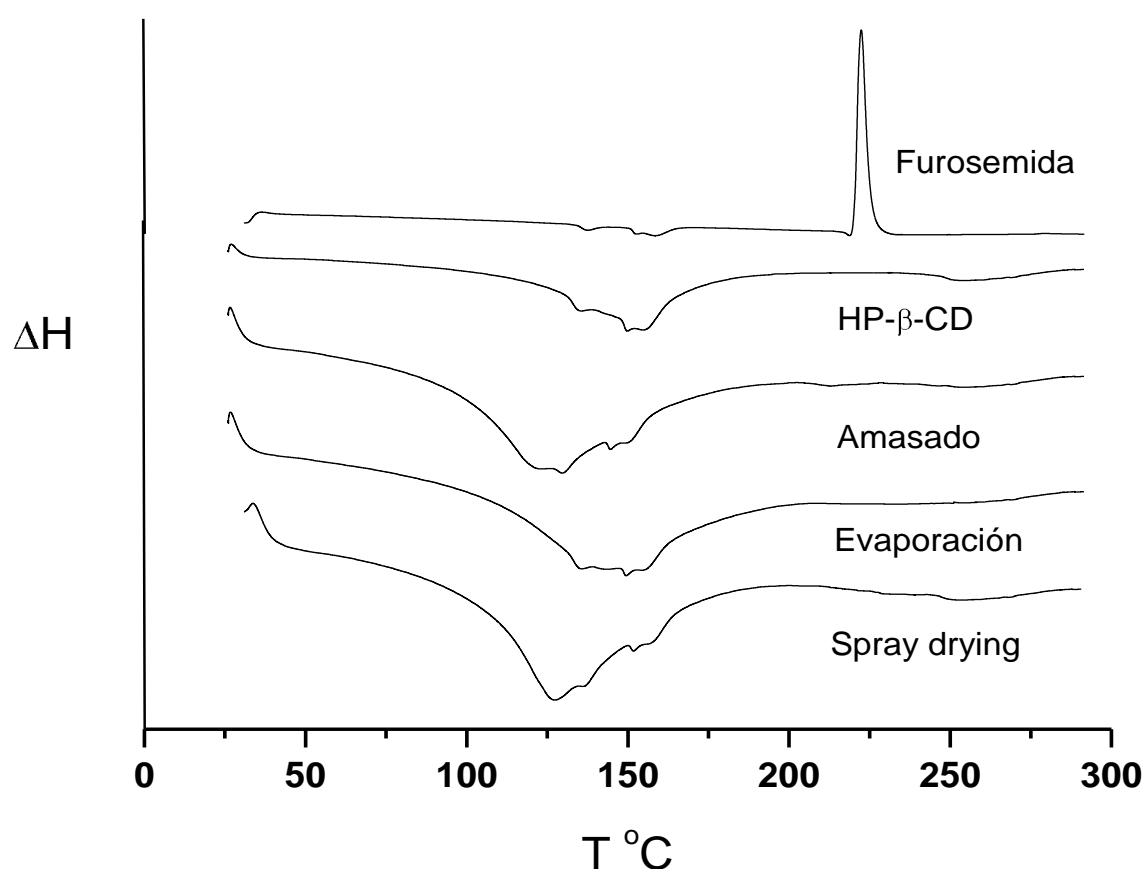


**Gráfica 4. Análisis de espectrofotometría de IR para los CI preparados mediante tres métodos diferentes: amasado, evaporación y spray drying.**

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

El termograma del fármaco muestra un pico endotérmico de fusión de éste a 217 °C seguido de un pico exotérmico a 222 °C de descomposición. Para la CD, desde la temperatura de inicio hasta aproximadamente 125°C se observa la tendencia de un pico endotérmico debido a la pérdida de agua. Ninguna de los termogramas de los diferentes métodos presenta siquiera el pico exotérmico de la descomposición de la furosemida, que es bastante pronunciado, lo que indica la protección del fármaco por la interacción con la CD. El pico correspondiente a la pérdida de agua presente en los termogramas de los tres diferentes métodos de

preparación se hace más ancho con respecto al de la CD sola, este comportamiento puede deberse al tratamiento previo de la muestra, es decir, al uso de disolventes tales como etanol y agua que no pudieron ser eliminados por completo durante el proceso de secado de cada método. Este comportamiento se observa más pronunciado en los métodos de amasado y spray drying. Los picos a 150 °C de los 5 termogramas se deben a una impureza propia del equipo. (Ver gráfica 5).<sup>34,35,38</sup>



**Gráfica 5. Análisis por DSC de los CI formados a partir de diferentes métodos de fabricación.**

De acuerdo a los resultados de análisis por RX, IR y DSC, cualquiera de los tres métodos es factible para fabricar el CI.

Durante la formación del CI mediante el método de amasado se detectó un problema con la manipulación de la CD; ya que formaba una masa viscosa que dificulta el proceso de amasado, por ello se decidió descartar para la fabricación.

La técnica de spray drying forma un polvo fino que puede facilitar la solubilización, sin embargo, se observa que en el proceso de secado por aspersión existe una cantidad considerable de merma del producto al no contar con un recipiente especial que impida la pérdida del CI. Además se considera que es un método largo (para secar 32 mL se trabajaron cerca de 5 horas), por lo que no es adecuado para el escalamiento.

La técnica de evaporación es rápida y fácil comparada con las anteriores, además el disolvente se puede recuperar. La desventaja que presenta este método es que se utilizan más servicios como: agua y energía eléctrica, y el escalamiento podría generar altos costos. Sin embargo la facilidad y rapidez hacen de este método el más adecuado para el desarrollo de la formulación.

*Incompatibilidad con excipientes.*

<b>Elemento</b>	<b>Rf</b>
CI	0.495
Propilenglicol	0.495
Glicerina	0.484
PVP	0.418

**Tabla 16. Incompatibilidad del CI (formado a partir del método de evaporación) con los excipientes.**

Los valores de Rf observados en la tabla 16, para el CI y los que corresponden a la glicerina y propilenglicol, son muy semejantes, lo que indica que no hay interacción.

En este estudio se observó claramente que el PVP modifica la polaridad del CI, ya que el Rf cambia con respecto a los otros excipientes, sin embargo no se observa la presencia de compuestos de degradación.

<b>Mezcla</b>	<b>Rf</b>
CI	0.484
M1	0.407
M2	0.418
M3	0.407
M4	0.473

**Tabla 17. Rf las mezclas de los diferentes excipientes con el CI.**

De acuerdo a los resultados de la tabla 17, no hay interacción de excipientes en las mezclas analizadas.

Se evidencia la presencia de PVP en las mezclas, ya la polaridad del CI se ve modificada, sólo la solución que no lo contiene presenta el Rf similar al del CI solo.

De acuerdo a estos resultados de compatibilidad, se propone el uso de glicerina que tendrá la función de conservador; propilenglicol que será un cosolvente y PVP el estabilizante.

**RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS DE FORMULACIÓN.**

Formulación 1.

<b>Parámetro</b>	<b>Observaciones iniciales</b>	<b>Observaciones al primer mes</b>
Descripción	Solución homogénea, libre de partículas extrañas, coloración morada	Se observa crecimiento microbiano
pH	7	7

**Tabla 18. Resultados de formulación 1.**

La solución se contaminó antes de cumplir el mes de almacenamiento. Se considera necesario incrementar la proporción de la glicerina en esta formulación, junto con esta medida se decide realizar la esterilización de la solución por filtración, así como cambiar el tipo de envase, de frasco de vidrio color ambar de 30 mL a un frasco de polietileno con inserto de gotero de 10 mL previamente esterilizado con óxido de etileno, para mantener mayor control microbiano en la solución (*Ver tabla 18*).

Formulación 2.

<b>Parámetro</b>	<b>Observaciones iniciales</b>	<b>Observaciones al primer mes</b>
Descripción	Solución homogénea, libre de partículas extrañas, coloración morada	Solución homogénea, libre de partículas extrañas, coloración morada
pH	7	7

**Tabla 19. Resultados de formulación 2.**

La solución oral se mantuvo sin alteración alguna durante el mes de almacenamiento. Los frascos gotero se inspeccionaron constantemente abriéndolos para observar si existía cambio alguno de la solución, pero no hubo desarrollo microbiano (*Ver tabla 19*).

Esta formulación se considera la óptima para fabricar un lote de escalamiento.

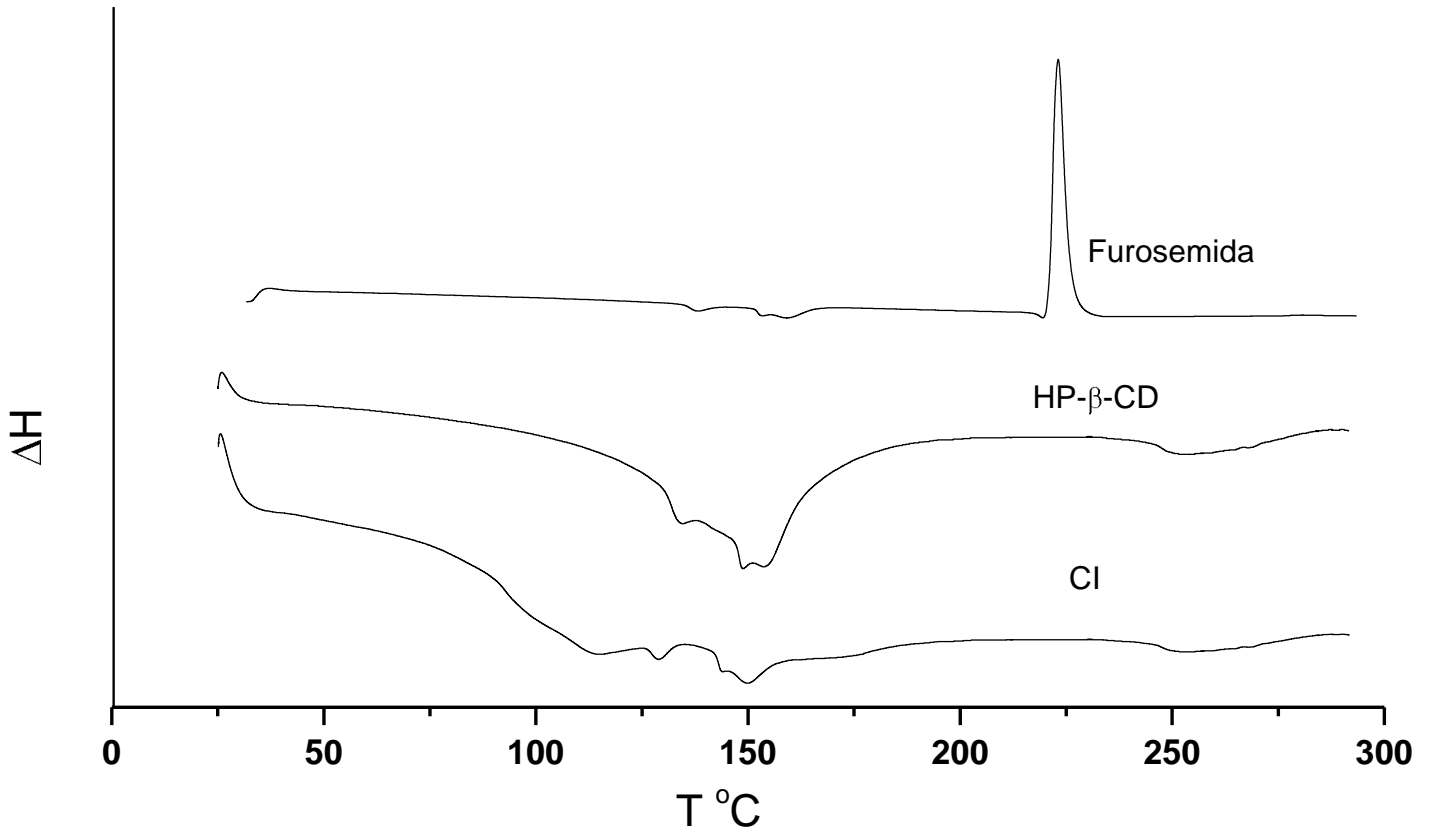
#### *Escalamiento de la formulación óptima.*

Se prepararon dos lotes de CI para escalamiento, uno para análisis de DSC y otro para la fabricación de la solución.

El termograma de la furosemida presenta sus dos picos característicos, uno endotérmico de fusión, seguido de un exotérmico de descomposición, el termograma de la CD evidencia la pérdida de agua desde 25°C hasta aproximadamente 130 °C. Los picos a 150 °C de los tres termogramas, se deben a una impureza presente en el equipo de DSC.

El termograma del CI muestra el mismo patrón que el de la CD, sin embargo la banda correspondiente a la eliminación de agua se ensancha ya que el procedimiento de formación del complejo implica la inserción de moléculas de

agua y etanol en la CD que durante el secado no fueron eliminadas (Ver gráfica 6).<sup>34,35,38</sup>



**Gráfica 6. Análisis del CI de la furosemida y HP-β-CD para escalamiento del producto.**

*Resultados de estabilidad.*

Prueba 1.

Parámetro	Especificación	Temperatura (°C)	Resultados
Apariencia de la solución	Solución homogénea, libre de partículas extrañas, coloración morada	5	Solución homogénea, libre de partículas extrañas, coloración morada
		23	
		40	
pH	Entre 6.6 y 7.6	5	7
		23	
		40	
Índice de refracción	Entre 1.36 y 1.37	5	1.367
		23	
		40	
Densidad relativa	Entre 1.09 y 1.10 g/mL	5	1.097 g/mL
		23	
		40	

**Tabla 20. Resultados de estabilidad de la solución a diferentes temperaturas.**

La inspección física de las tres muestras de la solución sometidas a diferentes temperaturas no muestra alteración alguna.

La solución conserva su apariencia y pH a las tres temperaturas de prueba, aparentemente no hay degradación y se demuestra la funcionalidad del buffer.



El valor del índice de refracción inicial se mantuvo sin cambio al final de la prueba. Tampoco se observa alteración en la densidad relativa, por lo que podemos decir que no existió cambio alguno en el principio activo o incompatibilidad con los componentes de la fórmula.

Prueba 2.

<b>Parámetro</b>	<b>Especificación</b>	<b>Resultados</b>
Apariencia de la solución	Solución homogénea, libre de partículas extrañas, coloración morada	Solución homogénea, libre de partículas extrañas, coloración morada
pH	Entre 6.6 y 7.6	7
Índice de refracción	Entre 1.36 y 1.37	1.367
Densidad relativa	Entre 1.09 y 1.10 g/mL	1.096 g/mL

**Tabla 21. Resultados de estabilidad a temperaturas alternadas.**

La apariencia de la solución se conserva, no existió desarrollo microbiano ni degradación en la solución.

El pH se conserva gracias a la presencia del buffer y también descarta incompatibilidad entre los componentes de la formulación.

El índice de refracción y la densidad relativa no presentaron cambios, por lo que con esto queda demostrado que la solución es estable al ser sometida a cambios drásticos de temperatura.

En futuras pruebas de estabilidad, se propone el uso de envase primario de vidrio color ámbar o PET, para descartar cualquier tipo de reacción entre la formulación

y el envase, y tener resultados más cercanos a la estabilidad propia de la formulación.

# Conclusiones

## CONCLUSIONES.

De acuerdo con los objetivos planteados para el presente trabajo podemos decir que el uso de CDs para la formación de los CI con furosemida, mejora la solubilidad y la estabilidad del fármaco, dado que se logró solubilizar el principio activo en un medio acuoso sin observar cambios fisicoquímicos.

Al evaluar la formación del CI con tres diferentes tipos de CDs, se determinó que aquella que forma una mayor cantidad de CI solubles con la furosemida es la HP- $\beta$ -CD y posteriormente se estableció que la proporción molar favorable de furosemida:HP- $\beta$ -CD es de 1:3.

Como parte del diseño del proceso de obtención de los CI, podemos mencionar que el método de evaporación demostró ser el indicado, debido a que es el más sencillo, económico, rápido y en el que se obtiene un rendimiento mayor, siendo además reproducible para lotes de escalamiento.

Finalmente se seleccionaron aquellos componentes de la formulación, que demostraron compatibilidad y proporcionaron estabilidad, por lo que se puede decir que se cumplió con el objetivo de desarrollar una solución oral pediátrica estable que podría ser utilizada como una alternativa de tratamiento en esta población.

Cabe señalar que es necesario realizar más estudios analíticos y clínicos, que permitan demostrar que este producto es eficaz y seguro para pacientes pediátricos.

# Anexos

## ANEXO 1



Procedimiento Normalizado de Operación

Número PNO-001

Edición 1

Aplicación 17 Oct 09

**Proceso de fabricación de una solución oral pediátrica de furosemida mediante el empleo de Ciclodextrinas**

Elaboró:

Revisó:

Aprobó:

---

pQFB. Jacqueline Arroyo Hdz.

---

QFB. Francisca Trujillo J.

---

M. en F. Ernestina Hernández**Objetivo.**

Establecer el procedimiento para la fabricación de una solución oral pediátrica de furosemida mediante el empleo de ciclodextrinas con la finalidad de realizarlo de manera consistente y reproducible, de acuerdo a lo establecido en la NOM-059-SSA1, Buenas Prácticas de Fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos, vigente.

**Alcance.**

Este procedimiento aplica a la fabricación de la solución oral de furosemida en el Instituto Nacional de Pediatría.

**Responsabilidades.**

Es responsabilidad del personal del laboratorio de Farmacología del INP proporcionar mantenimiento preventivo y correctivo a los equipos indispensables para el proceso (Rotaevaporador, parrillas de agitación, campana de flujo laminar, estufa, equipo Millipore, ultrasonificador y equipo para esterilización por gas).

Es responsabilidad del personal del laboratorio de Farmacología del INP, mantener vigente la calibración de los instrumentos de medición que se emplean en el proceso de fabricación (Balanza, material volumétrico, termómetro etc.)

Es responsabilidad del personal del laboratorio de Farmacología del INP, mantener dentro de vigencia las materias primas y el principio activo, involucrados en el proceso de fabricación de la solución oral.

Es responsabilidad del personal del laboratorio de Farmacología del INP, esterilizar previamente el material que durante la fabricación se requiera.

### **Definiciones y abreviaturas.**

#### *Definiciones*

Acondicionamiento. Operaciones necesarias por las que un producto a granel debe pasar para llegar a su presentación como producto terminado.

Complejo de inclusión. Son los complejos “Anfitrión-huésped”, en los que la molécula huésped queda encapsulada por la ciclodextrina debido a que la cavidad interior de las ciclodextrinas es hidrofóbica, por lo que estos compuestos son capaces de albergar moléculas hidrófobas más pequeñas.

Fabricación. Operaciones involucradas en la producción de un medicamento desde la recepción de insumos hasta su liberación como producto terminado.

Sonicar. Agitación con ultrasonidos.

#### *Abreviaturas.*

**PNO** Procedimiento Normalizado de Operación.

**INP** Instituto Nacional de Pediatría.

**CD** Ciclodextrina.

**CI** Complejo de inclusión.

**HP- $\beta$ -CD** Hidroxipropil- $\beta$ -Ciclodextrina.

## **Desarrollo del proceso.**

### 1. Formación del CI.

1.1 Pesar 500 mg de furosemida y 6.2315 g de HP- $\beta$ -CD.

1.2 En un matraz Erlenmeyer de 250 mL, disolver la furosemida en 60 mL de etanol al 95% (solución A).

1.3 En un matraz Erlenmeyer de 250 mL, disolver la CD en 70 mL de agua desionizada (solución B).

1.4 Agregar lentamente la solución A a la B. Neutralizar la mezcla con una solución amortiguadora de fosfato de sodio pH 7.6 (*Ver anexo 2*).

1.5 Agitar la mezcla neutralizada en una parrilla magnética durante 30 min.

1.6 Transferir la mezcla al equipo ultrasonicador y sonicar durante 2 horas.

1.7 Mediante un equipo rotaevaporador, eliminar los disolventes de la mezcla.

1.8 El complejo de inclusión se deja secar en una estufa a 40 °C por 24 horas.

1.9 El polvo se recupera raspando las paredes del matraz del rotaevaporador, lo que no se desprende se arrastrará con un volumen conocido de agua desionizada de enjuague y se utilizará para la fabricación de la solución.

### 2. Fabricación de la solución oral de furosemida.

2.1 Preparar las cantidades indicadas en la tabla 1 de todos los componentes de la formulación



<b>Componente</b>	<b>% m/v</b>	<b>Masa o volumen</b>
Furosemida	0.1	0.5 g
HP- $\beta$ -CD	1.25	6.2315 g
Glicerina	20	79.1 mL
Propilenglicol	1	4.8 mL
PVP	1	5 g
Colorante	0.16	0.8 mL
Saborizante	0.38	1.9 mL
Agua	cbp	cbp

**Tabla 1. Componentes de la solución y sus correspondientes cantidades.**

2.2 Disolver el CI obtenido en 100 mL de agua desionizada (solución C), en un vaso de precipitados de 250 mL.

2.3 En un vaso de precipitados de 250 mL, disolver poco a poco y con agitación magnética al agente estabilizante en 100 mL de agua caliente a 70 °C (solución D). Ya completamente solubilizado el agente estabilizante se enfría la solución a temperatura ambiente

2.4 A la solución D se le adiciona lentamente y con agitación magnética, el agente conservador y el cosolvente (solución E).

2.5 La solución C se adiciona lentamente a la solución E, manteniendo la agitación magnética.

2.6 Neutralizar la mezcla con aproximadamente 50 mL de una solución amortiguadora de fosfato de sodio pH 7.6

2.7 Agregar el colorante y el saborizante.

2.8 Transferir a un matraz Erlenmeyer de 1000 mL y llevar la solución a un volumen de 500 mL.

3. Esterilización mediante filtración.

3.1 Montar el equipo de filtración Millipore previamente esterilizado (por autoclave) y filtrar poco a poco a través de una membrana Millipore tamaño de poro de 0.22  $\mu\text{m}$ .

#### **4. Acondicionamiento.**

4.1 En condiciones asépticas, bajo flujo laminar horizontal, envasar la solución en frascos de polietileno de densidad media, opaco de color blanco, con inserto de gotero, esterilizados previamente con óxido de etileno.

4.2 A una muestra de frascos, realizar las siguientes pruebas de calidad (Ver tabla 2):

<b>Parámetro</b>	<b>Especificación</b>
Apariencia de la solución	Solución homogénea, libre de partículas extrañas, coloración morada
pH	Entre 6.6 y 7.6
Índice de refracción	Entre 1.36 y 1.37
Densidad relativa	Entre 1.09 y 1.10 g/mL

**Tabla 2. Pruebas para análisis de producto terminado.**

4.3 Almacenar los frascos a temperatura ambiente.

**Referencias y bibliografía.**

NOM-059-SSA1 Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria química farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.

**Capacitación.**

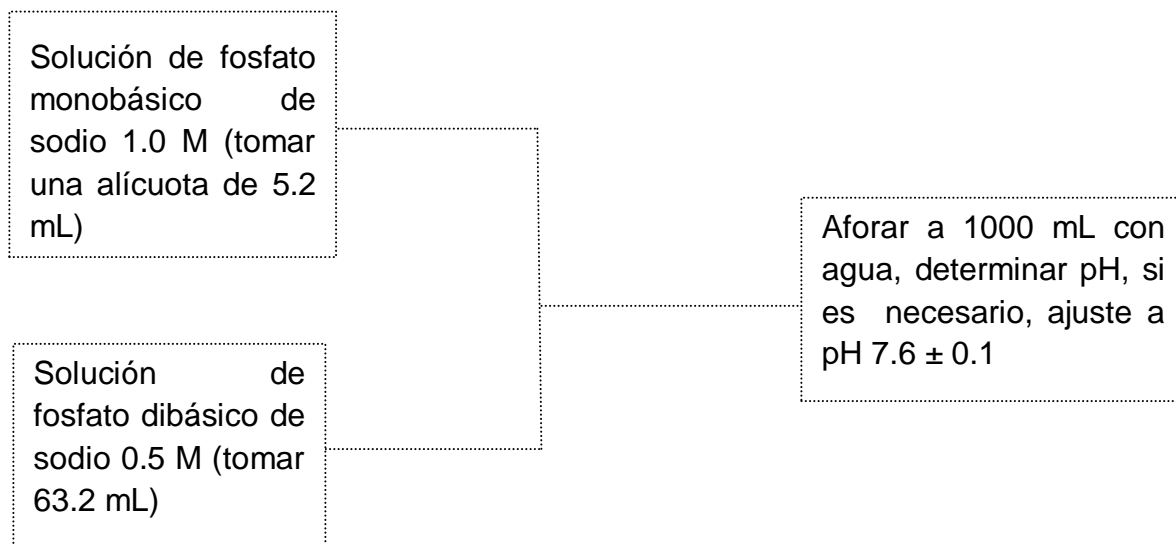
Indicar la fecha en la que se llevó a cabo la capacitación y la lista del personal capacitado.

ANEXO 2

**Procedimiento para elaboración de solución amortiguadora de fosfatos pH**

**7.6 de acuerdo a la FEUM 8va. edición.<sup>3</sup>**

(Fosfato monobásico de sodio-fosfato dibásico de sodio)



AM= Agitación Magnética

# Referencias

1. Walter R, Kalant H. Principios de Farmacología Médica. 6<sup>a</sup> ed. México: Oxford University press; 2003, p. 511-516.
2. Rosenstein E. Diccionario de especialidades farmacéuticas. 46<sup>a</sup> ed. México: Ediciones PLM; 2000, p. 668, 1087, 2175.
3. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 8<sup>a</sup> ed. México, Secretaria de Salud: Publicaciones e impresiones de calidad S.A. de C.V.; 2004; Vol. 1 y 2.
4. Clarke C. Isolation and identification of drugs, 3<sup>a</sup> ed. Inglaterra: Ther pharmaceutical press; 1974, p. 350-351, 741.
5. Loyd A. Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems. 8<sup>a</sup> ed. EUA: Editorial Lippicott Williams & Wilkins; 2005, p. 337-347.
6. Mahato R. Pharmaceutical Dosage forms and Drug Delivery. EUA, CRC Press Taylor & Francis Group; 2007, p. 145-151.
7. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. Farmacología. 6<sup>a</sup> ed. España: Elsevier España; 2008, p. 368-379
8. Aulton M. Farmacia la ciencia del diseño de las formas farmacéuticas. 2<sup>a</sup> ed. España: Elsevier España; 2004, p. 309-322.
9. Pharmaceutical Excipients, 2004, versión electrónica.
10. Hernández E, Trujillo F, Hernández D, Morales A, Rodríguez A, Calderón D. Patterns of drugs prescription in pediatric patients during two periods in mexican private hospital. Instituto Nacional de Pediatría; 2008, p. 15-20.
11. Martin Del Valle EM. Cyclodextrins and their uses:a review. Process Biochemistry 2004. 39, p.1033-1046.
12. Mosher G, Thompson D. Complexation: Cyclodextrins. Encyclopedia of pharmaceutical Technology, 3<sup>a</sup> ed. Kansas USA: Pharmaceutech Inc. Swarbrick James; 2007. p. 671-691.

13. Liu R. Water-Insoluble Drug Formulation. 2<sup>a</sup> ed. EUA: CRC Press Taylor & Francis Group; 2008, p. 134-154.
14. Miranda Calderon J. Evaluación del efecto de la fuerza de compresión en la formación de complejos de inclusión entre ciclodextrinas y praziquantel (tesis de licenciatura). México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2004.
15. Merritt W. Métodos Instrumentales de Análisis. 5<sup>a</sup> ed. México: Compañía editorial continental; 1982, 564-631.
16. Farcas A, Jarrox N, Farcas A-M, Harabagiu V, Guegan P. Syntesis and characterization of furosemide complex in  $\beta$ -cyclodextrin. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures 2006; 2 (1), p. 55-60.
17. Soica Codruta M. The obtention and analysis of inclusion complexes of some diuretics with cyclodextrins (Tesis). Rumania: University of Medicine and Pharmacy.
18. Spamer E, Müller D, Wessels P, Venter J. Characterization of the complexes of furosemide with 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin and sulfobutyl ether-7- $\beta$ -cyclodextrin. European Journal of Pharmaceutical Sciences 2002; 16, p. 247-253.
19. Jung JY, Yoo S, Lee SH, Kim KH, Yoon DS, Lee KH. Enhancend solubility and dissolution rate of itraconazole by a solid dispersion technique. International Journal of Pharmaceutics 1999; 187, p. 209-218.
20. Mura P, Faucci M, Bettinetti G. The influence of polyvinylpyrrolidone on naproxen complexation with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. European Journal of Pharmaceutical Sciences 2001; 13, p. 187-194.
21. Chadha R, Jain DVS, Aggarwal A, Singh Surjit, Thakur D. Binding constants of inclusion complexes of nitroimidazoles with  $\beta$ -cyclodextrins in the absence and presence of PVP. Thermochemica Acta 2007; 459, p. 111-115.
22. Cirri M, Maestrelli F, Corti G, Furlanetto S, Mura P. Simultaneous effect of cyclodextrin complexation, pH, and hydrophilic polymers on naproxen

solubilization. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2006; 42, p. 126-131.

23. Mura P, Maestrelli F, Cirri M. Ternary systems of naproxen with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin and aminoacids. *International Journal of Pharamaceutics* 2003; 260, p. 293-302.

24. Loftsson T, Stefánsdóttir Ó, Friðriksdóttir H, Guðmundsson Ö. Interactions between preservatives and 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 1992; 18 (13), p. 1477-1484.

25. Gould S, Scott R. 2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD): A toxicology review. *Food and Chemical Toxicology* 2005; 43, p. 1451-1459.

26. Lehner S, Müller B, Seydel J. Effect of Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin on the Antimicrobial Action of Preservatives. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994; 46, p.186-191.

27. Kreaz R, Dombi GY, Kata M. The influence of  $\beta$ -Cyclodextrins on the solubility of Furosemide. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry* 1998; 31, p. 189-196.

28. Arulanantham K, Genel M. Central nervous system toxicity associated with ingestion of propylene glycol. *The Journal of Pediatrics* 1978; 93 (3), p. 515-516.

29. Martin G, Finberg L. Propylene glycol:A potecially toxic vehicle in liquid dosage form. *The Journal of Pediatrics* 1970; 77 (5), p. 877-878.

30. McDonald M, Getson P, Glasgow A, Miller M, Boeckx R, Johnson E. Propylene Glycol: Increaseed Incidence of Seizures in Low Birth Weigth Infants. *Pediatrics* 1987; 4 (79), p. 622-625.

31. Zughul M, Badwan A.  $SL_2$  Tipe Phase Solubility Diagrams, Complex formation and chemical Speciation of Soluble Species. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry* 1998; 31 p. 243-264.



32. Uekama K, Hirayama F, Irie T. Cyclodextrin Drug Carrier Systems. Chem. Rev. 1998; 98, p. 2045-2076.
33. Szejtli J, Szente L. Elimination of bitter, disgusting tastes of drugs and foods by cyclodextrins. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2005; 61, p. 115-125.
34. Beyers H, Malan S, Watt JG van der, Villiers M. Structure-Solubility Relationship and Thermal Decomposition of Furosemide. Drug Development and Industrial Pharmacy 2000; 26 (10), p.1077-1083.
35. Kreaz R, Novák Cs, Erös I, Kata M. Thermoanalytical studies on complexes of furosemide with  $\beta$ -Cyclodextrin derivatives. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 1999; (55), p. 115-122.
36. ISP Pharmaceuticals. CAVAMAX<sup>®</sup>, CAVITRON<sup>®</sup> and CAVASOL<sup>®</sup> Cyclodextrins, Performance-enhancing products for pharmaceuticals. International Specialty Products. EUA: 2007.
37. Clas SD, Dalton CR, Hancock BC. Calorimetry in pharmaceutical research and development. Encyclopedia of pharmaceutical technology 2002; p. 281-301.
38. Giordano F, Novak C, Ramón J. Thermal analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds. Thermochimica Acta 380 2001; p. 123-151.