



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DESARROLLO DE MATRICES POLIMÉRICAS DE TIPO  
“ESPONJA” A BASE DE  $\beta$ -CICLODEXTRINA Y SU APLICACIÓN  
COMO SISTEMA DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**GEOVANNI SANGABRIEL GORDILLO**



**CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX**

**AÑO 2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE: FRANCISCO HERNÁNDEZ LUIS**

**VOCAL: ENRIQUE AMADOR GONZÁLEZ**

**SECRETARIO: YARELI ROJAS AGUIRRE**

**1er. SUPLENTE: MARIA JOSEFA BERNAD BERNAD**

**2° SUPLENTE: JOSE LUIS MEDINA FRANCO**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO 305, EDIFICIO F, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**

**ASESOR DEL TEMA:**

**DRA. YARELI ROJAS AGUIRRE**

**SUSTENTANTE (S):**

**GEOVANNI SANGABRIEL GORDILLO**

## **Agradecimientos**

Le agradezco profundamente a la UNAM máxima casa de estudios, por darme la oportunidad de convertirme en un profesionista y porque siga cobijando a más estudiantes para sacar de este letargo a nuestro México, es un orgullo ser egresado de esta universidad.

A la USAI por el IR y SEM.

A el proyecto PAIIP 5000-9157 de la Facultad de Química por financiar este trabajo de investigación.

## Índice

<b>1. Resumen</b> .....	<b>01</b>
<b>2. Antecedentes</b> .....	<b>03</b>
2.1 Sistemas de liberación de fármacos .....	03
2.2 La nanotecnología en el campo farmacéutico .....	04
2.3 El ultrasonido .....	07
2.4 Las ciclodextrinas .....	09
2.5 Las ciclodextrinas y su uso farmacéutico .....	10
2.6 Formación de complejos de inclusión .....	12
2.7 Caracterización de los complejos de inclusión .....	14
2.8 Modificaciones químicas a las ciclodextrinas .....	15
2.9 Sistemas poliméricos entrecruzados a base de ciclodextrina .....	16
2.10 Sistemas entrecruzados tipo esponja .....	16
2.11 Métodos de preparación de las nanoesponjas .....	17
2.12 Caracterización de las nanoesponjas .....	17
<b>3. Hipótesis</b> .....	<b>20</b>
<b>4. Objetivos</b> .....	<b>21</b>
4.1 Objetivo general .....	21
4.2 Objetivos particulares .....	21
<b>5. Metodología</b> .....	<b>22</b>
5.1 Síntesis de sistemas entrecruzados a base de ciclodextrina .....	22
5.11 Síntesis química .....	22

5.12 Síntesis asistida por microondas .....	22
5.2 Caracterización de los MSEs .....	23
5.21 IR.....	23
5.22 DRXP .....	23
5.23 DSC.....	23
5.24 SEM.....	24
5.25 Determinación del tamaño partícula y potencial Z.....	24
5.26 Determinación del volumen de poro (VP).....	24
5.3 Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs .....	24
5.31 Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs en agua .....	24
5.32 Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs en ácido acético glacial al 30 % v/v.....	25
5.33 Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs en metanol .....	25
5.34 Formación de complejos de inclusión ABZ/ $\beta$ -CD .....	26
5.4 Formación de complejos de inclusión PHE/MSEs.....	26
5.5 Formación de complejos de inclusión PHE/ $\beta$ -CD.....	27
5.6 Preparación de NSEs .....	27
5.7 Caracterización de los NSEs.....	28
5.8 Formación de los complejos de inclusión ABZ/NSEs .....	28
5.9 Caracterización de los complejos de inclusión ABZ/NSE.....	29
5.10 Perfil de liberación del ABZ de los complejos ABZ/NSEs.....	29
<b>6. Resultados y discusión .....</b>	<b>30</b>
6.1 Síntesis de MSEs .....	30
6.2 Caracterización de los MSEs .....	31
6.21 Caracterización de los MSEs por IR.....	31
6.22 Caracterización de los MSEs por DRXP .....	33

6.23	Caracterización de los MSEs por DSC .....	35
6.24	Caracterización de los MSEs por SEM.....	36
6.25	Determinación del tamaño de partícula y potencial Z de los MSEs.....	37
6.26	Determinación del rendimiento en la obtención de MSEs .....	39
6.27	Determinación del volumen de poro .....	39
6.3	Formación de complejos de inclusión de los MSEs con ABZ.....	40
6.31	Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs en agua .....	40
6.32	Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs en ácido acético glacial al 30 % v/v .....	41
6.33	Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs en metanol .....	41
6.4	Formación de complejos de inclusión de los MSEs con PHE .....	43
6.5	Preparación de los NSEs .....	46
6.6	Caracterización de los NSEs.....	47
6.61	Determinación del tamaño de partícula y potencial de los NSEs .....	47
6.62	Caracterización de los NSEs por IR .....	49
6.63	Caracterización de los NSEs por DRXP .....	50
6.7	Formación de complejos de inclusión ABZ/NSE .....	52
6.8	Caracterización de los complejos de inclusión ABZ/NSE .....	54
8.81	Determinación del tamaño de partícula y potencial Z del complejo ABZ/NSE .....	54
6.9	Perfil de liberación del ABZ de los complejos ABZ/NSEs.....	55
<b>7.</b>	<b>Conclusiones .....</b>	<b>58</b>
<b>8.</b>	<b>Bibliografía.....</b>	<b>60</b>
<b>9.</b>	<b>Apéndice .....</b>	<b>67</b>
9.1	Apéndice I .....	67
9.2	Apéndice II .....	69
9.3	Apéndice III .....	72

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de nanosistemas (Veszélka, Bocsik, Walter, Hantosi, & Deli, 2015).....	06
Figura 2. Proceso de homogeneización a alta presión (Khadka et al., 2014) .....	07
Figura 3. Proceso de ultrasonido (Hielscher, 2007) .....	08
Figura 4. Estructura de la $\beta$ -ciclodextrina .....	09
Figura 5. Formación de complejos de inclusión .....	12
Esquema 1. Polimerización de la $\beta$ -CD con CDI.....	30
Figura 6. Espectros de infrarrojo de la $\beta$ -CD y los MSEs .....	32
Figura 7. Difracción de rayos X de polvos de: a) $\beta$ -CD y b) MSEs .....	34
Figura 8. Termograma obtenido por DSC de los MSEs .....	35
Figura 9. Micrografías obtenidas por SEM de: $\beta$ -CD, MSE-1 y MSE-2 .....	36
Figura 10. Distribución del tamaño de partícula de: a) MSE-1 b) MSE-2 c) MSE-Mw .....	38
Figura 11. Formación de complejos de inclusión ABZ/ $\beta$ -CD .....	43
Figura 12. CI de la $\beta$ -CD y MSE con PHE: a) transcurridas 2 horas y b) 24 horas .....	45
Figura 13. Distribución del tamaño de partícula de: a) NSE-1 b) NSE-2 c) NSE-Mw .....	48
Figura 14. Espectro de infrarrojo de: a) $\beta$ -CD y b) de los NSEs .....	49
Figura 15. Resultados de la difracción de rayos X de polvos de: a) $\beta$ -CD y b) MSEs .....	51
Figura 16. Formación de complejos ABZ/NSEs .....	53



Figura 17. Perfil de liberación del ABZ de los complejos ABZ/NSEs en medio con buffer de fosfatos pH 7,4. Donde: a) perfil de liberación a las 72 h y b) perfil de liberación amplificada en donde se libera la mayor parte de ABZ.....	56
Figura 18. Perfil de liberación del ABZ de los complejos ABZ/NSEs en medio HCl 0.1 N. Donde: a) perfil de liberación a las 72 h y b) perfil de liberación amplificada en donde se libera la mayor parte de ABZ .....	57
Figura A1. Regresión lineal de la curva patrón del ABZ .....	67
Figura A2. Regresión lineal de la curva patrón de PHE .....	68
Figura A3. Barridos obtenidos por UV de los complejos PHE/ $\beta$ -CD en cantidades crecientes de $\beta$ -CD .....	73

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características de la $\alpha$ , $\beta$ y $\gamma$ -CDs (Del Valle, 2004) .....	10
Tabla 2. Ejemplos de medicamentos que se encuentran en el mercado y contienen CDs (Loftsson & Duchêne, 2007).....	11
Tabla 3. Condiciones de reacción para la obtención de MSEs .....	23
Tabla 4. Cantidades de reactivos que se añadieron para la formación de complejos PHE/ $\beta$ -CD .....	27
Tabla 5. Cantidades y condiciones para la formación de los complejos NSEs/ABZ .....	29
Tabla 6. Características cualitativas de los MSEs sintetizados bajo diferentes condiciones de reacción.....	31
Tabla 7. Propiedades y características de cada MSE .....	39
Tabla 8. Eficiencia de complejación de los MSEs con ABZ en los tres medios.....	42
Tabla 9. Eficiencia de complejación PHE/MSEs y PHE/ $\beta$ -CD.....	44
Tabla 10. Eficiencia en la preparación de los NSEs.....	46
Tabla 11. Propiedades y características de cada NSE sintetizado .....	47
Tabla 12. Eficiencia de formación de complejos NSEs/ABZ .....	54
Tabla 13. Caracterización del complejo ABZ/NSEs .....	55
Tabla A1. Curvas patrón del ABZ en agua con ácido acético al 30 % v/v a 295 nm .....	67
Tabla A2. Curvas patrón de la PHE en etanol a 554 nm.....	68

## 1. Resumen

Una de las moléculas más estudiadas en el campo farmacéutico es la ciclodextrina. Las ciclodextrinas (CDs) son oligosacáridos cíclicos formados por varias unidades de glucopiranosas unidas por enlaces  $\alpha$ -1,4-glicosídicos que presentan una estructura de cono truncado con una cavidad hidrofóbica y una superficie externa hidrofílica. Por estas características, las CDs pueden formar complejos de inclusión (CIs) con moléculas poco polares o bien, sus grupos  $-OH$  se pueden hacer reaccionar con otras moléculas para dar lugar a CDs funcionalizadas o polímeros de CDs, que si conservan las cavidades disponibles, pueden dar lugar a estructuras supramoleculares con propiedades únicas.

Las CDs ya se utilizan actualmente como excipientes en varias formulaciones de fármacos poco solubles que se encuentran en el mercado. Estos macrociclos son ampliamente estudiados en el desarrollo de nanosistemas de liberación avanzados. Los nanosistemas de liberación de fármacos son el resultado de la aplicación de la nanotecnología a las ciencias farmacéuticas. Estos comprenden una serie de estructuras (poliméricas, inorgánicas y derivadas de carbono) cuyo principal objetivo es acarrear al fármaco y entregarlo de manera selectiva en el blanco terapéutico, al mismo tiempo que se libran todas las barreras biológicas que pudieran existir mientras que se optimizan las propiedades fisicoquímicas del mismo.

Bajo este contexto, en este trabajo se desarrollan sistemas hiper-entrecruzados (sistemas matriciales) a partir de la reacción de polimerización de  $\beta$ -CD con carbonildiimidazol (CDI). Estos sistemas, también conocidos como esponjas, son porosos y pueden albergar moléculas huésped tanto en las cavidades de las CDs como en los espacios intersticiales que se forman después de la polimerización. En esta tesis primero se desarrollaron esponjas de CD en escala micrométrica (MSEs) bajo distintas condiciones de reacción y posteriormente se obtienen nanoesponjas (NSEs) a partir de MSEs por medio de ultrasonido como una técnica "top-down". Los sistemas se caracterizaron y se determinó su capacidad de "atrapar" moléculas

en su interior por medio de la formación de CIs y de complejos de no inclusión ya sea por asociaciones en la superficie o por el “atrapamiento” de moléculas huésped en el intersticio. Para ello se utilizó al Albendazol (ABZ), un fármaco antiparasitario con una muy baja solubilidad acuosa, como modelo para estudiar la funcionalidad de nuestros sistemas.

Durante el desarrollo del proyecto se encontró que, efectivamente, las condiciones de reacción determinan las características estructurales de los sistemas poliméricos y que esto a su vez influye en la capacidad de atrapar y liberar moléculas huésped. Al evaluar la funcionalidad de los MSEs se encontró que estos no fueron capaces de formar complejos de inclusión o asociación con ABZ. Sin embargo, los NSEs, que se formularon como nanosuspensiones de ABZ, demostraron una sorprendente capacidad para “atrapar” al fármaco, encontrándose eficiencias de complejación iguales o mayores al 100%.

Finalmente, se realizaron los perfiles de liberación de ABZ de los NSEs en medio ácido y en medio neutro. Los resultados revelan que las características estructurales de los sistemas matriciales determinan la velocidad de liberación en ambos casos.

De esta manera se encontró que al variar las condiciones de reacción es posible modificar las características estructurales de las esponjas de CD y esto a su vez determinará la capacidad de carga del fármaco y el perfil de liberación del mismo. Se demostró que, únicamente los sistemas nanométricos tienen la capacidad de acarrear y liberar ABZ. Estos resultados son sumamente interesantes ya que el ABZ es un fármaco que, por su insolubilidad acuosa, constituye un reto en las ciencias farmacéuticas y estas nanosuspensiones parecen estar superando esta limitante.

## **2. Antecedentes**

### **2.1 Sistemas de liberación de fármacos**

En la actualidad, la mayoría de los nuevos agentes terapéuticos potenciales son poco solubles en agua y/o tienen una pobre farmacocinética. Por lo tanto, es necesario desarrollar sistemas de liberación de fármacos (SLF) que optimicen las propiedades biofarmacéuticas, y en el caso de los agentes antineoplásicos, por ejemplo, que distribuyan el agente terapéutico en el sitio de acción, sin afectar órganos y tejidos sanos.

Los SLFs se definen como un conjunto de estrategias, tecnologías y sistemas que funcionan como vehículos que transportan uno o más fármacos para que ejerzan su efecto terapéutico y que pueden modificar su liberación en un determinado medio. Hace más de sesenta años que la tecnología de SLF surgió en el campo farmacéutico y se divide en tres generaciones. La primera generación (1950-1980) se enfocó en resolver las propiedades fisicoquímicas del principio activo y corresponde al periodo más productivo en el desarrollo de formulaciones de liberación modificada de formas farmacéuticas orales y transdérmicas para aplicaciones clínicas. La segunda generación (1980-2010) se enfocó en superar barreras biológicas que limitan la distribución de fármaco en el cuerpo o las barreras químicas, que son fundamentalmente las reacciones de metabolismo. Y por último, en la tercera generación (a partir del 2010), los SLFs tratan de resolver algunos aspectos fisicoquímicos de los fármacos (baja solubilidad acuosa e inestabilidad), librar las barreras biológicas y controlar la cinética de liberación (Yun, Lee, & Park, 2015). En los últimos años, los avances en la biología molecular e ingeniería genética dieron lugar a una nueva categoría de fármacos: péptidos, proteínas y ácidos nucleicos. En este sentido, los SLF buscan superar las limitantes que estas macromoléculas presentan (alto peso molecular, degradación, vida media corta, entre otros). La nueva generación de SLFs se clasifica de la siguiente manera:

- Liberación modificada
- Liberación dirigida a un sitio específico
- Liberación estímulo sensible.

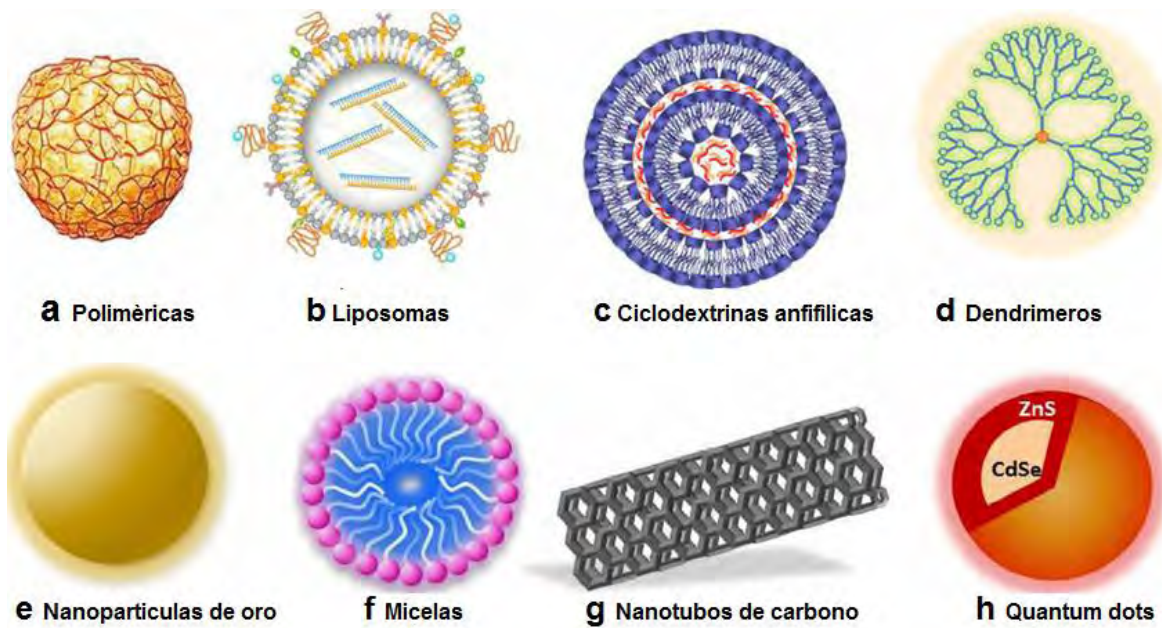
La liberación modificada incluye a cualquier SLF que alcance una liberación lenta del fármaco en un periodo extendido. En la liberación dirigida, el sistema deberá reconocer a un blanco específico y entregar su carga terapéutica en él. En cuanto a la liberación estímulo sensible, el sistema liberará la carga terapéutica únicamente en respuesta a un estímulo interno (pH, redox, enzimas) o externo (temperatura, campo magnético, radiación). Si el sistema reconoce al sitio diana y mantiene niveles constantes del fármaco en el tejido o en células blanco, se considera un sistema de liberación controlada (Isha, Nimrata, Rana, & Surbhi, 2012), (Rashid, Kaur, & Singh, 2014).

## **2.2 La nanotecnología en el campo farmacéutico**

La nanotecnología se considera cada vez más como la tecnología del futuro ya que permite adquirir habilidades a los científicos para comprender y manipular materiales en escala de átomos y moléculas (Safari & Zarnegar, 2014). La nanotecnología es una herramienta que ha permitido la creación de sistemas de liberación de fármacos en los cuales se pueden optimizar las propiedades fisicoquímicas de los fármacos (como la solubilidad, biodisponibilidad, estabilidad, su farmacocinética o farmacodinamia) y al mismo tiempo librar las barreras fisiológicas (Silva, Fernandes, & Baptista, 2014). La nanotecnología además permite incrementar el área superficial o bien, realizar modificaciones en la superficie, con lo cual se pueden obtener sistemas altamente funcionalizados. O, en algunos casos, el comportamiento de los materiales cambia cuando se reduce su tamaño de partícula a escala nanométrica, pudiendo así, a través de esta herramienta, brindar atributos y propiedades distintas a los nanosistemas de liberación (Suri, Fenniri, & Singh, 2007) en comparación con los sistemas convencionales.

Los nanosistemas de liberación, son estructuras de 1 a 100 nm, sin embargo, algunos científicos han clasificado en la misma categoría a estructuras de un tamaño por debajo de 1  $\mu\text{m}$  (Wu, Zhang, & Watanabe, 2011a). Los nanosistemas se clasifican en poliméricos, inorgánicos y derivados de carbono (Figura 1). Dentro de los poliméricos se encuentran: liposomas, micelas, nanopartículas (nanoesferas o nanocápsulas), nanogeles y dendrímeros; dentro de los inorgánicos están las nanopartículas de óxidos metálicos y las estructuras de sílica mesoporosa, mientras que los derivados de carbono abarcan los nanotubos, fullerenos y grafeno (Otero-Espinar, Torres-Labandeira, Alvarez-Lorenzo, & Blanco-Méndez, 2010). Los nanosistemas de tipo polimérico (nanopartículas, liposomas, micelas) son los que han logrado llegar a fases clínicas de evaluación y algunos de ellos ya se utilizan en la clínica, por ejemplo, Doxil® (Janssen Biotech Inc, USA), Depocyt® (Pacta Pharmaceuticals Inc. USA) y Abraxane® (Celgene Corporation, USA) (Silva et al., 2014). Cabe resaltar que, aunque muchas investigaciones se enfocan al diseño de nanosistemas de liberación, son muy pocos los que han llegado a la clínica, lo cual refleja que todavía hay mucho que investigar al respecto.

Una de las principales desventajas de los nanosistemas ha sido el “efecto burst” (fenómeno en donde el nanosistema libera al fármaco abruptamente) y su limitada eficiencia de atrapamiento del fármaco lo cual limita su uso y sigue constituyendo un área de oportunidad para el desarrollo e investigación de nuevos nanoacarreadores (Otero-Espinar et al., 2010).



**Figura 1. Tipos de nanosistemas (Veszelka, Bocsik, Walter, Hantosi, & Deli, 2015)**

Los nanosistemas existen como producto final en dos formas: como liofilizado o en suspensiones (Wu, Zhang, & Watanabe, 2011b). Las nanosuspensiones se definen como partículas hidrofóbicas de tamaño nanométrico dispersas en un medio hidrofílico (normalmente agua) (Verma, Kumar, Gokhale, & Burgess, 2011) y es una estrategia prometedora para formular fármacos de escasa solubilidad acuosa.

Las nanosuspensiones se pueden obtener a través de dos técnicas: “bottom-up” y “top-down”. La técnica “bottom-up” es aquella en la que las partículas se obtienen desde el seno de una reacción y son el producto final de la misma. Dos de las estrategias representativas de “bottom-up” para la obtención de nanosuspensiones es la cristalización (obtención de nanocristales) y la precipitación-evaporación (obtención de nanopartículas poliméricas). Por otro lado, las técnicas “top-down” consisten en la disminución del tamaño de partícula de sólidos hasta la escala nanométrica por métodos mecánicos ya sea por molienda (molino de perlas) o por la homogeneización a alta presión (Khadka et al., 2014).



El homogeneizador de alta presión es hoy en día la técnica que más se utiliza para la preparación de nanosuspensiones de fármacos poco solubles en agua, especialmente aquellos de clase II en el sistemas de clasificación biofarmacéutica (BCS por sus siglas en inglés). La técnica consiste en dispersar las partículas sólidas en un disolvente adecuado y luego se somete a presión para forzarlo a pasar a través de una válvula con poros de tamaño nanométrico (Figura 2), (Khadka et al., 2014).

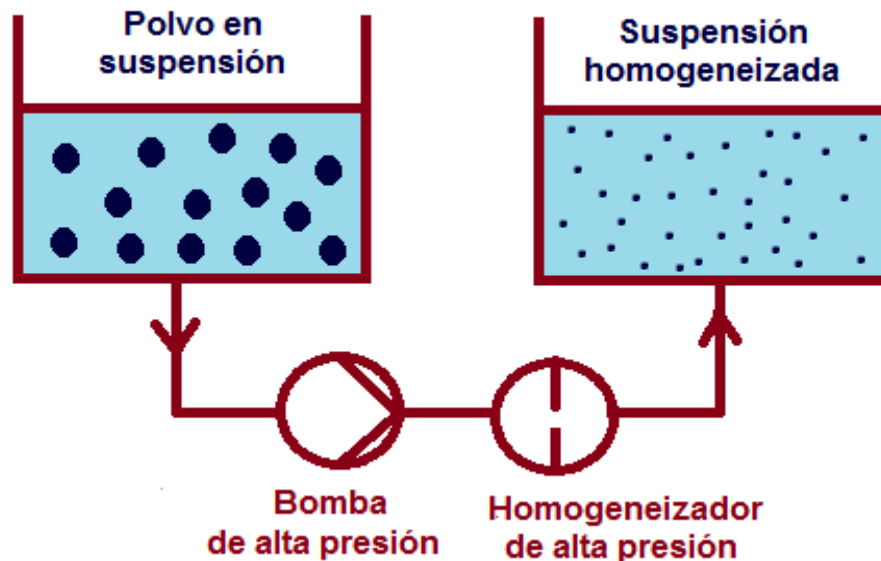


Figura 2. Proceso de homogeneización a alta presión (Khadka et al., 2014)

### 2.3 Ultrasonido

El ultrasonido (US) es una técnica poco costosa, simple y potente porque opera en tiempos cortos y bajo condiciones “ambientales”. El US transmite ondas de sonido en frecuencias por encima del límite de audio humano, aproximadamente 16 KHz (Gibson, Hai, Yong, Farnood, & Seto, 2008). La técnica se basa en el fenómeno de generación, crecimiento y colapso de burbujas en una muestra líquida, denominado

cavitación acústica (Khan & Jhung, 2015). La cavitación puede crear temperaturas localizadas de 2000 a 5000 K y presiones de 1800 a 3000 atm. Cuando una burbuja colapsa cerca de una superficie sólida podría mecánicamente disminuir el tamaño de partícula (Gibson et al., 2008) y por lo tanto se comienzan a estudiar sus aplicaciones para la preparación de nanosistemas por “top-down”. Cabe resaltar que, a la fecha, ningún autor ha reportado el US como “top-down” en la preparación de nanosuspensiones farmacéuticas.



**Figura 3. Proceso de ultrasonido (Hielscher, 2007)**

## 2.4 Las ciclodextrinas

Las ciclodextrinas (CDs) se descubrieron por el científico Villiers en 1891 (Del Valle, 2004), sin embargo no fue hasta que el científico Schardinger en el siglo XX las caracterizó químicamente, además de que aisló y nombró a la bacteria responsable *Bacillus macerans* de su producción.

Las CDs son oligosacáridos cíclicos unidos por enlaces  $\alpha$ -1,4 que están compuestos por 6 ( $\alpha$ -CD), 7 ( $\beta$ -CD) y 8 ( $\gamma$ -CD) unidades de glucopiranososa. Las principales características de las CDs se encuentran resumidas en la Tabla 1. Debido a la conformación en silla de tales unidades y la falta de rotación libre del enlace  $\alpha$ -1,4, las CDs tienen una estructura semejante a un cono truncado, con una cavidad central lipofílica similar a una solución de etanol (por la cadena de carbonos y grupos éter de los residuos de la glucosa) y una superficie hidrofílica con grupos hidroxilo primarios de los residuos del azúcar en el borde estrecho del cono y grupos hidroxilo secundarios en el borde más ancho (Pessine, Calderini, & Alexandrino, 1998). La estructura de la CD se muestra en el Figura 4.

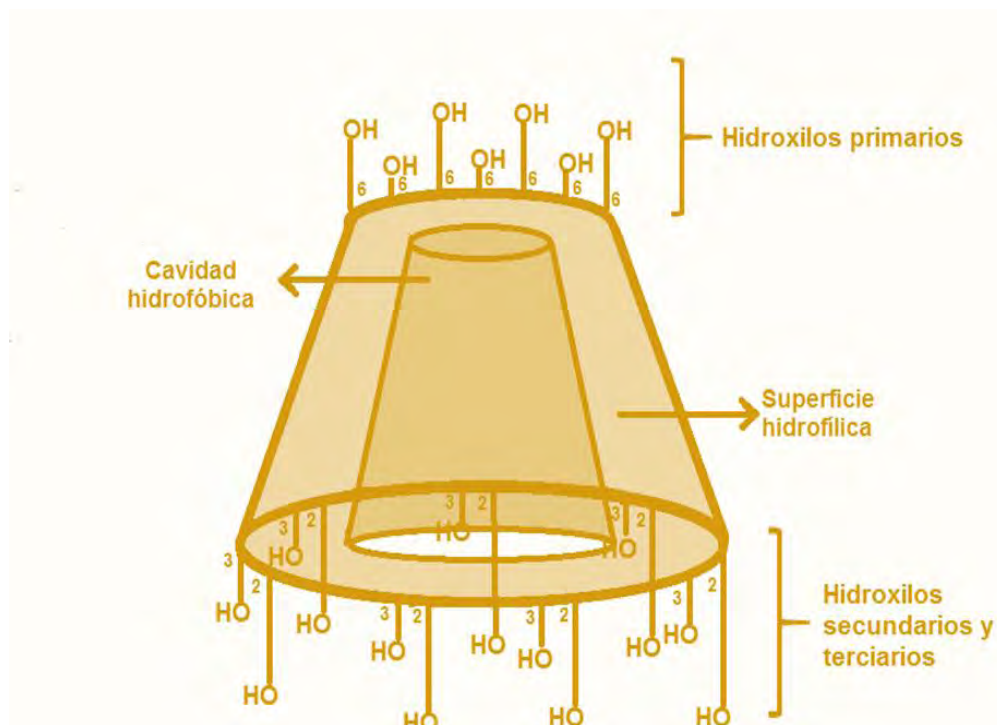


Figura 4. Estructura de la  $\beta$ -ciclodextrina

**Tabla 1. Características de la  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ -CDs (Del Valle, 2004)**

<b>Características</b>	<b><math>\alpha</math>-CD</b>	<b><math>\beta</math>-CD</b>	<b><math>\gamma</math>-CD</b>
Peso molecular ( $\text{gmol}^{-1}$ )	972	1135	1297
Diámetro interno (Å)	4.9	6.2	7.9
Diámetro externo (Å)	14.6	15.4	17.5
Volumen de la cavidad (Å <sup>3</sup> )	174	262	472
Solubilidad en agua (g en 100 mL) a 25 °C	14.5	1.85	23.2

Las CDs son químicamente estables a temperatura ambiente y en condiciones neutras y básicas. La ruptura del anillo se presenta después de incubar a las CDs durante 15 horas a pH 1.1 a 70 °C (Kurkov & Loftsson, 2013).

### **2.5 Las ciclodextrinas y su uso farmacéutico**

Las CDs tienen aplicaciones en diversas áreas, empero, las CDs han llamado mucho la atención en el campo farmacéutico debido a que son materiales capaces de formar complejos de inclusión con moléculas de diversa naturaleza (moléculas huésped) y esta propiedad ha sido ampliamente usada para el incremento de la solubilidad acuosa, biodisponibilidad y estabilidad química de los fármacos. Las CDs se usan como excipientes seguros y tanto  $\alpha$ -CD, como  $\beta$ -CD y  $\gamma$ -CD están registradas en las USP como tal (Loftsson & Brewster, 2012). Algunos productos farmacéuticos que se encuentran en el mercado y contienen CDs se enlistan en la Tabla 2.

**Tabla 2. Ejemplos de medicamentos que se encuentran en el mercado y contienen CDs (Loftsson & Duchêne, 2007)**

Fármaco/CD	Nombre comercial	Formulación	País
$\alpha$ -ciclodextrina			
Alprostadil (PGE <sub>1</sub> )	Prostavastin, Rigudir	Solución I.V.	Japón, Europa
OP-1206	Opalmon	Tableta	Japón
Cefotiam hexetil HCl	Pransporin T	Tableta	Japón
$\beta$ -ciclodextrina			
Benexato HCl	Ulgut, Lonmiel	Cápsula	Japón
Cefalosporin (ME1207)	Meiact	Tableta	Japón
Clorodiazepóxido	Transillum	Tableta	Argentina
Dexametasona	Glymesason	Ungüento	Japón
Difenidramin HCl Cloroteofilina	Stada-Travel	Masticables	Europa
Iodina	Mena-Gargle	Solución	Japón
Nicotina	Nicorette, Nicogum	Tableta sublingual	Europa
Nimesulida	Nimedex	Tableta	Europa
Nitroglicerina	Nitropen	Tableta sublingual	Japón
Omeprazol	Omebeta	Tableta	Europa
PGE <sub>2</sub>	Prostarmon E	Tableta sublingual	Japón
Piroxicam	Brexin, Flogene, Cicladon	Tableta, supositorio	Europa, Brazil
Ácido tioprofénico	Surgamyl	Tableta	Europa
2-Hidoxipropil- $\beta$ -ciclodextrina			
Cisaprida	Propulsid	Supositorio	Europa
Itraconazol	Sporanox	Solución Oral e I.V.	Europa, USA
Mitomicina	Mitozytrex	Infusión I.V.	Europa USA
$\beta$ -ciclodextrina metilada			
Cloranfenicol	Clorocil	Gotas para los ojos	Europa
17- $\beta$ -estradiol	Aerodiol	Spray nasal	Europa
Sulfobutilèter- $\beta$ -ciclodextrina			
Voriconazol	Vfend	Solución I.V.	Europa, USA
Mesilato de ziprasidona	Geodon, Zeldox	Solución I.M.	Europa, USA
2-hidroxipropil- $\gamma$ -ciclodextrina			
Diclofenaco sódico	Voltaren	Gotas para los ojos	Europa
Te-99 Teoboroxima	Cardiotec	Solución I.V.	USA

Como se puede observar en la Tabla 2, la CD más utilizada en las formulaciones farmacéuticas es la  $\beta$ -CD, ya que es la que genera menor irritación después de una inyección intramuscular en comparación con la  $\alpha$ -CD. Por otro lado, cuando se administra oralmente no presenta toxicidad debido a que no se absorbe, no se metaboliza en el tracto intestinal superior y su costo es accesible (Del Valle, 2004).

## 2.6 Formación de complejos de inclusión

Un complejo de inclusión (CI) es la interacción entre una molécula huésped con una molécula anfitrión como se muestra en la Figura 5. Durante la formación de un CI el fármaco hidrofóbico o una parte hidrofóbica del mismo se introduce parcial o totalmente en la cavidad de CD promoviendo el desplazamiento de las moléculas de agua que se encuentran en el interior, lo cual conduce a la encapsulación parcial o total del fármaco, con el consiguiente aumento de su solubilidad. La estabilidad de los complejos está dada por fuerzas electrostáticas, de Van der Waals y puentes de hidrógeno entre el fármaco y la CD (Kurkov & Loftsson, 2013). Sin embargo, el fenómeno se puede revertir si el complejo de inclusión se diluye en un volumen mayor, dependiendo de la polaridad del huésped (Pessine et al., 1998).

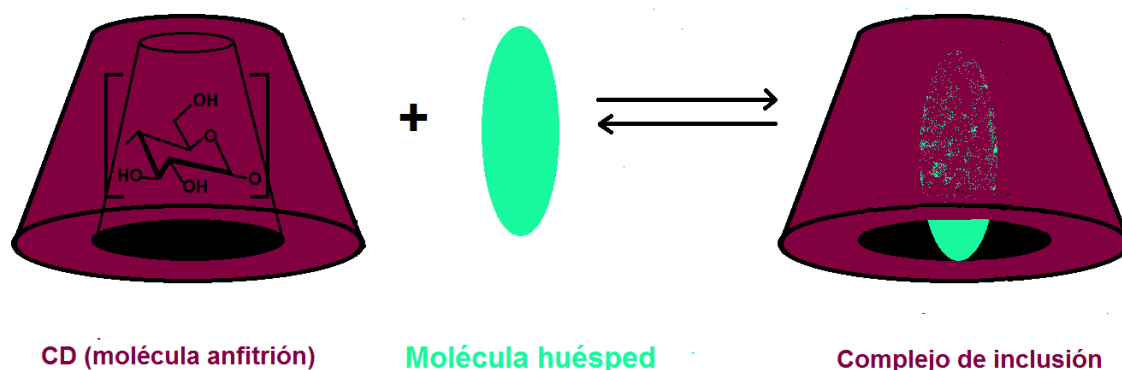


Figura 5. Formación de complejos de inclusión

Las CDs también pueden formar complejos de no inclusión. Esto es, cuando se incrementa la concentración de CD sus complejos se autoensamblan formando agregados que a menudo van del orden de tamaño de 20 a 100 nm de diámetro. Excipientes que solubilizan y estabilizan los agregados, como moléculas pequeñas ionizadas (por ejemplo, sales de ácidos y bases orgánicos) y polímeros solubles en agua (tales como derivados de celulosa) pueden mejorar la magnitud de la eficiencia de complejación en estos sistemas. (Loftsson & Brewster, 2012).

La formación de CI es un equilibrio en el que la molécula huésped entra y sale de la cavidad de la CD y es este fenómeno el que determinará la liberación del fármaco de la cavidad en un medio determinado (Pessine et al., 1998). El desplazamiento del equilibrio estará dado por la afinidad del fármaco por la cavidad y se puede determinar por medio de una constante de estabilidad ( $K_{est}$ ). En el caso de complejos que contienen múltiples fármacos o tipos de CDs, los fármacos en forma de complejo no son necesariamente liberados a la misma proporción que el fármaco complejado individualmente.

Existen varios métodos para preparar CIs, sin embargo, todavía no hay una regla o un método universal ya que la estrategia dependerá de las propiedades fisicoquímicas del fármaco y la CD seleccionada (Del Valle, 2004). La técnica más común para la formación de CI es la de co-precipitación. Esta técnica consiste en disolver la CD junto con el fármaco en un disolvente adecuado y la mezcla se deja agitando a una temperatura determinada. Si la concentración del complejo es suficientemente alta, el complejo fármaco/CD precipitará cuando la temperatura disminuya. El precipitado se lava con pequeñas cantidades de agua y se colecta por decantación, centrifugación o filtración. Debido a que la mejor complejación es alcanzada cuando tanto huésped y hospedador se encuentran disueltos completamente (Moriwaki et al., 2008) en algunos casos se usan polímeros y cosolventes como componentes adicionales para dar lugar a los CI.

Existen otros métodos que son menos utilizados como el amasado, en donde se hace la mezcla con una pequeña cantidad de agua con o sin calentamiento y el producto se seca directamente o se filtra. También se pueden emplear estrategias como secado por aspersión o extrusión (Del Valle, 2004).

## 2.7 Caracterización de los complejos de inclusión

Existen diversas estrategias para caracterizar a los CI. Estas técnicas se basan generalmente en un cambio en las propiedades físicas o químicas del fármaco como una consecuencia de la complejación (Mura, 2014). Los complejos se pueden caracterizar en estado sólido o en solución. La caracterización en estado sólido consiste en las siguientes técnicas:

- **Difracción de rayos x de polvos (DRXP).** Se basa en los cambios en los patrones de cristalinidad del complejo con respecto al fármaco o la CD.
- **Calorimetría diferencial de barrido (DSC).** En esta técnica se espera observar la desaparición de las endotermas de fusión del fármaco cuando se encuentra como CI.
- **Análisis termogravimétrico (TGA).** En esta técnica se observan cambios de estabilidad térmica del complejo con respecto al fármaco. El complejo incrementa la estabilidad del fármaco cuando se encuentra en la cavidad de la CD y por lo tanto, será estable a temperaturas más altas que cuando se encuentra en su forma libre.
- **Infrarrojo (IR).** En esta técnica se observan cambios en las bandas características del fármaco o la CD con respecto al complejo, tales como: desaparición de los picos y variaciones en su intensidad.
- **Microscopía electrónica de barrido (SEM).** Esta técnica se usa para observar cambios en la morfología de los complejos con respecto a la CD y el fármaco solos (Mura, 2015).



La caracterización en solución abarca las siguientes técnicas:

- **Resonancia magnética nuclear (RMN).** Se observa un cambio en el desplazamiento químico de los protones del interior de la cavidad de las CDs o bien de los protones correspondientes a la parte de la molécula de fármaco que se encuentra dentro de la CD.
- **Espectroscopia de UV-visible (UV).** Esta técnica muestra los cambios en la longitud de onda de máxima absorción del fármaco en el espectro del UV, y/o un incremento o disminución de su intensidad.
- **Fluorescencia.** Al igual que en el UV, se pueden observar cambios en la intensidad de la fluorescencia del fármaco (si es que este fluoresce) cuando se encuentra en la forma de complejo.
- **Cromatografía de líquidos (HPLC).** Se observan cambios en el tiempo de retención del fármaco en la forma de complejo con respecto al fármaco libre.

## **2.8 Modificaciones químicas a las ciclodextrinas**

Las CDs son moléculas químicamente muy versátiles debido a los grupos OH primarios y secundarios que se encuentran en su estructura, lo cual permite hacer modificaciones selectivas para dar origen a CDs con propiedades diferentes a las CDs nativas. Para realizar tales modificaciones se deben considerar las características nucleofílicas de los grupos hidroxilo en las posiciones C2, C3 y C6. En la CD existen tres tipos de grupos hidroxilo, el grupo OH en C6 es un alcohol primario y es el más básico y nucleofílico, el grupo OH en C2 es el más ácido y el grupo OH en C3 es el más inaccesible para una modificación química (Pessine et al., 1998).

Así las CDs se pueden hacer reaccionar con distintos tipos de moléculas para dar lugar a estructuras supramoleculares con propiedades únicas, o bien, se pueden

hacer reaccionar con ellas mismas para crear sistemas entrecruzados a base de CD (Dodziuk, 2006).

## **2.9 Sistemas poliméricos entrecruzados a base de CD**

El término de polímero de CD hace referencia a cualquier material constituido por varias de sus unidades enlazadas covalentemente formando estructuras lineales o ramificadas (Moya-Ortega, Alvarez-Lorenzo, Concheiro, & Loftsson, 2012). Todas las rutas de síntesis de polímeros de CDs se basan en la reactividad de los grupos hidroxilo libres que están orientados hacia el exterior de la cavidad, la cual se podrá mantener accesible para la formación de CI con fármacos (Fallis, 2013). Las redes entrecruzadas tridimensionales que se obtienen de la polimerización de la CD podrán tener diferentes características dependiendo de la longitud y las características del enlace con el que se interconectan las CDs y el grado de entrecruzamiento. Así, se pueden obtener sistemas tipo gel en donde se pueden cargar dos fármacos de diferente naturaleza (hidrofílicos o hidrofóbicos) en un solo sistema (Osmani, Bhosale, Hani, Vaghela, & Kulkarni, 2015) o bien, sistemas hiper-reticulados rígidos y porosos conocidos como esponjas de CD.

## **2.10 Sistemas entrecruzados tipo esponja**

Trotta y colaboradores reportaron por primera vez la síntesis de redes o polímeros hiper-entrecruzados a base de CD de tamaño nanométrico llamados “nanoesponjas” (Cavalli, Trotta, & Tumiatti, 2006). Las nanoesponjas (NS) son partículas sólidas, esféricas y porosas, estables a temperaturas de 300 °C, con estructura en forma de malla que contienen nanocanales hidrofílicos debido a los espacios intersticiales generados como resultado del entrecruzamiento.

Las NS pueden utilizarse como acarreadores de fármacos, ya que pueden atrapar agentes terapéuticos en los nanocanales o formar complejos de inclusión por las cavidades hidrofóbicas disponibles de la CD en donde se espera observar una

mejora en la eficiencia de complejación por el efecto cooperativo de las CDs vecinas en la red polimérica tridimensional (Osmani et al., 2015)

### **2.11 Métodos de preparación de las nanoesponjas**

Trotta ha reportado la obtención de NS a partir de la reacción entre la  $\beta$ -CD con distintos agentes reticulantes como carbonildiimidazol (CDI), trifosgeno, carbonato de difenilo o una serie de compuestos orgánicos dianhidros (Shringirishi et al., 2014). Existen dos métodos para la síntesis de NS: síntesis química y síntesis asistida por ultrasonido.

- **Síntesis química:** se disuelven la CD y el agente entrecruzante en un disolvente adecuado (disolvente polar aprótico) y se deja agitando por 4 horas a 90 °C, el producto se lava con un exceso de agua y se purifica por extracción en Soxhlet. Posteriormente se utiliza una técnica “top-down” disminuyendo el tamaño de los agregados hasta la nanoescala por homogeneización a alta presión (Chilajwar, Pednekar, Jadhav, Gupta, & Kadam, 2014).
- **Síntesis asistida por ultrasonido:** la síntesis por ultrasonido se lleva a cabo de la misma manera que la síntesis química, sólo que esta se deja en un baño de ultrasonidos por 4 horas a 90 °C. El tratamiento de purificación es el mismo que el mencionado anteriormente. Las ventajas de este método es que se obtienen partículas esféricas nanométricas directamente y de tamaño homogéneo ya que el US se utiliza como una estrategia “bottom-up” (Shringirishi et al., 2014).

### **2.12 Caracterización de las nanoesponjas**

Existen diversas técnicas analíticas que se emplean para la caracterización de las NS que permiten corroborar el entrecruzamiento covalente de las unidades de la CD y su tamaño nanométrico, tales como:

- **IR.** Se determinan la presencia o ausencia de nuevos grupos funcionales como consecuencia de la reacción covalente de entrecruzamiento de la CD y el agente reticulante, lo que permite corroborar si se formaron las esponjas.
- **DRXP.** Con esta técnica se observan cambios en los patrones de cristalinidad del producto obtenido con respecto a la CD sola. Si los patrones de cristalinidad cambian se confirma la formación de sistemas entrecruzados.
- **DSC y TGA.** Dado que el sistema entrecruzado está constituido por nuevos enlaces, el producto tendrá una estabilidad térmica distinta que la CD.

Para conocer el tamaño y la morfología de las NS se utilizan las siguientes técnicas:

- **Determinación del tamaño de partícula.** La determinación se realiza por un difractor óptico de láser o en un instrumento conocido como Zetasizer (Vishwakarma, Nikam, Mogal, & Talele, 2014).
- **Potencial Z.** Con esta técnica se determina la estabilidad de la nanosuspensión por medio de la determinación de la carga de la superficie de las nanoestructuras. El potencial Z en agua debe estar alrededor de  $\pm 30$  mV, que es suficientemente alto para dar nanosuspensiones estables que no experimenten la agregación con el tiempo.
- **SEM.** Con esta técnica se observa la morfología y también se puede inferir el tamaño de las NS (Mura, 2015).

Se ha observado que las características de las NS varían en función del tipo de agente reticulante y su proporción molar con respecto a la CD ya que a mayor proporción de este, mayor grado de entrecruzamiento. Así, se ha establecido que una proporción 1:4 (CD:agente reticulante) genera estructuras en donde la red tiene características tales que pueden atrapar moléculas en su interior, específicamente fármacos. De esta manera, Trotta y colaboradores son pioneros en el estudio de estas nanoestructuras como potenciales acarreadores de fármacos (curcumina, aciclovir y resveratrol).

Bajo este contexto, es de nuestro interés estudiar estas estructuras y expandir las posibles aplicaciones que puedan tener. Así, en este trabajo se presenta la síntesis de sistemas entrecruzados (SE) tipo esponja en tamaño micrométrico (MSE) y en la nanoescala (NSE) a base de CD y CDI bajo distintas condiciones de reacción: a) condiciones concentradas, b) condiciones diluidas y c) síntesis asistida por microondas; se analiza cómo influyen éstas en las características estructurales del SE y en su capacidad de carga de fármaco utilizando albendazol (ABZ) como fármaco modelo.

En las regiones menos desarrolladas en el mundo, las infecciones parasitarias siguen siendo muy comunes y representan un gran problema de salud. Debido a su bajo costo y amplio espectro el albendazol (ABZ) es un fármaco ideal para estos casos. El ABZ es un derivado bencimidazólico con actividad antihelmíntica y que pertenece a la clase II del SCB (Moriwaki et al., 2008). Sin embargo, su baja solubilidad en agua (1 µg/mL) limita el uso para parasitosis sistémicas (cisticercosis, fasciolosis, triquinelosis, entre otras). Es por ello que numerosas investigaciones se han enfocado en el desarrollo de un sistema que incremente la solubilidad acuosa del ABZ para el tratamiento de estas enfermedades. Por lo anterior, este fármaco representa un excelente modelo para determinar la funcionalidad de nuestros SE.

### **3. Hipótesis**

Las propiedades fisicoquímicas y características estructurales de los sistemas entrecruzados a base de  $\beta$ -CD varían en función del agente reticulante y su estequiometría, sin embargo, las condiciones de reacción podrían influir también en gran medida. Bajo este contexto, si se modifican las condiciones de reacción entonces se obtendrán sistemas entrecruzados estructuralmente distintos. Si la reacción se lleva a cabo en condiciones concentradas se esperan estructuras con mayor grado de entrecruzamiento en comparación con las obtenidas en condiciones de reacción diluidas. Así mismo, se espera que al realizar la reacción en un reactor de microondas se obtengan SE con las mismas características estructurales pero en un tiempo considerablemente menor de reacción. Por otro lado, se sabe que la disminución del tamaño de partícula en escala nanométrica aumenta el área superficial, por lo cual, se espera que al reducir el tamaño de partícula de los MSEs a NSEs, aumente la eficiencia de complejación con ABZ.

## **4. Objetivo**

### **Objetivo general**

- Sintetizar y caracterizar sistemas entrecruzados de  $\beta$ -CD bajo diferentes condiciones, y explorar su aplicación como sistemas de liberación de fármacos en la forma de micro y nanoestructuras.

### **Objetivos particulares**

- Sintetizar SE de  $\beta$ -CD con CDI bajo condiciones de reacción concentradas.
- Sintetizar SE de  $\beta$ -CD con CDI bajo condiciones de reacción diluidas.
- Sintetizar SE de  $\beta$ -CD con CDI en un reactor de microondas.
- Caracterizar los sistemas entrecruzados por diversas técnicas analíticas, tales como: DXRP, IR, SEM y DSC.
- Obtener NSEs utilizando US como una estrategia "top-down".
- "Cargar" los MSEs y NSEs con ABZ como fármaco modelo por medio de la formación de CI con las cavidades disponibles (MSE/ABZ y NSE/ABZ).
- Determinar el perfil de liberación del ABZ de los sistemas entrecruzados.

## **5. Metodología**

### **5.1 Síntesis de sistemas entrecruzados a base de ciclodextrina**

La polimerización de la  $\beta$ -CD con CDI se realizó bajo tres diferentes condiciones. Por síntesis química se prepararon: a) SE en condiciones concentradas y b) SE en condiciones diluidas. El tercer sistema consistió en síntesis asistida por microondas.

#### **5.11 Síntesis química**

Se pesó  $\beta$ -CD previamente liofilizada (Sigma-Aldrich Chemical Company, PM: 1135.01  $\text{g mol}^{-1}$ ) y se colocó en un matraz de bola de 50 mL, posteriormente se añadió CDI (Sigma-Aldrich, PM: 162.15  $\text{g mol}^{-1}$ ) y ambos reactivos se disolvieron completamente con dimetilformamida anhidra (DMF, Sigma-Aldrich, 99.8 %) en una atmósfera de  $\text{N}_2$  (Shende, Deshmukh, Trotta, & Caldera, 2013). El matraz se colocó en un baño de aceite a una temperatura de 90 °C y se dejó en agitación hasta la formación del polímero. El producto se lavó con un exceso de agua destilada y se filtró. El polímero se purificó por extracción Soxhlet con etanol. Finalmente el producto se filtró, se secó en una estufa a 60 °C y se molió en un mortero de porcelana hasta obtener un polvo fino. La Tabla 3 detalla las condiciones concentradas y diluidas de las reacciones.

#### **5.12 Síntesis asistida por microondas**

La polimerización de la  $\beta$ -CD se llevó a cabo en un reactor de microondas (Anton Paar Monowave 300, MAS 24). Para ello, se pesó directamente la  $\beta$ -CD en un tubo G-10 (tubo especial para síntesis asistida por microondas con capacidad de 6 mL). Posteriormente se añadió el CDI y se disolvió con DMF (Tabla 3). Se introdujo el tubo al reactor para llevar a cabo la polimerización a una temperatura de 130 °C. Una vez alcanzada tal temperatura, el equipo mantuvo una potencia constante de 1-2 Watts. La reacción se siguió por medio de la cámara instalada en el reactor



hasta observarse la formación del polímero. La purificación y obtención del sistema entrecruzado (MSE-Mw) se realizó como se describe en la sección 5.11.

**Tabla 3. Condiciones de reacción para la obtención de MSEs**

<b>MSE</b>	<b><math>\beta</math>-CD (mg)</b>	<b>CDI (mg)</b>	<b>Proporción (<math>\beta</math>-CD:CDI)</b>	<b>DMF (mL)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tiempo (h)</b>	<b>Método</b>
<b>MSE-1</b>	250	143	1:4	5.5	90	4	Disolvente
<b>MSE-2</b>	250	143	1:4	7.5	90	8	Disolvente
<b>MSE-Mw</b>	250	143	1:4	5.5	130	0.75	Microondas

## **5.2 Caracterización de los MSEs**

Los MSEs se caracterizaron por diversas técnicas:

### **5.21 IR**

Se realizó en un equipo Perkin Elmer Spectrum a 400 ppm de reflectancia. La muestra se analizó directamente y a temperatura ambiente.

### **5.22 DRXP**

Se midió en un equipo Bruker D8 Advance con radiación de cobre a una longitud de onda de 1.5406 Å. La muestra se analizó a temperatura ambiente con un ángulo de 2.5° a 60°, a una velocidad de 5°/minuto.

### **5.23 DSC**

Se llevó a cabo en un equipo Preasure-DSC de 25 °C hasta 600 °C a una velocidad de 1.5 °C/min.

## **5.24 SEM**

Las micrografías se obtuvieron por un equipo JEOL 5900 LV. Las muestras se recubrieron con oro y se midieron con un voltaje de 20 KV con las siguientes ampliaciones: X90, X300, X1000, X2500 y X7500.

## **5.25 Determinación del tamaño de partícula y el potencial Z**

Las muestras se dispersaron en agua desionizada y se determinó el tamaño de partícula y el potencial Z por medio del equipo Zetasizer de Malvern Instruments, modelo Zen3600.

## **5.26 Determinación del Volumen de poro (VP)**

La muestra se dejó secando a 100 °C por 24 horas en una estufa, una vez transcurrido el tiempo se pesó la muestra y se añadió poco a poco agua con la ayuda de una jeringa. Cuando se observó el “espejo de agua” se determinó el volumen de poro por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{Volumen de poro} = \frac{\text{Volumen de agua consumido (mL)}}{\text{masa de la muestra seca (g)}}$$

## **5.3 Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs**

Se formaron complejos de inclusión de los tres MSEs en tres medios; el primer medio fue en agua, el segundo con ácido acético glacial al 30 % v/v (M. Joao G Ferreira et al., 2015) y el tercero en metanol.

### **5.31 Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs en agua**

Se pesaron 7 mg de ABZ (Sigma-Aldrich, PM: 265.3 g mol<sup>-1</sup>) y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 25 mL, posteriormente se añadieron 10 mL de agua destilada. Por separado se pesaron 15 mg de MSEs de manera que la proporción de MSE:ABZ fue de 1:2 y se añadieron al matraz (M. Joao G Ferreira et al., 2015).

El sistema permaneció en agitación por 72 horas a temperatura ambiente y terminado el tiempo se centrifugó (Centrifuga Sorvail Biofuge Primo R de Thermo Electronic Corporation) para obtener los complejos ABZ/MSE. La cantidad de ABZ libre en el sobrenadante se determinó por medio de una curva patrón de ABZ (Apéndice I). La eficiencia de complejación del ABZ con los MSE se calculó por medio de la Ecuación 1 (Vishwakarma et al., 2014).

#### **Ecuación 1.**

$$\% \text{ Eficiencia de complejación: } \left( \frac{A_i - A_f}{A_i} \right) (100)$$

#### **Donde:**

- **A<sub>i</sub>** es la masa en mg del ABZ inicial que se pesó para formar los complejos.
- **A<sub>f</sub>** es la masa en mg del ABZ que se cuantificó del sobrenadante (ABZ sin complejar).

#### **5.32 Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs en ácido acético glacial al 30 % v/v**

Se formaron complejos de inclusión ABZ/MSEs con las mismas cantidades de reactivos y las mismas condiciones que los formados en medio con agua descrito anteriormente, pero en este caso, el ABZ se disolvió previamente con 10 mL de ácido acético glacial al 30 % v/v. Posteriormente las muestras se centrifugaron y se cuantificó la eficiencia de complejación por medio de la Ecuación 1.

#### **5.33 Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs en metanol**

La formación de complejos ABZ/MSE y la determinación de la eficiencia de complejación se realizó de la misma manera que en la sección 5.31 pero disolviendo previamente el ABZ en 10 mL de metanol.

### 5.34 Preparación de complejos de inclusión ABZ/ $\beta$ -CD

Se formaron complejos ABZ/ $\beta$ -CD el cuál se utilizó como referencia para comparar la eficiencia de complejación del MSE con respecto a la  $\beta$ -CD nativa. El sistema se preparó como se describió para MSE, pero sin centrifugar la muestra. Se cuantificó el ABZ sin formar CI directamente de la solución y la eficiencia de complejación se determinó por la Ecuación 1.

### 5.4 Formación de complejos de inclusión PHE/MSEs

Se preparó una solución stock de  $1 \times 10^{-2}$  M de fenolftaleína (PHE) en etanol y se adicionaron 0.15 mL a cada tubo de ensayo. Después se añadió 1 mg de cada MSE sintetizado (la proporción de PHE:MSE fue de 1:6) y 2.85 mL de una solución de buffer de carbonatos pH 10.5 para obtener un volumen final de 3.0 mL (Makela, Korpela, & Laakso, 1987). Las muestras se centrifugaron y se midió el sobrenadante en un espectrofotómetro de UV-visible a 554 nm. La concentración de PHE se determinó por medio de la construcción de una curva patrón de PHE (Apéndice I). La eficiencia de complejación del MSE con la PHE se calculó de acuerdo a la ecuación 2.

*Ecuación 2.*

$$\% \text{ Eficiencia de complejación: } \left( \frac{P_i - P_f}{P_i} \right) (100)$$

**Donde:**

- $P_i$  es la masa en mg de la PHE inicial que se empleó para formar los complejos.
- $P_f$  es la masa en mg de la PHE que se cuantificó del sobrenadante (PHE sin complejar).

### 5.5 Formación de complejos de inclusión de la PHE/ $\beta$ -CD

Se preparó una solución stock de  $2.5 \times 10^{-4}$  M de fenolftaleína (PHE) en etanol y se adicionaron diferentes cantidades de  $\beta$ -CD en un tubo de ensayo como se muestra en la Tabla 4. Después se agregó la cantidad suficiente de solución amortiguadora de carbonatos pH 10.5 para obtener un volumen final de 5 mL (Zarzycki & Lamparczyk, 1998). La respuesta se midió después de 2 y 24 horas en un espectrofotómetro de UV-visible a 554 nm.

**Tabla 4. Cantidades de reactivos que se añadieron para la formación de complejos PHE/ $\beta$ -CD.**

Tubo	Vol. PHE. ( $2.5 \times 10^{-4}$ M) en mL	Vol. $\beta$ -CD ( $1 \times 10^{-3}$ M) en mL	Buffer carbonatos pH.10.5 en mL	Proporción PHE: $\beta$ -CD
1	1.0	0.5	3.5	1:2
2	1.0	1.0	3.0	1:4
3	1.0	2.0	2.0	1:6
4	1.0	3.0	1.0	1:14
5	1.0	4.0	0.0	1:20

### 5.6 Preparación de NSEs

La disminución del tamaño de partícula de los MSEs se realizó suspendiendo 30 mg de cada MSE en 60 mL de agua desionizada en un vaso de precipitados de 250 mL. Las muestras se sonicaron por 45 minutos en un equipo de ultrasonido de sonda (Sonics vibra-Cell VC 505), a una potencia de 500 W y una frecuencia de 20 KHz (Suslick, Casadonte, Green, & Thompson, 1987). Terminado el proceso se filtró y se determinó la eficiencia del proceso de disminución del tamaño de partícula por medio de la Ecuación 3. Una vez obtenidos los NSEs se eliminó el disolvente a presión reducida y posteriormente se eliminó el disolvente en una liofilizadora (Labconco, modelo 7400030 en alto vacío con una bomba Labconco, modelo 195).

Ecuación 3. 
$$\% \text{ eficiencia} = \left[ \frac{M_i - (M_f - P)}{M_i} \right] [100]$$

**Donde:**

- **M<sub>i</sub>** es la masa inicial que se colocó del MSE para disminuir el tamaño de partícula.
- **P** es la masa en mg del papel filtro.
- **M<sub>f</sub>** es la masa final en mg del papel filtro seco con muestra que se obtuvo después de filtrar la solución previamente sonicada.

### **5.7 Caracterización de los NSEs**

Los NSEs se caracterizaron en estado sólido por IR y DRXP y como suspensión se determinó el tamaño de partícula y el potencial Z.

### **5.8 Formación de complejos de inclusión ABZ/NSE**

Se pesó y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 125 mL un exceso de ABZ con los NSE en forma de nanosuspensión como se muestra en la Tabla 5. El matraz se dejó agitando vigorosamente por 72 horas a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo se filtró la solución y se eliminó el disolvente a presión reducida para obtener los complejos ABZ/NSEs. Para determinar la cantidad de ABZ atrapada en NSEs, se cuantificó el exceso retenido de ABZ en el papel filtro. El ABZ retenido en el papel filtro se cuantificó como se describió en la Sección 3.31 y la eficiencia de complejación del NSE con el ABZ se determinó por la Ecuación 4. Posteriormente se liofilizaron los complejos ABZ/NSEs para su posterior caracterización.

Ecuación 4.

$$\% \text{ eficiencia} = \left( \frac{N_i - N_f}{N_i} \right) (100)$$

Donde:

- $N_i$  es la masa inicial que se colocó de ABZ para formar complejos ABZ/NSE
- $N_f$  es la masa de ABZ retenida en el papel filtro que no formó complejos

**Tabla 5. Cantidades y condiciones para la formación de los complejos NSEs/ABZ**

<b>NSE</b>	<b>Masa (mg)</b>	<b>ABZ (mg)</b>	<b>Proporción (SE:ABZ)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
<b>NSE-1</b>	16	8	1:2	25
<b>NSE-2</b>	18	9	1:2	25
<b>NSE-Mw</b>	14	7	1:2	25

### **5.9 Caracterización de los complejos de inclusión ABZ/NSE**

Se determinó el tamaño de partícula y potencial Z en solución con agua destilada.

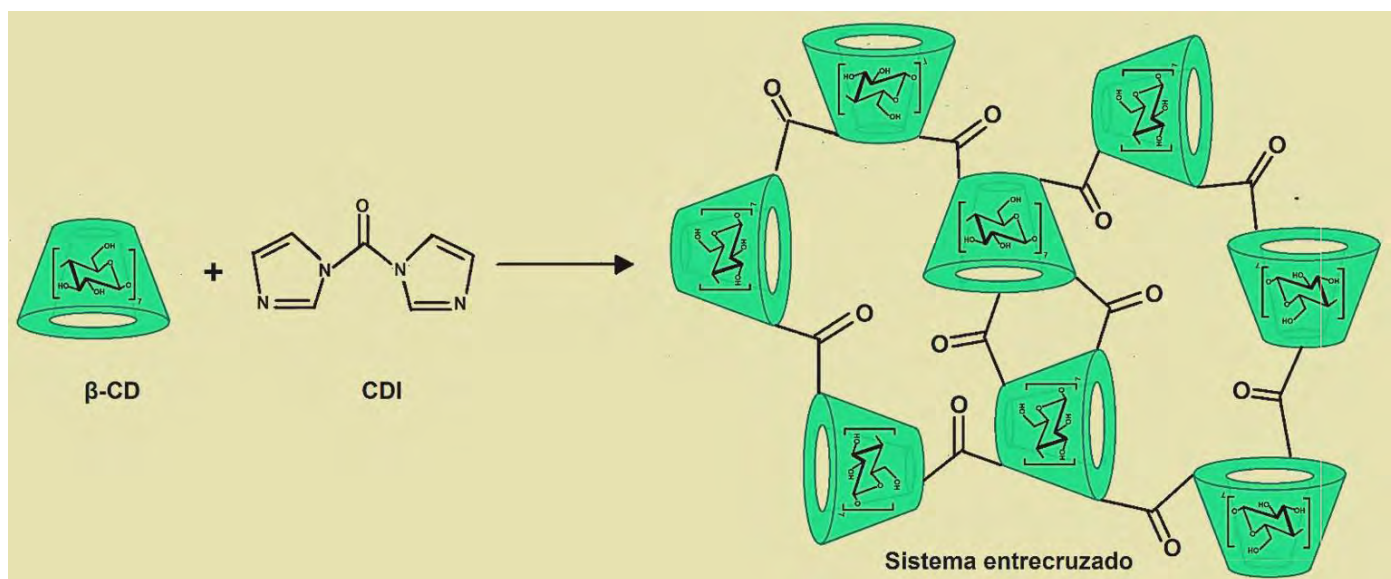
### **5.10 Perfil de liberación del ABZ de los complejos ABZ/NSEs**

Se colocó una cantidad de ABZ/NSE equivalente a 1.2 mg de ABZ en dos diferentes medios: Buffer de fosfatos pH 7.4 (PBS) y HCl 0.1 N (Liu et al., 2013). En ambos casos se tomaron alícuotas de 1.0 mL a los tiempos 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 4.0, 24 y 72 horas y se repuso el volumen en cada muestreo con medio fresco para mantener las condiciones “sink”. Las muestras se midieron directamente en un espectrofotómetro de UV-visible a 295 nm.

## 6. Resultados y discusión

### 6.1 Síntesis de MSEs

Se obtuvieron tres MSEs a partir de  $\beta$ -CD y CDI (Esquema 1) bajo diferentes condiciones de reacción. Las características de cada MSE concluida la reacción se encuentran resumidas en la Tabla 6. Tanto para MSE-2 como para MSE-Mw la formación del polímero se identificó al observarse una estructura sólida insoluble en el medio de reacción (Lembo et al., 2013). Así mismo, las características físicas de ambos sistemas fueron similares (Tabla 6). Sin embargo, para el MSE-2, sólo se observó un cambio en la viscosidad del disolvente cuando terminó el tiempo de reacción. Así que para obtener el SE se adicionó agua destilada hasta la formación de un precipitado y después se eliminó el disolvente a presión reducida. Todos los MSE se lavaron con un exceso de agua destilada para eliminar los reactivos que no reaccionaron y se molieron en un mortero de porcelana para su posterior purificación.



Esquema 1. Polimerización de la  $\beta$ -CD con CDI



**Tabla 6. Características cualitativas de los MSEs sintetizados bajo diferentes condiciones de reacción**

<b>MSE</b>	<b>Forma</b>	<b>Color</b>	<b>Textura</b>
<b>MSE-1</b>	Sólido	Blanco	Duro
<b>MSE-2</b>	Sólido	Amarillo	Flexible
<b>MSE-Mw</b>	Sólido	Blanco	Flexible

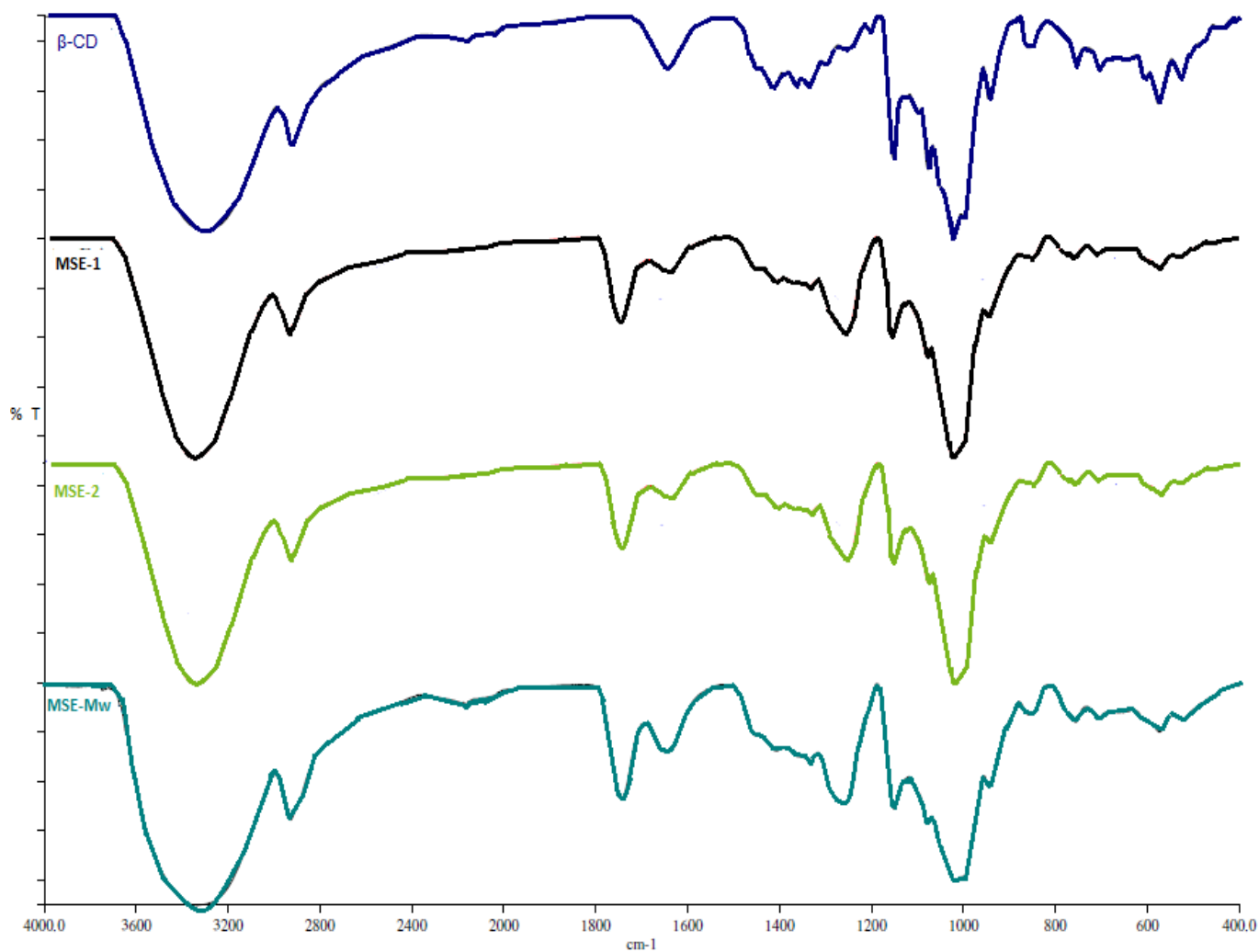
La purificación de los MSEs se llevó a cabo por extracción en Soxhlet con etanol a 120 °C (Cavalli et al., 2006). Se dejaron transcurrir 30 ciclos y el sistema se dejó enfriar a temperatura ambiente. Los MSEs se filtraron al vacío y después se molieron en un mortero hasta obtener un polvo fino insoluble en varios disolventes, lo cual está en concordancia con lo reportado en la literatura. Los disolventes en los que fueron insolubles los MSEs son: agua, etanol, metanol, acetona, hexano, DMSO, DMF y éter etílico (Wajs, Caldera, Trotta, & Fragoso, 2014), con la excepción de que el MSE-2 fue soluble en DMF.

## **6.2 Caracterización de los MSEs**

### **6.2.1 Caracterización por IR**

Como se puede apreciar en la Figura 6, la señal que permite corroborar que se formaron los enlaces carbonatos entre las  $\beta$ -CDs se encuentra a  $1742\text{ cm}^{-1}$  y corresponde al grupo funcional C=O (éster), únicamente presente en MSEs (Shende et al., 2013). Lo anterior se confirma con la banda característica del grupo carbonilo de  $1300$  a  $1050\text{ cm}^{-1}$ . Por otro lado, tanto la  $\beta$ -CD como los tres MSEs presentaron la banda ancha de estiramiento del grupo OH de  $3400$ - $3200\text{ cm}^{-1}$  y el pico confirmatorio de estiramiento a  $1050\text{ cm}^{-1}$  del OH primario. La señal de flexión de  $1640\text{ cm}^{-1}$  en el espectro de la  $\beta$ -CD corresponde a también a los OH presentes en el macrociclo, la cual disminuye para MSE-1, MSE-2 y MSE-Mw debido a que los -OH formaron enlaces carbonato (Mathapa & Paunov, 2013). Cabe mencionar

que no se encontraron señales de aminas de  $900\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ , ni de grupos aromáticos de  $2000\text{-}1660\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a subproductos como el imidazol o el CDI, revelando que el proceso de purificación al producto fue adecuado. Los espectros de MSE-1 y MSE-2 no muestran diferencias. Sin embargo, MSE-Mw mantiene la banda de  $1640\text{ cm}^{-1}$ , indicando que hay un número considerable de OH sin reaccionar, lo cual concuerda con la banda de  $1050\text{ cm}^{-1}$ , que es más ancha.



**Figura 6. Espectros de infrarrojo de la  $\beta$ -CD y los MSEs**

## 6.22 Caracterización de los MSEs por DRXP

La Figura 7 presenta los resultados del análisis de DRXP. La Figura 7a corresponde al difractograma de la  $\beta$ -CD, la cual es una estructura cristalina por la serie de picos agudos lineales y repetitivos que se observan al variar el  $^{\circ}2\theta$ . La Figura 7b, muestra los patrones de difracción de los MSEs, los cuales son totalmente distintos a los de la  $\beta$ -CD, hecho que corrobora, que se formó el SE en el cual se pierde el grado de cristalinidad (sistemas paracristalino) (Lembo et al., 2013), (Anandam & Selvamuthukumar, 2014). El MSE-Mw presenta el mismo patrón de difracción que MSE-1 y MSE-2, sin embargo los picos son más intensos, con lo cual se puede inferir que MSE-Mw tiene una estructura más ordenada.

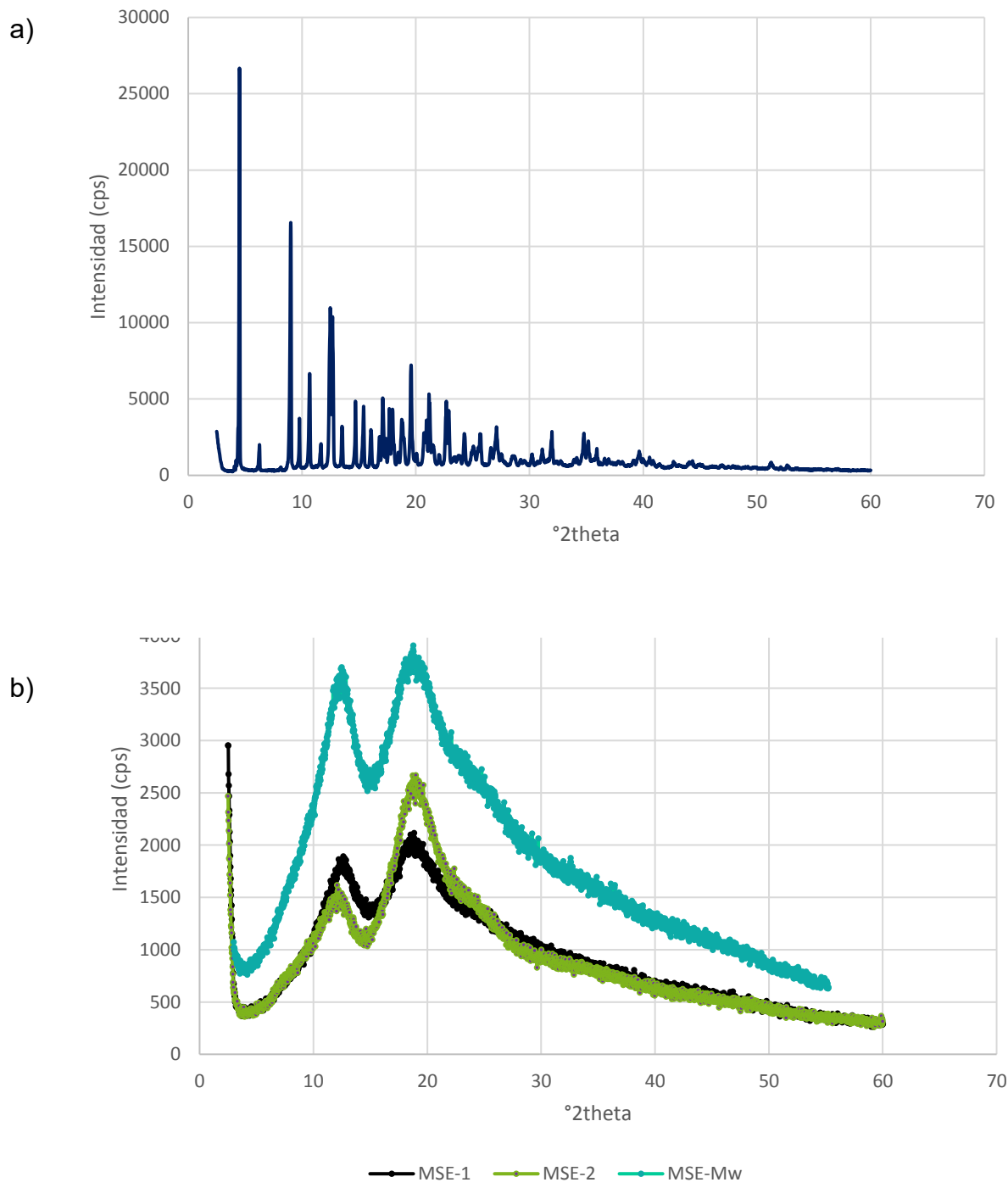


Figura 7. Difracción de rayos X de polvos de: a)  $\beta$ -CD y b) MSEs

### 6.23 Caracterización de los MSEs por DSC

El análisis de DSC se muestra en la Figura 8. Los tres MSEs presentan un endoterma en un rango de temperatura de 300 a 330 °C, esta absorción de calor se debe a la ruptura del enlace carbonato que une a las unidades de  $\beta$ -CD en el SE (Alongi, Poskovic, Frache, & Trotta, 2010). Sin embargo, los tres sistemas difieren en su comportamiento térmico y el cambio en las endotermas que se observa puede estar relacionada con la cristalinidad de cada estructura.

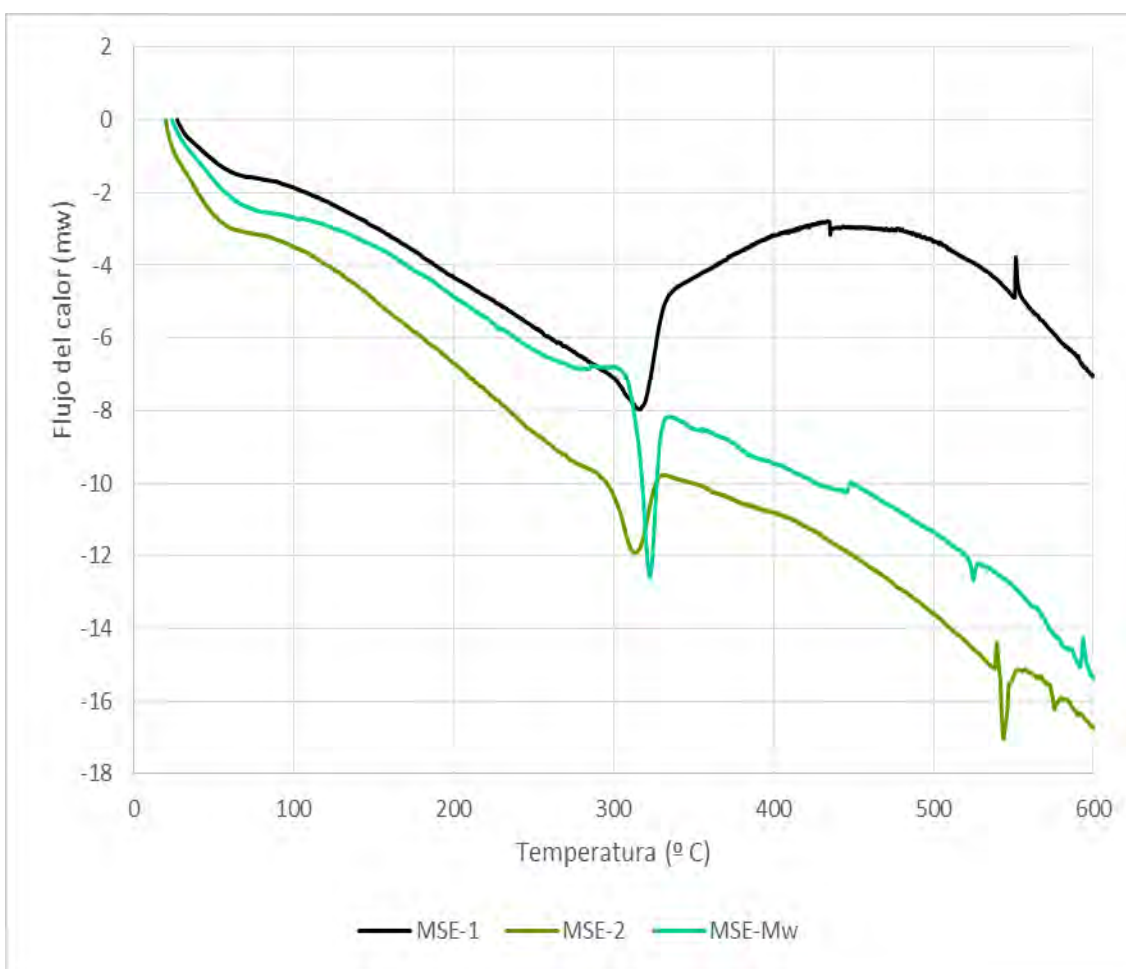


Figura 8. Termograma obtenido por DSC de los MSEs

## 6.24 Caracterización de los MSEs por SEM

La Figura 9 muestra las micrografías de MSE-1 y MSE-2. En ellas se observa un cambio radical en la morfología de los SE con respecto a la  $\beta$ -CD nativa. Tanto MSE-1 como MSE-2 se encuentran como estructuras amorfas y porosas con un rango de tamaño de 10 y 20  $\mu\text{m}$ , lo cual está en concordancia con lo reportado por Trotta y colaboradores (Trotta & Cavalli, 2009).

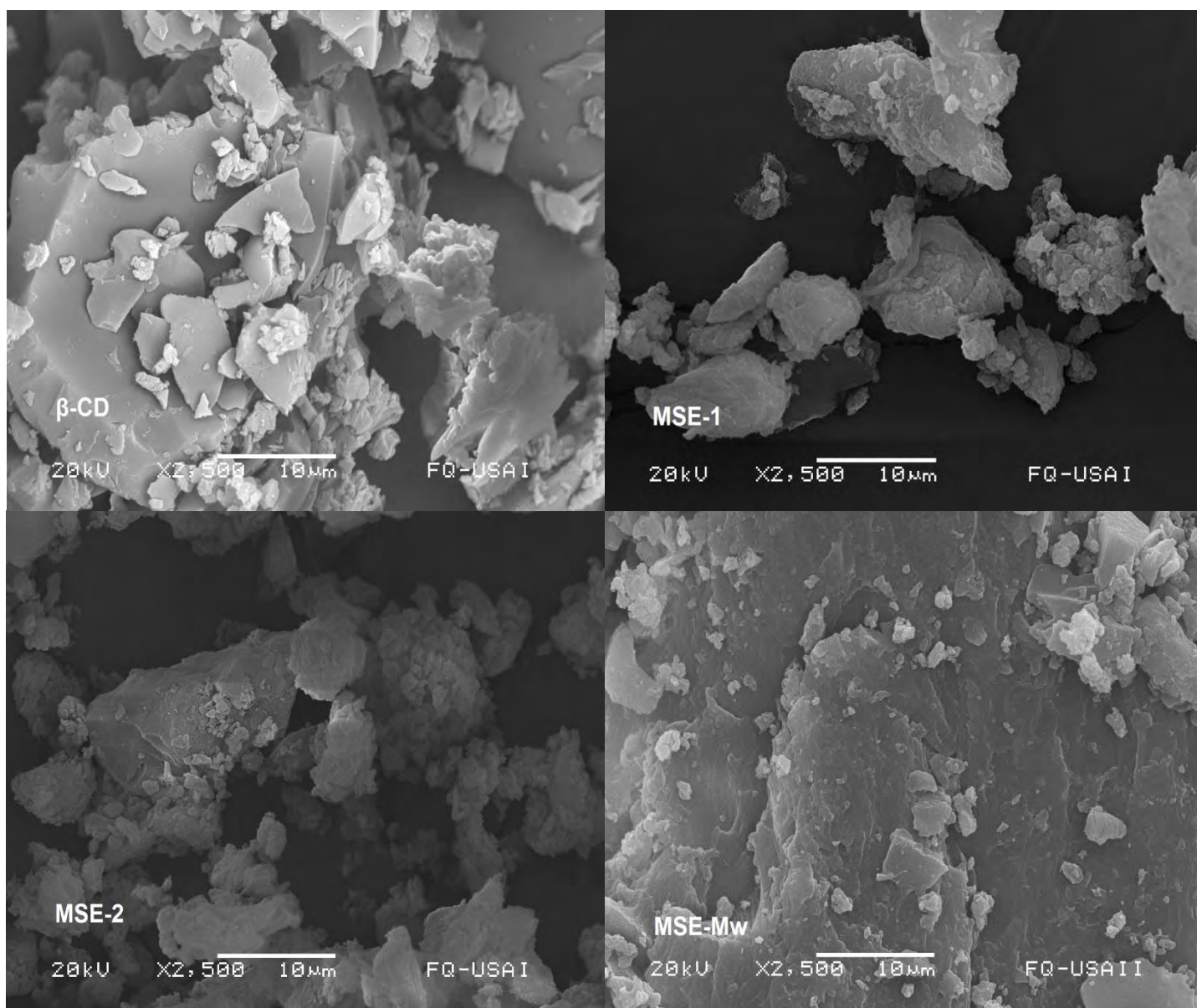


Figura 9. Micrografías obtenidas por SEM de:  $\beta$ -CD, MSE-1, MSE-2 y MSE-Mw

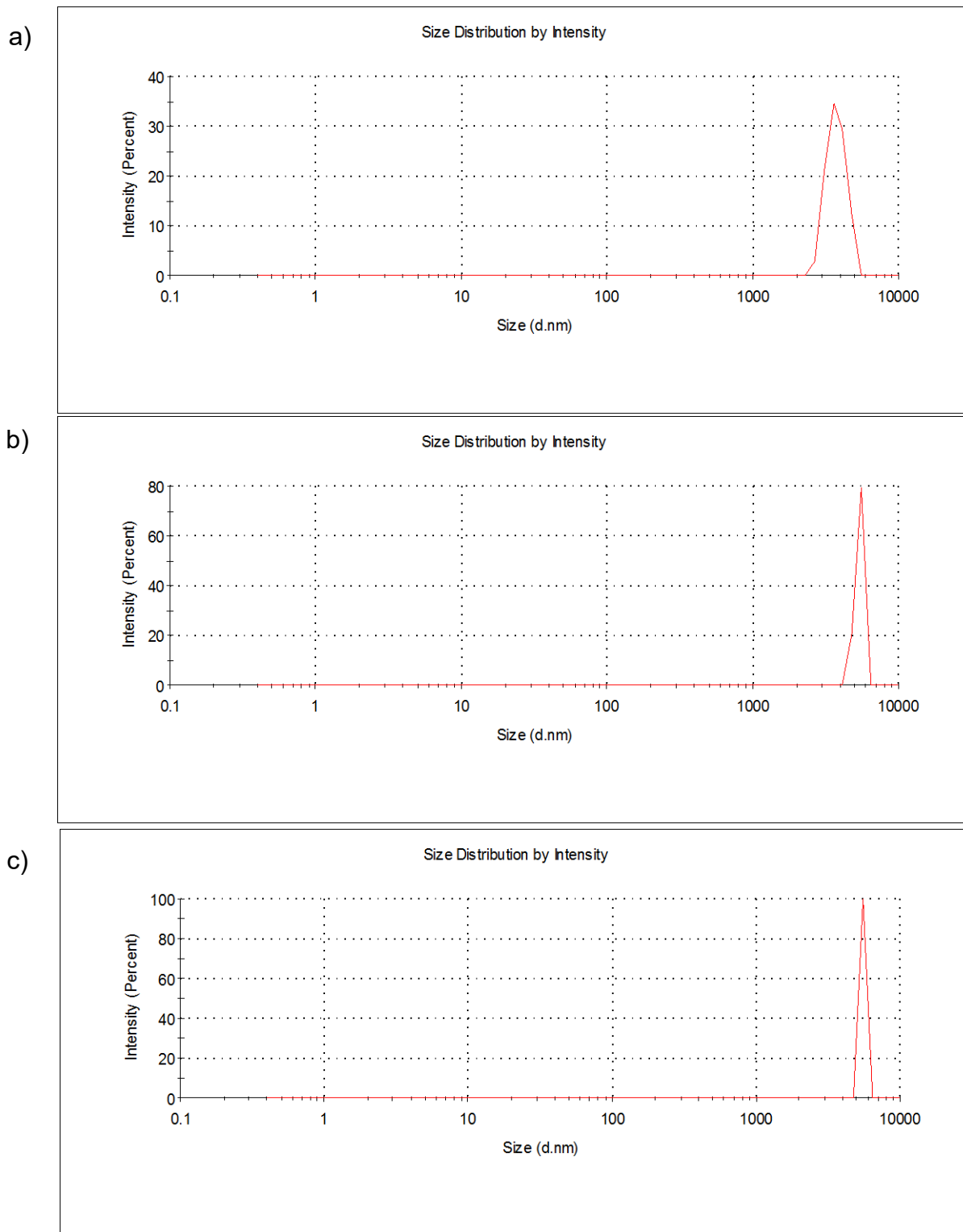
Con respecto a MSE-Mw, las micrografías muestran estructuras con una morfología distinta a MSE-1 y MSE-2. Asociando estas observaciones con los resultados de DRXP, el sistema MSE-Mw podría ser más rígido y ordenado.

### **6.25 Determinación del tamaño de partícula y el potencial Z de los MSEs**

Se pesaron 3 mg de cada MSE y se adicionaron 5 mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 10 mL. Se determinó el tamaño de partícula y el potencial Z en un Zetasizer. Se encontró que el tamaño de partícula estuvo en rango de 1 a 10  $\mu\text{m}$ , (Tiwari, Mahor, & Dixit, 2014).

La Figura 10 muestra la distribución del tamaño de partícula de cada MSE, en donde se observa que para los sistemas MSE-2 y MSE-Mw se tiene una distribución del tamaño de partícula estrecha, es decir, la mayor parte de las partículas están en un rango de tamaño de 5 a 7  $\mu\text{m}$ . Empero, para el sistema MSE-1, su distribución del tamaño de partícula es más amplio comparado con los dos MSEs anteriormente mencionados. Lo anterior se confirma con el valor de Índice de polidispersión (Pdl) del MSE-1 que fue de 0.791 lo que indica que hay varias poblaciones de partículas con distintos tamaños.

La Tabla 7 muestra el potencial Z de los MSEs. El potencial Z de los tres sistemas es negativo, esto se puede deber a que el grupo carbonilo tiene una carga parcial positiva por la deficiencia de electrones inducida por los tres enlaces que mantiene con los tres átomos de oxígeno, y por ende, se forme una capa negativa alrededor de la superficie del MSE en medio acuoso (Kaszuba, Corbett, Watson, & Jones, 2010). El potencial Z estuvo en un rango de -9 a -15 mV, sugiriendo que se podrían formular microsuspensiones con una buena estabilidad (Wu et al., 2011a).



**Figura 10. Distribución del tamaño de partícula de: a) MSE-1 b) MSE-2 c) MSE-Mw**



## 6.26 Determinación del rendimiento en la obtención de MSEs

De acuerdo a la Tabla 7, se puede observar que el rendimiento obtenido de los MSEs es bueno (con un rendimiento promedio del 50 %). No obstante, se podría mejorar si se aumenta la cantidad del agente reticulante en la reacción de polimerización de la  $\beta$ -CD (Osmani et al., 2015).

## 6.27 Determinación del volumen de poro (VP)

Por otra parte, se determinó el volumen de poro de los MSEs (Tabla 7) con la finalidad de evaluar la capacidad de los sistemas de atrapar agua, ya sea en las cavidades de la CD o en los espacios intersticiales. Los resultados revelan que el MSE-2 es el sistema con mayor capacidad de atrapar moléculas de agua. El MSE-2 se sintetizó en condiciones diluidas y por tanto, las redes tridimensionales son menos rígidas y con un tamaño de poro más grande, lo cual permite mayor atrapamiento de moléculas de agua.

**Tabla 7. Propiedades y características de cada MSE sintetizado**

MSE	Rendimiento (%)	Tamaño de partícula ( $\mu\text{m}$ )	PDI	Potencial Z (mV)	Volumen de poro (mL/g)
MSE-1	60	3.7	0.791	-14.8	1.6
MSE-2	53	5.6	0.137	-9.6	3.1
MSE-Mw	46	7.4	0.056	-14.1	2.1

### **6.3 Formación de complejos de inclusión de los MSEs con ABZ**

Aunque en muchos trabajos se reporta que la formación de CI con moléculas poco polares se da espontáneamente en un medio acuoso, la realidad es que la complejación es un proceso que depende de una serie de factores. Uno de los más importantes es la solubilidad del huésped y el anfitrión (Moriwaki et al., 2008). Tal es el caso del ABZ, un bencimidazol prácticamente insoluble en agua. Numerosas investigaciones han buscado resolver el problema de insolubilidad acuosa del ABZ por medio de la formación de CI. Sin embargo, el simple hecho de obtener CIs ABZ/ $\beta$ -CD ha sido un reto por sí mismo. Por ejemplo, en agua, la interacción del ABZ con la cavidad de la CD no sucede, es por esto que se ha investigado el uso de cosolventes o de polímeros para formar sistemas ternarios (Loftsson & Brewster, 2012). En este sentido, es de nuestro interés evaluar la capacidad de complejación de los SE con el derivado bencimidazólico.

La complejación de SE con ABZ se estudió en tres medios distintos y la CD nativa se utilizó como control. Los resultados de la formación de CI se presentan en la Tabla 8.

#### **6.31 Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs en agua**

Los CI ABZ/ $\beta$ -CD en agua, tal y como se esperaba, no se formaron (Pradines et al., 2014). Sin embargo, tampoco hubo interacción entre el fármaco y los MSEs. Cabe recordar que los MSEs son insolubles en agua, por lo cual, en estas condiciones la insolubilidad tanto de huésped como del anfitrión, están limitando la formación de CI. Debido a que este sistema no fue favorable para los fines perseguidos en este trabajo, se exploró la formación de CI en una mezcla de agua y ácido acético glacial al 30 % v/v con base en algunos trabajos que reportan la obtención de ABZ/ $\beta$ -CD bajo estas condiciones (M. Joao G Ferreira et al., 2015)

### **6.32 Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs en ácido acético glacial al 30 % v/v**

Esta estrategia se basa en la ionización del ABZ para promover su interacción con las moléculas de disolvente. La Tabla 8 muestra que este medio tampoco fue favorable para la formación de complejos con ninguno de los MSEs. En el caso de  $\beta$ -CD tampoco hubo complejación, contrario a lo previamente reportado (Moriwaki et al., 2008)

Cuando se incorpora el ABZ a una mezcla ácido acético-agua, se disuelve casi por completo debido a que está ionizado (pH del medio fue de 4 y el pKa del ABZ es de 6.9). Si el fármaco está ionizado, entonces está interactuando preferentemente con las moléculas de disolvente y por lo tanto, no habrá una fuerza motriz que lo dirija a las cavidades de la  $\beta$ -CD nativa o en forma de complejo.

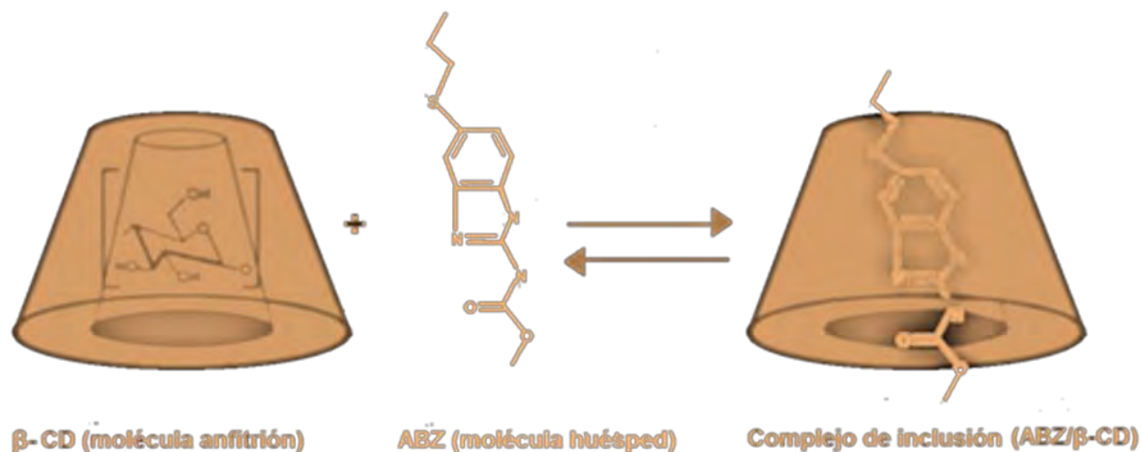
### **6.33 Formación de complejos de inclusión ABZ/MSEs en metanol**

Esta estrategia fue la misma que la descrita en la sección 4.32 pero sin ionizar al ABZ en el medio. En este caso, la eficiencia de complejación es mucho mayor en comparación con los dos métodos anteriores. Aquí, el efecto del cosolvente está permitiendo la interacción de ABZ con las cavidades. Específicamente en el CI ABZ/ $\beta$ -CD, tanto el huésped como el anfitrión se encuentran completamente disueltos en el medio, lo cual facilita las interacciones supramoleculares (Figura 11), pero solamente hasta cierto grado, ya que la eficiencia de complejación sigue siendo baja. Esta eficiencia aumentó en los tres MSE. Los MSEs son insolubles en metanol, sin embargo se comprueba nuevamente que el ABZ disuelto en este alcohol le permite interactuar con las CDs. Así mismo, el incremento en la complejación estaría demostrando el efecto cooperativo de las CDs cuando están próximas unas con otras. Por otro lado, puede ser también que el ABZ haya quedado atrapado en los espacios intersticiales de la red tridimensional de los polímeros (Alongi et al., 2010)., lo cual optimiza la eficiencia de los sistemas. Hay una pequeña diferencia

entre los MSEs sintetizados de manera convencional con respecto a MSE-Mw. Como se discutió en la sección 6.22, los estudios de DRXP indican que MSE-Mw tiene una estructura ligeramente más ordenada, lo cual limitaría las interacciones con una molécula huésped (Tejashri, Amrita, & Darshana, 2013) en comparación con MSE-1 y MSE-2. De cualquier manera, los resultados de complejación en todos los casos no demuestran una aplicación potencial para utilizarse como acarreadores de fármacos. Para saber si la deficiencia en la complejación se debía a el ABZ o a los SEs, se realizaron experimentos de MSEs con fenolftaleína (PHE), una molécula que se sabe tiene alta afinidad por la cavidad de la  $\beta$ -CD (Zarzycki & Lamparczyk, 1998).

**Tabla 8. Eficiencia de complejación de los MSEs con ABZ en los tres medios**

<b>MSE</b>	<b>Eficiencia de complejación del ABZ en agua (%).</b>	<b>Eficiencia de complejación del ABZ en ácido (%).</b>	<b>Eficiencia de complejación del ABZ en metanol (%).</b>
<b>MSE-1</b>	0.12	0.35	17
<b>MSE-2</b>	0.08	0.31	18
<b>MSE-Mw</b>	0.11	0.29	11
<b><math>\beta</math>-CD</b>	0.06	0.21	7



**Figura 11. Formación de complejos de inclusión ABZ/ $\beta$ -CD**

#### **6.4 Formación de complejos de inclusión de los MSEs con PHE**

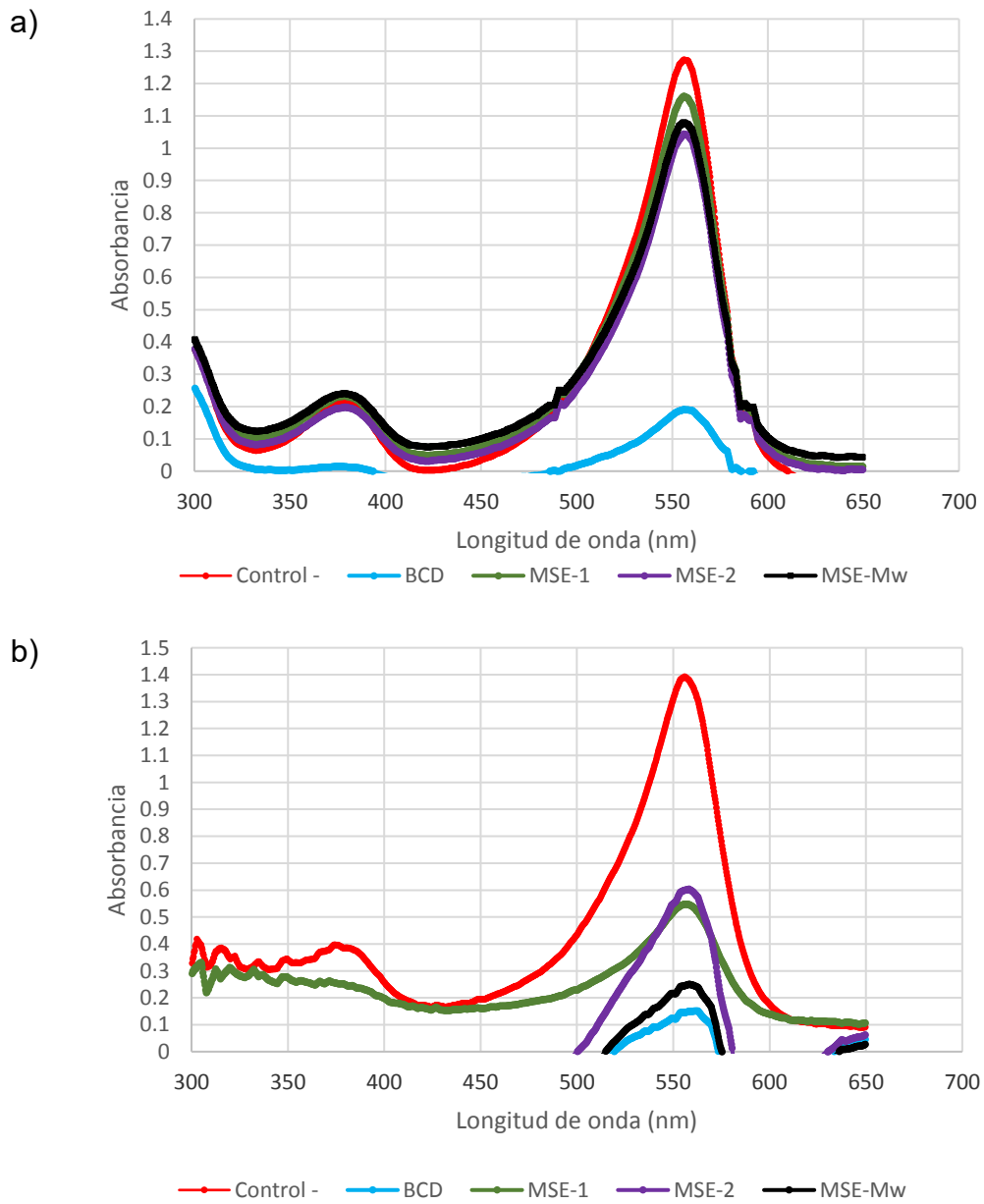
Al observar los resultados obtenidos con MSEs y ABZ también se consideró la posibilidad de que en los polímeros supramoleculares, la red tridimensional fuera tan compacta que las cavidades estuvieran impedidas para ser alcanzadas por un huésped. Por otro lado, la rigidez de la red podría evitar también la entrada y “acomodo” de la molécula huésped. La Tabla 9 muestra la eficiencia de complejación de los MSEs y la  $\beta$ -CD con la PHE. Estos resultados indican que sí, las estructuras son capaces de formar CI. Para investigar si PHE podía acomodarse en los espacios intersticiales o bien si había un tiempo en el que PHE “viajara” por ellos hasta encontrar la cavidad de la CD, se determinó la eficiencia de complejación con respecto al tiempo. No hay diferencia significativa en la eficiencia de complejación BCD-PHE a las 2 y a las 24 horas, sin embargo, en los MSEs el tiempo es un factor considerablemente importante ya que hay una gran diferencia en la complejación a las 2 h y a las 24 h (Tabla 9 y Figura 12). Esto indica que la molécula requiere de cierto tiempo para incluirse en la cavidad de la CD y/o difundir por los nanocanales en donde la molécula quede atrapada (Alongi, Poskovic, P.m., Frache,

& Malucelli, 2012). En este caso, en donde PHE es el huésped, se observa una mayor eficiencia en el sistema MSE-Mw.

Con estos resultados se puede inferir primero, que las cavidades de los MSEs sí están disponibles para formar CI; que hay espacios intersticiales en donde el fármaco difundirá hasta encontrar la cavidad o bien se quedará atrapado en ellos y segundo, que el éxito de los MSEs como acarreadores dependerá del fármaco huésped y de la metodología para preparar los complejos. La eficiencia de complejación fue mayor en la  $\beta$ -CD nativa, pero con un huésped adecuado y un protocolo de formación de CI específico para el sistema que se desee preparar, los MSEs tendrán capacidad para ser aplicados como acarreadores de fármacos.

**Tabla 9. Eficiencia de complejación PHE/MSEs y PHE/ $\beta$ -CD**

<b>Muestra</b>	<b>Eficiencia de complejación de la fenolftaleína en 2 h (%)</b>	<b>Eficiencia de complejación de la fenolftaleína en 24 h (%)</b>
<b>MSE-1</b>	9	61
<b>MSE-2</b>	18	57
<b>MSE-Mw</b>	15	82
<b>BCD</b>	85	89



**Figura 12. CI de la  $\beta$ -CD y MSE con PHE: a) transcurridas 2 horas y b) 24 horas**

## 6.5 Preparación de NSEs

Debido al reto que presenta formar CI con ABZ se procedió a preparar NSEs a partir de MSE para determinar si los nanosistemas podrían optimizar la eficiencia de complejación. La obtención de NSEs se realizó por US. El US es una herramienta que se ha utilizado para obtener nanopartículas por “bottom-up”, es decir, directamente en el seno de la reacción (sonoquímica). Sin embargo, en este trabajo se presenta por primera vez la formación de nanoestructuras de  $\beta$ -CD por medio de US como una técnica “top-down”. Para ello se requirió de un sonicador de sonda (Figura 2). Se evaluaron distintos parámetros de potencia y tiempo hasta que finalmente en las condiciones de 20 KHz, con 60 % de amplitud y 45 minutos en agua destilada se obtuvieron los sistemas deseados.

La Tabla 10 muestra el rendimiento del proceso en la formación de los NSEs, que fue alrededor del 50 % para todos los casos.

**Tabla 10. Eficiencia en la preparación de los NSEs**

<b>NSE</b>	<b>Eficiencia en la formación de los NSEs (%)</b>
<b>NSE-1</b>	60
<b>NSE-2</b>	53
<b>NSE-Mw</b>	46



## 6.6 Caracterización de los NSEs

Se determinó el tamaño de partícula y el potencial Z de los NSEs en suspensión. Posteriormente, por medio de liofilización, se obtuvieron los NSEs sólidos y se caracterizaron por DRXP e IR.

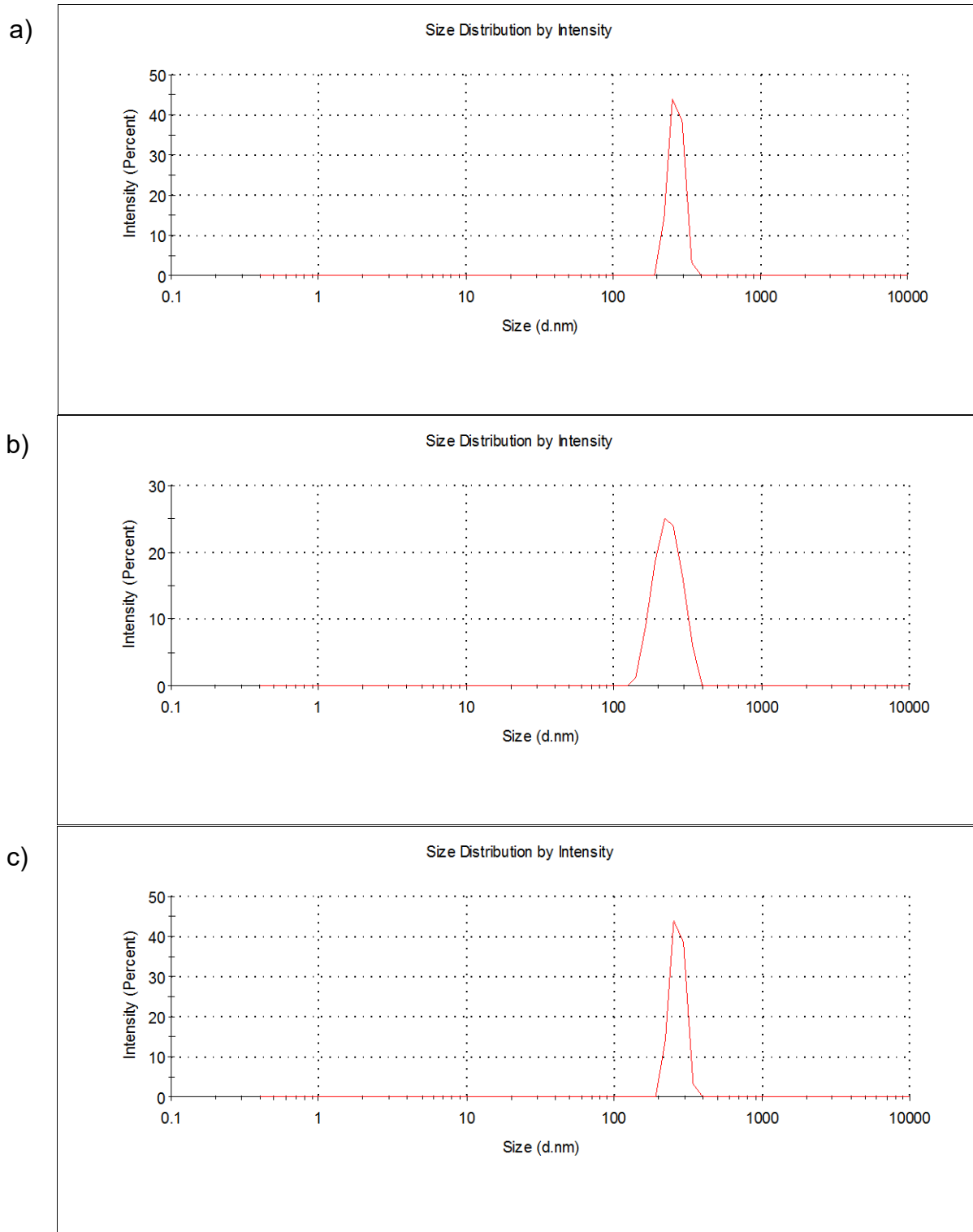
### 6.61 Determinación del tamaño de partícula y potencial Z de los NSEs

Una vez sintetizados los NSEs se determinó el tamaño de partícula y el potencial Z (Tabla 11). El rango de tamaño de los tres NSEs fue de 300 a 500 nm, similar a lo reportado previamente en la literatura (Shringirishi et al., 2014). Además, los valores de Pdl están alrededor de 0.5, lo que sugiere que se obtuvieron partículas de un tamaño homogéneo. Esto se ilustra en la Figura 13.

En los sistemas NSEs el potencial Z se encontró entre -16 y -21 mV (Tabla 11) en agua, lo cual indica que tenemos nanosuspensiones estables en todos los casos. Estos valores también están en concordancia con los reportados previamente (Trotta, Zanetti, & Cavalli, 2012).

**Tabla 11. Propiedades y características de cada NSE sintetizado**

NSE	Tamaño de partícula (nm)	Pdl	Potencial Z (mV)
NSE-1	463	0.597	-19.5
NSE-2	327	0.463	-16.1
NSE-Mw	375	0.559	-21.5



**Figura 13. Distribución del tamaño de partícula de: a) NSE-1 b) NSE-2 c) NSE-Mw**

## 6.62 Caracterización de los NSEs por IR

Los resultados obtenidos de los espectros de IR se muestran en la Figura 14. Las bandas características del grupo carbonilo de 1700 y 1300  $\text{cm}^{-1}$  se siguen observando en el espectro para los tres NSEs, lo que indica que no se rompieron los enlaces carbonato en el SE y que aún después de someterse a US, se mantiene su integridad. Aunque, de manera interesante la banda de 3500 a 3000  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a los grupos OH disminuye su intensidad.

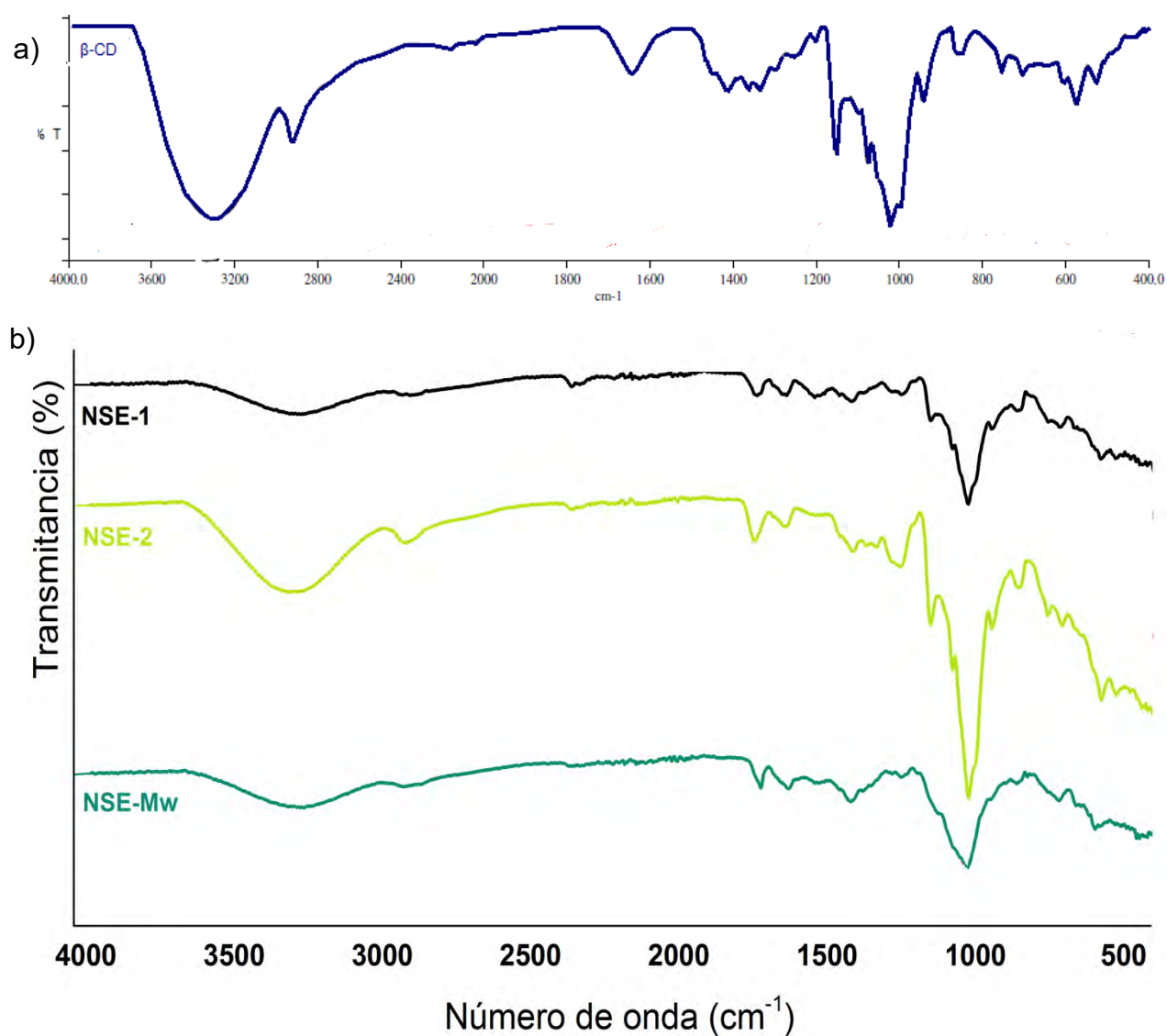
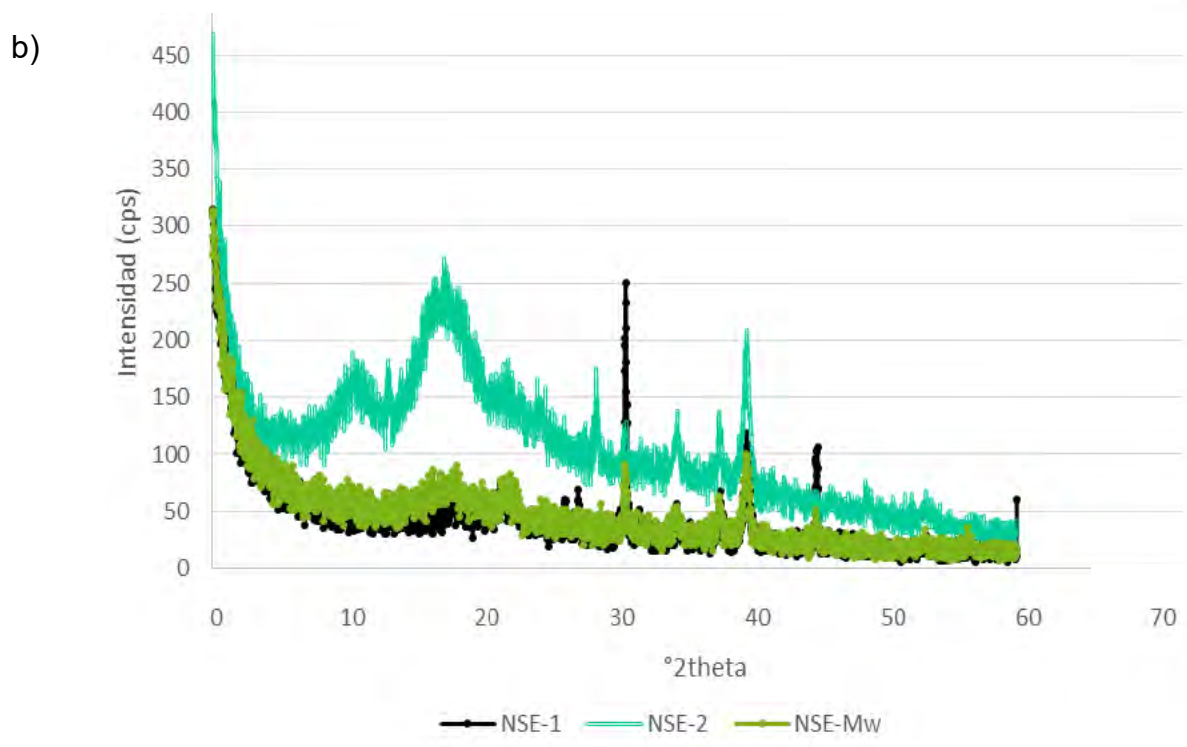
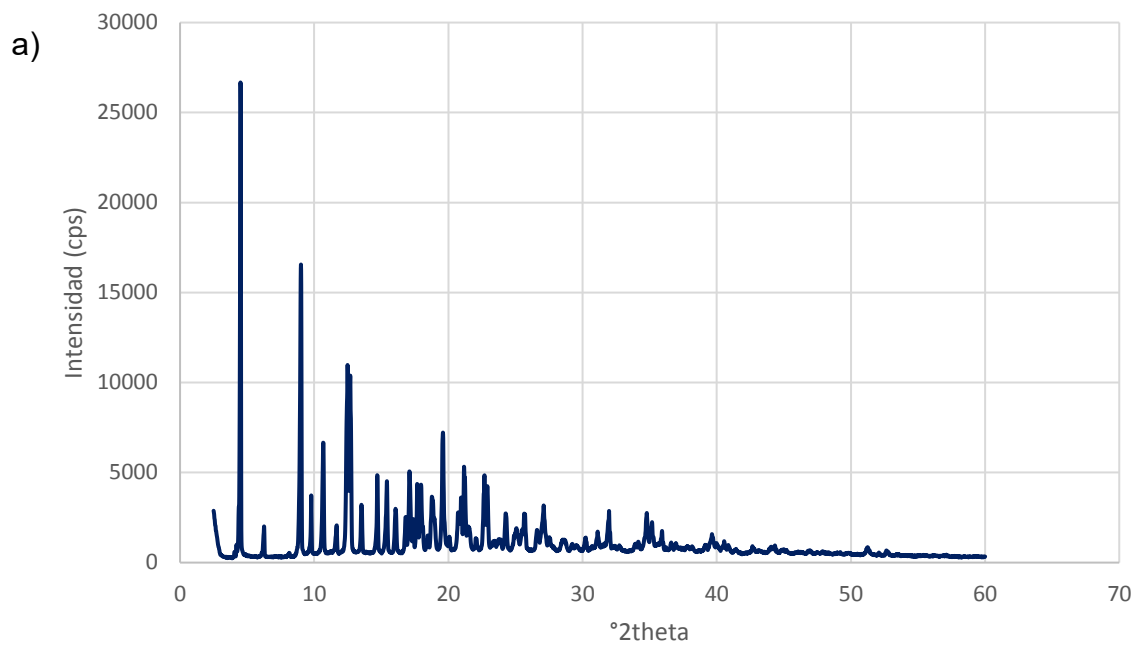


Figura 14. Espectro de infrarrojo de: a)  $\beta$ -CD y b) de los NSEs

### 6.63 Caracterización de los NSEs por DRXP

En la Figura 15 se puede observar que los patrones de difracción de los tres NSEs difieren totalmente tanto de  $\beta$ -CD como de los MSEs. De manera muy interesante, esto refleja que la disminución de tamaño de partícula indujo un proceso de amorfización, ya que los difractogramas, en particular de NSE-1 y NSE-2 presentan un comportamiento completamente amorfo. Ese proceso de amorfización puede ser debido a la alta presión a la que se exponen las estructuras en el US (Gibson et al., 2008), (Machon & Patrice, 2014), sin embargo, esto no interfiere con la integridad del sistema ya que no hay indicios de tener  $\beta$ -CD nativa (Trotta & Cavalli, 2009). Del mismo modo, el difractograma del NSE-Mw presenta los mismos patrones de difracción que el MSE-Mw pero con menor intensidad, indicando que el NSE-Mw también se amorfizó pero de alguna manera, este sistema sigue manteniendo cierto grado de orden en su estructura, al menos mayor que NSE-1 y NSE-2.



**Figura 15. Resultados de la difracción de rayos X de polvos de: a)  $\beta$ -CD y b) MSEs**

## 6.7 Formación de complejos de inclusión ABZ/NSE

Una vez caracterizados los NSEs, se procedió a la formación de CI con ABZ. La Tabla 12 muestra la eficiencia de complejación de ABZ/NSE la cual superó el 100% (Figura 16). De manera interesante se observa que el NSE-1 fue el sistema que capturó un mayor porcentaje de ABZ seguido de NSE-2 y finalmente NSE-Mw. Estos resultados permiten deducir que la eficiencia de complejación con ABZ depende de tres elementos: el tamaño de partícula, grado de reticulación y la cristalinidad del SE, factores que se pueden modificar variando las condiciones de síntesis o bien, reduciendo el tamaño del sistema.

Contundentemente, el factor determinante para obtener CI con ABZ fue el tamaño de partícula. En este sentido, debe ser el incremento del área superficial lo que optimiza la complejación. Cabe resaltar que la eficiencia mayor al 100% estaría indicando que se están formando complejos de no inclusión o asociaciones de ABZ con los sistemas por fuerzas electrostáticas, puentes de hidrógeno o fuerzas de Van der Waals (Swaminathan et al., 2010), y que las características del nanomaterial, además permiten la acumulación de ABZ en los espacios intersticiales.

El segundo factor puede ser el grado de reticulación de los SE, ya que hay una diferencia en la eficiencia de complejación al comparar el NSE-1 (sistemas entrecruzado en condiciones concentradas) con el NSE-2 (sistema entrecruzado en condiciones diluidas) en donde la red es menos compacta y posiblemente no permite retener a la molécula huésped .

El tercer factor es el grado de cristalinidad. Esta deducción se obtuvo comparando la eficiencia de complejación del NSE-1 (estructura completamente amorfa) con el NSE-Mw (estructura paracristalina), ya que fue con NSE-Mw en donde la complejación fue menor (que aun así, está cerca del 100%). En este caso la estructura está ligeramente más ordenada y esto podría interferir con la interacción ABZ con las cavidades de la  $\beta$ -CD y espacios intersticiales.

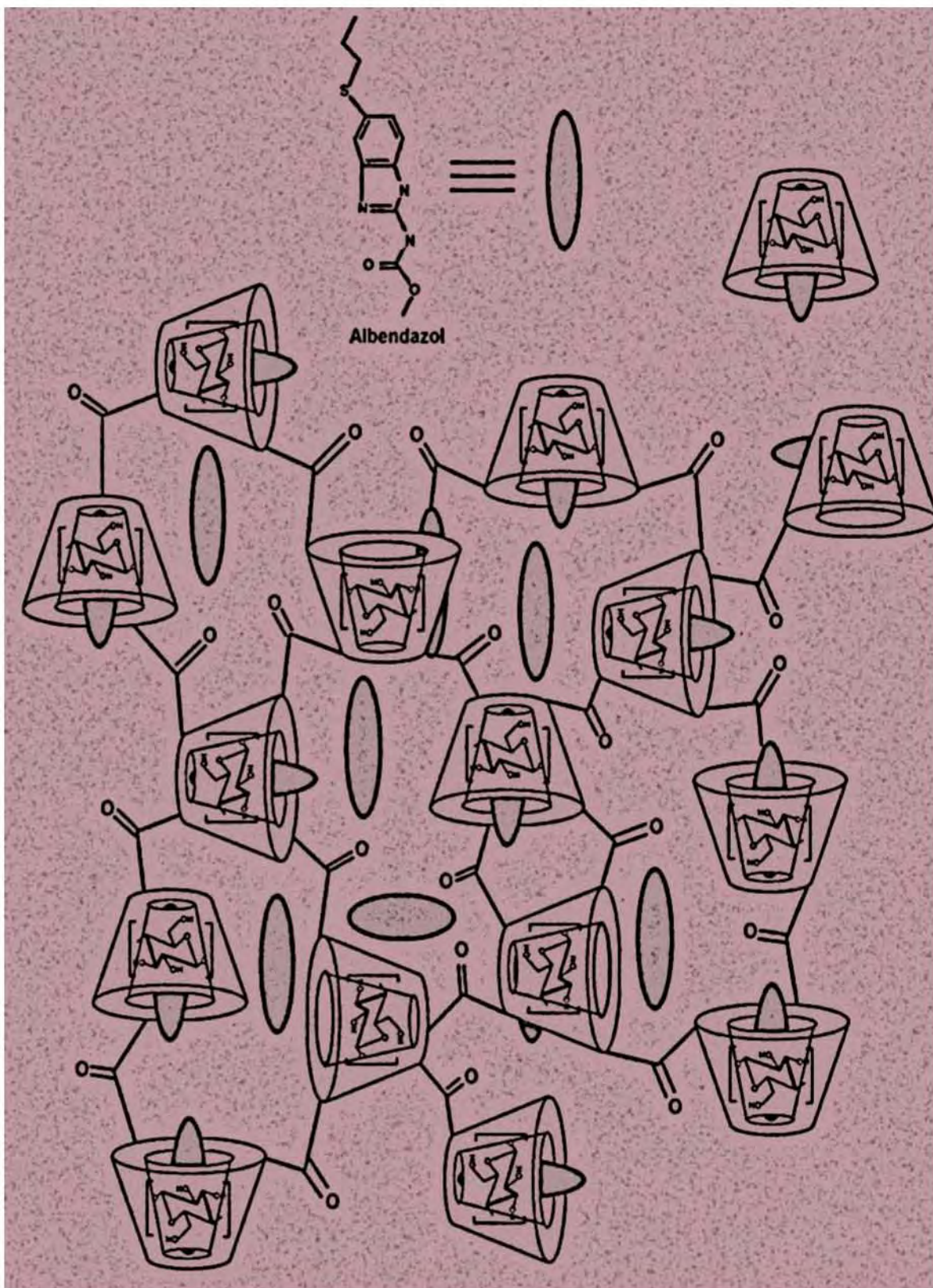


Figura 16. Formación de complejos ABZ/NSEs

**Tabla 12. Eficiencia de formación de complejos ABZ/NSEs**

<b>NSE</b>	<b>Eficiencia de la formación de complejos NSE/ABZ (%)</b>
<b>NSE-1</b>	189
<b>NSE-2</b>	143
<b>NSE-Mw</b>	94

### **6.8 Caracterización de complejos de inclusión NSE/ABZ**

Una vez liofilizados los complejos NSEs/ABZ se determinó en suspensión el tamaño de partícula y potencial Z.

#### **6.81 Determinación del tamaño de partícula y potencial Z del complejo ABZ/NSE**

En la Tabla 13 se muestran los resultados del tamaño de partícula y potencial Z de los complejos ABZ/NSE. El rango de tamaño de partícula de los NSEs vacíos fue de 350 a 450 nm, sin embargo, este se incrementa hasta en 300 nm más en los sistemas cargados. Esto corrobora que además de la formación de CI, hay una asociación muy favorable entre ABZ y los NSEs por medio de la formación de complejos de no inclusión ya sea por adsorción o interacciones débiles huésped-anfitrión. El potencial Z de los complejos NSEs/ABZ no varió mucho con respecto al obtenido por los NSEs vacíos, lo cual indica que las nanosuspensiones son estable.



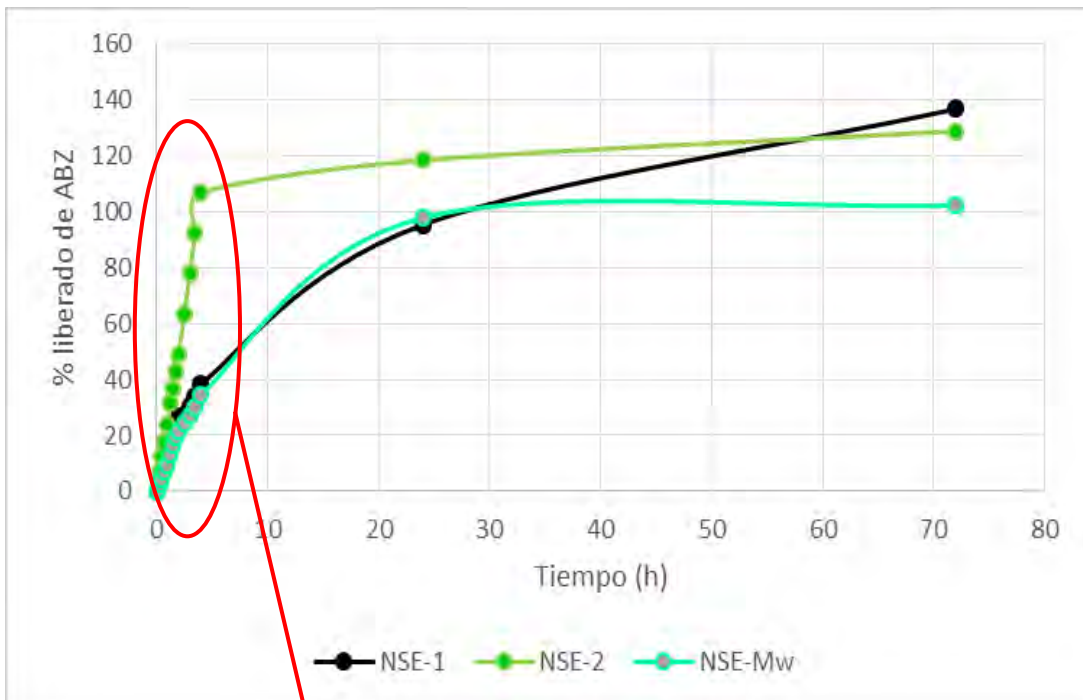
**Tabla 13. Caracterización del complejo ABZ/NSEs**

Complejo	Tamaño de partícula (nm)	Pdl	Potencial Z (mV)
NSE-1/ABZ	778	0.652	-18.3
NSE-2/ABZ	682	0.464	-13.6
NSE-Mw/ABZ	662	0.609	-23.5

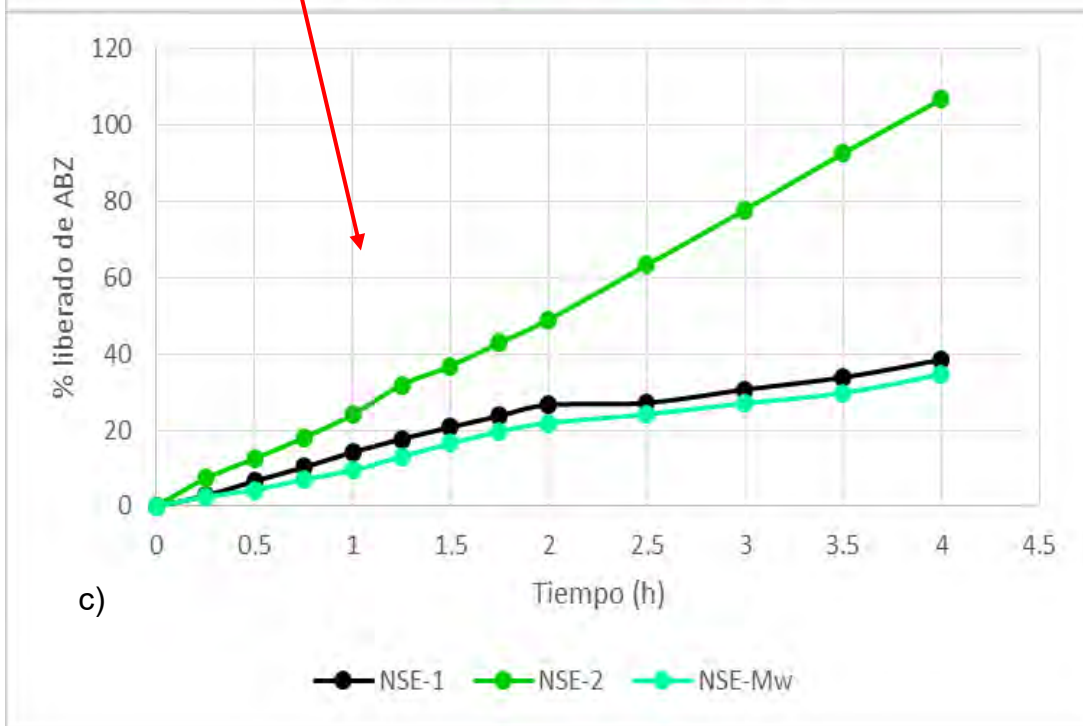
### **6.9 Perfil de liberación del ABZ de los complejos ABZ/NSEs.**

Los resultados obtenidos del perfil de liberación de ABZ se muestran en la Figura 17 y 18. Observando ambas gráficas se aprecia que la liberación del ABZ de los NSEs fue lenta y sin un efecto burst (Minelli et al., 2012). La liberación en PBS es más lenta con respecto al medio ácido (Shende et al., 2013). El 100 % de liberación del ABZ en el medio con fosfatos se alcanzó aproximadamente después de 24 horas y en el medio ácido se alcanzó después de 4 horas. Por otro lado, el NSE-2 fue el sistema que liberó más rápido al ABZ del complejo ABZ/NSE. Este sistema se sintetizó en condiciones de reacción diluidas y por tanto, se produjo un NSE con menor grado de reticulación y poros más grandes en comparación con los otros dos NSEs. EL grado de reticulación modula la liberación del fármaco de los complejos ya que entre menos compacta se encuentre la red hiperreticulada, el fármaco se liberará más rápido (Osmani et al., 2015).

a)



b)



c)

—●— NSE-1    —●— NSE-2    —●— NSE-Mw

Figura 17. Perfil de liberación del ABZ de los complejos ABZ/NSEs en medio con buffer de fosfatos pH 7,4. Donde: a) perfil de liberación a las 72 h y b) perfil de liberación amplificada en donde se libera la mayor parte de ABZ.

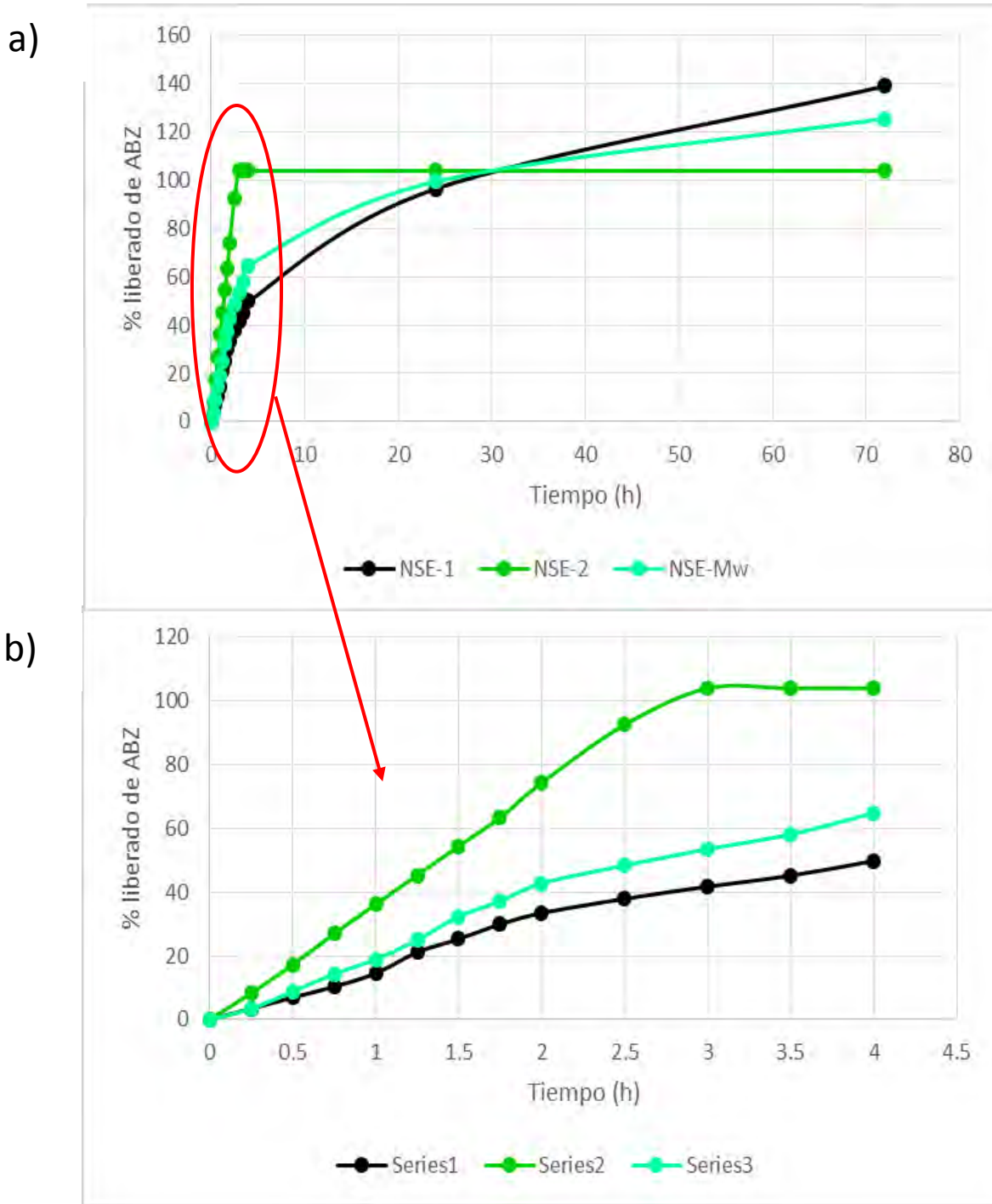


Figura 18. Perfil de liberación del ABZ de los complejos ABZ/NSEs en medio HCl 0.1 N. Donde: a) perfil de liberación a las 72 h y b) perfil de liberación ampliada en donde se libera la mayor parte de ABZ

## 7. Conclusiones

Se sintetizaron tres MSEs bajo condiciones de reacción concentradas, diluidas y en un reactor de microondas. Los sistemas se caracterizaron en estado sólido por IR, DRXP, SEM, DSC y se evaluó su capacidad de “atrapar moléculas” por medio de la formación de complejos de inclusión y de no inclusión. Se encontró que los MSEs pueden formar asociaciones supramoleculares con PHE, pero no con ABZ.

Dado el interés que representa trabajar con ABZ, se prepararon NSEs por medio de US, con la finalidad de determinar si el tamaño de partícula y el consiguiente aumento de área superficial optimizaba la eficiencia de complejación y asociación con el fármaco. Los NSEs en forma de nanosuspensión se “cargaron” con ABZ y sorprendentemente se encontró que la eficiencia de complejación fue igual o mayor 100%. Estos resultados indican que el tamaño de partícula, el grado de entrecruzamiento y la cristalinidad son factores fundamentales que determinarán la capacidad de todos nuestros SEs como acarreadores de fármacos. Finalmente, se obtuvo el perfil de liberación de ABZ de los NSEs. En PBS pH 7.4, el NSE-2 liberó más rápidamente a ABZ, mientras que el comportamiento de NSE-1 y NSE-Mw fue similar. Esta tendencia se conservó al realizar la cinética de liberación en medio ácido. Finalmente, con todos los hallazgos presentados en este trabajo se concluye que:

- Las características estructurales de los sistemas entrecruzados de BCD tipo esponja, ya sea en micro o nanoescala, se pueden modificar llevando a cabo la reacción de polimerización simplemente variando la cantidad de disolvente en el medio de reacción sin que se tenga que modificar la estequiometría.
- La síntesis asistida por microondas es una estrategia que permite obtener a los SEs en un tiempo considerablemente menor. En este tipo de síntesis, las características estructurales de los sistemas obtenidos fueron distintos y se podrán modular en función del fármaco y el perfil de liberación deseado.

- Se logró la disminución de tamaño de partícula por US como una estrategia “top-down”.
- La disminución del tamaño de partícula fue determinante para que los SEs pudieran “atrapar” ABZ.
- Los NSEs son potenciales sistemas para solubilizar, acarrear y liberar ABZ.

## 8. Bibliografia

- Alongi, J., Poskovic, M., Frache, A., & Trotta, F. (2010). *Novel flame retardants containing cyclodextrin nanosponges and phosphorus compounds to enhance EVA combustion properties. Polymer Degradation and Stability.*  
<http://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.06.030>
- Alongi, J., Poskovic, M., P.m., V., Frache, A., & Malucelli, G. (2012). Cyclodextrin nanosponges as novel green flame retardants for PP, LLDPE and PA6. *Carbohydrate Polymers*, 88(4), 1387–1394.  
<http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.02.038>
- Anandam, S., & Selvamuthukumar, S. (2014). Optimization of microwave-assisted synthesis of cyclodextrin nanosponges using response surface methodology, *Journal of Porous Materials*, 1015–1023. <http://doi.org/10.1007/s10934-014-9851-2>
- Cavalli, R., Trotta, F., & Tumiatti, W. (2006). Cyclodextrin-based nanosponges for drug delivery. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 56(1-2), 209–213. <http://doi.org/10.1007/s10847-006-9085-2>
- Chilajwar, S. V, Pednekar, P. P., Jadhav, K. R., Gupta, G. J. C., & Kadam, V. J. (2014). Cyclodextrin-based nanosponges: a propitious platform for enhancing drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 11, 111–120.  
<http://doi.org/10.1517/17425247.2014.865013>
- Del Valle, E. M. M. (2004). Cyclodextrins and their uses: A review. *Process Biochemistry*, 39(9), 1033–1046. [http://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](http://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9)
- Dodziuk, H. (2006). *Cyclodextrins and Their Complexes*, Wiley-VCH, Alemania, 31-67.
- Fallis, A. . (2006). Hidrogeles de ciclodextrinas co-reticulados e interpenetrados

para la liberación controlada de fármacos,. *Universidad de Santiago de Compostela*, 53(9), 1689–1699.

<http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Ferreira, M. J. G., García, A., Leonardi, D., Salomon, C. J., Lamas, M. C., & Nunes, T. G. (2015). <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N solid-state NMR studies on albendazole and cyclodextrin albendazole complexes. *Carbohydrate Polymers*, 123, 130–135. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.01.031>

Ferreira, M. J. G., García, A., Leonardi, D., Salomon, C. J., Lamas, M. C., & Nunes, T. G. (2015). <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N solid-state NMR studies on albendazole and cyclodextrin albendazole complexes. *Carbohydrate Polymers*, 123, 130–135. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.01.031>

Gibson, J. H., Hai, D., Yong, N., Farnood, R. R., & Seto, P. (2008). A Literature Review of Ultrasound Technology and Its Application in Wastewater Disinfection, *Water Quality Research Journal of Canada*, 43(1), 23–35.

Hielscher, T. (2007). Ultrasonic Production of Nano-Size Dispersions and Emulsions.

Isha, C., Nimrata, S., Rana, A., & Surbhi, G. (2012). Oral sustained release drug delivery system: an overview. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(5), 57–62. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:ORAL+SUSTAINED+RELEASE+DRUG+DELIVERY+SYSTEM+:+AN+OVERVIEW#0>

Kaszuba, M., Corbett, J., Watson, F. M., & Jones, A. (2010). High-concentration zeta potential measurements using light-scattering techniques. *Philosophical Transactions. Series A, Mathematical, Physical, and Engineering Sciences*, 368(1927), 4439–51. <http://doi.org/10.1098/rsta.2010.0175>

Khadka, P., Ro, J., Kim, H., Kim, I., Kim, J. T., Kim, H., ... Lee, J. (2014). Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(6),

304–316. <http://doi.org/10.1016/j.ajps.2014.05.005>

Khan, N. A., & Jung, S. H. (2015). Synthesis of metal-organic frameworks ( MOFs ) with microwave or ultrasound : Rapid reaction , phase-selectivity , and size reduction. *Coordination Chemistry Reviews*, 285, 11–23.

<http://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.10.008>

Kurkov, S. V., & Loftsson, T. (2013). Cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics*, 453(1), 167–180. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.055>

Lembo, D., Swaminathan, S., Donalisio, M., Civra, A., Pastero, L., Aquilano, D., ... Cavalli, R. (2013). Encapsulation of Acyclovir in new carboxylated cyclodextrin-based nanosponges improves the agent's antiviral efficacy. *International Journal of Pharmaceutics*, 443(1-2), 262–272.

<http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.12.031>

Liu, Y., Wang, X. Q., Ren, W. X., Chen, Y. L., Yu, Y., Zhang, J. K., ... Zhang, X. N. (2013). Novel albendazole-chitosan nanoparticles for intestinal absorption enhancement and hepatic targeting improvement in rats. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 101 B(6), 998–1005. <http://doi.org/10.1002/jbm.b.32908>

Loftsson, T., & Brewster, M. E. (2012). Cyclodextrins as functional excipients: Methods to enhance complexation efficiency. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101(9), 3019–3032. <http://doi.org/10.1002/jps.23077>

Loftsson, T., & Duchêne, D. (2007). Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 329(1-2), 1–11. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.10.044>

Machon, D., & Patrice, M. (2014). a thermodynamic panorama †. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17, 903–910.

<http://doi.org/10.1039/C4CP04633A>

Makela, M., Korpela, T., & Laakso, S. (1987). Colorimetric determination of  $\beta$ -



- cyclodextrin: two assay modifications based on molecular complexation of phenolphthalein. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 14(2), 85–92. [http://doi.org/10.1016/0165-022X\(87\)90043-1](http://doi.org/10.1016/0165-022X(87)90043-1)
- Mathapa, B. G., & Paunov, V. N. (2013). Nanoporous cyclodextrin-based copolymeric microspheres for encapsulation of active components. *Journal of Materials Chemistry B*, 1, 3588. <http://doi.org/10.1039/c3tb20481b>
- Minelli, R., Cavalli, R., Ellis, L., Pettazzoni, P., Trotta, F., Ciamporcerio, E., ... Pili, R. (2012). Nanosponge-encapsulated camptothecin exerts anti-tumor activity in human prostate cancer cells. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 47(4), 686–694. <http://doi.org/10.1016/j.ejps.2012.08.003>
- Moriwaki, C., Costa, G. L., Ferracini, C. N., De Moraes, F. F., Zanin, G. M., Pineda, E. A. G., & Matioli, G. (2008). Enhancement of solubility of albendazole by complexation with  $\beta$ -cyclodextrin. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 25(2), 255–267. <http://doi.org/10.1590/S0104-66322008000200005>
- Moya-Ortega, M. D., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., & Loftsson, T. (2012). Cyclodextrin-based nanogels for pharmaceutical and biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 428(1-2), 152–163. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.02.038>
- Mura, P. (2014). Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in aqueous solution: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 101, 238–250. <http://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.02.022>
- Mura, P. (2015). Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 113, 226–238. <http://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.01.058>
- Osmani, R. A. M., Bhosale, R. R., Hani, U., Vaghela, R., & Kulkarni, P. K. (2015). Cyclodextrin Based Nanosponges : Impending Carters in Drug Delivery and Nanotherapeutics, *Current Drug Therapy*, 10, 3–19.

- Otero-Espinar, F. J., Torres-Labandeira, J. J., Alvarez-Lorenzo, C., & Blanco-Méndez, J. (2010). Cyclodextrins in drug delivery systems. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 20(4), 289–301.  
[http://doi.org/10.1016/S1773-2247\(10\)50046-7](http://doi.org/10.1016/S1773-2247(10)50046-7)
- Pessine, F., Calderini, A., & Alexandrino, G. (1998). Review: Cyclodextrin Inclusion Complexes Probed by NMR Techniques, *Magnetic Resonance Spectroscopy*, 237-263.  
[http://www.researchgate.net/publication/221926769\\_Review\\_Cyclodextrin\\_Inclusion\\_Complexes\\_Probed\\_by\\_NMR\\_Techniques/file/5046352b19a91d1956.pdf](http://www.researchgate.net/publication/221926769_Review_Cyclodextrin_Inclusion_Complexes_Probed_by_NMR_Techniques/file/5046352b19a91d1956.pdf)
- Pradines, B., Gallard, J. F., Iorga, B. I., Gueutin, C., Loiseau, P. M., Ponchel, G., & Bouchemal, K. (2014). Investigation of the complexation of albendazole with cyclodextrins for the design of new antiparasitic formulations. *Carbohydrate Research*, 398, 50–55. <http://doi.org/10.1016/j.carres.2014.06.008>
- Rashid, M., Kaur, V., & Singh, S. (2014). Microparticles as controlled drug delivery carrier for the treatment of ulcerative colitis : A brief review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24, 458-472. <http://doi.org/10.1016/j.jsps.2014.10.001>
- Safari, J., & Zarnegar, Z. (2014). Advanced drug delivery systems : Nanotechnology of health design A review. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(2), 85–99. <http://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.12.009>
- Shende, P., Deshmukh, K., Trotta, F., & Caldera, F. (2013). Novel cyclodextrin nanosponges for delivery of calcium in hyperphosphatemia. *International Journal of Pharmaceutics*, 456(1), 95–100.  
<http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.08.012>
- Shringirishi, M., Prajapati, S. K., Mahor, A., Alok, S., Yadav, P., & Verma, A. (2014). Nanosponges: A potential nanocarrier for novel drug delivery-a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(S2), S519–S526.  
[http://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60667-8](http://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60667-8)

- Silva, J., Fernandes, A. R., & Baptista, P. V. (2014). Application of Nanotechnology in Drug Delivery. *Application of Nanotechnology in Drug Delivery*, 14–17. <http://doi.org/10.5772/57028>
- Suri, S. S., Fenniri, H., & Singh, B. (2007). Nanotechnology-based drug delivery systems, *Journal of Occupational Medicine*, 6, 1–6. <http://doi.org/10.1186/1745-6673-2-16>
- Suslick, K. S., Casadonte, D. J., Green, M. L. H., & Thompson, M. E. (1987). Effects of high intensity ultrasound on inorganic solids. *Ultrasonics*, 25(1), 56–59. [http://doi.org/10.1016/0041-624X\(87\)90013-8](http://doi.org/10.1016/0041-624X(87)90013-8)
- Swaminathan, S., Pastero, L., Serpe, L., Trotta, F., Vavia, P., Aquilano, D., ... Cavalli, R. (2010). Cyclodextrin-based nanosponges encapsulating camptothecin: Physicochemical characterization, stability and cytotoxicity. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 74(2), 193–201. <http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2009.11.003>
- Tejashri, G., Amrita, B., & Darshana, J. (2013). Cyclodextrin based nanosponges for pharmaceutical use: a review. *Acta Pharmaceutica (Zagreb, Croatia)*, 63, 335–58. <http://doi.org/10.2478/acph-2013-0021>
- Tiwari, H., Mahor, A., & Dixit, N. D. (2014). A review on nanosponges, *International Journal of PharmaTech Research*, 3(11), 219–233.
- Trotta, F., & Cavalli, R. (2009). Characterization and Applications of New Hyper-Cross-Linked Cyclodextrins. *Composite Interfaces*, 16(1), 39–48. <http://doi.org/10.1163/156855408X379388>
- Trotta, F., Zanetti, M., & Cavalli, R. (2012). Cyclodextrin-based nanosponges as drug carriers. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 8, 2091–2099. <http://doi.org/10.3762/bjoc.8.235>
- Verma, S., Kumar, S., Gokhale, R., & Burgess, D. J. (2011). Physical stability of nanosuspensions: Investigation of the role of stabilizers on Ostwald ripening.

*International Journal of Pharmaceutics*, 406(1-2), 145–152.

<http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.12.027>

Veszélka, S., Bocsik, A., Walter, F. R., Hantosi, D., & Deli, M. A. (2015). Blood-brain barrier co-culture models to study nanoparticle penetration : focus on co-culture systems, *Acta Biologica Szegediensis* 59(Deli 2011), 157–168.

Vishwakarma, A., Nikam, P., Mogal, R., & Talele, S. (2014). Review on nanosponges: A benefication for novel drug delivery. *International Journal of PharmTech Research*, 6(1), 11–20.

Wajs, E., Caldera, F., Trotta, F., & Fragosó, A. (2014). Peroxidase-encapsulated cyclodextrin nanosponge immunoconjugates as a signal enhancement tool in optical and electrochemical assays. *The Analyst*, 139(2), 375–80.

<http://doi.org/10.1039/c3an01643a>

Wu, L., Zhang, J., & Watanabe, W. (2011a). Physical and chemical stability of drug nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(6), 456–469.

<http://doi.org/10.1016/j.addr.2011.02.001>

Wu, L., Zhang, J., & Watanabe, W. (2011b). Physical and chemical stability of drug nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(6), 456–469.

<http://doi.org/10.1016/j.addr.2011.02.001>

Yun, Y. H., Lee, B. K., & Park, K. (2015). Controlled Drug Delivery: Historical perspective for the next generation. *Journal of Controlled Release*, 219, 2–7.

<http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.10.005>

Zarzycki, P. K., & Lamparczyk, H. (1998). The equilibrium constant of  $\beta$ -cyclodextrin-phenolphthalein complex; Influence of temperature and tetrahydrofuran addition. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 18(1-2), 165–170. [http://doi.org/10.1016/S0731-7085\(98\)00150-2](http://doi.org/10.1016/S0731-7085(98)00150-2)

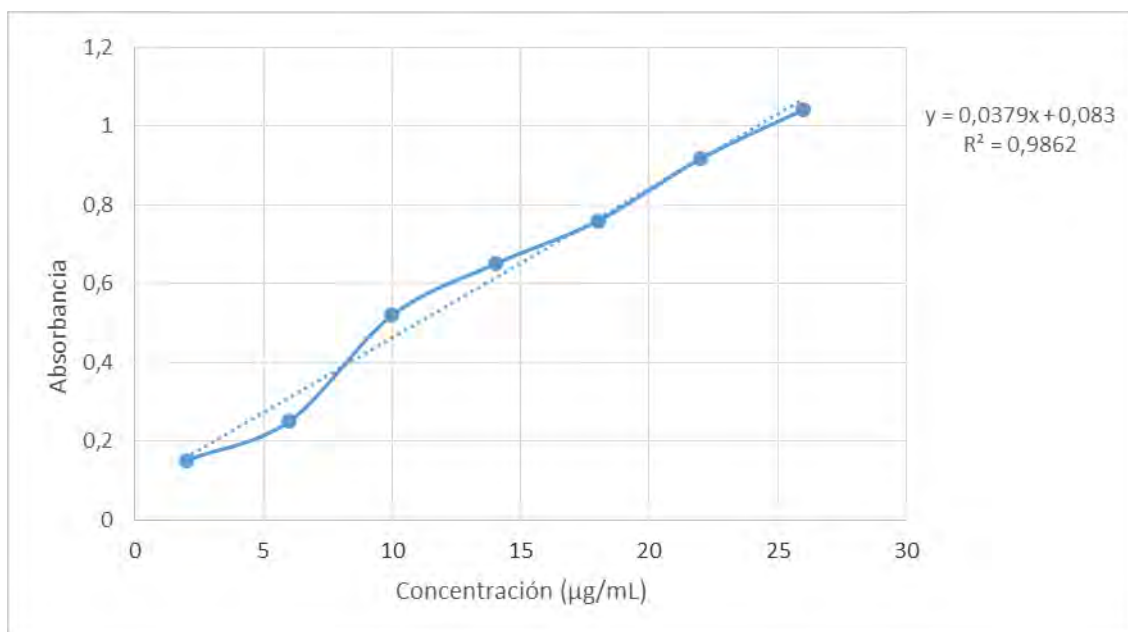
## 9. Apéndices

### 9.1 Apéndice I

Los resultados que se muestran en la Tabla A1 sugieren que hubo reproducibilidad en las mediciones para la construcción de la curva patrón del ABZ porque el porcentaje del coeficiente de variación fue menor al 10 %. Por otro lado, la Figura A1 muestra la regresión lineal de la curva patrón del ABZ en donde se obtuvo una linealidad buena por su coeficiente de correlación cercano a 1.

**Tabla A1. Curvas patrón del ABZ en agua con ácido acético al 30 % v/v a 295 nm.**

Concentraciones (µg/mL)	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio	Desviación estándar	CV (%)
2	0.152	0.142	0.162	0.152	0.010	6.578
6	0.248	0.239	0.248	0.245	0.005	2.121
10	0.514	0.536	0.51	0.520	0.014	2.692
14	0.654	0.648	0.647	0.649	0.003	0.582
18	0.736	0.728	0.748	0.733	0.010	1.365
22	0.943	0.891	0.917	0.917	0.026	2.835
26	1.069	1.02	1.036	1.041	0.024	2.398

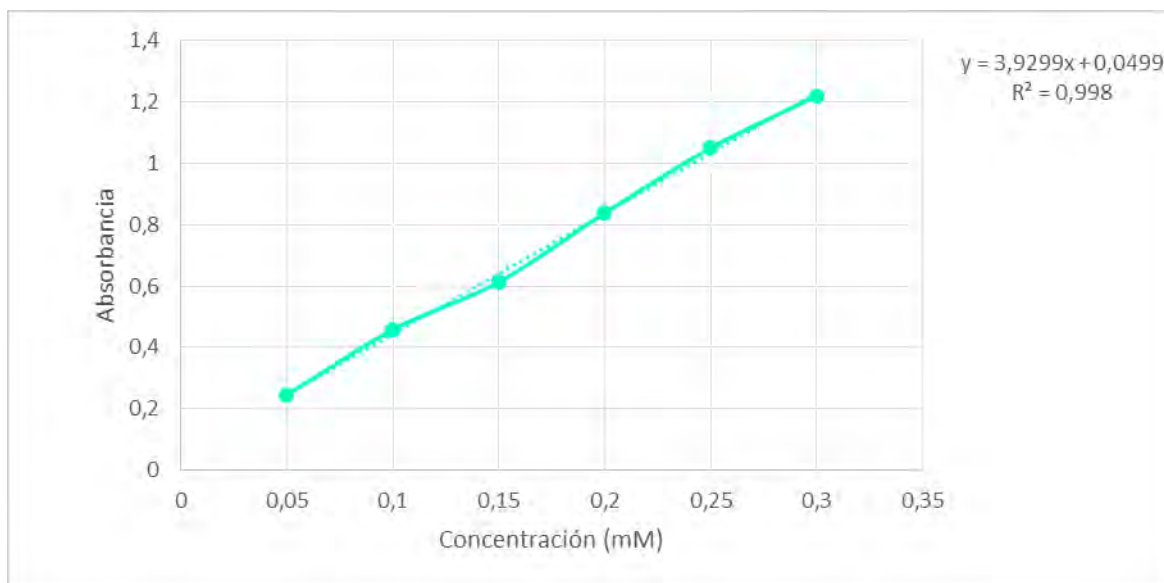


**Figura A1. Regresión lineal de la curva patrón del ABZ**

Los resultados de la curva patrón se observan en la Tabla A2, estos resultados indican que hubo reproducibilidad en las mediciones de cada concentración de la PHE ya que el porcentaje del coeficiente de variación de las diferentes concentraciones fue menor al 10 %. Además, la gráfica 5 muestra la regresión lineal de la curva patrón promedio de ABZ, en donde se observa que hubo linealidad en la construcción de la curva patrón ya que el coeficiente de correlación  $r^2$  dio 0.99 (cercano a 1).

**Tabla A2. Curvas patrón de la PHE en etanol a 554 nm**

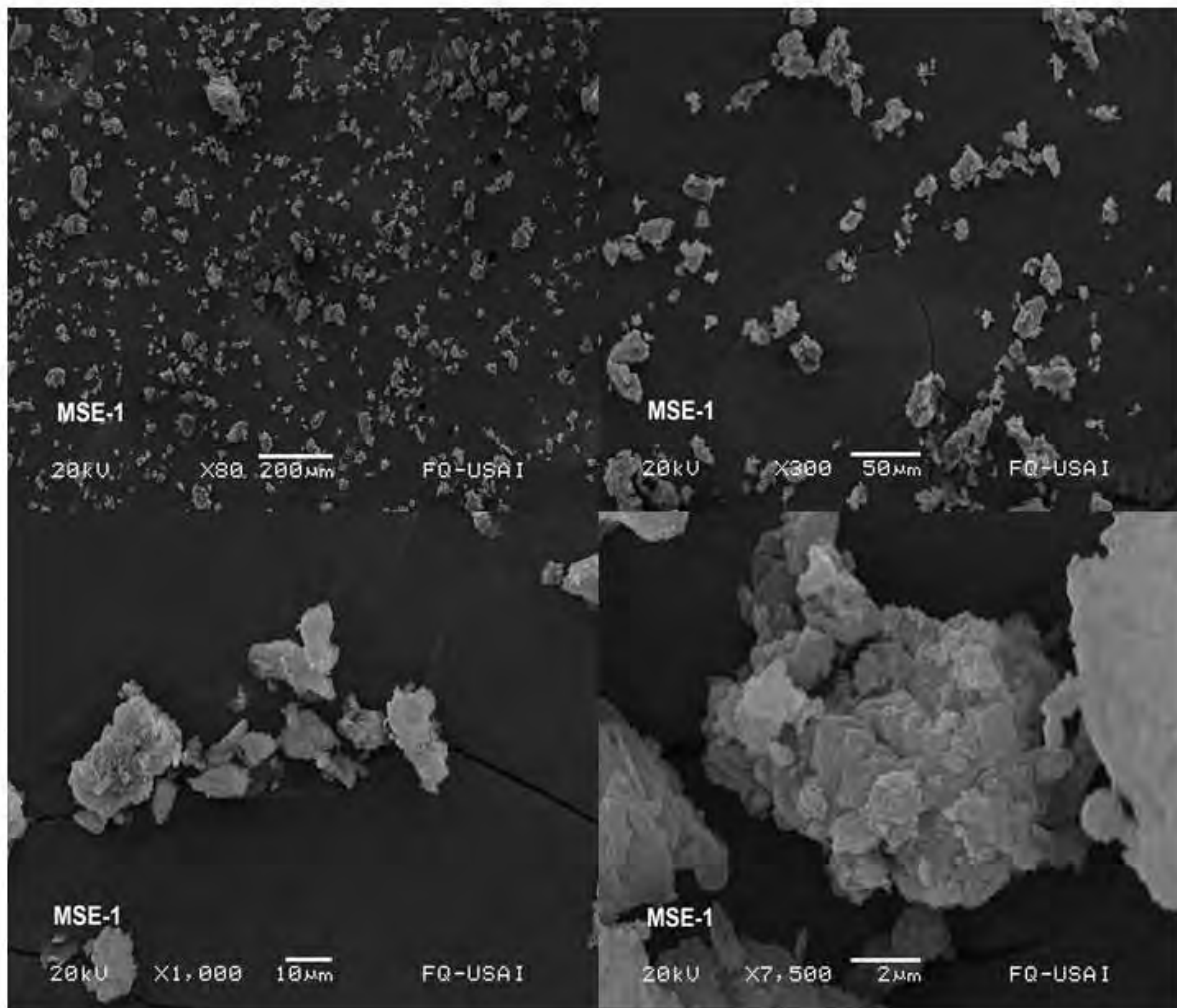
Concentración (mM)	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio	Desviación Estándar	CV (%)
0.05	0.228	0.264	0.244	0.245	0.018	7.352
0.1	0.495	0.446	0.433	0.458	0.032	7.138
0.15	0.598	0.619	0.623	0.613	0.013	2.189
0.2	0.869	0.818	0.828	0.838	0.027	3.223
0.25	1.042	1.044	1.067	1.051	0.013	1.321
0.3	1.258	1.168	1.234	1.220	0.046	3.820

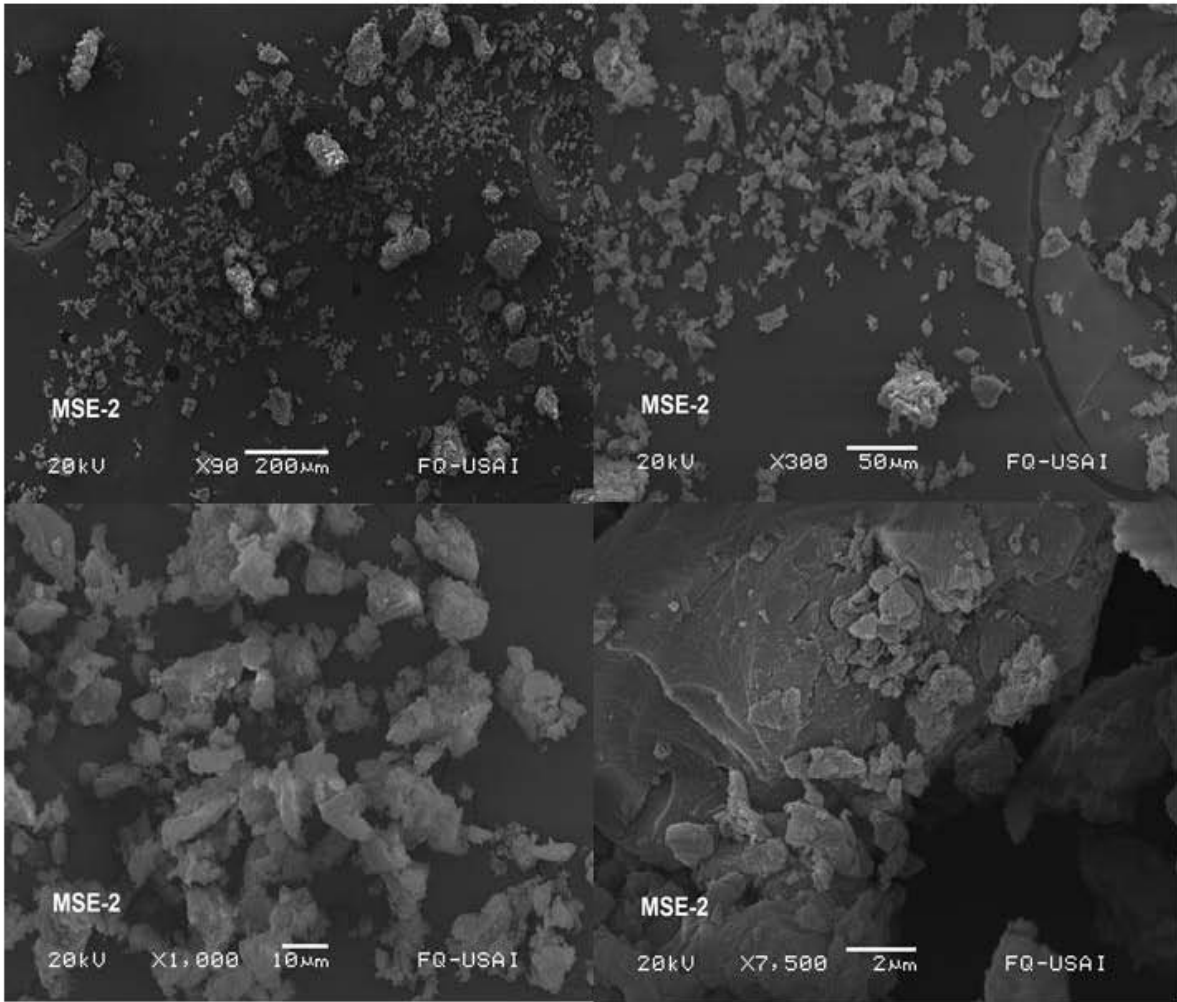


**Figura A2. Regresión lineal de la curva patrón de PHE**

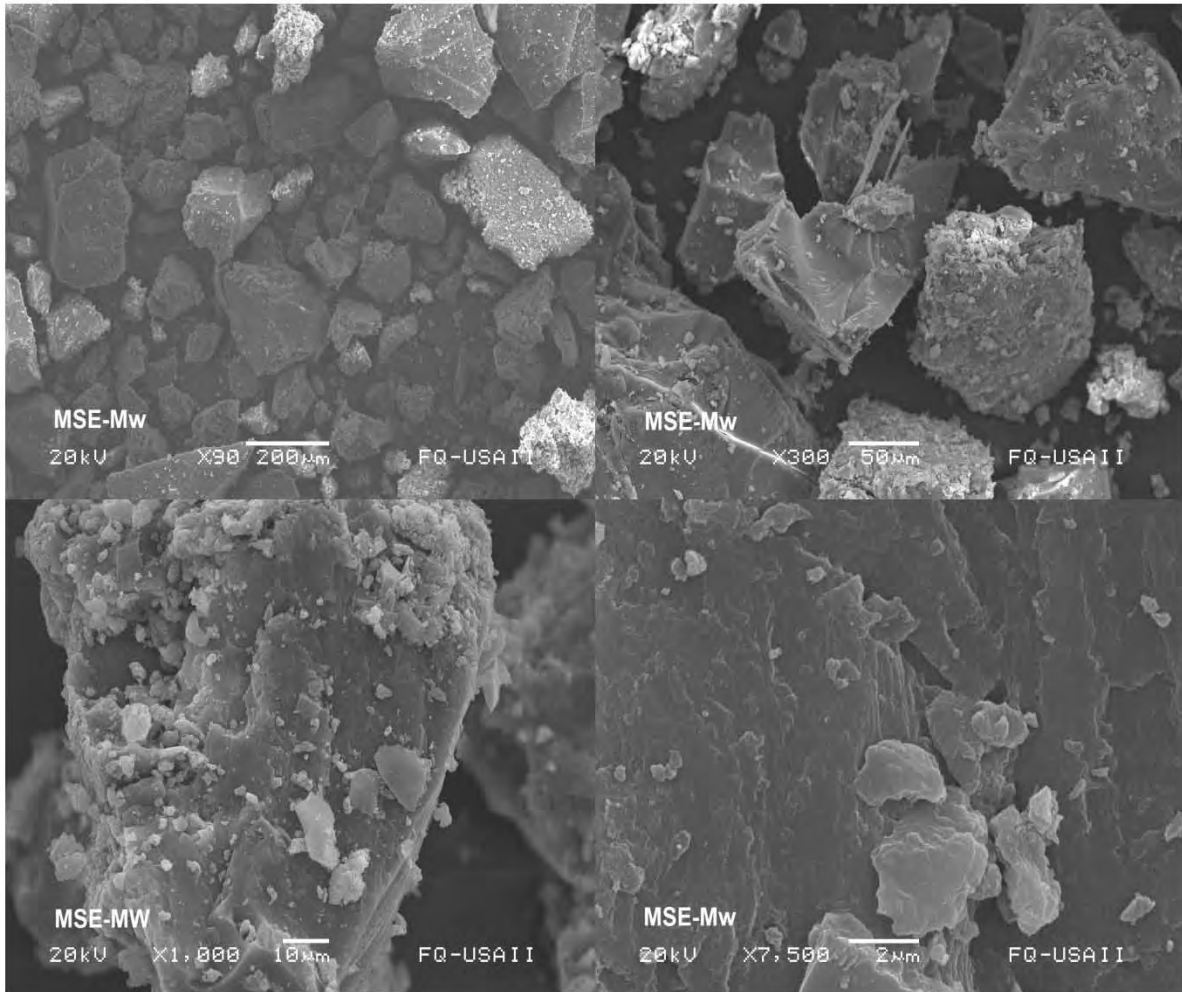
## 9.12 Apéndice II

Micrografías de los SMEs obtenidas por SEM con ampliaciones de: X90, X300, X1000, X2500 y X7500.







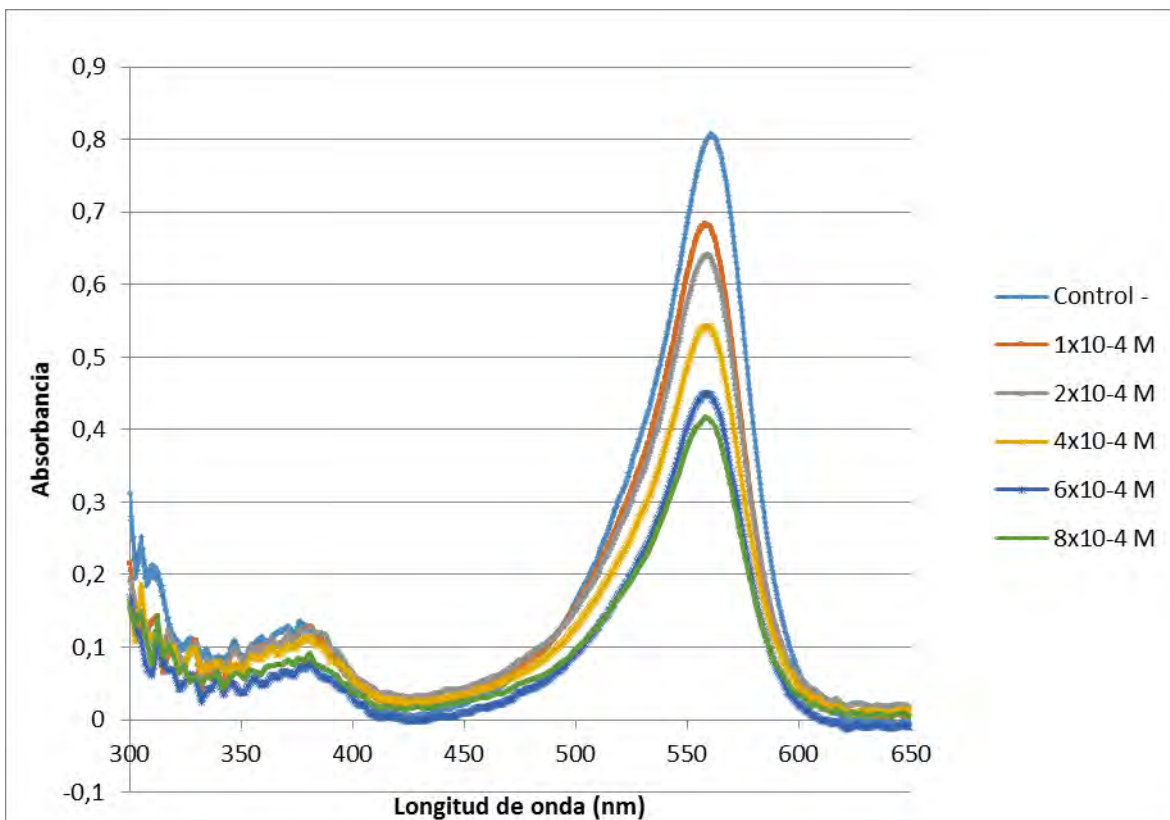


### 9.13 Apéndice III

#### Formación de complejos de inclusión de la $\beta$ -CD con fenolftaleína

Para cuantificar la fenolftaleína en una muestra se hizo una curva patrón de fenolftaleína en etanol con las siguientes concentraciones: Se formaron complejos de inclusión de la  $\beta$ -CD en diferentes proporciones con la fenolftaleína para determinar la cantidad adecuada de  $\beta$ -CD para acomplejar la fenolftaleína. Se preparó una solución stock de fenolftaleína  $2.5 \times 10^{-4}$  M y se tomaron alícuotas de 1.0 mL que se colocaron en varios tubos de ensayo. Después se añadieron cantidades diferentes de  $\beta$ -CD que fueron  $1 \times 10^{-4}$ ,  $2 \times 10^{-4}$ ,  $4 \times 10^{-4}$ ,  $6 \times 10^{-4}$  y  $8 \times 10^{-4}$  M, que corresponden a una proporción de fenolftaleína:  $\beta$ -CD 1:2, 1:4, 1:6, 1:14 y 1:28 respectivamente. Finalmente se agregó el volumen restante con buffer de carbonatos pH 10.5 para alcanzar un volumen final de 5.0 mL La Figura A3 muestra los resultados de los barridos obtenidos por el espectrofotómetro de UV-visible.

De acuerdo a lo reportado en la literatura, la intensidad del color rosa de la PHE disminuye cuando es incorporada en la cavidad de la  $\beta$ -CD (Zarzycki & Lamparczyk, 1998). En la gráfica 10 se observa que la intensidad de absorbancia de la fenolftaleína disminuye cuando aumenta la concentración de  $\beta$ -CD comparándola con la señal del control – (muestra con sólo fenolftaleína sin  $\beta$ -CD). También en esta gráfica se observa que a pesar de que la estequiometría para formar complejos de inclusión de la fenolftaleína con la  $\beta$ -CD es 1:1 (Zarzycki & Lamparczyk, 1998), se requiere de cantidades mayores de  $\beta$ -CD con respecto a la fenolftaleína para observar un cambio significativo o cuantificable por espectroscopia de UV-visible, es decir, dado que la formación de complejos de inclusión es un equilibrio en el que la molécula entra y sale de la cavidad de la CD, si se quiere desplazar el equilibrio a la formación de complejos se debe aumentar la cantidad de la molécula huésped.



**Figura A3. Barridos obtenidos por UV de los complejos PHE/β-CD en cantidades crecientes de β-CD**

Este proyecto se presentó en el congreso POLYMAT 2015 el pasado 22 de Octubre del presente año que se llevó a cabo en Huatulco, Oaxaca, México; con el nombre de "Synthesis and characterization of a supramolecular  $\beta$ CD-based crosslinked network".



**Se otorga la presente  
CONSTANCIA a:**

*Y. Rojas-Aguirre, J. González-Méndez, G.  
Langabriel-Gordillo*

Por su participación con el trabajo POSTER titulado:

"Synthesis and characterization of a supramolecular  $\beta$ CD-  
based crosslinked network"

dentro del

**INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYMERS  
AND ADVANCED MATERIALS / POLYMAT-2015**

Del 18 al 22 de octubre de 2015.

Atentamente.

  
Prof. Ernesto Rivera Garcia  
Presidente



# Synthesis and characterization of a supramolecular $\beta$ CD-based crosslinked network

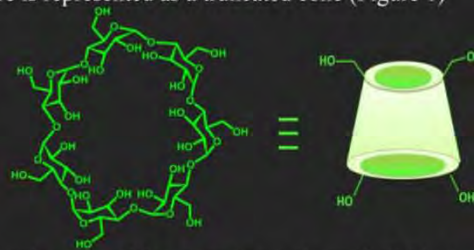
Yareli Rojas-Aguirre<sup>1</sup>, Israel González-Méndez<sup>1</sup>, Geovanni Sangabriel-Gordillo  
Facultad de Química, Departamento de Farmacia, UNAM, Ciudad Universitaria, México D.F.  
ryareli@unam.mx



## Introduction

$\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ CD) is a cyclic oligosaccharide formed by glucopyranose units bound through 1-4 bonds. Due to the lack of free rotation in the glucopyranose units, its 3D structure is represented as a truncated cone (Figure 1)

The primary and secondary hydroxyl groups, located at the narrow and wide side respectively, make  $\beta$ CD a versatile molecule that can be easily modified. If the cavity remains available after chemical modification, it can be used to form supramolecular structures with unique properties<sup>1</sup>. In this work we present the synthesis and characterization of a crosslinked network using  $\beta$ CD and 1,1 carbonyldiimidazole (CDI) as the starting materials (Scheme 1). The reaction conditions and molar ratio of the reagents are shown in Table 1.



## Methodology

Scheme 1. Synthesis of  $\beta$ CD crosslinked network ( $\beta$ CDCN)

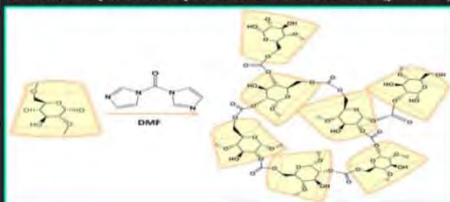


Table 1. Reaction conditions for the  $\beta$ CDCN synthesis

$\beta$ CD crosslinked network ( $\beta$ CDCN)	$\beta$ CD/CDI ratio	Solvent volume (mL)	T (°C)	Reaction time (h)
1- $\beta$ CDCN	1/4	11	90	9
2- $\beta$ CDCN	1/4	7.5	90	8

➤ After the reaction time, the polymers were washed with water and purified by Soxhlet extraction in methanol. The solids were then air dried, ground in a mortar and lyophilized prior their characterization.

## Results

Figure 1. Powder X-ray diffraction

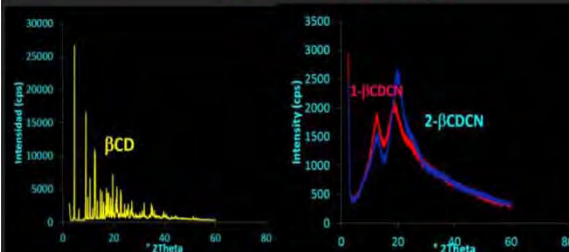


Figure 2. Scanning electron microscopy

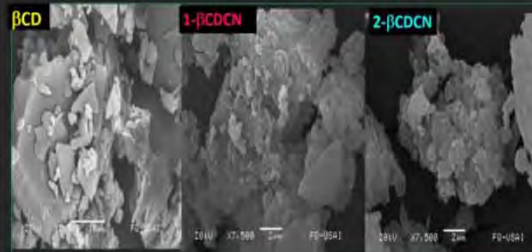


Figure 3. IR spectroscopy

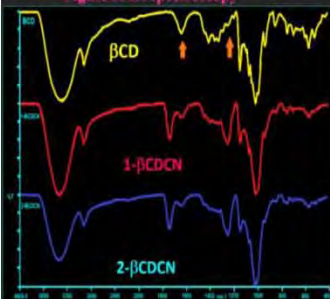


Table 2. Characteristics of the  $\beta$ CDCN

$\beta$ CDCN	Reaction time (h)	Yield (%)	Impregnation Volume (ml/g)	Complexation efficiency (%)
Free $\beta$ CD	---	---	0.53	78.4
1- $\beta$ CDCN	9	49	1.61	79.2
2- $\beta$ CDCN	8	57	3.16	81.3

Figure 4. Proposed structure of the  $\beta$ CDCN



## Conclusions

Two  $\beta$ CDCN were synthesized under different conditions.

Diluted conditions modified the characteristics of the  $\beta$ CDCN as expected, but not dramatically.

The proximity of the  $\beta$ CD molecules in the CN enhances the complexation efficiency and the mesh can also trap guest molecules.

The determination of the pore volume within the aggregates or between the aggregates will provide interesting information to further improve the structure for hosting therapeutic molecules and use it as drug carrier.

## References

<sup>1</sup> Lembo et al. (2013). Encapsulation of Acyclovir in cyclodextrin-based nanosponges improves the agent's antiviral efficacy. *International Journal of Pharmaceutics*, 443, 262-272.

Funding  
Facultad de Química,  
PAIP 5000-9157