



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

ACOMPLEJACIÓN DE METRONIDAZOL  
CON CICLODEXTRINAS

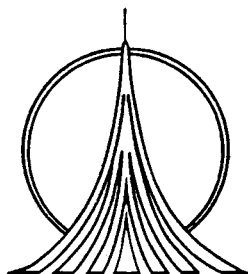
T E S I S I N A

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE

ESPECIALISTA EN DESARROLLO FARMACÉUTICO

P R E S E N T A :

Q.F. JORGE NICOLÁS TAKAHASHI YUPANQUI



MÉXICO, D. F.

DIRECTOR: DR. JUAN CARLOS VÁZQUEZ LIRA



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA  
DIVISION DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO E  
INVESTIGACION

FEBRERO 2005



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

*¿Qué es la verdad sino conocerse uno mismo?  
Llegar a la plenitud con mucho esfuerzo, lograr hacer  
el bien con los dones que Dios me dió al servicio de  
otros.*

*¿Cuánto falta aún por crear?  
La imaginación no tiene límites y la humanidad no es  
un producto terminado.*

*Una vez que el conocimiento ha sido consumido no  
nos queda nada más que ser mejores.*

*La pasión es una fuerza mas allá de la fuerza  
intelectual, nos arrebatata el espíritu, vence el  
cansancio y enfrenta desafíos.*

*Quienes se entregan apasionadamente a su trabajo, se  
les llaman.... profesionistas*

*y quienes se entregan hasta lo imposible para ver  
realizados sus sueños y forjar un nuevo amanecer, se  
les llaman ....hijos de Dios*

*Dedicatoria*

*A Dios, ser supremo de todo. Humildemente...  
Bendito seas Señor.*

*A mi papá Nico, mi mamá Lidia, mi hermana Menis,  
mi hermano Omar, por dejarme soñar con los ojos  
abiertos.*

*En el cielo a quienes viven en mí y de quienes sin  
duda soy la prolongación de su obra. Mamá Mercedes,  
papá Teodosio, Abuelos Masataro y Mitsui, Tía  
Vilma, Tía Rosa, primo Walter.*

*A mis tios José, Hernán, Angel, Jorge, Dora, Rosa,  
Lourdes, Mario, Alicia, Elena, Flor,*

*A mi país. Perú, una tierra que se está haciendo con el  
esfuerzo de sus hijos.*

*A Guadalupe por compartir sus sueños conmigo.*

## *Agradecimientos*

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de realizar un sueño.*

*A Laboratorios CAFET y Laboratorios Shering Plough de México por el apoyo en la realización de esta tesina.*

*A la Familia Zaldívar Peña, Jorge García y Celia Moreno por su apoyo y amistad incondicional.*

*Al Dr. Juan Carlos Vázquez Lira por ser amigo y guía en esta etapa de mi formación profesional.*

*Al QFB Roberto Huerta por demostrarme en todo momento su amistad a toda prueba.*

*A mis maestros y compañeros de la especialidad.*

*A todos los amigos que hice en esta etapa...*

*Gracias a todos*

**TABLA DE CONTENIDO.**

1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. CICLODEXTRINAS.....	6
2.1.1. EVOLUCIÓN DEL USO DE LAS CICLODEXTRINAS.....	6
2.1.2. DEFINICIÓN.....	7
2.1.3. ESTRUCTURA QUÍMICA.....	7
2.1.4. ESTRUCTURA CRISTALINA.....	10
2.1.5. PROPIEDADES EN SOLUCIÓN.....	13
2.1.6. PERFIL FARMACOCINÉTICO VÍA ORAL.....	13
2.1.7. TOXICIDAD VÍA ORAL.....	15
2.1.8. MUTAGENICIDAD.....	15
2.1.9. CARCINOGENICIDAD.....	16
2.1.10. EFECTOS HEMOLÍTICOS.....	16
2.2. SOLUBILIDAD DE FASES.....	17
2.3. CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA.....	19
2.4. MECANISMO DE LIBERACIÓN DEL FÁRMACO DESDE EL COMPLEJO DE INCLUSIÓN.....	24
2.5. DISTRIBUCIÓN DEL FÁRMACO ENTRE LAS FASES SÓLIDO/DISULECTO Y LIBRE/ACOMPLEJADO.....	28
2.6. CORRELACIÓN ENTRE ESTABILIDAD DEL COMPLEJO Y NIVELES EN SANGRE.....	30
2.7. APLICACIONES FARMACÉUTICAS DE LAS CICLODEXTRINAS.....	33
2.8. REDUCCIÓN DE SABORES AMARGOS Y ASTRINGENTES.....	35
2.9. EFECTO SOBRE LA ESTABILIDAD.....	36
2.10. PRECONDICIONES PARA FORMACIÓN DE COMPLEJO.....	37
2.10.1. COMPATIBILIDAD GEOMÉTRICA.....	37
2.10.2. POLARIDAD.....	37
2.10.3. MEDIO.....	37
2.11. PREPARACIÓN DEL COMPLEJO.....	38
2.11.1. PREPARACIÓN EN SUSPENSIÓN.....	38
2.11.2. ANÁLISIS DE COMPLEJO FÁRMACO-CICLODEXTRINA.....	38
2.11.3. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (CDB).....	39
2.12. ESTEQUIOMETRÍA DE LOS COMPLEJOS FÁRMACO-CICLODEXTRINA.....	40
2.13. METRONIDAZOL.....	41
2.13.1. PROPIEDADES FÍSICAS DEL METRONIDAZOL.....	41
2.13.2. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL METRONIDAZOL.....	41
2.13.3. INDICACIONES.....	43
2.13.4. MECANISMO DE ACCIÓN.....	43
2.13.5. TOXICOLOGÍA.....	43
2.13.6. SEGURIDAD.....	44
2.13.7. CARCINOGENICIDAD.....	44
2.13.8. TERATOGENICIDAD.....	44
2.13.9. MUTAGENICIDAD.....	45

2.13.10. FARMACOCINÉTICA.....	45
2.14. ACOMPLEJACIÓN DE METRONIDAZOL Y BENZOIL METRONIDAZOL CON $\beta$ -CICLODEXTRINA.....	46
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	47
4.OBJETIVOS.....	48
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	48
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	48
5. HIPÓTESIS.....	48
6. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS.....	49
6.1. EQUIPOS.....	49
6.2. MATERIALES.....	49
6.3. REACTIVOS.....	50
7. METODOLOGÍA.....	51
7.1. CARACTERIZACIÓN DEL METRONIDAZOL.....	51
7.1.1. ANÁLISIS POR CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO.....	51
7.1.2. SOLUBILIDAD EN AGUA.....	51
7.2. CARACTERIZACIÓN DE LA $\gamma$ -CICLODEXTRINA.....	52
7.2.1. ANÁLISIS POR CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO.....	52
7.3. COMPATIBILIDAD DEL METRONIDAZOL CON $\gamma$ -CICLODEXTRINA.....	52
7.4. ACOMPLEJACIÓN DE METRONIDAZOL/ $\gamma$ -CICLODEXTRINA POR EL... MÉTODO DE AGITACIÓN EN SUSPENSIÓN.....	52
7.5. DETERMINAR LAS PROPIEDADES DEL COMPLEJO METRONIDAZOL/ $\gamma$ - CICLODEXTRINA.....	53
7.5.1. SOLUBILIDAD.....	53
7.5.2. CONSTANTE DE ACOMPLEJACIÓN.....	54
7.5.2.1. CONTENIDO DE METRONIDAZOL TOTAL.....	55
7.5.2.2. CONTENIDO DE METRONIDAZOL LIBRE.....	55
7.5.2.3. CONTENIDO DE METRONIDAZOL ACOMPLEJADO.....	56
7.5.2.4. CONTENIDO DE CICLODEXTRINA ACOMPLEJADA.....	56
7.5.2.5. CONTENIDO DE CICLODEXTRINA LIBRE.....	56
7.6. SABOR.....	56
8. DISCUSIÓN Y RESULTADOS.....	57
8.1. CARACTERIZACIÓN DEL METRONIDAZOL.....	57
8.2. CARACTERIZACIÓN DE LA $\gamma$ -CICLODEXTRINA.....	57
8.3. MEZCLA FÍSICA.....	58
8.3.1. CONTENIDO DE METRONIDAZOL LIBRE EN LA MEZCLA FÍSICA.....	58
8.4. MUESTRA CON 1 h DE AGITACIÓN.....	59
8.4.1. CONTENIDO DE METRONIDAZOL LIBRE A 1 h DE AGITACIÓN.....	59
8.5. MUESTRA CON 18 h DE AGITACIÓN.....	60
8.5.1. CONTENIDO DE METRONIDAZOL LIBRE A 18 h DE AGITACIÓN.....	60
8.6. MUESTRA CON 24 h DE AGITACIÓN.....	60
8.6.1. CONTENIDO DE METRONIDAZOL LIBRE A 24 h DE AGITACIÓN.....	61
8.6.2. CONTENIDO DE METRONIDAZOL TOTAL A 24 h DE AGITACIÓN.....	61
8.6.3. CONTENIDO DE METRONIDAZOL ACOMPLEJADO A 24 h DE AGITACIÓN.....	62
8.6.4. CONTENIDO DE CICLODEXTRINA ACOMPLEJADA A 24 h DE AGITACIÓN.....	62

8.6.5. CONTENIDO DE CICLODEXTRINA LIBRE A 24 h DE AGITACIÓN....	63
8.6.6. CONSTANTE DE ACOMPLEJACIÓN A 24 h DE AGITACIÓN.....	63
8.7. SOBREPOSICIÓN DE CURVAS.....	63
8.8. EFICIENCIA DE LA ACOMPLEJACION.....	64
8.9. SOLUBILIDAD EN AGUA DEL METRONIDAZOL.....	64
8.10. SOLUBILIDAD EN AGUA DEL COMPLEJO METRONIDAZOL/ $\gamma$ - CICLODEXTRINA.....	65
8.11. EFECTO DE LA ACOMPLEJACIÓN.....	66
8.12. SABOR.....	67
9. CONCLUSIONES.....	68
10. SUGERENCIAS.....	68
11. ANEXO.....	689
12. BIBLIOGRAFÍA.....	80



## RESUMEN.

En el presente estudio se realizó la acomplejación molecular del metronidazol (fármaco antibiótico, antiprotozoario y antihelmíntico del grupo químico de los nitroimidazoles) con  $\gamma$ -ciclodextrina. El método usado para la acomplejación fue la agitación en suspensión. El medio empleado para la agitación fue una solución hidroalcohólica 70:30 de ácido cítrico-hidróxido de sodio pH 2.6 (250 mV de conductividad). Se monitoreó el proceso de acomplejación mediante calorimetría diferencial de barrido (CDB) para establecer la efectividad de acomplejación y cantidad de metronidazol en acomplejación y libre. Al término de 24 h de agitación el producto fue secado y molido. Al complejo metronidazol-  $\gamma$ -ciclodextrina al estado sólido obtenido se le determinó la cantidad de metronidazol en el complejo mediante análisis espectrofotométrico. La solubilidad en agua del metronidazol fue de 11 mg/mL; y la solubilidad del complejo fue de 15.31 mg/mL. La constante de acomplejación en estado sólido fue de  $8.286 \times 10^3 \text{ mol}^{-1}$ .

## SUMMARY.

In the present work, it has been carried out the molecular complexation of metronidazole (nitroimidazolic drug used that antibiotic, antiprotozoary, antihelmintic) with  $\gamma$ -cyclodextrin. Stir in suspension method was used for complexation. Hydroalcoholic 70:30 citric acid-sodium hydroxide solution pH 2.6 (250 mV conductivity) was employed. Process monitoring has been carried out with differential scanning calorimetry (DSC) in order to establish the complexation effectiveness as well as the amount of free and complexed metronidazole. The stirring time was 24 h. The product was dried and milled. To the metronidazole- $\gamma$ -cyclodextrin complex in solid state, it was determined the amount of metronidazole by spectrophotometrical analysis. The water solubility of metronidazole was 11 mg/mL and 15.31 mg/mL for the complex. The complexation constant was  $8.286 \times 10^3 \text{ mol}^{-1}$  in solid state.

## 1. INTRODUCCIÓN.

El metronidazol es un fármaco antibacteriano sintético y antiprotozoario de la clase de los nitroimidazoles.

Es efectivo en la terapia contra protozoarios que provocan enfermedades tales como tricomoniasis, amebiasis y giardiasis. Además es uno de los más efectivos fármacos contra infecciones bacterianas anaerobias. Hoy en día está disponible en formulaciones orales, parenterales y tópicas. Una formulación de liberación prolongada de una sola dosis diaria fue aprobada en diciembre de 1997.

Una de las características organolépticas principales del metronidazol es su sabor extremadamente amargo por lo que al momento de formular formas orales líquidas se optó por usar el éster benzoico del metronidazol dado su mejor palatabilidad. Sin embargo, este derivado es insoluble en agua por lo que las formas líquidas son suspensiones. Existen así formulaciones líquidas de metronidazol bajo la forma de benzoato de metronidazol sin embargo a la fecha la FDA solo ha propuesto su inclusión al listado general de fármacos a la espera de obtener mayor información de sus efectos y dosificación adecuada.

En los laboratorios farmacéuticos se usa el metronidazol base para formas farmacéuticas sólidas y tópicas y benzoil metronidazol para formas farmacéuticas líquidas. Esto ocasiona duplicar los costos de almacenamiento ya que se manejan como moléculas diferentes siendo el mismo principio activo a liberarse.

El metronidazol se absorbe rápidamente y su biodisponibilidad solo está restringida por su disolución.

El mejoramiento del sabor de principios activos desagradables está restringido a manejar el principio activo bajo su forma derivatizada y/o a través de edulcorantes. Un nuevo método de enmascarar sabores desagradables es a través de la complejación o encapsulamiento molecular del principio activo dentro de otra molécula.

El uso de ciclodextrinas y sus derivados sintéticos como aditivos ya han dado como resultado productos farmacéuticos aprobados en Europa, Asia y Estados Unidos y su uso está en extensión por brindar entre otras propiedades una mejora de la aceptabilidad, solubilidad y estabilidad de principios activos.

## **2. MARCO TEÓRICO.**

### **2.1. CICLODEXTRINAS.**

#### **2.1.1. EVOLUCIÓN DEL USO DE LAS CICLODEXTRINAS.**

El uso de ciclodextrinas ha ido evolucionando a a través de distintos períodos.

Primer período (1891 a 1930's): La estructura y el uso potencial de las ciclodextrinas permanecen no claros. La primera referencia pertenece a una publicación de Villiers en 1891. A partir de un cultivo sobre almidón de *Bacillus amilobacter*, él aisló una pequeña cantidad de sustancia cristalina a la que llamó "celulosina" (por su resistencia hidrolítica similar a la celulosa). También caracterizó físicamente entre otros su solubilidad y evidenció la presencia de dos tipos de celulosina. Schardinger entre 1903 a 1911 estudió la celulosina de Villiers. Aisló un bacilo, *Bacillus macerans* como fuente de la enzima que se usa hasta hoy para producir ciclodextrinas. Los siguientes 24 años publicó muchos trabajos sobre ciclodextrinas. A él se le da el crédito de descubrir el poder acomplejante de las ciclodextrinas.

Segundo período (1930's a 1970's): La estructura de las ciclodextrinas es elucidada por Freudenberg. Las propiedades acomplejantes son estudiadas y numerosos derivados y sus respectivas enzimas son descubiertas. También los trabajos de Cramer y French son destacados.

Tercer período: Acelerado incremento de publicaciones y patentes, estudios toxicológicos y el inicio de producción industrial de ciclodextrinas.

Cuarto período: Actualmente está caracterizado por la producción y uso de la segunda generación de ciclodextrinas o ciclodextrinas químicamente modificadas.

(1)

### 2.1.2. DEFINICIÓN.

Las ciclodextrinas son maltooligosacáridos cíclicos no reductores. Resultan de la degradación del almidón por la enzima CGT (Enzima glucosiltransferasa, EC.3.2.1.19) produciendo unidades cíclicas de glucopiranosas unidas por enlaces  $\alpha$  1-4. Tal reacción se ejemplifica en la Figura 1.

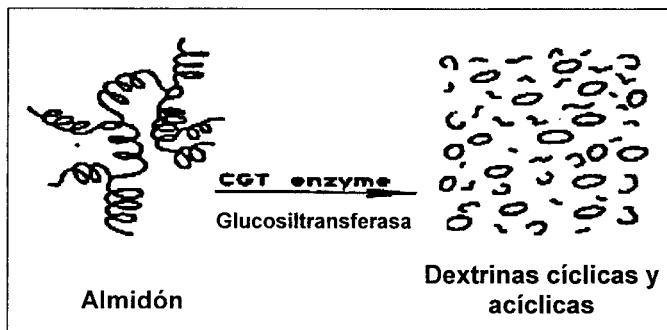


Figura 1. Formación de dextrinas cíclicas y acíclicas a partir del almidón.

### 2.1.3. ESTRUCTURA QUÍMICA.

Las ciclodextrinas son sustancias cristalinas, homogéneas y no higroscópicas. La forma de las ciclodextrinas es similar a un cono truncado con una cavidad interior hidrofóbica y exterior hidrofílica (1), Figura 2.

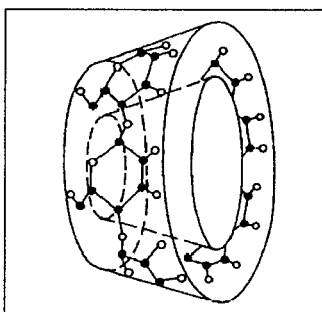


Figura 2. Forma de cono truncado de la  $\beta$ -ciclodextrina.

Las ciclodextrinas con menos de seis unidades de d(+) glucopiranosas por anillo no pueden ser formadas por impedimento estérico. Las ciclodextrinas consisten en 6 o más unidades de d(+) glucopiranosas. Así tenemos la  $\alpha$ -ciclodextrina,  $\beta$ -ciclodextrina y  $\gamma$ -ciclodextrina que contienen 6, 7 y 8 unidades de glucopiranosas respectivamente. Las cuales se presentan en las Figuras 3 y 4.

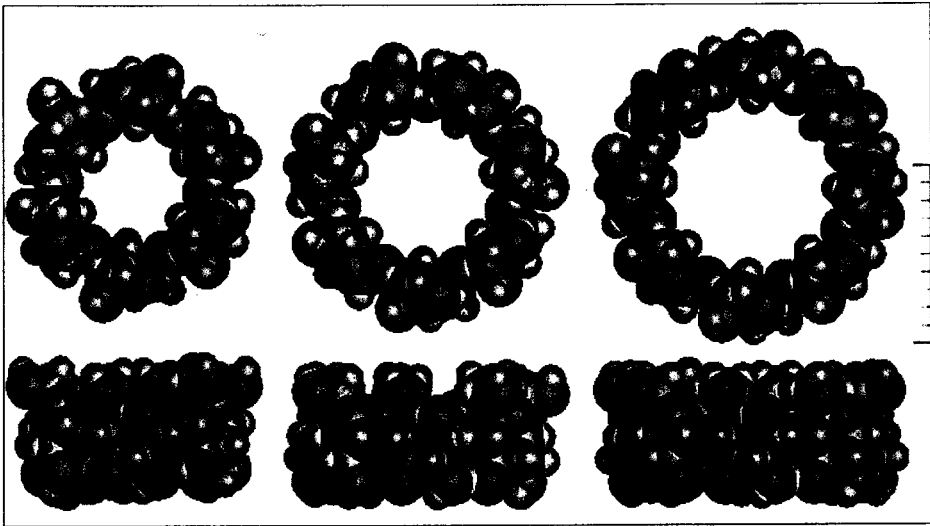


Figura 3. Modelo de Stuart de la  $\alpha$ ,  $\beta$ , y  $\gamma$  ciclodextrina respectivamente.

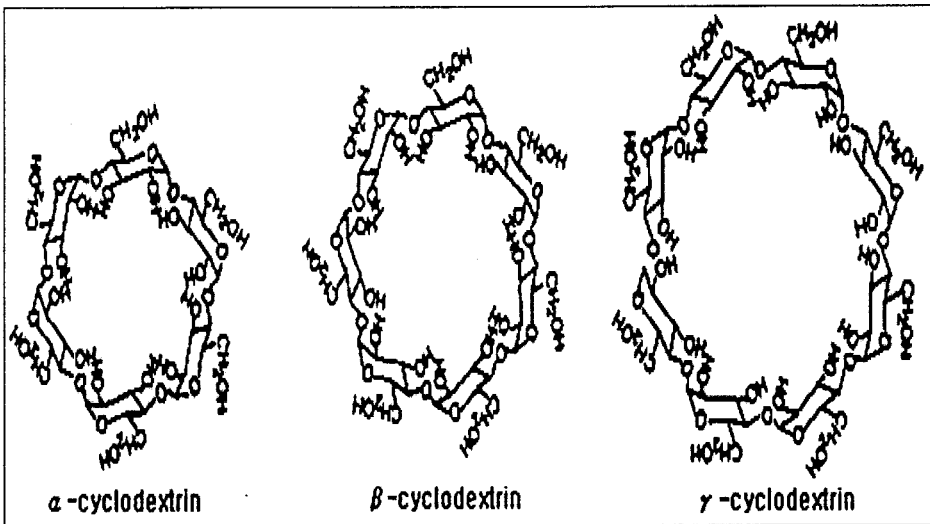
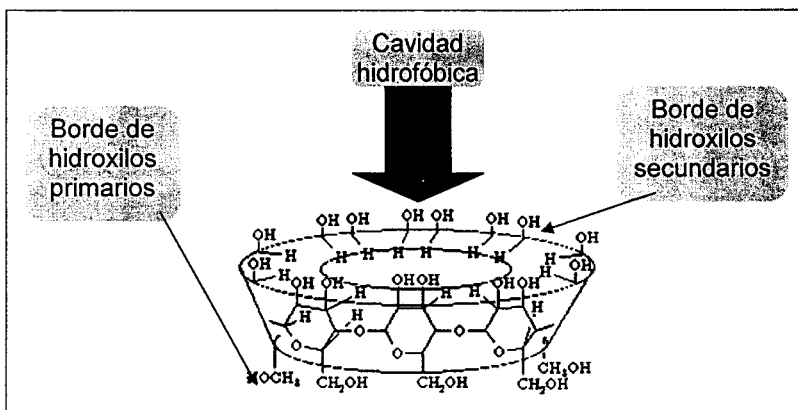


Figura 4. Representación estructural de la  $\alpha$ ,  $\beta$ , y  $\gamma$  ciclodextrina .

Homólogos de mayor tamaño han sido reportados pero no han sido caracterizados satisfactoriamente (1). Teóricamente anillos de más de 10 unidades pueden ser formados.

Como consecuencia de la conformación del C1 de las unidades del glucopiranosas, todos los grupos hidroxilos secundarios se sitúan en uno de los dos bordes del anillo y todos los grupos hidroxilos primarios en el otro. Lo cual está representado en la Figura 5.



**Figura 5. Esquema funcional-estructural de una ciclodextrina.**

La cavidad es alineada por los átomos del hidrógeno y los puentes glucosídicos del oxígeno. Los pares de electrones no apareados de los puentes glucosídicos del oxígeno se dirigen hacia dentro de la cavidad produciendo una alta densidad electrónica dándole características similares a una base de Lewis.

El grupo OH del C2 de una unidad de glucopiranosas puede formar un enlace a través de un puente hidrógeno con el grupo OH del C3 de la unidad adyacente de glucopiranosas. En la molécula de ciclodextrina un cinturón secundario completo es formado por estos puentes de hidrógeno, haciendo una estructura rígida.

La  $\gamma$ -ciclodextrina es una estructura no coplanar y más flexible y por lo tanto el más soluble de los tres.

La libre rotación de los grupos hidroxilos primarios reduce en diámetro en ese extremo del anillo. Este fenómeno se evidencia en el proceso de formación de un complejo de inclusión. La ciclodextrina tiene más forma de cono truncado que de cilindro.

Las dimensiones moleculares aproximadas de las ciclodextrinas se presentan esquemáticamente en la Figura 6 (1).

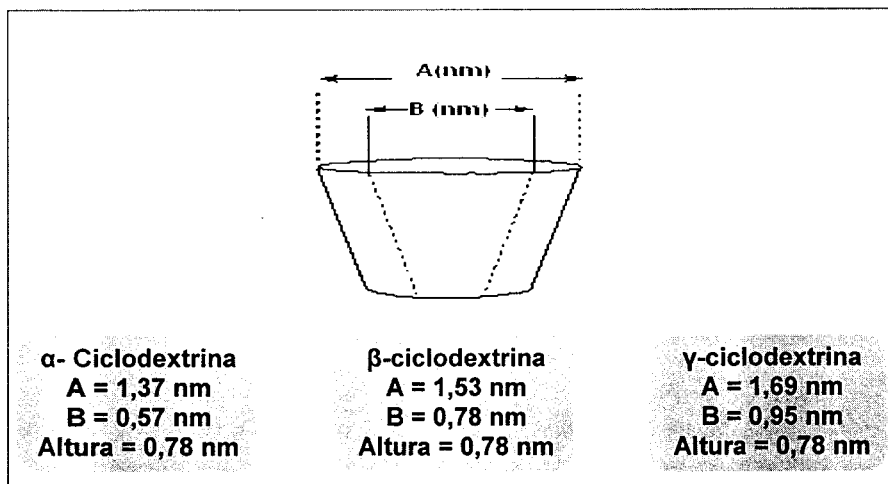


Figura 6. Dimensiones moleculares aproximadas de las ciclodextrinas.

#### 2.1.4. ESTRUCTURA CRISTALINA.

El empaquetamiento de las moléculas dentro de la estructura del cristal puede presentarse de dos formas: canal y malla (como mosaico o como muro).

- a) Tipo canal: Las moléculas de ciclodextrina están apiladas una a otra sobre sus extremos. La molécula huésped es embebida dentro de un canal sin fin formado por cavidades alineadas. Este apilamiento puede ser "cabeza a cabeza" (Figura 7) ó "cabeza a cola" (2).

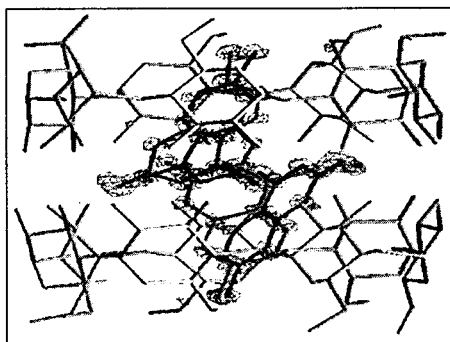


Figura 7. Formación "Cabeza a cabeza" de un complejo β-ciclodextrina / 4,7-dimetil cumarina (2)

- b) Tipo malla: La cavidad de una molécula de ciclodextrina es bloqueada por ambos extremos por moléculas adyacentes de ciclodextrina, produciendo cavidades aisladas. Puede observarse dos formas: un empaquetamiento en forma de mosaico (más común para  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ -ciclodextrinas) y en forma de pared de ladrillo.

Las cavidades de las ciclodextrinas cristalizadas a partir de agua no están vacías, contienen moléculas de agua. Algunas están dentro de la cavidad otras forman parte integral del cristal (agua de cristalización). Los complejos de inclusión de ciclodextrinas están formados por la sustitución de las moléculas de agua incluidas por una apropiada molécula huésped. (2)

Una misma ciclodextrina puede presentar diferentes formas cristalinas, por ejemplo: La  $\beta$ -ciclodextrina tiene 2: la  $\beta$ -ciclodextrina.12H<sub>2</sub>O (forma I) y la  $\beta$ -ciclodextrina.11H<sub>2</sub>O (forma II).

Ambas son de tipo mosaico. La forma I presenta un pico endotérmico a -46 °C mientras que la forma II presenta pequeños picos entre -70 y -60 °C. Esta diferencia se debe a la distribución desordenada de las moléculas de agua dentro de la cavidad.

Las ciclodextrinas no son higroscópicas pero forman varios hidratos estables (pseudopolimorfos).

La isoterma de absorción de vapor de agua de la  $\gamma$ -ciclodextrina presenta dos fases. El hidrato intermedio contiene 7 moléculas de agua, a altas humedades relativas puede alcanzar hasta 17 moléculas de agua por molécula de  $\gamma$ -ciclodextrina.

La  $\gamma$ -ciclodextrina 13.3 H<sub>2</sub>O incluye 5.3 moléculas de agua, los cuales ocupan 13 lugares. Las moléculas incluidas en la cavidad se caracterizan por un alto grado de desorden haciendo que muchas moléculas no se enlacen por puentes de hidrógeno. Este "estado activado" de las moléculas de agua son un factor significativo en el proceso de complejación.

La eliminación del agua por secado transforma la estructura cristalina hacia una amorfa.

Las ciclodextrinas no tienen definido un punto de fusión, pero por arriba de los 200 °C se observan picos de descomposición.

Por ejemplo, la  $\gamma$ -ciclodextrina presenta un pico exotérmico en 152°C y a partir de 210 °C se observa la descomposición. (2)

Las ciclodextrinas son al menos tan estables como la sucrosa o el almidón, pueden ser almacenados sin degradación por años. Sus características fisicoquímicas se resumen en la Tabla I. (1)



TABLA I. Propiedades fisicoquímicas de las ciclodextrinas .

	$\alpha$ -Ciclodextrina	$\beta$ -ciclodextrina	$\gamma$ -Ciclodextrina
Número unidades de glucosa	6	7	8
P.M.	972	1135	1297
$[\alpha]^{25}_D$	150±0.5	162.5±0.5	177.4±0.5
Diámetro de la cavidad (Å)	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
Altura del cono truncado (Å)	7.9±0.5	7.9±0.5	7.9±0.5
Diámetro de la periferia (Å)	14.6±0.4	15.4±0.4	17.5±0.4
Volumen aprox. De cavidad (Å <sup>3</sup> )	174	262	472
Volumen de la cavidad aproximada por mol de ciclodextrina (mL)	104	157	256
Volumen de la cavidad aproximada por g de ciclodextrina (mL)	0.10	0.14	0.20
Forma cristalina ( a partir de agua)	Platos hexagonales	Paralelogramo monoclinicos	Prismas cuadráticos
Contenido de agua de cristalización (%p/p)	10.2	13.2-14.5	8.13-17.7
Constante de difusión a 40°C	3.443	3.224	3.000
Hidrólisis por <i>A. oryzae</i> $\alpha$ -amilasa	Insignificante	Lento	Rápido
pK (por potenciometría) a 25°C	12.3312	12.202	12.081
Volumen parcial molar en solución (mL/mol)	611.4	703.8	801.2
Compresibilidad adiabática en solución acuosa (mL . 10 <sup>4</sup> /mol . bar)	7.2	0.1	-5.0
Parámetros cristalográficos			
Ángulo ° C <sub>1</sub> -O <sub>4</sub> -C <sub>4</sub>	119.0	117.7	112.6
$\phi^\circ / \psi^\circ$	166/-169	169/-172	165/-169
Distancia O <sub>4</sub> ...O <sub>4</sub> (Å)	4.23	4.39	4.48
Distancia O <sub>2</sub> ...O <sub>3</sub> (Å)	3.00	2.86	2.81
Permitividad relativa			
Sobre la incorporación del grupo toluidinil del 6-p-toluidinil-naftaleno-2-sulfonato a pH 5.3 y 25°C	47.5	52.0	70.0
Sobre la incorporación del grupo naftaleno	-	29.5	39.5
Solubilidad en agua*	14.5	18.5	23.2
Solubilidad en metanol 100%*	Insoluble	Insoluble	>0.1
Solubilidad en metanol (acuoso) 50%*	0.3	0.3	208
Solubilidad en etanol 100%*	Insoluble	Insoluble	>0.1
Solubilidad en etanol (acuoso) 50%*	>0.1	1.3	2.1
Solubilidad en isopropanol*	Insoluble	Insoluble	>0.1
Solubilidad en acetona*	Insoluble	Insoluble	>0.1
Solubilidad en cloroformo*	Insoluble	Insoluble	Insoluble
Solubilidad en piridina*	7	37	
Solubilidad en tetrahidrofurano*	Insoluble	Insoluble	Insoluble
Solubilidad en dimetilformamida*	54	32	
Solubilidad en dimetilsulfóxido*	2	35	
Solubilidad en etilenglicol*	9	21	
Solubilidad en propilenglicol*	1	2	
Solubilidad en glicerina*	Insoluble	4.3	

\*en g/100 mL a 25°C

### 2.1.5. PROPIEDADES EN SOLUCIÓN.

Las ciclodextrinas son capaces de formar compuestos de inclusión o complejos con muchos fármacos atrapándolos en su cavidad. Las ciclodextrinas de origen natural, en particular la  $\beta$ -ciclodextrina tiene una limitada solubilidad acuosa y sus complejos de formación con fármacos lipofílicos frecuentemente resultan en la precipitación de complejos fármaco/ciclodextrina. Así, la solubilidad en agua de la  $\beta$ -ciclodextrina es solo de 18,5 mg/mL a temperatura ambiente.

En solución las ciclodextrinas no pueden ser consideradas con una cavidad vacía. El volumen de la cavidad de 1 g de la  $\alpha$ -ciclodextrina es cerca de 0.1 mL. La energía requerida para mantener tal espacio vacío es cerca de 65 Kcal/mol. Esta cantidad de energía es muy grande lo que hace inconcebible que la cavidad pueda mantenerse vacía. Con otras ciclodextrinas de mayor diámetro este requerimiento de energía es aún mayor. En todo caso si la cavidad estuviese vacía, de esta manera el volumen específico parcial de las ciclodextrinas debería ser mayor que el de la glucosa o maltosa; sin embargo, esto no ha sido observado.

Por otro lado el pKa varía fuertemente con la temperatura. Por ejemplo para la  $\gamma$ -ciclodextrina a 15 °C su valor es de  $12.346 \pm 0.004$ , a 25 °C  $12.080 \pm 0.050$  y a 45 °C  $11.561 \pm 0.006$ . (2)

Los enlaces glucosídicos  $\alpha$ -1,4 de las ciclodextrinas son estables en medio alcalino, sin embargo son hidrolizados por ácidos fuertes para dar series de maltosacáridos lineales. La velocidad de apertura del anillo es mucho más lenta que para sus correspondientes oligosacáridos acíclicos como se muestra en la Tabla II.

**Tabla II. Constantes de velocidad aparente en hidrólisis ácida en una solución 1N HCl a 60 °C de varias ciclodextrinas.**

<b>CICLODEXTRINA</b>	<b>Constante de velocidad aparente (min<sup>-1</sup>)</b>
<i><math>\alpha</math>-Ciclodextrina</i>	6.7
<i><math>\beta</math>-ciclodextrina</i>	7.7
<i><math>\gamma</math>-Ciclodextrina</i>	13.9

De la tabla anterior se observa que la velocidad decrece a medida que disminuye el tamaño de la ciclodextrina.(12).

### 2.1.6. PERFIL FARMACOCINÉTICO VÍA ORAL.

La viabilidad del uso de formulaciones orales a base de ciclodextrinas ha sido establecida con la venta de productos en Europa y Japón. A continuación en la Tabla III, se presentan algunos productos farmacéuticos a base de ciclodextrinas (1).

**Tabla III. Algunos productos farmacéuticos formulados con ciclodextrinas.**

Fármaco / ciclodextrina	Producto	Forma de dosaje	Indicación	Compañía/país
PGE <sub>2</sub> / β-ciclodextrina	Prostarmon E	Tabletas sublinguales	Estimulación de trabajo de parto	Ono/Japón
PGE <sub>2</sub> / α-ciclodextrina	Prostavasin	Inyección intrararterial	Oclusión arterial	Ono/Japón Schwarz/Alemania
PGE <sub>1</sub> / α-ciclodextrina	Prostandin 500	Infusión	Hipotensión controlada	Ono/Japón
OP-1206 / γ-ciclodextrina	Opalmon	Tabletas	Enfermedad de Buerger's	Ono/Japón
Piroxicán / β-ciclodextrina	Brexin, Cicladol, Brexidol	Tabletas/ gránulos, supositorios	Analgésico, Anti-inflamatorio	Chiesi, Masterpharma/Italia
Extracto Gálico / β-ciclodextrina	Xund, Tegra, Allidex, Garlessence	Cápsulas blandas	Anti- artereosclerótico	Bipharm, Hermes/Alemania Pharmafontana/Hungría CTD/USA
Benexato / β-ciclodextrina	Ulgut, Lomniei	Cápsulas	Antiulceroso	Teikoku/Japón Shionogi/Japón
Iodo / β-ciclodextrina	Mena-Gargle	Solución	Enjuague bucal	Kyushin/Japón
Dexametasona / β-ciclodextrina	Glymesason	Solución ótica	Analgésico, Anti-inflamatorio	Fujinaga/Japón
Nitroglicerina / β-ciclodextrina	Nitropen	Tabletas sublinguales	Vasodilatador coronario	Nippon Kayaku/Japón
Cefotiam / α-ciclodextrina	Pansporin	Tabletas	Antibiótico	Takeda/Japón
Cefalosporin ME1207 / β-ciclodextrina	Meiset	Tabletas	Antibiótico	Meiji Seika/Japón
Acido tiaprofénico / β-ciclodextrina	Surgamyl	Tabletas/gránulos	Analgésico	Roussel-Maestrelli/Italia
Difenhidramina HCl + Clorteofilina + β-ciclodextrina	Stada-Travel	Tabletas masticables	Gripe	Stada/Alemania
Clordiazepóxido / β-ciclodextrina	Transillium	Tabletas	Tranquilizante	Gador/Argentina
Piroxicán / β-ciclodextrina	Flogene	Solución	Analgésico, Anti-inflamatorio	Aché/Brasil
Hidrocortisona / HP-β-ciclodextrina	Dexacort	Solución	Enjuague bucal	Islandia
Itraconazol / HP-β-ciclodextrina	Sporanox	Solución	Candidiasis esofágica	Janssen/Bélgica
Nimesulide	Nimedex	Tabletas	Analgésico, Anti-inflamatorio	Italfármaco/Italia Novartis/Suiza Boeringer Mannheim/Alemania
Diclofenaco / HP- γ-ciclodextrina	Voltaren	Solución oftálmica	Analgésico, Anti-inflamatorio	Europa

Es generalmente reconocido que la absorción gastrointestinal de las ciclodextrinas en forma intacta es limitada debido a su gran tamaño y naturaleza hidrofílica. Las ciclodextrinas pueden actuar como transportadores de fármacos que liberan el fármaco a través de un medio acuoso al lugar de absorción y permanece en el tracto digestivo. Se ha probado en ratas que solo una pequeña cantidad de  $\beta$ -ciclodextrina se absorbe desde el tracto gastrointestinal. La  $\alpha$  y  $\beta$  ciclodextrina son prácticamente resistentes a la acidez estomacal, saliva y amilasas pancreáticas y son extensamente hidrolizados en el colon, mientras que la  $\gamma$ -ciclodextrina es lentamente digerida aún en las zonas altas del intestino.

Los metabolitos primarios presumiblemente son maltodextrinas acíclicas que son posteriormente metabolizados, absorbidos y excretados finalmente como  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . El tránsito a través del colon humano es aproximadamente de 40 h tiempo suficiente para que actuen las enzimas de la microflora bacteriana. (12)

### **2.1.7. TOXICIDAD VÍA ORAL.**

Todos los estudios han demostrado la nula toxicidad de las ciclodextrinas administradas vía oral debido en buena parte a la limitada absorción intestinal.

El  $\text{DL}_{50}$  para  $\beta$ -ciclodextrina reportadas son  $>$  a 12.5, 18.8 y 5 g/Kg para ratones, ratas y perros respectivamente.

El  $\text{DL}_{50}$  para  $\gamma$ -ciclodextrina reportadas son  $>$  a 4 y 2.4 g/Kg para ratones y ratas respectivamente. (2)

Algunos efectos tóxicos no significativos fueron observados en ratas alimentadas con un 10% de  $\beta$ -ciclodextrina en la dieta por 90 días. Solamente se observó un incremento en el peso de las heces debido a que estos carbohidratos son pobremente digeribles.

Basado en un estudio de toxicidad de 52 semanas de dieta con ciclodextrinas, la  $\beta$ -ciclodextrina es considerada no tóxica si la dosis diaria es  $<$  600 mg/Kg en ratas o  $<$  1800 mg/Kg en perros. (12)

### **2.1.8. MUTAGENICIDAD.**

En un estudio se alimentaron oralmente ratas hembra con 200, 400 o 600 mg/Kg de  $\beta$ -ciclodextrina desde el día 7 al día 11 después de aparearse. No se observó ninguna señal de toxicidad juzgado a partir de la velocidad de concepción y el aumento de peso corporal. No hubo evidencia del efecto del tratamiento sobre el número de implantaciones, el porcentaje de resorciones, el porcentaje de muerte y vida de los fetos, el peso de los fetos vivos y el número de fetos que presentan las principales anomalías congénitas.

El tratamiento en conejos con 150, 300 y 600 mg/Kg día de  $\beta$ -ciclodextrina desde el día 7 al día 19 después del apareamiento, no presentó ningún efecto tóxico o teratogénico.

Las pruebas de mutagenicidad *in vivo* (una es la prueba de aberración cromosomal en ratas y la otra es el ensayo mediado por hospedero en ratas), en ambos con variaciones en los niveles de dosis por encima del 2% en la dieta, se obtuvo nula evidencia de propiedades mutagénicas. (2)

### **2.1.9. CARCINOGENICIDAD.**

Para el estudio de carcinogenicidad se emplearon ratas tratadas con el carcinógeno N-etil-N-hidroxietil-nitrosamina (EHEN) a niveles de 0, 500 o 1000 ppm en la dieta basal por dos semanas. La mitad de las ratas de cada grupo recibieron  $\beta$ -ciclodextrina por vía subcutánea en una cantidad de 450 mg/Kg de peso corporal/día, durante 7 días. En las siguientes 29 semanas todas las ratas permanecieron sin tratamiento. El experimento terminó en la semana 32 y los animales fueron examinados principalmente a nivel renal.

Los resultados que se presentaron en las ratas tratadas con 500 y 1000 ppm EHEN en la dieta, el 0 % y 50 % respectivamente tenía tumor renal. En los grupos correspondientes que también recibían  $\beta$ -ciclodextrina vía subcutánea, los porcentajes con tumor renal fueron respectivamente 30 % y 100 %. Ningún tumor renal fue inducido por la inyección subcutánea de  $\beta$ -ciclodextrina en ratas no tratadas con EHEN. Todos los grupos tratados con  $\beta$ -ciclodextrina presentaron daño microcópico renal por vía subcutánea, mas no por vía oral.

Estos resultados indicaron que los cambios histológicos renales inducidos por administración parenteral de  $\beta$ -ciclodextrina puede ayudar en el desarrollo de tumores renales iniciados por EHEN. El desarrollo de adenocarcinoma renal transitable iniciado por EHEN en ratas puede ser promovido por  $\beta$ -ciclodextrina.

En un estudio de carcinogenicidad a largo tiempo sobre ratas alimentadas con un 3 % y 6 % de  $\beta$ -ciclodextrina por dos años, se presentó una diferencia significativa en el número de tumores entre el control y los grupos tratados. (2)

### **2.1.10. EFECTOS HEMOLÍTICOS.**

La administración parenteral de ciclodextrinas está restringida por su nefrotoxicidad y efectos hemolíticos. Cuando el fármaco está complejado los efectos hemolíticos son menores que al estar la ciclodextrina sola.

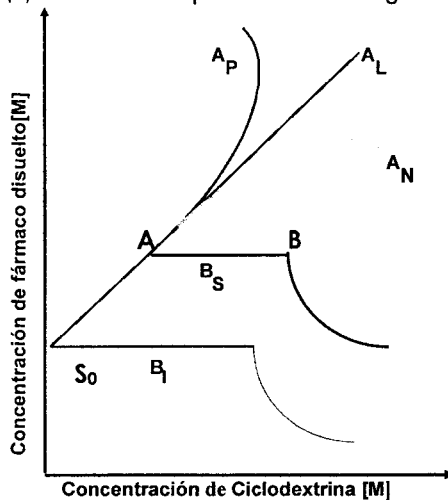
Se puede reducir efectivamente el efecto hemolítico de algunos fármacos mediante la complejación con ciclodextrinas. (2)

## 2.2. SOLUBILIDAD DE FASES.

Es una técnica utilizada para diferenciar que tipo de complejación se está llevando a cabo entre el fármaco y la ciclodextrina.

Se basa en observar el efecto del aumento de ciclodextrina sobre la solubilidad del fármaco manteniendo constante la cantidad de este. De esta manera puede observarse un gráfico en el cual el eje de las ordenadas se representa la solubilidad del fármaco y en el eje de las abscisas la concentración de ciclodextrina.

Esta técnica fue desarrollada por Higuchi y Connors (1965), y en forma esquemática se puede describir 5 tipos de comportamiento: tipo  $A_L$ , tipo  $A_P$ , tipo  $A_N$ , tipo  $B_S$  y tipo  $B_I$ , las cuales se presentan en la figura 8.



**Figura 8. Tipos de comportamiento en solubilidad de fases obtenidos por complejos fármaco-ciclodextrina.**

Las Isotermas tipo  $A_P$ ,  $A_L$  y  $A_N$  describen la formación de complejos muy solubles, donde el límite de solubilidad está determinada por la solubilidad de la ciclodextrina.

Las Isotermas tipo  $B_S$  representan la formación de complejo de limitada solubilidad.

Las isotermas tipo  $B_I$  indican la formación de complejo insoluble (1)

La razón por la que el diagrama de solubilidad de fase no parte del origen de las coordenadas es debido a que todos parten de la solubilidad intrínseca del fármaco ( $S_0$ ).

De acuerdo a sus isotermas de solubilidad un fármaco en un sistema de ciclodextrinas puede cambiar su solubilidad. Este cambio puede ser un incremento notorio, limitado a cierto nivel e inclusive disminuido.

Si solo se forma complejo disuelto la isoterma de solubilidad de fase es de tipo A y donde la solubilidad del complejo formado es limitada se trata de una isoterma de tipo B.

Una relación de tipo  $A_L$  o de tipo lineal es donde el complejo es de primer orden con respecto a la ciclodextrina y de primer u orden mayor con respecto al fármaco es decir se pueden formar complejos [Fármaco-Ciclodextrina] , [Fármaco<sub>2</sub>-Ciclodextrina] o [Fármaco<sub>3</sub>-Ciclodextrina].

Este proceso de acomplejación es la parte inicial de otros tipos de relación en las cuales a medida que se aumenta la cantidad de ciclodextrina se forma no solamente relaciones 1:1, sino que que al aumentar la cantidad de ciclodextrina se forman complejos adicionales, estos son complejos de segundo o mayor orden con respecto a la ciclodéxtrina y de primer orden con respecto al fármaco. Es decir complejos [Fármaco-Ciclodextrina<sub>2</sub>] o [Fármaco-Ciclodextrina<sub>3</sub>].

El resultado puede llevar a que estas nuevas relaciones de complejo sean mas solubles que la original 1:1 resultando en acomplejación del tipo  $A_P$  o positivo o que estas sean menos solubles resultando en acomplejación del tipo  $A_N$  o negativo.

El tipo  $B_S$  se define como de solubilidad limitada, donde los complejos formados tienen una solubilidad que está apenas por arriba de la solubilidad intrínseca que se denota en una meseta hasta formar complejos de diverso orden definitivamente insolubles.

El punto A representa el límite de solubilidad del complejo formado, cualquier adición de ciclodextrina al sistema generará precipitación del complejo microcristalino. Alcanzando el punto B indica la formación de un complejo aún menos soluble.

Es de interés obtener relaciones fármaco-ciclodextrina del tipo lineales, ya que tanto las lineales positivas y negativas en un determinado rango de concentración de ciclodextrina son lineales 1:1 en solución. (14)

### 2.3. CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA.

El sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB) o por sus siglas en inglés (BSC) fue introducida por la Food, Drug Administration (FDA) para controlar los productos farmacéuticos orales. En este sistema los fármacos están divididos en 4 clases basados en la capacidad de un fármaco a ser permeable a través de membranas biológicas y su solubilidad acuosa. A continuación se presenta esta clasificación en la siguiente Tabla IV.

**Tabla IV. Sistema de clasificación biofarmacéutica de fármacos (SCB).**

CLASE I	CLASE II
<i>Alta solubilidad Alta permeabilidad</i>	<i>Baja solubilidad Alta permeabilidad</i>
CLASE III	CLASE IV
<i>Alta solubilidad Baja permeabilidad</i>	<i>Baja solubilidad Baja permeabilidad</i>

En este sistema un determinado fármaco es considerado "alta solubilidad" cuando la dosis más alta a administrar es soluble en  $\leq 250$  mL de medio acuoso considerando todo el rango de pH entre 1 a 7.5, y "alta permeabilidad" cuando la absorción de una dosis de fármaco administrada en solución es absorbida en el cuerpo humano en una extensión  $\geq 90$  % basado en el balance de masa o relacionado a una dosis de referencia intravenosa. Para tabletas de liberación inmediata se debe disolver una cantidad  $\geq 85$  % de lo expresado en la etiqueta dentro de 30 min.

De acuerdo a este sistema la clase I comprende fármacos solubles en agua y que también son bien absorbidos desde el tracto gastrointestinal. Para formas farmacéuticas de liberación inmediata la velocidad de absorción será controlada por la velocidad de vaciamiento gástrico. Poseen una alta biodisponibilidad a través de una administración oral. Sin embargo, para asegurar una gran constante de biodisponibilidad la velocidad de disolución debe ser relativamente rápida (por encima del 85 % de disolución en 15 min). (6)

La clase II comprenden fármacos insolubles en agua, los cuales al ser disueltos son bien absorbidos desde el tracto gastrointestinal. La velocidad de disolución *in vivo* es usualmente el paso limitante en la absorción del fármaco. Comúnmente los fármacos de esta clase tienen variaciones en su absorción debido a los numerosos efectos que ejerce la formulación y las variables *in vivo* que pueden afectar el perfil de disolución. Varias técnicas de formulación son aplicadas para



compensar la insolubilidad del fármaco y su consecuente limitada disolución. Estas incluyen formulación de la forma sólida amorfa, nanopartículas, adición de surfactantes, formación de sales y acomplejación. Mediante tales técnicas el formulador trata de mover los fármacos de clase II a clase I sin cambiar la capacidad intrínseca de las moléculas del fármaco para ser permeables a través de las biomembranas.

La clase III comprenden fármacos solubles en agua que no penetran fácilmente las biomembranas. Para estos fármacos el paso limitante para su absorción es su permeabilidad. La inclusión de excipientes mejoradores de la absorción en sus formulaciones puede mejorar su biodisponibilidad.

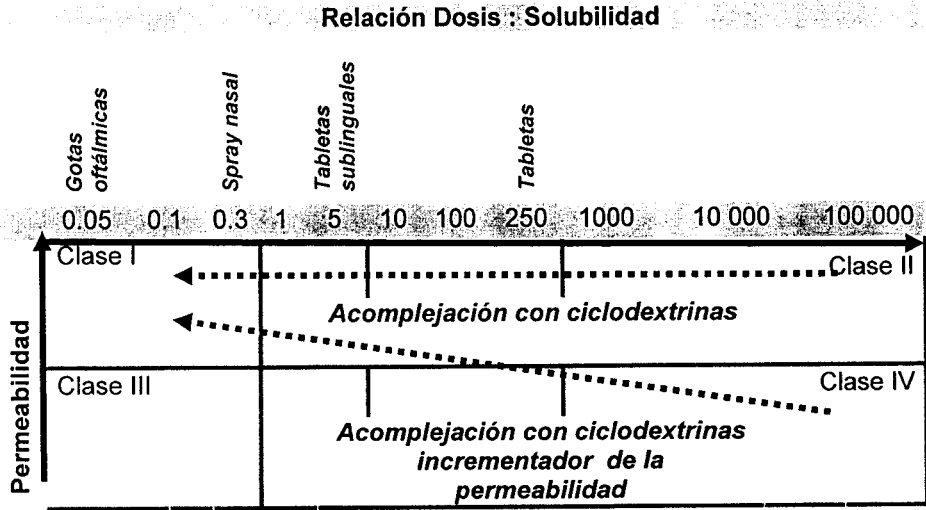
La clase IV comprenden los fármacos que son insolubles en agua y cuando son solubilizados no penetran fácilmente las biomembranas. Estos fármacos son difíciles de formular por vía oral.(6)

Un fármaco que se encuentra en la clase I cuando se formula como tableta oral puede ser de clase II cuando se formula como spray nasal. Así vemos que el SCB que fue originalmente desarrollado para formas de dosificación orales pueden ser aplicados a otros tipos de formulaciones. Para esto se maneja el término D:S o relación dosis:solubilidad y requerimientos de disolución específicos. Esta relación se ejemplifica en la Tabla V.

**Tabla V. Relaciones Dosis:Solubilidad aproximadas (D:S) y requerimientos de disolución para algunas formulaciones farmacéuticas.**

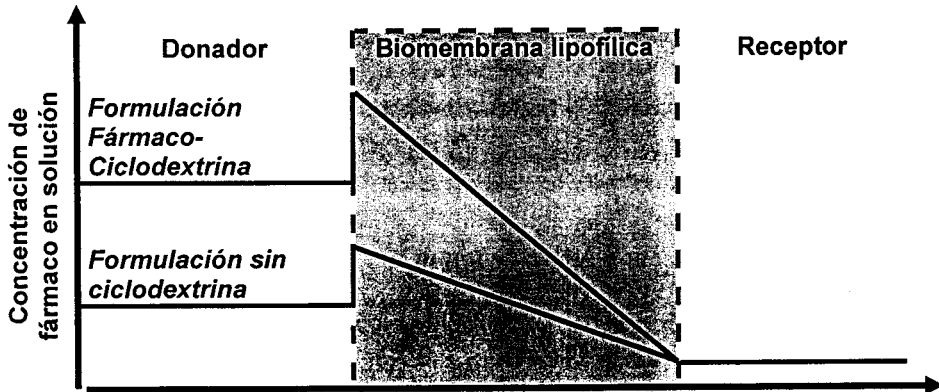
<b>FORMULACION DEL FÁRMACO</b>	<b>D:S</b>	<b>RANGO DE pH</b>	<b>REQUERIMIENTO DE DISOLUCIÓN</b>
<i>Tabletas orales convencionales</i>	$\leq 250 \text{ mL}$	<i>1 a 7.5</i>	$\geq 90\%$ dentro de 30 min
<i>Tabletas sublinguales</i>	$\leq 5 \text{ mL}$	<i>2 a 7.5</i>	$\sim 100\%$ dentro de 1 min.
<i>Tabletas vaginales</i>	$\leq 5 \text{ mL}$	<i>3.5 a 4.9</i>	-
<i>Fármacos de liberación pulmonar</i>	$\leq 0.5 \text{ mL}$	<i>6 a 7.6</i>	<i>Solución</i>
<i>Spray nasal acuoso</i>	$\leq 0.3 \text{ mL}$	<i>5 a 8.5</i>	<i>Solución</i>
<i>Solución oftálmica acuosa</i>	$\leq 0.05 \text{ mL}$	<i>6.6 a 9</i>	<i>Solución</i>

Con el uso de ciclodextrinas se ejerce un efecto sobre la formulación logrando llevar un fármaco clase II o clase IV a Clase I, mediante un diagrama (figura 9) estos cambios de formulación permite elegir a las ciclodextrinas como modificadores.



**Figura 9. Efecto de la formulación y la complejación con ciclodextrinas sobre la clasificación biofarmacéutica de un fármaco.**

Además del efecto sobre la solubilidad del fármaco, con una "apropiada formulación" se mejora la liberación del mismo a través de las biomembranas al incrementar la disponibilidad del fármaco y aumentando el gradiente de concentración y consecuentemente su flujo sobre las membranas. Tal efecto se representa en la figura 10 (6):



**Figura 10. Efecto de la complejación de un fármaco con ciclodextrinas sobre la permeabilidad a través de biomembranas.**

Considerando que aún los cristales más pequeños (micronizados) consisten en billones de moléculas, la complejación molecular con ciclodextrinas facilita la

disolución en gran medida ya que aísla y dispersa las moléculas de fármaco una de otra en una matriz de oligosacárido que se desintegra fácilmente bajo condiciones fisiológicas. Por lo tanto, concentraciones significativas pueden ser alcanzadas con fármacos pobremente solubles en agua, desde que el disolvente, ácido gástrico o jugo intestinal no desintegra el arreglo cristalino de la molécula del fármaco, únicamente el cristal del complejo fármaco:ciclodextrina. (2)

Hay que tomar en cuenta que la ciclodextrina libre y el complejo fármaco-ciclodextrina no penetran con facilidad las biomembranas y solo una pequeña lo hace. Por lo tanto, el exceso de ciclodextrina en la formulación puede reducir la biodisponibilidad del fármaco.

Existen restricciones para incluir ciclodextrinas en formulaciones orales sólidas. La densidad aumenta entre 4 a 10 veces por lo que es apropiado para fármacos de alta potencia con buenas propiedades de complejación. Por ejemplo para tabletas de 800 mg se puede complejar entre 70 y 175 mg de fármaco.

La máxima concentración de ciclodextrina en una solución isotónica está entre el 20 y 25 % a excepción de unos cuantos fármacos, la formulación parenteral no es práctica.

Para apreciar el efecto de las ciclodextrinas sobre el SCB se trataron tres fármacos: *carbamazepina*, *17  $\beta$ -estradiol* e *hidrocortisona*, cada una de ellas se complejaron con  *$\beta$ -ciclodextrina* y con un derivado *HP- $\beta$ -ciclodextrina* (2-hidroxiopropil- $\beta$ -ciclodextrina). La eficiencia de la complejación está expresada en términos de mg de fármaco por g de complejo seco al estado sólido (*mg/g de complejo*). La solubilidad está expresada como la concentración de fármaco (S) en agua saturada con el fármaco complejado a temperatura ambiente (*mg/mL*). La relación dosis:solubilidad se expresa como *D:S*.

Los resultados del estudio anterior se presentan en la Tabla VI (6).

**Tabla VI. Efecto de la acomplejación con ciclodextrinas sobre la clasificación biofarmacéutica (SCB).**

<b>PROPIEDADES</b>	<b>Carbamazepina</b>	<b>17 <math>\beta</math>-estradiol</b>	<b>Hidrocortisona</b>
Dosis (mg)	100	0.3	20
Solubilidad (mg/mL)	0.1	0.01	0.4
Absorción desde el tracto gastrointestinal	75-80	Bien absorbido <sup>a</sup>	Bien absorbido
Relación Dosis:Solubilidad $\beta$ -ciclodextrina	1 000	30	50
mg/g de complejo	124	220	252
S (mg/mL)	6.5	0.24	2.5
Nuevo D:S	15.4	1.3	8.0
HP- $\beta$ -ciclodextrina			
mg/g de complejo	70	51	129
S (mg/mL)	$\geq 17$	$\geq 20$	$\geq 20$
Nuevo D:S	5.9	0.015	1.0

<sup>a</sup> 17  $\beta$ -estradiol es bien absorbido pero tiene metabolismo de primer paso.

En el caso de la carbamazepina aún siendo la relación D:S de la  $\beta$ -ciclodextrina menor que con HP- $\beta$ -ciclodextrina (D:S de 15.4 y 5.9 mL respectivamente), ambos previenen el efecto limitante de la disolución para su absorción.

El 17  $\beta$ -estradiol se considera un fármaco de clase I; sin embargo, debido al efecto del primer paso, su biodisponibilidad vía oral es cercana al 5 %. Si se formula como tableta sublingual de rápida disolución, se puede eliminar el efecto de primer paso, pero en este caso se considera como fármaco clase II. El resultado de la acomplejación con ambas ciclodextrinas hace posible la liberación sistémica del 17  $\beta$ -estradiol en una tableta sublingual ya que las nuevas relaciones D:S son menores a 5 mL.

La hidrocortisona está comprendida en los fármacos clase I cuando se administra oralmente. Sin embargo, en una crema tipo O/W con una concentración de 10 mg/mL, donde una pequeña cantidad de aceite está dispersa en una fase homogénea acuosa, solo una fracción pequeña de fármaco estará en solución. La mayor parte del fármaco estará en la forma de suspensión (lo que traslada su clasificación SCB de Clase I a Clase II o inclusive IV cuando se administra tópicamente). A través de la acomplejación con ciclodextrinas es posible mejorar significativamente la liberación de hidrocortisona en una formulación tópica. (6)

## 2.4. MECANISMO DE LIBERACIÓN DEL FÁRMACO DESDE EL COMPLEJO DE INCLUSIÓN.

Para obtener la formulación más adecuada tomando como ventaja los complejos de inclusión a base de ciclodextrinas se requiere del entendimiento de la relación entre la solubilidad intrínseca del fármaco, la magnitud de la constante de acomplejación y los efectos de dilución.

La mayoría de los fármacos forman complejos 1:1 (M) con ciclodextrinas. Sobre la base de la estructura y propiedades del fármaco en particular como del tipo de ciclodextrina, complejos de mayor orden también son posibles.

La magnitud de la constante de acomplejación, K1:1 está definida por la ecuación siguiente:

$$K_{1:1} = \frac{[\text{FÁRMACO}]_{\text{acomplejado}}}{[\text{FÁRMACO}]_{\text{libre}} \cdot [\text{CICLODEXTRINA}]_{\text{libre}}}$$

Esta se encuentra en el rango de 0 a  $10^5 \text{ M}^{-1}$ , con 0 de valor el fármaco es incapaz de formar un complejo de inclusión y  $10^5 \text{ M}^{-1}$  esta cerca del valor máximo obtenido experimentalmente para un complejo de inclusión con fármaco.

Para ilustrar la relación entre la solubilidad intrínseca del fármaco, la magnitud de la constante de acomplejación y los efectos de dilución, un fármaco hipotético (P.M. 400) con una solubilidad intrínseca de  $2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$  y una  $K_{1:1}$  de  $1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  para su interacción con una ciclodextrina de ilimitada solubilidad será examinada. En presencia de ciclodextrina, la solubilidad del fármaco puede ser definida por la siguiente ecuación (11):

$$[\text{FÁRMACO}]_{\text{total}} = [\text{FÁRMACO}]_{\text{intrínseco}} + \frac{K_{1:1}[\text{FÁRMACO}]_{\text{intrínseco}}[\text{CICLODEXTRINA}]_{\text{total}}}{K_{1:1}[\text{FÁRMACO}]_{\text{intrínseco}} + 1}$$

Donde  $[\text{FÁRMACO}]_{\text{total}}$  representa la solubilidad total del fármaco,  $[\text{FÁRMACO}]_{\text{intrínseco}}$  representa la solubilidad intrínseca del fármaco en ausencia de ciclodextrina y  $[\text{CICLODEXTRINA}]_{\text{total}}$  representa la concentración molar total de la ciclodextrina en solución.

En la presencia de 0.1M de ciclodextrina, la solubilidad del fármaco debería ser de 8 mg/mL.

Una formulación inyectable conteniendo 40 mg de este fármaco en 5 mL de ciclodextrina 0.1M debería contener solamente 0.05 mg de fármaco libre o no acomplejado (0.125 %), mientras que los restantes 39.95 mg deberían estar bajo la forma de complejo. La relación entre fármaco libre y acomplejado cambiará cuando estos 5 mL de formulación sea inyectado vía intravenosa o por vía oral.

Por ejemplo, cuando esta formulación es inyectada a un sujeto de 70 Kg de peso con un volumen de plasma de cerca de 3.5 L, el total del fármaco debería ser de 0.0114 mg/mL ( $2.85 \times 10^{-5}$  M) y la concentración de ciclodextrina de  $1.43 \times 10^{-4}$  M. A estas concentraciones el porcentaje de fármaco libre debería ser del 43.9 % en balance continuo con la ciclodextrina.

Estos valores no reflejan la acomplejación del fármaco y la ciclodextrina con las proteínas plasmáticas, la permeabilidad del fármaco dentro de las células sanguíneas u otros tejidos y el desplazamiento competitivo del fármaco desde el complejo por componentes plasmáticos.

Si el fármaco tiene un mayor volumen de distribución ( $V_d$ ), esto promoverá una dilución posterior y un pequeño porcentaje permanecerá unido al complejo.(11)

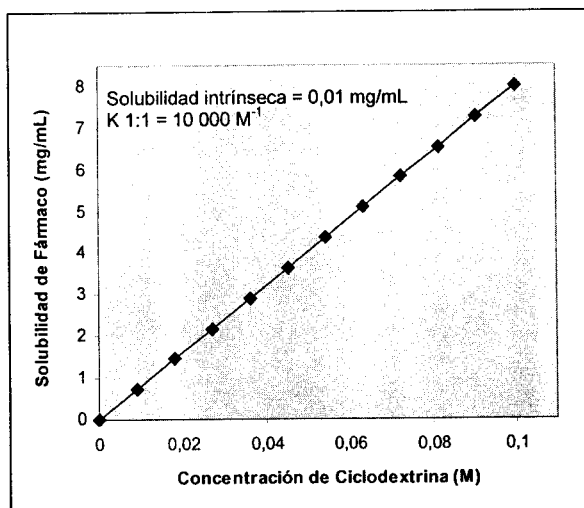
Uekama y colaboradores han cuantificado la fracción libre y la fracción unida de fármaco a ciclodextrina como una función de la concentración de fármaco, constante de unión, concentración de ciclodextrina y dilución.

La cinética de la unión de fármaco a ciclodextrina implica el establecimiento de un equilibrio de acomplejación con tiempos de vida media menores a 1 segundo. Por lo tanto, la cinética de disociación es generalmente más rápida que la mayoría de procesos fisiológicos.

Frinlink y colaboradores hallaron experimentalmente que solo pequeñas fracciones de fármaco permanecían unidas a la ciclodextrina en plasma *in vitro*. Este efecto se debió no solo a la dilución sino también a la competencia entre la unión a albumina del fármaco y la unión de la ciclodextrina al fármaco. También contribuyen a la baja fracción de fármaco unido a ciclodextrina, el desplazamiento de fármaco por agentes competitivos como colesterol plasmático.

La importancia de los cambios en la relación de fármaco libre y acomplejado en el caso de dilución de un fármaco poco soluble en agua en un complejo con ciclodextrina depende del comportamiento de solubilidad de fase del sistema.

Si el complejo fármaco-ciclodextrina resulta en una interacción molar 1:1, hay un incremento lineal en la solubilidad del fármaco con un incremento de la concentración de ciclodextrina como se observa en la figura 11.



**Figura 11. Solubilidad versus concentración de ciclodextrina para un fármaco hipotético (P.M. 400).**

Por lo tanto, la dilución de una solución verdadera de complejo fármaco-ciclodextrina no resultará en la precipitación del fármaco sin considerar así la extensión de la dilución.

En el ejemplo tomado donde la solución de 8 mg/mL fue diluida a 3.5 L, la concentración final de fármaco fue de  $1.14 \times 10^{-2}$  mg/mL, de la cual la concentración de fármaco libre fue de  $4.6 \times 10^{-3}$  mg/mL y la concentración del complejo fue de  $6.8 \times 10^{-3}$  mg/mL.

Es decir, los  $4.6 \times 10^{-3}$  mg/mL de fármaco libre es menor que la solubilidad intrínseca del fármaco que es de  $10^{-2}$  mg/mL y la precipitación del fármaco no ocurrirá.

Sin embargo, la precipitación del fármaco puede ocurrir en dilución, si existe una relación no lineal entre la solubilidad del fármaco y la concentración de ciclodextrina.

Como se observa en la figura 12, existe un incremento lineal en la solubilidad con un aumento de la concentración de ciclodextrina. (11)

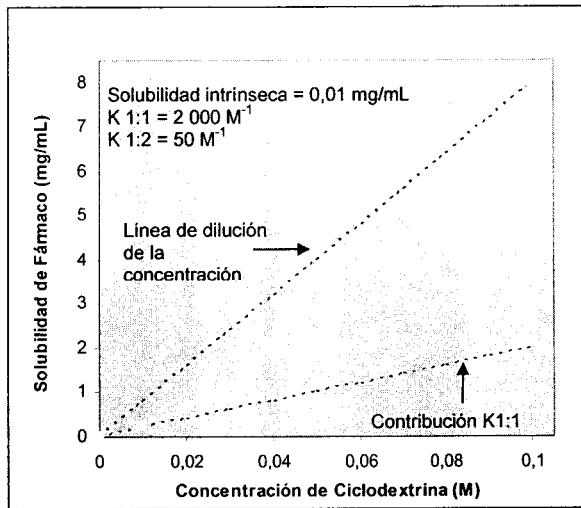


Figura 12. Solubilidad versus concentración de ciclodextrina para el caso hipotético del fármaco descrito.

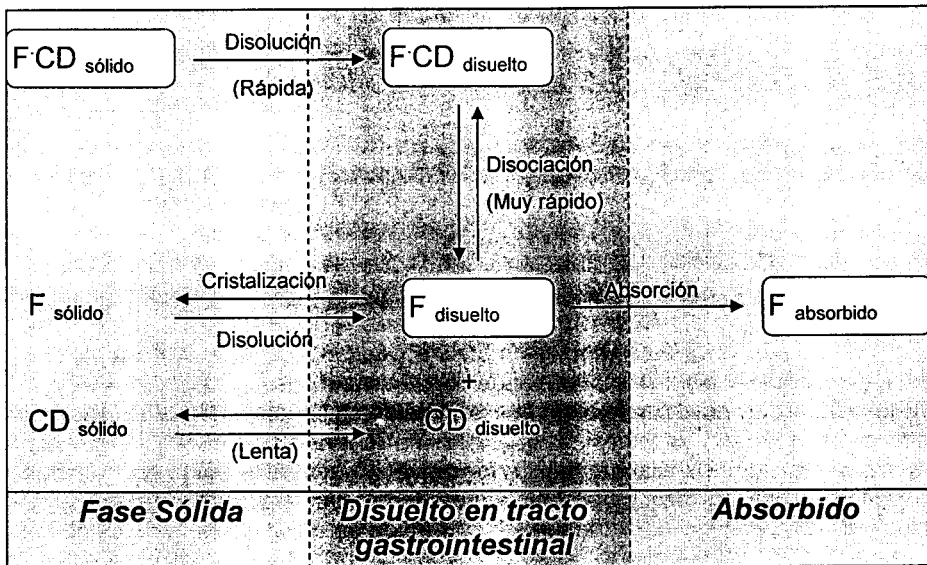
Si se asume que una solución de 8 mg/mL de un fármaco en 0.1M de ciclodextrina es diluida 1:5 dentro de un mini compartimiento, la concentración final de fármaco debería ser de 1.6 mg/mL mientras que la concentración de ciclodextrina debería ser  $2 \times 10^{-2}$  M. Según los datos de la figura 12, la solubilidad del fármaco en ciclodextrina  $2 \times 10^{-2}$  M es de solo 0.71mg/mL. Por lo tanto, la precipitación del fármaco en dilución puede ocurrir. La precipitación puede ocurrir en tales sistemas a cualquier dilución donde la solubilidad del fármaco en equilibrio es menor que la concentración de dilución a una concentración dada de ciclodextrina. Teóricamente esto puede ocurrir *in vivo* cuando tales soluciones son inyectadas vía intravenosa o por otras vías parenterales.(11).



## 2.5. DISTRIBUCIÓN DEL FÁRMACO ENTRE LAS FASES SÓLIDO/DISUELTO Y LIBRE/ACOMPLEJADO.

En soluciones acuosas el equilibrio disolución y disociación determinan simultáneamente la cantidad de fármaco disuelto sea en la forma libre o acomplejada. El grado de disociación del complejo depende de la constante de estabilidad y de las condiciones de concentración en la solución.

Al disolverse el complejo sólido, sus partículas rápidamente van hacia la solución, donde estas parcialmente sufren una rápida disociación. Si la concentración del fármaco libre (liberado por la disociación) sobrepasa su concentración de saturación, el exceso precipitará como un sólido microcristalino no acomplejado. Lo anterior se presenta en la figura 13.



**Figura 13. Proceso de disolución-disociación-absorción de un complejo fármaco-ciclodextrina (F-CD); fármaco (F) y ciclodextrina (CD).**

Independientemente de la relación complejo:agua o jugo gástrico, el equilibrio es alcanzado rápidamente, usualmente dentro de los 5 min posteriores de la disolución del complejo sólido.

Para ilustrar el equilibrio de algunos complejos calculados en diferentes volúmenes de agua, se presentan en la tabla VII.(2)

Tabla VII: Distribución de fármaco(%) entre la fase disuelta y sólida en diferentes volúmenes de agua (F:CD = 1:1). Complejo fármaco-ciclodextrina (F-CD); fármaco (F) y ciclodextrina (CD).

		Volumen de agua					
		1 mL		10 mL		100 mL	
Porcentaje de fármaco disuelto =		1 %		10 %		100 %	
Constante de estabilidad K (M <sup>-1</sup> )		F LIBRE+ F-CD		F LIBRE+ F-CD		F LIBRE+ F-CD	
		100	% disuelto	1	+ 1	10	+ 1
	% solido	98	+ -	89	+ -	-	+ -
500	% disuelto	1	+ 5	10	+ 5	95	+ 5
	% solido	94	+ -	85	+ -	-	+ -
1 000	% disuelto	1	+ 9	10	+ 9	92	+ 8
	% solido	90	+ -	81	+ -	-	+ -
10 000	% disuelto	1	+ 10	10	+ 50	62	+ 38
	% solido	9	+ 80	40	+ -	-	+ -

Como se observa en la tabla anterior, al llegar al equilibrio se encontrará en forma libre una cantidad significativa de fármaco disuelto.

El equilibrio de disociación del complejo puede ser movido en dirección de formación de complejo en fase acuosa mediante la adición de un exceso de ciclodextrina al sistema. Esta tendencia es obviamente muy fuerte para constantes de estabilidad muy grandes.

Si se administra oralmente un complejo sólido de fármaco:ciclodextrina pobremente soluble en agua, dos casos extremos pueden ocurrir. A valores bajos de constante de estabilidad, la concentración de saturación o solubilidad intrínseca del fármaco puede con facilidad ser alcanzada en el fluido gastrointestinal, y esto resulta en un altísimo nivel inicial en sangre comparado al fármaco libre.

En el caso contrario, con altos valores de constante de estabilidad donde el equilibrio de disociación del complejo es movido en dirección de formación de complejo, la concentración de fármaco libre capaz de ser absorbido es muy baja. (2)

Partiendo de que la absorción de ciclodextrina es insignificante esta no puede penetrar a la circulación, tanto en su forma libre o como complejo

fármaco:ciclodextrina. La baja concentración de fármaco libre sigue disminuyendo durante el proceso de absorción debido al aumento del exceso de ciclodextrina en fluido gastrointestinal. La velocidad de absorción, la cual es proporcional a la concentración de fármaco libre también disminuye.

Por lo tanto, la velocidad de absorción de fármacos puede ser acelerada o retardada mediante la manipulación apropiada del equilibrio de disociación del complejo fármaco:ciclodextrina y/o su solubilidad. (2)

## **2.6. CORRELACIÓN ENTRE ESTABILIDAD DEL COMPLEJO Y NIVELES EN SANGRE.**

Las diferencias entre las concentraciones de fármaco en sangre obtenidas después de la administración de fármaco libre o fármaco acomplejado, puede ser atribuida a las diferentes concentraciones de fármaco libre en el fluido gastrointestinal.

Estas concentraciones son controladas por la velocidad de disolución, la solubilidad y el equilibrio de disociación del complejo. La importancia del equilibrio de disociación en la determinación del fármaco libre o fármaco disuelto se observa en la figura 13.

La cantidad de fármaco disuelto determina el valor de fármaco absorbido por ejemplo para obtener un nivel en sangre deseable.

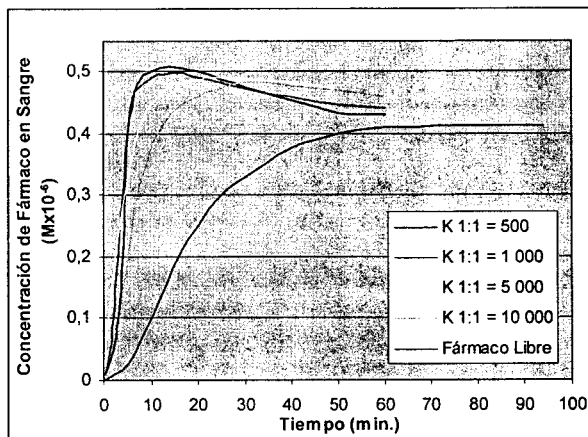
Para encontrar una correlación entre la constante de estabilidad del complejo y el nivel en sangre se debe tomar en cuenta las siguientes consideraciones:

- a) Únicamente las moléculas de fármaco libre disuelto pueden ser absorbidas desde el tracto gastrointestinal y penetrar en la circulación.
- b) Las ciclodextrinas no pueden ser absorbidas tanto en su forma libre como en su forma acomplejada.
- c) El mecanismo de absorción y la constante de velocidad (cinética de primer orden) no es modificada por la presencia de ciclodextrina.
- d) Desde que la ciclodextrina no puede penetrar a la circulación esta no afecta el proceso de eliminación.

La cantidad de fármaco disuelto libre depende de la constante de estabilidad, determinada (a temperatura corporal) por la ciclodextrina, el fármaco y el volumen de la fase líquida.(2)

En una simulación computarizada, manteniendo constantes los parámetros farmacocinéticos y fisicoquímicos del fármaco y variando únicamente la constante

de estabilidad del complejo, se pueden obtener diferentes curvas de concentración de fármaco en sangre. Se considera una relación molar fármaco:ciclodextrina 1:1. Lo cual se ejemplifica en la figura 14.



**Figura 14. Curvas de concentración de fármaco en sangre tras una administración oral de fármaco libre y sus complejos con ciclodextrinas con diferentes constantes de estabilidad.**

La altura y el tiempo necesario para lograr el pico de concentración de fármaco en sangre se presenta en la tabla VIII.

**Tabla VIII. Correlación entre la constante de estabilidad y el pico de concentración en sangre simulados por computadora.**

Constante de estabilidad $K (M^{-1})$	Pico de concentración de fármaco en sangre	
	Altura ( $M \times 10^{-6}$ )	Tiempo (min)
Fármaco libre	0.412	94
500	0.509	14
1 000	0.497	16
5 000	0.490	22
10 000	0.483	30

A constantes de estabilidad bajas el grado de disociación es alto y suficiente para asegurar una elevada concentración de fármaco libre en el fluido gastrointestinal,

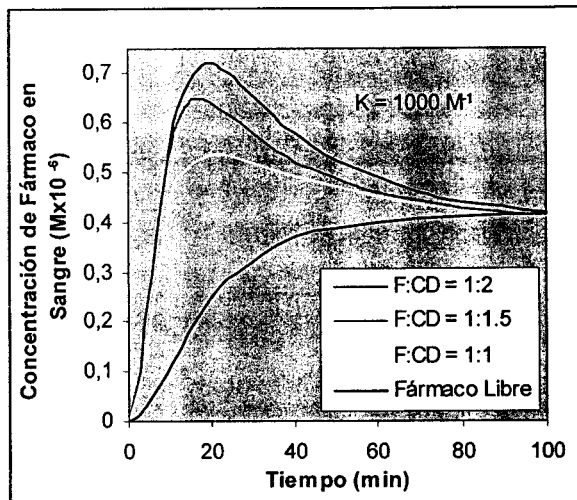
lo cual resulta en un rápido aumento en los niveles sanguíneos y un alto valor del pico.(2)

Con el aumento de la constante de estabilidad, el grado de disociación decrece, y una menor concentración de fármaco libre puede ser alcanzada en el fluido gastrointestinal. El nivel del pico en sangre se moverá hacia altos valores en la escala de tiempo y una significativa disminución de la altura del pico es observada.

En todos los casos, sin embargo, se puede esperar una mejora en la respuesta biológica comparado al fármaco libre.

La administración de un exceso de ciclodextrina junto con el complejo fármaco:ciclodextrina, el equilibrio de la disociación puede ser movido en dirección de elevados relaciones de fármaco:ciclodextrina en el fluido gastrointestinal.

Estos cambios tienen gran influencia en la forma y la altura del pico de la curva de concentración de fármaco en sangre, como se puede observar en la figura 15.



**Figura 15. Curva teórica de concentración de fármaco en sangre tras una administración de un fármaco libre o su complejo fármaco:ciclodextrina con ciclodextrina en exceso. Complejo fármaco-ciclodextrina (F-CD)**

La relación molar entre fármaco:ciclodextrina que se muestra en la tabla IX, representan la relación fármaco inicial total:ciclodextrina en el fluido gastrointestinal. Esto indica que a bajos valores de constante de estabilidad, la cantidad de exceso de ciclodextrina mejora la concentración de fármaco libre disuelto. Por lo tanto, niveles elevados de fármaco en sangre serán alcanzados en un corto periodo de tiempo. (2)

**Tabla IX. Efecto del exceso de ciclodextrina en el pico de la curva de concentración de fármaco en sangre simulados por computadora.**

<b>Constante de estabilidad <math>K (M^{-1})</math></b>	<b>Relación molar Fármaco:Ciclodextrina</b>	<b>Pico de concentración de fármaco en sangre</b>	
		<b>Altura (<math>M \times 10^{-6}</math>)</b>	<b>Tiempo (min)</b>
<i>Fármaco libre</i>	1:0	0.412	94
1 000	1:1	0.538	23
	1:1.5	0.652	18
	1:2	0.708	18
5 000	1:1	0.500	22
	1:2	0.492	35
10 000	1:1	0.483	30
	1:2	0.384	42

A valores elevados de constante de estabilidad, la disociación es marcadamente reprimida con la adición de un exceso de ciclodextrina. Disminuye la altura del pico de la curva de concentración de fármaco en sangre de esta manera aumenta el tiempo necesario para alcanzar el pico. En casos extremos un retardo puede ser obtenido.(2)

## **2.7. APLICACIONES FARMACÉUTICAS DE LAS CICLODEXTRINAS.**

Las ciclodextrinas pueden ser utilizadas en fármacos tanto para acomplejación como aditivos (acarreadores, diluentes, solubilizantes o excipientes en tabletas).

La formación de complejos de inclusión de un fármaco resulta en la modificación de sus propiedades físicas y químicas. Estas modificaciones son generalmente ventajosas:

- a) En la formulación de fármacos de administración oral.
  - o Compuesto líquidos pueden ser transformados en cristales apropiados para la fabricación de tabletas.

- Olores desagradables y algunos sabores pueden ser enmascarados por formación de complejo.
- La uniformidad de contenido de tabletas de dosis baja (alta potencia) es mejorada al tabletear complejos microcristalinos.
- Las ciclodextrinas y sus complejos son por lo general no higroscópicos.
- Alterar la velocidad de liberación de los fármacos.

b) Mejoramiento de la estabilidad física y química.

- Compuestos volátiles pueden ser estabilizados evitando pérdida por evaporación.
- La complejación con ciclodextrina protege compuestos oxidables al aire.
- La velocidad de descomposición, polimerización, reacciones autocatalíticas, sensibilidad a la luz, acción del jugo gástrico entre otras son considerablemente disminuidas.

c) Biodisponibilidad de fármacos pobremente solubles puede ser mejorada:

- La solubilidad en agua tanto como la velocidad de disolución de sustancias pobremente solubles puede ser incrementada.
- Después de la administración por vía oral de fármacos pobremente solubles, altos niveles plasmáticos pueden ser alcanzados si estos son complejados con ciclodextrinas; así mismo como una reducción de la dosis.
- Reduciendo la hidrofobicidad de fármacos por complejación de ciclodextrinas se mejora su absorción percutánea o rectal.

d) En formulaciones de fármacos líquidos tales como parenterales, gotas oftálmicas.

- Soluciones estables de fármacos insolubles pueden ser preparadas sin el uso de solventes orgánicos.
- Se puede reducir efectos secundarios, irritación local o reacciones hemolíticas.

e) Desintegrante de tabletas:

- Alta capacidad de hinchamiento de polímeros de ciclodextrinas han sido preparados, los cuales no son absorbibles o digeribles. Aplicándolos en pequeñas cantidades se alcanza un rápida desintegración de la tableta al solo contacto con el agua. (2)

## **2.8. REDUCCIÓN DE SABORES AMARGOS Y ASTRINGENTES.**

La modificación de sabores es de gran importancia en alimentos; sin embargo, muchos fármacos administrados oralmente tienen un sabor amargo o astringente. Esto puede ser un grave problema en preparaciones pediátricas.

Por ejemplo, las diferentes intensidades de sabor amargo del bromhidrato de dextrometorfano y dextrometorfano base acomplejados en formas sólida y en solución fueron comparados en humanos; 14 voluntarios participaron en la prueba sensorial. Los panelistas probaron las muestras en solución y en sólido en una prueba a doble ciego. Las intensidades de amargo del fármaco y sus complejos fueron evaluados tomando en cuenta la siguiente escala:

*0 = No tiene sabor amargo o muy leve sabor amargo.*

*1 = Leve sabor amargo.*

*2 = Sabor amargo.*

*3 = Sabor muy amargo.*

para asegurar una cantidad idéntica de dextrometorfano en las muestra de estudio, el fármaco libre fue diluido con almidón de maíz. Los resultados son mostrados en la tabla X. (2)



**Tabla X: Resultados de la prueba sensorial para el bromhidrato de dextrometorfano (Dm.HBr) y dextrometorfano base junto con sus complejos en forma sólida y en solución.**

N° Panelista	Polvo			Solución	
	Mezcla Dm.HBr:Almidón	Complejo Dm.HBr:β-CD	Complejo Dm.HBr:γ-CD	Solución Dm.HBr 2mg/mL	Complejo en Solución Dm.Base: β-CD
1	3	1	1	3	1
2	3	1	1	3	1
3	2	1	1	2	1
4	2	0	0	2	1
5	1	1	2	2	1
6	2	1	1	2	1
7	2	1	1	2	1
8	3	1	1	3	1
9	3	1	1	3	1
10	3	1	2	2	1
11	3	1	2	3	1
12	2	1	1	3	1
13	3	1	2	3	1
14	3	1	1	3	1
Promedio	2.50	0.92	1.12	2.57	1.0
Desviación estándar	0.39	0.07	0.31	0.24	0.0

De la tabla se concluye que existen diferencias significativas de sabor entre el fármaco y sus complejos tanto en solución como en estado sólido.(2)

### 2.9. EFECTO SOBRE LA ESTABILIDAD.

La acomplejación puede considerarse como una encapsulación molecular. La ciclodextrina protege, al menos en parte, a la molécula de fármaco incluida en su cavidad del ataque de diversas moléculas reactivas. La ciclodextrina puede aislar compuestos lábiles de un potencial medio corrosivo y de esta forma reducir o inclusive prevenir la hidrólisis, oxidación, rearreglo estérico, racemización (además de otras formas de isomerización), polimerización e inclusive descomposición enzimática de los fármacos.

Sin embargo, las ciclodextrinas pueden retardar, tener efecto no reactivo o acelerar la degradación del fármaco. En este sentido, las ciclodextrina tienen efecto similar a la catálisis o inhibición enzimática.(10) En el caso del metronidazol se ha observado un efecto inhibitorio positivo, retardando su degradación (1)

## 2.10. PRECONDICIONES PARA FORMACIÓN DE COMPLEJO.

### 2.10.1. COMPATIBILIDAD GEOMÉTRICA.

Las ciclodextrinas son capaces de formar complejos de inclusión con compuestos que poseen un tamaño compatible con las dimensiones de su cavidad. Tal como se muestra en la tabla XI.

**Tabla XI. Capacidad de formación de complejos con ciclodextrinas de algunas moléculas.**

<b>Compuesto</b>	<b><math>\alpha</math>-Ciclodextrina</b>	<b><math>\beta</math>-ciclodextrina</b>	<b><math>\gamma</math>-Ciclodextrina</b>
<i>Ácido propiónico</i>	+	-	-
<i>Ácido butírico</i>	+	+	-
<i>Bifenil</i>	+	+	+
<i>Ciclohexano</i>	+	+	+
<i>Naftaleno</i>	-	+	+
<i>Antraceno</i>	-	-	+
<i>Cloro libre</i>	+	-	-
<i>Bromo libre</i>	+	+	-
<i>Iodo libre</i>	+	+	+

### 2.10.2. POLARIDAD.

Moléculas fuertemente hidrofílicas (muy solubles en agua), extensamente hidratadas y grupos ionizados son no acomplejables o lo son débilmente. Solo moléculas con menor polaridad que el agua pueden acomplejarse.

Un problema sería la fuerza de cohesión entre moléculas que impiden su separación. Una medida de esta fuerza es su punto de fusión. Cuando el punto de fusión es mayor a 250 °C, por lo general no se puede preparar un complejo estable.

### 2.10.3. MEDIO.

En primer lugar, ningún disolvente es necesario para formar un complejo, a excepción si el compuesto es no sublimable. En este caso la acomplejación se lleva a cabo en presencia de agua.

Por razones de tiempo se pueden formar complejos en solución. Solo compuestos poco solubles serán acomplejados. (2)

El uso de solventes orgánicos está restringido por su toxicidad a excepción de algunos de pequeño tamaño molecular y fuertemente hidrofílicos (etanol, glicerinas, etilenglicol, etc) o como coadyuvantes del secado.

Las estructuras de los complejos de inclusión difieren significativamente en el estado cristalino y en solución.

En solución el compuesto reside en la cavidad y todo el complejo es rodeado por una cápsula de solvatación por las moléculas de agua.

En estado cristalino, los compuestos no solamente pueden estar en la cavidad de la ciclodextrina, también pueden estar en las cavidades intermoleculares formadas por el arreglo cristalino, o a manera de sandwich entre dos complejos. Algunas ciclodextrinas permanecen vacías o incluyendo moléculas de agua.

El pH de la solución juega un papel importante. A valores cercanos al pKa de la molécula este se encuentra en un 50 % como forma no ionizada y la eficiencia de la complejación es mejorada en gran medida. Se debe evitar la ionización.(2)

## **2.11. PREPARACIÓN DEL COMPLEJO.**

Se pueden preparar en solución, en suspensión, por amasado, por fusión y por mezcla física.

### **2.11.1. PREPARACIÓN EN SUSPENSIÓN.**

La ciclodextrina no necesita ser disuelta completamente; con agitación de la molécula a acomplejar en una suspensión acuosa de ciclodextrina la acomplejación es completa entre 2 y 24 h a T.A. El complejo al estado sólido se obtiene luego de filtrar y secar. La ultrasonificación mejora la producción de complejo. Este método es el más indicado para procesos industriales. El producto sólido se liofiliza para obtener el complejo purificado. A este polvo se le determina la cantidad de compuesto contenido por gramo de complejo para obtener la eficiencia de acomplejación.

### **2.11.2. ANÁLISIS DE COMPLEJO FÁRMACO-CICLODEXTRINA.**

Por lo general, el producto sólido obtenido es una mezcla de complejo, fármaco libre y ciclodextrina vacía o hidratada. Por lo tanto se debe determinar:

- Contenido de de fármaco del producto.
- Efectividad de la acomplejación.
- Eficiencia de la acomplejación.

Según la naturaleza del fármaco se pueden usar los métodos analíticos rutinarios tales como UV, CG, CLAE.

En el caso de determinación por UV, el complejo primero tiene que ser disuelto y luego disociado. El complejo tiene que ser disuelto en una solución de etanol al 50

% y luego diluido con etanol puro. Por ejemplo, en etanol puro la  $\beta$ -ciclodextrina es insoluble. En el caso de complejos Alta estables o pobremente solubles se recomienda disolver el producto en 0.5 a 1mL de dimetilformamida (DMF), diluirlo posteriormente con etanol al 50 % y seguir como se indicó anteriormente. (5)

La cantidad determinada de fármaco puede estar total o parcialmente acomplejada o totalmente acomplejada. Esto puede ser estimado aplicando métodos termoanalíticos: termogravimetría (TG), calorimetría diferencial de barrido (CDB).(21)

### **2.11.3. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (CDB).**

La mayoría de sucesos termodinámicos se acompañan con una pérdida de calor o requieren el agregado de calor de una fuente externa para tener lugar. El suceso puede ser una transición de fase, la pérdida de un componente volátil o una reacción química. Cada uno de estos procesos puede ser seguido termodinámicamente por medio de la observación del cambio de temperatura programada registrándose la energía liberada o absorbida con respecto al tiempo.

Se diferencia de la termogravimetría solamente en que los recipientes de la muestra y la referencia no están contiguos y son calentados por separado, por medio de espirales individuales que son calentadas o enfriadas con la misma velocidad. Termómetros con resistencia de platino monitorean la temperatura de los recipientes de la muestra y referencia y electrónicamente mantienen constante la temperatura en los dos recipientes.

Si se produce un suceso termodinámico ya sea endotérmico (fusión) o exotérmico (cristalización), los requerimientos de potencia para que las espirales mantengan una temperatura constante van a diferir. Esta diferencia de potencia se grafica en función de la temperatura registrada por el dispositivo programador. A diferencia de la termogravimetría la cantidad de calor introducida en el sistema es exactamente equivalente a la cantidad de calor absorbida o liberada durante una transición específica (energía de transición). (22)

Este método nos puede ayudar a ver la proporción entre fármaco libre y en estado de acomplejación.

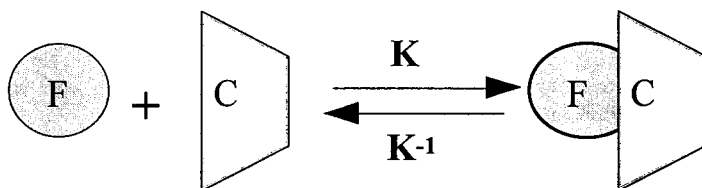
Por medio de la sublimación en vacío se puede recuperar el fármaco sublimable mientras que el fármaco acomplejado se encuentra firmemente unido y no sublima.(2)

## 2.12. ESTEQUIOMETRÍA DE LOS COMPLEJOS FÁRMACO-CICLODEXTRINA.

De acuerdo a consideraciones tanto teóricas como experimentales, los complejos de ciclodextrinas en estado puro están caracterizados por bien definidas y estrictas constantes fármaco:ciclodextrina. Sin embargo, realmente muchos factores modifican la composición ideal de un complejo.

En solución, el equilibrio asociación/disociación determina la relación fármaco libre / fármaco acomplejado y ciclodextrina libre / ciclodextrina acomplejada.

Si una molécula de fármaco (F) forma un complejo con una molécula de ciclodextrina (C), se forma un complejo 1:1, tal como se presenta en la figura 16.



**Figura 16. Acomplejación fármaco:ciclodextrina 1:1.**

De acuerdo a diversas propiedades tales como el tamaño y forma del fármaco no solo en complejos con relación 1:1 (como se presenta en la figura), sino también 1:2, 2:1 o 2:2 pueden co-existir en solución. Esto dependerá también de la concentración de ciclodextrina y/o fármaco. Según se aumenta las concentraciones de ciclodextrina producirá complejos 1:2 y 2:2. En forma general, para soluciones acuosas donde no se usa concentraciones extremas el complejo 1:1 es el predominante.

Durante la cristalización un efecto adicional deteriorante es la cristalización simultánea de un complejo ciclodextrina-agua. En la práctica, por lo tanto una composición cuya relación molar exacta sea 1:1 (o 0.5:1 o 1:2) es raramente obtenida. La ciclodextrina hidratada y/o el fármaco están presentes como impurezas. Desde que la cristalización de la ciclodextrina y sus complejos de inclusión están influenciados de manera diferente por sustancias que afectan la hidratación, la estequiometría del complejo cristalizado puede ser mejorado.

Al someter el precipitado sólido a sublimación al vacío, el fármaco libre es removido. En el residuo (complejo fármaco:ciclodextrina) la relación se mantiene y es independiente del exceso original de fármaco.

La estequiometría de complejos puros es solo determinada por la naturaleza del fármaco y el tamaño de la cavidad de la ciclodextrina o sus sustituyentes. Preparar un complejo de calidad técnica, con idéntica tecnología, el contenido de lotes sucesivos variará entre el 0.1 a 0.2%.<sup>(2)</sup>

## **2.13. METRONIDAZOL.**

El metronidazol es un fármaco de la familia de los nitroimidazoles.

### **2.13.1. PROPIEDADES FÍSICAS DEL METRONIDAZOL.**

El metronidazol es un polvo cristalino blanco a amarillo claro, estable al aire, se oscurece al exponerlo a la luz.

El metronidazol es ligeramente soluble en agua, alcohol y muy ligeramente soluble en éter dietílico, acetona y cloruro de metileno. (8)

El punto de fusión del metronidazol se encuentra entre 159 °C y 163 °C. (9)

El metronidazol se puede identificar usando patrones mediante métodos como calorimetría de barrido diferencial (CDB), termogravimetría (TG), Infrarrojo (IR), Espectrofotometría de masas (EM), espectrofotometría ultravioleta (UV), cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE). (8), (9), (13).

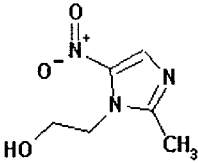
El metronidazol no reporta polimorfos. (19)

### **2.13.2. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL METRONIDAZOL.**

El Metronidazol fue sintetizado en 1955 por Nakumura y la demostración de sus características antiprotozoarias por Horie en 1956 condujo a la síntesis química del nitro imidazol. El número de la patente en los Estados Unidos es 29440601 y registrada en 1960 por Laboratorios Rhone Poulenc. (16)

En la tabla XII se presentan algunas de sus propiedades químicas. (18)

Tabla XII. Algunas propiedades químicas del metronidazol.

Denominación internacional	Metronidazole [USAN: BAN: INN: JAN]
Fórmula estructural	
Fórmula molecular	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub> N <sub>3</sub>
P.M.	171.16
Número CAS	443-48-1
Sinónimos	2-metil-1-etanol-5-nitroimidazol
pKa	2.6
Solubilidad en agua (mg/mL a 25°C)	10.5
Solubilidad en metanol (mg/mL a 25°C)	32.5
Solubilidad en etanol (mg/mL a 25°C)	15.4
Solubilidad en cloroformo (mg/mL a 25°C)	3.8
Solubilidad en heptano (mg/mL a 25°C)	<0.01

Químicamente, el metronidazol pertenece al grupo de los antibacterianos derivados del imidazol.

Algunos nombres comerciales se presentan en la tabla XIII.

Tabla XIII. Nombres comerciales del metronidazol.

País	Nombre comercial
Argentina	Debretol, Nalox, Tranoxa, Tricofin
España	Tricowas B
México	Flagyl, Flagenase, Nidrozal, Vertisal (Suspensión, tabletas y cápsulas). Servizol (Polvo para suspensión extemporánea).

En México, la forma farmacéutica por vía oral está en las presentaciones como:

1. Suspensión oral de 50 mg/mL y 25 mg/mL de metronidazol. Y polvo para suspensión extemporánea de 40 mg/mL de metronidazol.

El principio activo usado es el benzoil metronidazol equivalente a metronidazol base. Este es un profármaco que en medio acuoso libera el fármaco libre metronidazol más ácido benzoico. Es menos amargo que el metronidazol base.

2. Tabletillas y cápsulas de 500mg y 250mg de metronidazol base. (17)

### **2.13.3. INDICACIONES.**

Se clasifica como: antibacteriano sistémico; antiprotozoario y antihelmíntico.

Profilaxis de infecciones perioperatorias y en el tratamiento de infecciones bacterianas anaerobias, amebiasis y tricomoniasis.

Para el tratamiento de vaginitis por *Gardnerella vaginalis*, *Hemophilus vaginalis* y ciertas infecciones protozoarias anaerobias, enfermedad intestinal inflamatoria, helmintiasis (solamente dracunculiasis) y otros estados.

En el tratamiento de amebiasis invasiva, el metronidazol se debe administrar simultánea o secuencialmente con un amebicida luminal (por ejemplo, yodoquinol, paromomicina, tetraciclina).

El metronidazol no es efectivo contra: anaerobios facultativos, estreptococos anaerobios, aerobios obligados, actinomicetos o *Candida albicans*.

El metronidazol por vía oral es usado como un sensibilizador de radiación en el tratamiento de tumores malignos.

### **2.13.4. MECANISMO DE ACCIÓN.**

Es un antibacteriano sistémico, antiprotozoario, microbicida; activo contra la mayoría de las bacterias anaerobias obligadas y protozoos mediante la reducción química intracelular que se lleva a cabo por mecanismos únicos del metabolismo anaerobio que toman rápidamente del medio el metronidazol no ionizado.

El metronidazol reducido, es citotóxico, pero de vida media corta, interacciona con el DNA para producir una pérdida de la estructura helicoidal, rotura de la cadena e inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos y eventualmente la muerte celular.

### **2.13.5. TOXICOLOGÍA.**

Los órganos blanco principales de la toxicidad del metronidazol son el aparato gastrointestinal y el sistema nervioso. Los efectos clínicos en caso de toxicidad aguda se observan sobre el aparato gastrointestinal. La toxicidad crónica causa daño neurológico.

Después de la infusión oral o intravenosa los efectos siguientes pueden ocurrir: Sabor metálico en la boca, náusea, vómito, anorexia, dolor de cabeza y vértigo.

No se debe ingerir alcohol durante el tratamiento (Síndrome del Disulfiram). (23)



### **2.13.6. SEGURIDAD.**

Uso profiláctico vía intravenosa como infusión solo se limita al día de la operación: Dosis usual, 15 mg / kg de peso, infundida en 30 a 60 min y completado aproximadamente una h antes de la cirugía. Luego, 7.5 mg /Kg infundido en 30 a 60 min entre 6 a 12 h después de la dosis inicial. Tiempo de administración: 1 h.

La administración de la dosis inicial una hora antes de la cirugía permite que se alcancen niveles adecuados del fármaco en el plasma y tejidos al tiempo de la incisión inicial. El metronidazol por vía intravenosa puede ser administrado, si es necesario, a intervalos de 6 h para mantener niveles efectivos de fármaco.

Por vía oral hasta 4 g por 24 h.

### **2.13.7. CARCINOGENICIDAD.**

No hay datos disponibles en seres humanos sobre carcinogenicidad. Los estudios en ratones y ratas divulgaron que es carcinógeno en roedores después de altas dosis orales. Por vía oral en ratones se encontró un DL<sub>50</sub> de 3000 mg/Kg.; por vía oral en ratas se encontró un DL<sub>50</sub> de 3800 mg/Kg. y por vía subcutánea en ratas se encontró un DL<sub>50</sub> de 3640 mg/Kg.

### **2.13.8. TERATOGENICIDAD.**

En el embarazo, se le considera como fármaco categoría: clase B.

Estudios en animales no han demostrado que el fármaco produzca defectos de nacimiento en el feto. Sin embargo, el uso de metronidazol en el tratamiento de la tricomoniasis no se recomienda durante el primer trimestre. Si se utiliza el metronidazol durante el segundo y tercer trimestre para tratar la tricomoniasis, se recomienda limitar su uso a aquellos pacientes cuyos síntomas no se controlan mediante el tratamiento paliativo local. Tampoco se debe usar el ciclo de terapia de un día, ya que da lugar a concentraciones séricas fetales y maternas mayores.

En período de lactancia, el metronidazol se excreta en la leche materna; las concentraciones son similares a las que se encuentran en el plasma materno. No se recomienda su uso en madres lactantes, ya que algunos estudios realizados en animales han demostrado que el metronidazol es carcinogénico y puede producir efectos adversos al lactante. Sin embargo, si es necesaria su utilización, durante el tratamiento, la leche materna debe ser extraída y desechada. La lactancia se puede reanudar en un período de 24 a 48 h después de completar el tratamiento.

En pediatría, no se han realizado estudios adecuados y bien controlados para usarlo como un antibacteriano.

No se reporta ninguna dosis mortal en seres humanos. (23)

### **2.13.9. MUTAGENICIDAD.**

El metronidazol es mutágeno en roedores en altas dosis por periodos prolongados. Es también mutágeno en las bacterias.

### **2.13.10. FARMACOCINÉTICA.**

El metronidazol es administrado vía oral, intravenosa, intravaginal y tópica. Su absorción vía oral es excelente. La biodisponibilidad es de al menos 90 %. Los alimentos disminuyen en una pequeña extensión sus absorción.

Por vía intravaginal se absorbe sistémicamente, pero el pico de concentración sérica es menor en un 2% comparado con el nivel alcanzado por 500 mg vía oral. Por vía tópica es mínimamente absorbido. Los niveles séricos detectables son aproximadamente 100 veces menores que el pico de concentración de una dosis oral de 250 mg.

Tanto la vía intravenosa como la oral producen una amplia distribución en la mayoría de tejidos y fluidos. Luego de la administración oral, las concentraciones máximas se observan entre 1 y 3 h. Las concentraciones plasmáticas son proporcionales a la dosis administrada.

La administración oral de 250 mg, 500 mg ó 2 g producen concentraciones plasmáticas máximas 4.6 a 6.5 ug/mL, 11.5 a 13 ug/mL, y 30 a 45 ug/mL, respectivamente.

Los estudios de biodisponibilidad no presentan diferencias importantes entre hombres y mujeres. Sin embargo los niveles plasmáticos en varones generalmente están disminuidos debido a la diferencia de peso.

La disposición de metronidazol en el cuerpo es similar para las formas farmacéuticas intravenosa y oral. Menos del 20 % del metronidazol circulante está unido a proteínas plasmáticas.(23)

El metronidazol aparece en saliva, bilis, líquido seminal, huesos, hígado y abscesos hepáticos, pulmonares y secreciones vaginales; también cruza la placenta y la barrera hematoencefálica, aparece además en el líquido cefalorraquídeo. Las concentraciones en la leche son similares a las plasmáticas y las concentraciones bactericidas se encuentran también en la pus de los abscesos hepáticos.

Se metaboliza en el hígado (30 a 60 %), principalmente mediante reacciones de hidroxilación, oxidación de la cadena lateral y conjugación con glucurónico.

La vida media de eliminación es 6 a 12 h. El aclaramiento renal es aproximadamente 10 mL /min. / 1.73 m<sup>2</sup>.

El principal metabolito es el 2-hidroximetil metronidazol. Dentro de las primeras 24 h aproximadamente el 20 % del metronidazol está inalterado y sus metabolitos son excretados en la orina y el 3 % en heces. Luego de 5 días, la cantidad excretada por la orina aumenta aproximadamente al 77% y por las heces al 13%.

Tanto el metronidazol como sus metabolitos se eliminan por hemodiálisis. Ambos poseen actividad bactericida contra la mayoría de las cepas de bacteria anaeróbica y tricomonocida.

La disminución en la función renal no altera la farmacocinética de una dosis única. El aclaramiento plasmático se ve disminuido en pacientes con disminución de la función hepática. (23)

#### **2.14. ACOMPLEJACIÓN DE METRONIDAZOL Y BENZOIL METRONIDAZOL CON $\beta$ -CICLODEXTRINA.**

Existe un efecto inhibitorio sobre la descomposición del metronidazol en medio acuoso cuando está acomplejado con  $\beta$ -ciclodextrina. Es decir, hay un efecto protector dado que no en todos los casos la acomplejación incurre en un efecto inhibitorio también se da el caso contrario (que catalice las reacciones de degradación en medio acuoso). (1)

El producto del amasado de 40 % de metronidazol con  $\beta$ -ciclodextrina, el cual es una mezcla de complejo y fármaco libre, presenta mejores propiedades de disolución, en comparación con los que se obtienen por otros métodos (spray-drying, freeze-drying, co-cristalización). (2).

Se han reportado estudios sobre el benzoil metronidazol acomplejado con  $\beta$ -ciclodextrina. Indica una supresión de la transición de su forma anhidra a monohidratada en medio acuoso cuando esta se encuentra acomplejada, esto ayuda a su estabilidad ya que a 8 °C esta forma monohidratada tiende a formar cristales que luego tienen problemas de redispersabilidad. Es decir mejora la estabilidad física, protege reacciones fotolíticas y disminuye la velocidad de hidrólisis. (3)

El benzoil metronidazol se ha encontrado que forma un complejo 1:1 con  $\beta$ -ciclodextrina en solución, pero forma un complejo 2:3 en estado sólido. (3)

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

El sabor del metronidazol es muy amargo, esto es un problema de aceptabilidad. El mejoramiento del sabor está restringido a manejar las formas líquidas como suspensión formulada con benzoil metronidazol y edulcorantes. El benzoil metronidazol es un profármaco del metronidazol y debido a su pobre solubilidad en agua y su menor palatabilidad el éster benzoico de metronidazol es usado clínicamente en suspensiones acuosas vía oral. La biodisponibilidad del metronidazol está restringida por la disolución ya que se absorbe rápidamente. En el mercado las suspensiones de metronidazol y polvos para reconstitución extemporánea están formuladas en base a benzoil metronidazol.

No existe en el mercado mexicano una formulación en suspensión de metronidazol como metronidazol base. En países como Canadá y Estados Unidos, no existe oficialmente el metronidazol como suspensión. La práctica cotidiana en hospitales es moler tabletas o usar el contenido de cápsulas y suspenderlas en vehículos comerciales tal como Ora-Plus® de Laboratorios Paddock, USA. La estabilidad de estas suspensiones listas para usar está sustentada por 60 días. (4)

Por lo tanto, el desarrollo de una formulación oral líquida que conlleve el uso del producto de la complejación del metronidazol con ciclodextrinas puede ofrecer mejores características organolépticas, además de mejorar su solubilidad y estabilidad en una forma farmacéutica líquida. (2)

## **4.OBJETIVOS**

### **4.1. OBJETIVO GENERAL.**

- Obtener un complejo en el estado sólido de metronidazol/ $\gamma$ -ciclodextrina.

### **4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- Caracterizar el metronidazol y la  $\gamma$ -ciclodextrina por calorimetría diferencial de barrido (CDB), solubilidad y características organolépticas.
- Determinar la interacción mediante el análisis CDB de la mezcla física de metronidazol y  $\gamma$ -ciclodextrina.
- Determinar la acomplejación del metronidazol/  $\gamma$ -ciclodextrina por el método de agitación tomando muestras a intervalos de tiempo y analizando por CDB.
- Calcular la constante de acomplejación en estado sólido (K).
- Obtener las propiedades fisicoquímicas y organolépticas del complejo en el estado sólido metronidazol/  $\gamma$ -ciclodextrina: solubilidad y sabor

## **5. HIPÓTESIS.**

Al obtener un complejo metronidazol- $\gamma$ -ciclodextrina en estado sólido se mejorará la solubilidad del fármaco así como su propiedades organolépticas (sabor).

## 6. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS.

### 6.1. EQUIPOS.

La tabla XIV indica la marca y modelo de los equipos usados.

**Tabla XIV. Descripción de los equipos.**

<b>EQUIPO</b>	<b>MARCA</b>	<b>MODELO</b>
<i>Calorímetro diferencial de barrido</i>	Shimadzu (JAPÓN)	CDB 60
<i>Potenciómetro</i>	Beckman (USA)	690pH
<i>Espectrofómeto UV/Vis</i>	Agilent (USA)	Agilent 8453
<i>Agitador magnético</i>	Ika Works Inc (USA)	RCT basic
<i>Balanza analítica</i>	Mettler Toledo (USA)	AX205
<i>Termobalanza</i>	Mettler Toledo(USA)	HR73
<i>Ultrasonido</i>	Cavitador (ITALIA)	CAV03
<i>Equipo de baño de agua</i>	Novatech (MÉXICO)	BMA
<i>Balanza analítica</i>	Mettler Toledo (USA)	ME11
<i>Estufa</i>	Binder (ALEMANIA)	ED23

### 6.2. MATERIALES.

La relación de materiales de laboratorio usados se lista en la tabla XV.

**Tabla XV. Relación de materiales de laboratorio utilizados.**

<b>MATERIALES</b>
<i>Matraces volumétricos 1 L y 100 mL</i>
<i>Pipetas 1 mL y 10 mL</i>
<i>Vasos de vidrio 1L</i>
<i>Placa petri</i>
<i>Cronómetro</i>
<i>Tubos de ensayo</i>
<i>Gradillas</i>
<i>Crisoles de aluminio del CDB</i>
<i>Cubre crisoles de aluminio del CDB</i>
<i>Magnetos para agitación</i>
<i>Pinza para calorimetría</i>
<i>Mortero</i>
<i>Platillos de aluminio de la termobalanza</i>

### 6.3. REACTIVOS.

Los reactivos utilizados se detallan en la tabla XVI.

Tabla XVI. Relación de reactivos utilizados.

REACTIVO	FABRICANTE	LOTE
<i>Metronidazol base</i>	Laboratorios CAFET (MÉXICO)	96015204
<i>γ-ciclodextrina</i>	Global Chemical (ALEMANIA)	7674
<i>Ácido cítrico</i>	Fluka (USA)	456284/1
<i>Hidróxido de sodio</i>	Merck (ALEMANIA)	H45325585
<i>Etanol</i>	Merk (ALEMANIA)	K31482680
<i>Ácido sulfúrico</i>	J.T Baker (USA)	9681-05
<i>Metanol</i>	Burdick & jackson (USA)	CL430
<i>Agua Purificada</i>	Millipore (USA)	Mili-Q

## **7. METODOLOGÍA.**

### **7.1. CARACTERIZACIÓN DEL METRONIDAZOL.**

#### **7.1.1. ANÁLISIS POR CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO.**

##### **A. De la muestra:**

Se colocó entre 2 a 5 mg de polvo en un crisol de aluminio para muestras no volátiles. Se pesó y registró el peso de la muestra. Se colocó el cubre crisol de aluminio sobre el crisol conteniendo la muestra. Se selló el crisol colocando la muestra cubierta en el platillo del sellador.

##### **B. Del calorímetro diferencial de barrido:**

Las condiciones de análisis fueron las siguientes:

- Velocidad de calentamiento de 5 °C/min.
- Temperatura de Inicio de corrida a 50 °C.
- Temperatura de término de corrida a 400 °C.
- Atmósfera de nitrógeno.
- Flujo de nitrógeno a 25 mL/min.
- Muestra en crisol de aluminio sellado.

Se colocó usando una pinza la muestra en el horno del equipo Shimadzu DSC60. Se cubrió con la tapa del horno y se cerró la tapa deslizable que protege el horno. Se dio inicio a la corrida. Una vez finalizada la corrida luego de alcanzar la temperatura de término seleccionada, se dejó que le equipo realizara su programa automático de enfriamiento y se retiró la muestra cuando el indicador de temperatura del equipo indicaba 30 °C.

#### **7.1.2. SOLUBILIDAD EN AGUA.**

La prueba se hizo por duplicado.

Se pesaron las cantidades de metronidazol señaladas en la tabla XVII en tubos de ensayo a los que se adicionó un volumen constante de 10 mL de agua purificada por tubo. Se taparon los tubos de ensayo. Se colocaron al ultrasonido por 4 min. Se colocaron en una gradilla y se puso en agitación por 24 h en un baño de agua graduado a 25 °C. Al fin del tiempo señalado se observaron cada uno de los tubos. Se tomó como solubilidad el último tubo que quedó totalmente homogéneo, de acuerdo a un método modificado de Higuchi y Connors (14).

En la tabla XVII se representa la cantidad de metronidazol y la concentración empleada para la obtención de su solubilidad en agua. Se reporta a 25 °C como temperatura estándar.



**Tabla XVII. Cantidad y concentración de metronidazol para la determinación de solubilidad en agua.**

<b>Tubo</b>	<b>Metronidazol (g)</b>	<b>Agua purificada (mL)</b>	<b>Concentración (mg/mL)*</b>
1	0.0100	10	1
2	0.0200	10	2
3	0.0300	10	3
4	0.0400	10	4
5	0.0500	10	5
6	0.0600	10	6
7	0.0700	10	7
8	0.0800	10	8
9	0.0900	10	9
10	0.1000	10	10
11	0.1100	10	11
12	0.1200	10	12
13	0.1300	10	13
14	0.1400	10	14
15	0.1500	10	15
16	0.1600	10	16
17	0.1700	10	17
18	0.1800	10	18
19	0.1900	10	19
20	0.2000	10	20

\* 25°C

## **7.2. CARACTERIZACIÓN DE LA $\gamma$ -CICLODEXTRINA.**

### **7.2.1. ANÁLISIS POR CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO.**

Se procedió como en 7.1.1.

### **7.3. COMPATIBILIDAD DEL METRONIDAZOL CON $\gamma$ -CICLODEXTRINA.**

Se pesó 1 g de metronidazol base. Se pesó 1 g de  $\gamma$ -ciclodextrina. Se mezclaron ambos polvos en un vial con agitación manual y se procedió como en 7.1.1.

### **7.4. ACOMPLEJACIÓN DE METRONIDAZOL/ $\gamma$ -CICLODEXTRINA POR EL METODO DE AGITACIÓN EN SUSPENSIÓN.**

#### **A. Medio: Solución hidroalcohólica con amortiguador de citratos pH 2.6.**

Se pesó 20 g de ácido cítrico y se disolvió en 1 L de agua purificada. Se pesó 4 g de NaOH y se disolvió en 10 mL de agua purificada. Se midió el pH y

conductividad de la solución de ácido cítrico ( $C_6H_8O_7$ ). Se ajustó el pH de la solución a 2.4 con la solución de NaOH adicionándola gota a gota. A 700 mL de la solución amortiguadora, se adicionó 300mL de etanol. Se midió nuevamente el pH y la conductividad. Se tapó la solución.

#### **B. Metronidazol.**

Se pesó 17.115 g de metronidazol base equivalente a 0.100 mol.

#### **C. $\gamma$ -ciclodextrina.**

Se pesó 150 g de  $\gamma$ -ciclodextrina equivalente a 0.115 mol.

#### **D. Del proceso de complejación**

Se colocó en un vaso de vidrio de 1 L el metronidazol y la  $\gamma$ -ciclodextrina ya pesados. Se adicionó 500 mL de solución amortiguadora de citratos pH 2.6.

Se colocó un magneto, se tapó el beaker con una placa petri y la agitación se llevó a nivel 7. Se inició el control del tiempo con un cronómetro. Se tomó una muestra a 1, 18 y 24 h.

#### **E. Del tratamiento de la muestra**

Se tomó la muestra usando una espátula. La suspensión recolectada se colocó sobre un platillo de aluminio de la termobalanza. Se secó en la termobalanza programada a 60 °C por 30 min. El polvo obtenido se recolectó del platillo y se procedió a su molienda en mortero hasta obtener un polvo fino. El polvo recolectado se procedió a sus análisis por CDB como se indica en 7.1.1.

### **7.5. DETERMINAR LAS PROPIEDADES DEL COMPLEJO METRONIDAZOL/ $\gamma$ -CICLODEXTRINA.**

#### **7.5.1. SOLUBILIDAD.**

Se trató la muestra sólida recolectada luego de 24 h tal como se indica a continuación:

Se colocó la suspensión recolectada sobre una placa petri de vidrio. Se secó en estufa 60 °C por 4 h. El polvo obtenido fue molido en mortero hasta obtener un polvo fino. Se procedió como se indica en 7.1.2 para obtener la solubilidad teniendo en cuenta los datos presentados en la tabla XVIII.

**Tabla XVIII. Cantidad de complejo y concentración de metronidazol para la determinación de solubilidad en agua.**

Tubo	Complejo metronidazol: $\gamma$ -ciclodextrina (g)	Agua purificada pH 5.35 (mL)	Concentración (mg metronidazol/mL)*
1	0.1	10	0.696
2	0.115	10	0.8
3	0.130	10	0.905
4	0.145	10	1.009
5	0.160	10	1.114
6	0.175	10	1.218
7	0.190	10	1.322
8	0.205	10	1.427
9	0.220	10	1.531
10	0.235	10	1.636
11	0.250	10	1.74
12	0.265	10	1.844
13	0.280	10	1.945
14	0.295	10	2.053
15	0.310	10	2.158

\* 25°C

**7.5.2. CONSTANTE DE ACOMPLEJACIÓN.**

En la muestra el peso total será igual a la suma del peso del metronidazol libre (MTZ<sub>LIBRE</sub>), peso de la  $\gamma$ -ciclodextrina libre (CD<sub>LIBRE</sub>), peso del metronidazol acomplejado (MTZ<sub>ACOMPLEJADO</sub>) y peso de la  $\gamma$ -ciclodextrina acomplejada (CD<sub>ACOMPLEJADO</sub>).

$$\text{PESO TOTAL} = \text{MTZ}_{\text{LIBRE}} + \text{CD}_{\text{LIBRE}} + \text{MTZ}_{\text{ACOMPLEJADO}} + \text{CD}_{\text{ACOMPLEJADO}}$$

La constante de acomplejación K, se obtendrá a partir de la siguiente ecuación.

$$K \text{ 1:1} = \frac{\text{MTZ}_{\text{ACOMPLEJADO}}}{\text{MTZ}_{\text{LIBRE}} * \text{CD}_{\text{LIBRE}}}$$

Ecuación 1

### 7.5.2.1. CONTENIDO DE METRONIDAZOL TOTAL.

El metronidazol total es igual a la cantidad de metronidazol libre más metronidazol acomplejado.

$$\text{MTZ TOTAL} = \text{MTZ LIBRE} + \text{MTZ ACOMPLEJADO}$$

Se pesó una cantidad exacta de complejo metronidazol:γ-ciclodextrina (aproximadamente 1.5 g). Se colocó en un matraz volumétrico de 1 L. Se disolvió llevándolo a volumen con una solución de ácido sulfúrico 0.1N en metanol. Se tomó una alícuota de 10 mL de la solución anterior y se colocó en un matraz volumétrico de 100 mL. Se llevó a volumen con solución de ácido sulfúrico 0.1 N en metanol. Se midió la absorbancia a 274 nm.

Se pesó una cantidad exacta de metronidazol (aproximadamente 200 mg) Se colocó en un matraz volumétrico de 100 mL. Se disolvió llevándolo a volumen con una solución de ácido sulfúrico 0.1 N en metanol. Se tomó una alícuota de 1 mL de la solución anterior y se colocó en un matraz volumétrico de 100 mL. Se llevó a volumen con solución de ácido sulfúrico 0.1 N en metanol. Se midió la absorbancia a 274 nm.

Se obtiene el contenido de metronidazol en la muestra utilizando la siguiente ecuación.

$$\text{mg}_{\text{metronidazol}} / \text{g}_{\text{complejo}} = \frac{\text{Peso de estándar (mg)} \times \text{absorbancia de la muestra} \times \text{Factor de dilución}}{\text{absorbancia del estándar} \times \text{Peso de muestra (g)}}$$

Ecuación 2

### 7.5.2.2. CONTENIDO DE METRONIDAZOL LIBRE.

El contenido de metronidazol libre se obtuvo a partir de los datos obtenidos por CDB midiendo la cantidad de energía que absorbe en mJ en su punto de fusión correspondiente.

En la muestra del complejo metronidazol-γ-ciclodextrina se obtuvo la cantidad de calor absorbido por el metronidazol libre en su punto de fusión.

Se calcula mediante la ecuación 3.

$$\text{Moles de MTZ}_{\text{LIBRE}} = \frac{\text{mJ de MTZ}_{\text{LIBRE}} \cdot \text{moles de MTZ}_{\text{solo}}}{\text{mJ de MTZ}_{\text{solo}}}$$

Ecuación 3

### 7.5.2.3. CONTENIDO DE METRONIDAZOL ACOMPLEJADO.

El contenido de metronidazol acomplejado se obtuvo a partir de la diferencia entre la cantidad de metronidazol total y la cantidad de metronidazol libre. Se ejemplifica en la ecuación 4.

$$\text{MTZ}_{\text{ACOMPLEJADO}} = \text{MTZ}_{\text{TOTAL}} - \text{MTZ}_{\text{LIBRE}}$$

Ecuación 4

### 7.5.2.4. CONTENIDO DE CICLODEXTRINA ACOMPLEJADA.

El contenido de ciclodextrina acomplejada se obtuvo a partir de la relación molar teórica 1:1 entre el metronidazol y la  $\gamma$ -ciclodextrina.

### 7.5.2.5. CONTENIDO DE CICLODEXTRINA LIBRE.

El contenido de ciclodextrina libre se obtuvo a partir de la ecuación 5.

$$\text{CD}_{\text{LIBRE}} = \text{PESO TOTAL} - \text{MTZ}_{\text{LIBRE}} - \text{MTZ}_{\text{ACOMPLEJADO}} - \text{CD}_{\text{ACOMPLEJADO}}$$

Ecuación 5

## 7.6. SABOR.

Se preparó una solución de complejo metronidazol: $\gamma$ -ciclodextrina equivalente a 50 mg/mL de metronidazol en agua. Se comparó el sabor de la solución de complejo metronidazol: $\gamma$ -ciclodextrina con una suspensión de 50 mg/mL de metronidazol en agua.

## **8. DISCUSIÓN Y RESULTADOS.**

### **8.1. CARACTERIZACIÓN DEL METRONIDAZOL.**

Se analizó una muestra de 5.62 mg de metronidazol base ( $3.28 \times 10^{-2}$  mol) (P.M. 171.5 g/mol). (Se observa en el anexo figura A).

Se observa un pico endotérmico que inicia a 158.29 °C y termina a 165.74 °C; el máximo fue alcanzado a 161.77 °C y la cantidad de calor absorbido fue -903.08 mJ. Este pico representa la fusión del metronidazol, el cual reporta un punto de fusión entre 159 °C a 163 °C.(9)

La literatura no reporta la existencia de polimorfos para el metronidazol. En la muestra no se encuentra evidencia de algún polimorfo.

Luego de cambiar de fase el sistema sigue absorbiendo energía produciendo la descomposición de la molécula. Esto se aprecia en la formación de dos picos endotérmicos a 223.09 °C y 233.03 °C. Por encima de los 244.63 °C el sistema se mantiene constante no hay absorción ni liberación de la energía.

La forma de la curva fue inclinada debido a lo bajo de la velocidad de calentamiento (5 °C/min.) lo que permite a la muestra estar continuamente absorbiendo calor del sistema. Nos permitió tener una resolución de picos que no se podrían percibir a mayores velocidades de calentamiento.

### **8.2. CARACTERIZACIÓN DE LA $\gamma$ -CICLODEXTRINA.**

Se analizó una muestra de 3.75 mg de  $\gamma$ -ciclodextrina (P.M. 1297 g/mol). (Se observa en el anexo figura B).

Por encima de los 100 °C la  $\gamma$ -ciclodextrina pierde su contenido de agua.

La descomposición de la  $\gamma$ -ciclodextrina empieza por arriba de los 250 °C. No se observa un pico definido en esta área.

Se observa un pico endotérmico que empieza a 293.19 °C y termina a 302.93 °C con un máximo a 298.67 °C. Este pico representa la fusión de la  $\gamma$ -ciclodextrina que ocurre cerca de los 300 °C.

Finalmente se observa un pico endotérmico que empieza a 329.24 °C y termina a 342.27 °C con un pico máximo a 338.82 °C. Este pico representa la carbonización de la  $\gamma$ -ciclodextrina ocurre por arriba de los 300 °C.

### 8.3. MEZCLA FÍSICA.

Se analizó una muestra de 3.22 mg de mezcla física del metronidazol- $\gamma$ -ciclodextrina (1:1). (Se observa en el anexo figura C).

En la mezcla física del metronidazol- $\gamma$ -ciclodextrina (1:1) se observa la suma de las dos curvas de las sustancias puras.

En primer lugar se observa la aparición de un pico endotérmico que inicia a 159.31 °C y termina a 164.88 °C; el máximo fue alcanzado a 161.78 °C, el mismo que tiene una desviación de +0.01°C del pico hallado para el metronidazol solo (161.77 °C). Por lo tanto se considera correspondiente al metronidazol. La cantidad de calor absorbido fue de -192.39 mJ.

Después del cambio de fase del metronidazol al alcanzar su punto de fusión, se formó un pequeño pico exotérmico el cual sugiere la formación de complejo. Esto es característico en mezclas físicas de fármaco-ciclodextrina. Al avanzar el proceso de complejación no se observa este pequeño pico; la existencia del complejo se da por la desaparición o disminución del pico de metronidazol.(2)

Luego se observa un pico endotérmico a 236.68 °C que inicia a 234.74 °C y termina a 251.78 °C. Este pico tiene una desviación de +3.65 °C del pico correspondiente a la descomposición del metronidazol (233.03 °C). Por lo tanto este pico indica la descomposición del metronidazol.

A continuación se observa un pico endotérmico a 276.38 °C que inicia a 274.21 °C y termina a 276.49 °C. Este pico indica la descomposición de la  $\gamma$ -ciclodextrina que ocurre por arriba de los 250 °C.

Al analizar la zona entre los 295.08 °C y 301.95 °C se encuentra un pequeño pico endotérmico a 295.08 °C. Este pico tiene una desviación de -3.59 °C del pico correspondiente a la fusión de  $\gamma$ -ciclodextrina(298.67 °C). Por lo tanto se considera correspondiente a la fusión de  $\gamma$ -ciclodextrina.

#### 8.3.1. CONTENIDO DE METRONIDAZOL LIBRE EN LA MEZCLA FÍSICA.

El contenido de metronidazol libre se calculó mediante la ecuación 3.

$$\text{Moles de MTZ}_{\text{LIBRE}} = \frac{\text{mJ de MTZ}_{\text{LIBRE}} \cdot \text{moles de MTZ}_{\text{solo}}}{\text{mJ de MTZ}_{\text{solo}}}$$

Los datos se presentan en la tabla XIX.

**Tabla XIX. Valores obtenidos de los termogramas de las figuras A y C (anexo).**

mJ de MTZ <sub>LIBRE</sub>	-192.39 mJ
moles de MTZ <sub>solo</sub>	$3.28 \times 10^{-2}$ mol
mJ de MTZ <sub>solo</sub>	-903.08 mJ

La cantidad de metronidazol libre en la muestra fue de 1.197 mg ( $7 \times 10^{-3}$  mol). Es evidente un efecto acomplejante aún en estado sólido. Esto indica que el 37.17 % de la mezcla física fue metronidazol libre. Si no hubiese tal efecto en la práctica debería encontrarse alrededor del 50 % de fármaco.

#### **8.4. MUESTRA CON 1 h DE AGITACIÓN.**

Se analizó una muestra de 2.54 mg de peso. (Se observa en el anexo figura D).

Se encuentra un pequeño pico endotérmico que inicia a 158.38 °C y termina a 161.21 °C; el máximo fue alcanzado a 160.22 °C. Presenta una desviación de -0.55 °C del pico hallado para el metronidazol solo (160.77 °C). Por lo tanto se considera correspondiente al metronidazol. La cantidad de calor absorbido fue de -2.37 mJ.

Se encuentra un pico que inicia a 265.80 °C y termina a 296.10 °C; el máximo fue alcanzado a 290.17 °C, con una desviación de -8.5 °C del pico correspondiente a la fusión de  $\gamma$ -ciclodextrina (298.67 °C). Por lo tanto se considera correspondiente a la fusión de  $\gamma$ -ciclodextrina.

##### **8.4.1. CONTENIDO DE METRONIDAZOL LIBRE A 1 h DE AGITACIÓN.**

El contenido de metronidazol libre se calculó mediante la ecuación 3.

$$\text{Moles de MTZ}_{\text{LIBRE}} = \frac{\text{mJ de MTZ}_{\text{LIBRE}} \cdot \text{moles de MTZ}_{\text{solo}}}{\text{mJ de MTZ}_{\text{solo}}}$$

Los datos se presentan en la tabla XX.

**Tabla XX. Valores obtenidos de los termogramas de las figuras A y D (anexo).**

mJ de MTZ <sub>LIBRE</sub>	-2.37 mJ
moles de MTZ <sub>solo</sub>	$3.28 \times 10^{-2}$ mol
mJ de MTZ <sub>solo</sub>	-903.08 mJ



La cantidad de metronidazol libre en la muestra fue de 0.015 mg ( $8.5 \times 10^{-5}$  mol). Este valor representa el 0.59% en peso de la muestra.

### 8.5. MUESTRA CON 18 h DE AGITACIÓN.

Se analizó una muestra de 3.94 mg de peso. (Se observa en el anexo figura E).

Se encuentra un pequeño pico endotérmico que inicia a 159.13 °C y termina a 166.63 °C; el máximo fue alcanzado a 166.05 °C, con una desviación de +5.28 °C del pico hallado para el metronidazol solo (160.7 °C). Por lo tanto este pico se considera correspondiente al metronidazol. La cantidad de calor absorbido fue de -1.49 mJ.

Luego se observa un pico endotérmico a 263.61 °C que inicia a 236.53 °C y termina a 266.62 °C. Este pico indica la descomposición de la  $\gamma$ -ciclodextrina que ocurre por arriba de los 250 °C.

#### 8.5.1. CONTENIDO DE METRONIDAZOL LIBRE A 18 h DE AGITACIÓN.

El contenido de metronidazol libre se calculó mediante la ecuación 3.

$$\text{Moles de MTZ}_{\text{LIBRE}} = \frac{\text{mJ de MTZ}_{\text{LIBRE}} \cdot \text{moles de MTZ}_{\text{solo}}}{\text{mJ de MTZ}_{\text{solo}}}$$

Los datos se presentan en la tabla XXI.

**Tabla XXI. Valores obtenidos de los termogramas de las figuras A y E (anexo).**

mJ de MTZ <sub>LIBRE</sub>	-1.49 mJ
moles de MTZ <sub>solo</sub>	$3.28 \times 10^{-2}$ mol
mJ de MTZ <sub>solo</sub>	-903.08 mJ

La cantidad de metronidazol libre en la muestra fue de 0.009 mg ( $5.4 \times 10^{-5}$  mol). Esto indica que el 0.22 % de la muestra es metronidazol libre.

### 8.6. MUESTRA CON 24 h DE AGITACIÓN.

Se analizó una muestra de 3.74 mg de peso. (Se observa en el anexo figura F).

Se encuentra un pequeño pico endotérmico que inicia a 157.01 °C y termina a 166.41°C; el máximo fue alcanzado a 164.92 °C, con una desviación de +4.15 °C del pico hallado para el metronidazol solo (160.77 °C). Por lo tanto se considera correspondiente al metronidazol. La cantidad de calor absorbido fue de -3.57 mJ.

Luego se observa un pico endotérmico a 256.45 °C que inicia a 262.83 °C y termina a 256.44 °C. Este pico indica la descomposición de la γ-ciclodextrina que ocurre por arriba de los 250 °C.

### 8.6.1. CONTENIDO DE METRONIDAZOL LIBRE A 24 h DE AGITACIÓN.

El contenido de metronidazol libre se calculó mediante la ecuación 3.

$$\text{Moles de MTZ}_{\text{LIBRE}} = \frac{\text{mJ de MTZ}_{\text{LIBRE}} \cdot \text{moles de MTZ}_{\text{solo}}}{\text{mJ de MTZ}_{\text{solo}}}$$

Los datos se presentan en la tabla XXII.

**Tabla XXII. Valores obtenidos de los termogramas de las figuras A y F (anexo).**

<b>mJ de MTZ<sub>LIBRE</sub></b>	<b>-3.57 mJ</b>
<b>moles de MTZ<sub>solo</sub></b>	<b>3.28x10<sup>-2</sup> mol</b>
<b>mJ de MTZ<sub>solo</sub></b>	<b>-903.08 mJ</b>

La cantidad de metronidazol libre en la muestra fue de 0.022 mg (1.3x10<sup>-4</sup> mol). Esto representa el 0.59 % en peso de la muestra. Se observa que la variación de este valor disminuye significativamente desde la mezcla física (37.17 %) y se mantiene en este valor con una pequeña variación en el tiempo de 18 horas (0.22 %). Es decir disminuye un 98.41 % con respecto a la mezcla física 1:1.

### 8.6.2. CONTENIDO DE METRONIDAZOL TOTAL A 24 h DE AGITACIÓN.

El metronidazol total se calculó mediante la ecuación 2.

$$\text{mg}_{\text{metronidazol}} / \text{g}_{\text{complejo}} = \frac{\text{Peso de estándar (mg)} \times \text{absorbancia de la muestra} \times \text{Factor de dilución}}{\text{Absorbancia del estándar} \times \text{Peso de muestra (g)}}$$

Los datos se presentan en la tabla XXIII.

**Tabla XXIII. Resultados obtenidos para la obtención del contenido de metronidazol total a 24 h.**

Peso de estándar (mg)	203 mg
absorbancia de la muestra	0.48782
Factor de dilución	1
absorbancia del estándar	0.83198
Peso de muestra (g)	1.71 g

La cantidad de metronidazol total fue de 69,609 mg de metronidazol/g de complejo es decir en 3.74 mg se obtiene 0.2603 mg ( $1.5 \times 10^{-3}$  mol) de metronidazol. Esto indica el 6.96 % en peso de la muestra.

Los espectros se muestran en las figuras G y H del anexo para el estándar y la muestra respectivamente.

### 8.6.3. CONTENIDO DE METRONIDAZOL ACOMPLEJADO A 24 h DE AGITACIÓN.

El contenido de metronidazol se obtuvo mediante la ecuación 4.

$$\text{MTZ}_{\text{ACOMPLEJADO}} = \text{MTZ}_{\text{TOTAL}} - \text{MTZ}_{\text{LIBRE}}$$

Los datos se presentan en la tabla XXIV.

**Tabla XXIV. Resultados obtenidos para la obtención del contenido de metronidazol acomplejado a 24 h.**

MTZ TOTAL	$1.5 \times 10^{-3}$ mol
MTZ LIBRE	$1.3 \times 10^{-4}$ mol

La cantidad de metronidazol acomplejado fue de 0.2383 mg ( $1.3895 \times 10^{-3}$  mol). Esto representa el 6.37 % en peso de la muestra. También indica que del total de metronidazol, la cantidad de metronidazol en acomplejación fue el 91.55% y que el 8.45% se encuentra libre.

### 8.6.4. CONTENIDO DE CICLODEXTRINA ACOMPLEJADA A 24 h DE AGITACIÓN.

El contenido de ciclodextrina acomplejada fue la misma cantidad de moles de metronidazol acomplejada ( $1.3895 \times 10^{-3}$  mol) es decir 1.8021 mg.

### 8.6.5. CONTENIDO DE CICLODEXTRINA LIBRE A 24 h DE AGITACIÓN.

El contenido de ciclodextrina libre se obtuvo mediante la ecuación 5.

$$CD_{LIBRE} = PESO\ TOTAL - MTZ_{LIBRE} - MTZ_{ACOMPLEJADO} - CD_{ACOMPLEJADO}$$

Los datos se presentan en la tabla XXV.

**Tabla XXV. Resultados obtenidos para la obtención del contenido de ciclodextrina libre a 24 h.**

PESO TOTAL	3.74 mg
MTZ <sub>LIBRE</sub>	0.022 mg
MTZ <sub>ACOMPLEJADO</sub>	0.2383 mg
CD <sub>ACOMPLEJADO</sub>	1.8021 mg

La cantidad de ciclodextrina libre fue 1.6775 mg ( $1.29 \times 10^{-3}$  mol).

### 8.6.6. CONSTANTE DE ACOMPLEJACIÓN A 24 h DE AGITACIÓN.

La constante de acomplejación K, se obtuvo a partir de la ecuación 1.

$$K\ 1:1 = \frac{MTZ_{ACOMPLEJADO}}{MTZ_{LIBRE} * CD_{LIBRE}}$$

Los datos se presentan en la tabla XXVI.

**Tabla XXVI. Resultados obtenidos para la obtención de la constante de acomplejación en el estado sólido.**

MTZ <sub>ACOMPLEJADO</sub>	$1.3895 \times 10^{-3}$ mol
MTZ <sub>LIBRE</sub>	$1.3 \times 10^{-4}$ mol
CD <sub>LIBRE</sub>	$1.29 \times 10^{-3}$ mol

La constante de acomplejación al estado sólido fue de  $8.286 \times 10^3 \text{ mol}^{-1}$ .

El valor obtenido para la constante es adecuado debido a que se encuentra en el intervalo obtenido experimentalmente en trabajos previos, los mismos que no son mayores a  $10^5$ .(11)

### 8.7. SOBREPOSICIÓN DE CURVAS.

En la figura I del anexo, se puede ver la sobreposición de los termogramas CDB del metronidazol solo (5.62 mg) y de la mezcla física del metronidazol-y-ciclodextrina (1:1) (3.220 mg de muestra total con una cantidad aproximada de 1.61 mg de metronidazol). Como se puede ver no se puede comparar los

tamaños de los picos correspondientes al metronidazol ya que no son las mismas cantidades. Sin embargo, se puede observar la diferencia en la forma de las curvas entre ellas. En la figura J del anexo, se hace la adición a los termogramas CDB anteriores el termograma de la  $\gamma$ -ciclodextrina. En la figura K del anexo, se aprecia la sobreposición de los termogramas CDB de la mezcla física del metronidazol- $\gamma$ -ciclodextrina (1:1), la muestra en agitación a 1 h y 24 h. Lo más importante a resaltar es la disminución significativa del pico correspondiente al metronidazol. Afirmando esto la inclusión del metronidazol dentro de la  $\gamma$ -ciclodextrina.

Para el cálculo de la constante de complejación se eligió el tiempo de 24 h debido a que su termograma no presenta diferencia significativa respecto a los tiempos de 1 y 18 h; además las condiciones de stress son mayores con lo que se comprueba indirectamente la estabilidad del sistema. Se observa en la primera hora que la proporción de metronidazol libre se mantiene estable a través de las 24 h, lo que indica una rápida formación de complejo.

La cantidad de metronidazol libre es pequeña por lo que para fines prácticos hace innecesario su recuperación por sublimación o liofilización. Es decir, en el complejo en solución no se verá incrementada significativamente la concentración de metronidazol y por lo tanto no se verá afectado el equilibrio del sistema.

#### **8.8. EFICIENCIA DE LA ACOMPLEJACION.**

La eficiencia de la complejación se observa con la desaparición del pico de fusión del fármaco, el cual se relaciona directamente con la cantidad de metronidazol libre.

#### **8.9. SOLUBILIDAD EN AGUA DEL METRONIDAZOL.**

Los resultados se presentan en la tabla XXVII.

**Tabla XXVII. Resultados obtenidos para la determinación de la solubilidad en agua del metronidazol.**

<b>Tubo</b>	<b>Metronidazol (g)</b>	<b>Agua purificada pH 5.23 (mL)</b>	<b>Concentración (mg/mL)</b>	<b>Presencia de Sedimento</b>
1	0.0100	10	1	-
2	0.0200	10	2	-
3	0.0300	10	3	-
4	0.0400	10	4	-
5	0.0500	10	5	-
6	0.0600	10	6	-
7	0.0700	10	7	-
8	0.0800	10	8	-
9	0.0900	10	9	-
10	0.1000	10	10	-
11	0.1100	10	11	+
12	0.1200	10	12	+
13	0.1300	10	13	+
14	0.1400	10	14	+
15	0.1500	10	15	+
16	0.1600	10	16	+
17	0.1700	10	17	+
18	0.1800	10	18	+
19	0.1900	10	19	+
20	0.2000	10	20	+

\* A 25°C

En la determinación de solubilidad cabe mencionar que en los tubos 1 a 10 en las primeras horas se notaba opalescencia, sin embargo, a las 24 h la solución se tornó homogénea, lo cual quiere decir que no se alcanzó la solubilidad del fármaco.

A partir del tubo 11 el equilibrio homogéneo cambia apreciablemente a un sedimento. Por lo tanto la solubilidad obtenida en agua fue de 11 mg/mL.

#### **8.10. SOLUBILIDAD EN AGUA DEL COMPLEJO METRONIDAZOL/ $\gamma$ -CICLODEXTRINA.**

Los resultados se presentan en la tabla XXVIII.

**Tabla XXVIII. Resultados obtenidos para la determinación de la solubilidad en agua del complejo metronidazol/ $\gamma$ -ciclodextrina.**

<b>Tubo</b>	<b>Complejo metronidazol: <math>\gamma</math>-ciclodextrina (g)</b>	<b>Agua purificada pH 5.35 (mL)</b>	<b>Concentración (mg metronidazol/mL)*</b>	<b>Presencia de Sedimento</b>
1	0.1	10	0.696	-
2	0.115	10	0.8	-
3	0.130	10	0.905	-
4	0.145	10	1.009	-
5	0.160	10	1.114	-
6	0.175	10	1.218	-
7	0.190	10	1.322	-
8	0.205	10	1.427	-
9	0.220	10	1.531	-
10	0.235	10	1.636	+
11	0.250	10	1.74	+
12	0.265	10	1.844	+
13	0.280	10	1.945	+
14	0.295	10	2.053	+
15	0.310	10	2.158	+

\* A 25°C

En el complejo existe 69.6 mg de metronidazol/g de complejo.

A partir del tubo 10 el sistema se torna homogéneo. Por lo tanto, la solubilidad del metronidazol acomplejado en agua fue de 15.31 mg/mL.

### **8.11. EFECTO DE LA ACOMPLEJACIÓN.**

En la tabla XXIX se comparan las relaciones dosis:solubilidad (D:S) del metronidazol solo y acomplejado.

Tabla XXIX. Efecto de la acomplejación sobre la solubilidad del metronidazol.

<b>PROPIEDADES</b>	<b>Metronidazol</b>
Dosis (mg)	250
Solubilidad (mg/mL)	11
Relación Dosis:Solubilidad	23
$\gamma$ -ciclodextrina	
mg/g de complejo	69.6
S (mg/mL)	15.312
Nuevo D:S	4.5

Teniendo en cuenta la solubilidad de 11 mg/mL del metronidazol y una dosificación oral líquida de 50 mg/mL es evidente que a tal concentración se rebasa la solubilidad del fármaco, por lo que se obtiene una suspensión.

El complejo metronidazol- $\gamma$ -ciclodextrina mejoró en forma significativa la solubilidad de 11 mg/mL a 15.31 mg/mL (39 %).

La relación dosis:solubilidad se disminuyó de 23 mL a 4.5 mL. Lo cual quiere decir, que de acuerdo a las figura 8 y 9, se mejora su propiedad de disolución. Sin embargo, con esta solubilidad de complejo (15.31 mg/mL) una formulación líquida homogénea (50 mg/mL) no puede ser obtenida.

### 8.12. SABOR

El preparado con complejo metronidazol- $\gamma$ -ciclodextrina fue opalescente a una concentración de 50 mg/mL. El sabor amargo del fármaco acomplejado presenta una ligera mejoría con respecto a la suspensión de metronidazol a la misma concentración. Es necesario profundizar el estudio.



## 9. CONCLUSIONES.

1. El método de obtención del complejo metronidazol/ $\gamma$ -ciclodextrina es sencillo, rápido y no requiere condiciones especiales.
2. Se obtuvo un complejo al estado sólido de metronidazol/ $\gamma$ -ciclodextrina con una constante de acomplejación en estado sólido de  $8.286 \times 10^3 \text{ mol}^{-1}$ .
3. Se mejoró la solubilidad del metronidazol de 11 mg/mL a 15.31 mg/mL (39 %).

## 10. SUGERENCIAS.

1. Establecer la constante de acomplejación en solución.
2. Ensayar otras ciclodextrinas (naturales y derivatizadas).
3. Determinar otras propiedades fisicoquímicas (cristalografía, polimorfismo, estabilidad).
4. Evaluar el efecto de la concentración de ciclodextrina para comprobar si se pueden obtener complejos de distintas propiedades, es decir de diferentes relaciones molares.
5. Obtener una formulación oral líquida y determinar su estabilidad.
6. Realizar el estudio de escalamiento de esta formulación.
7. Al no obtenerse una formulación oral en solución dado que la solubilidad alcanzada (15.31 mg/mL) es menor a la dosificación de dicha forma farmacéutica de metronidazol (50 mg/mL), se propone el uso de otras ciclodextrinas para alcanzar este fin.
8. El sabor amargo presenta una mejoría; sin embargo es necesario un estudio más profundo de esta propiedad.

11. ANEXO.

DSC PESO DE LA MUESTRA: 5.620 mg  
mW P.M.: 171.50

**METRONIDAZOL**

Temp  
C

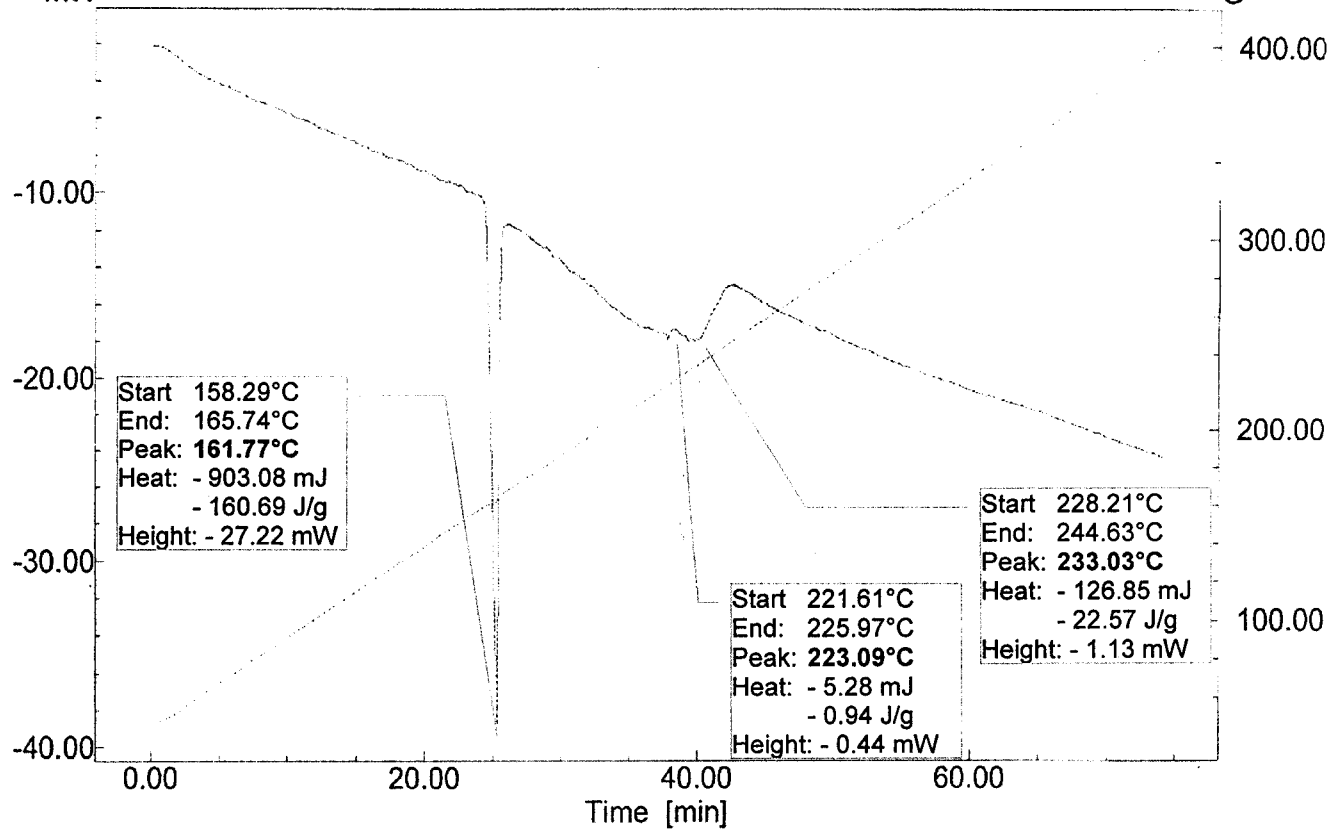


Figura A. Termograma CDB del metronidazol.

DSC PESO DE LA MUESTRA: 5.620 mg  
mW P.M.: 171.50

11. ANEXO.

**METRONIDAZOL**

Temp  
C

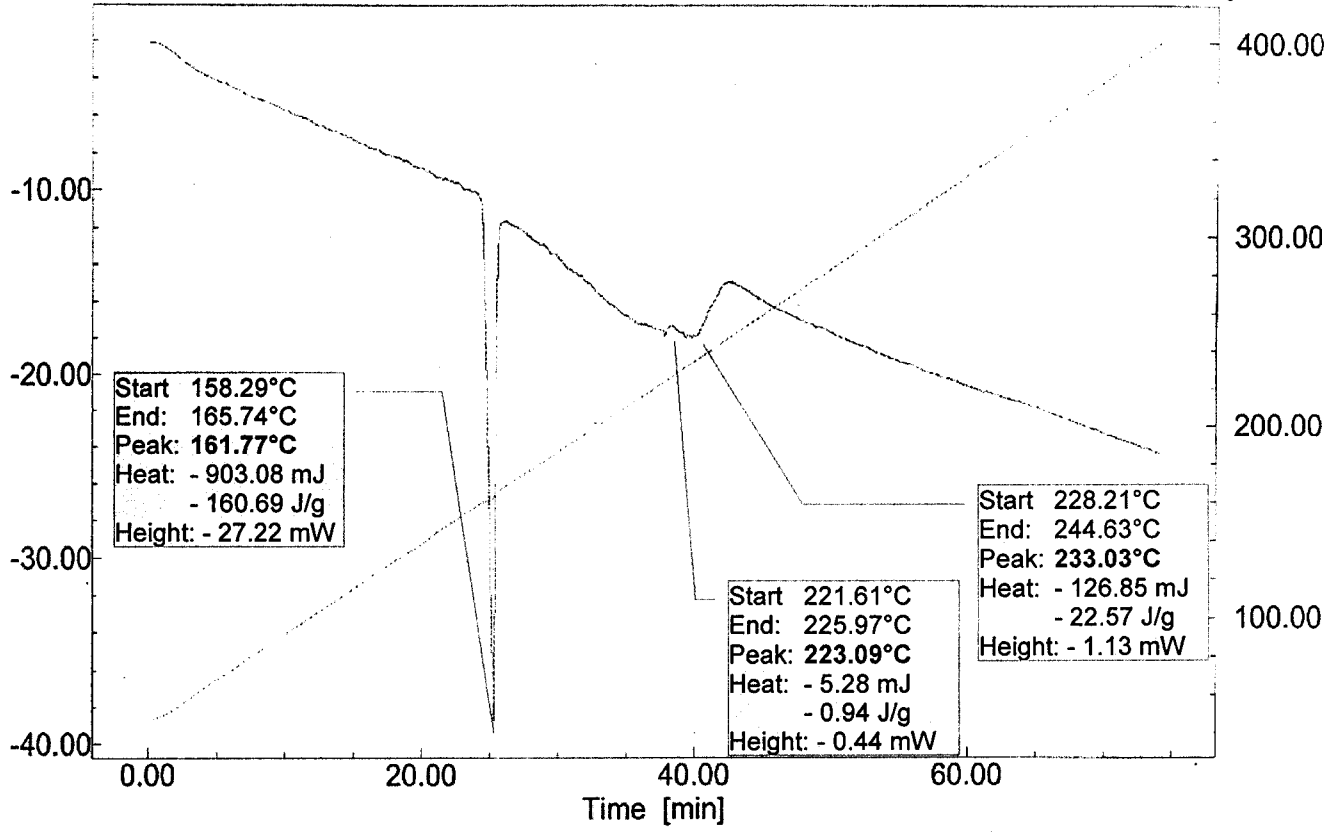


Figura A. Termograma CDB del metronidazol.

DSC PESO DE LA MUESTRA: 3.750 mg  
 mW P.M.: 1297

**γ-CICLODEXTRINA**

Temp  
 C

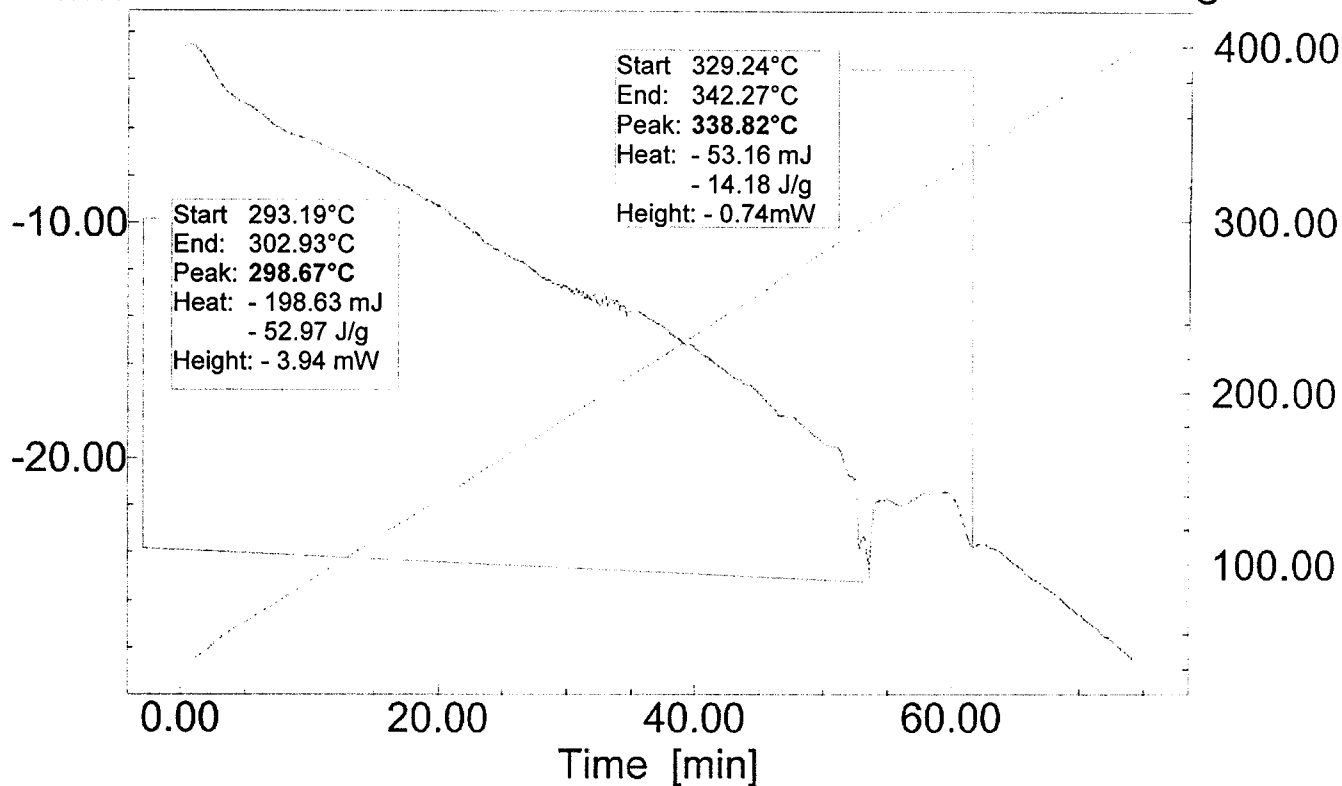


Figura B. Termograma CDB de la  $\gamma$ -ciclodextrina.

DSC PESO DE LA MUESTRA: 3.750 mg  
mW P.M.: 1297

**γ-CICLODEXTRINA**

Temp  
C

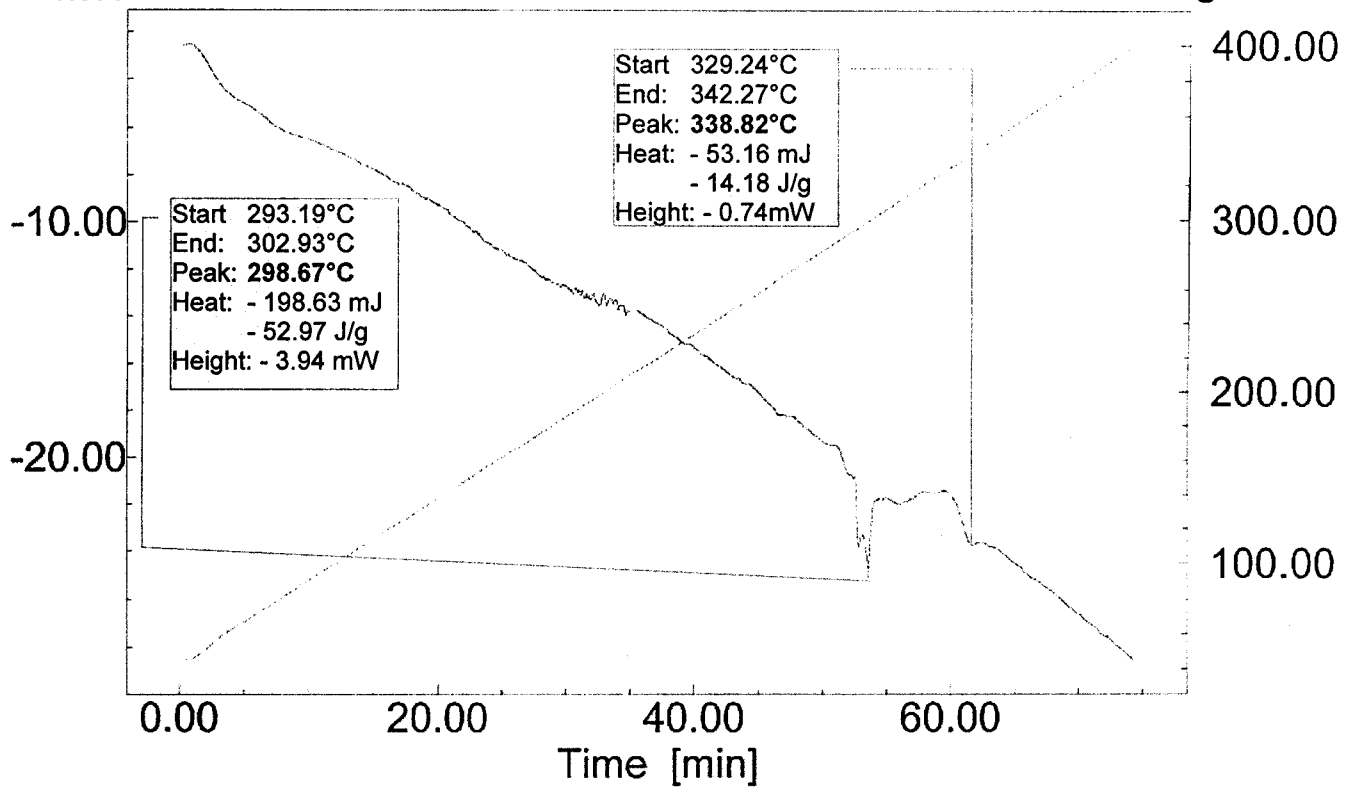


Figura B. Termograma CDB de la  $\gamma$ -ciclodextrina.

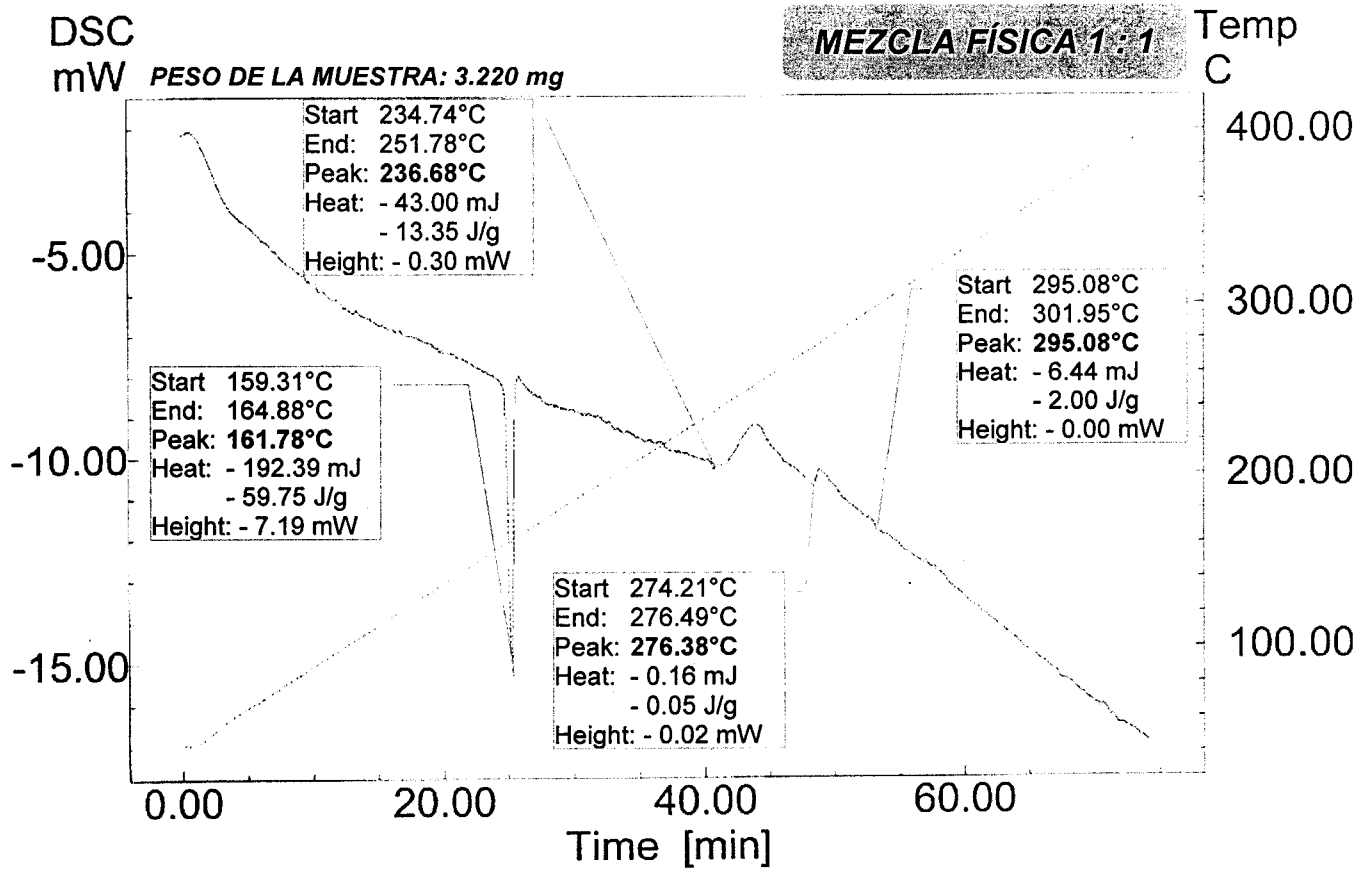


Figura C. Termograma CDB de la mezcla física metronidazol :  $\gamma$ -ciclodextrina (1:1)

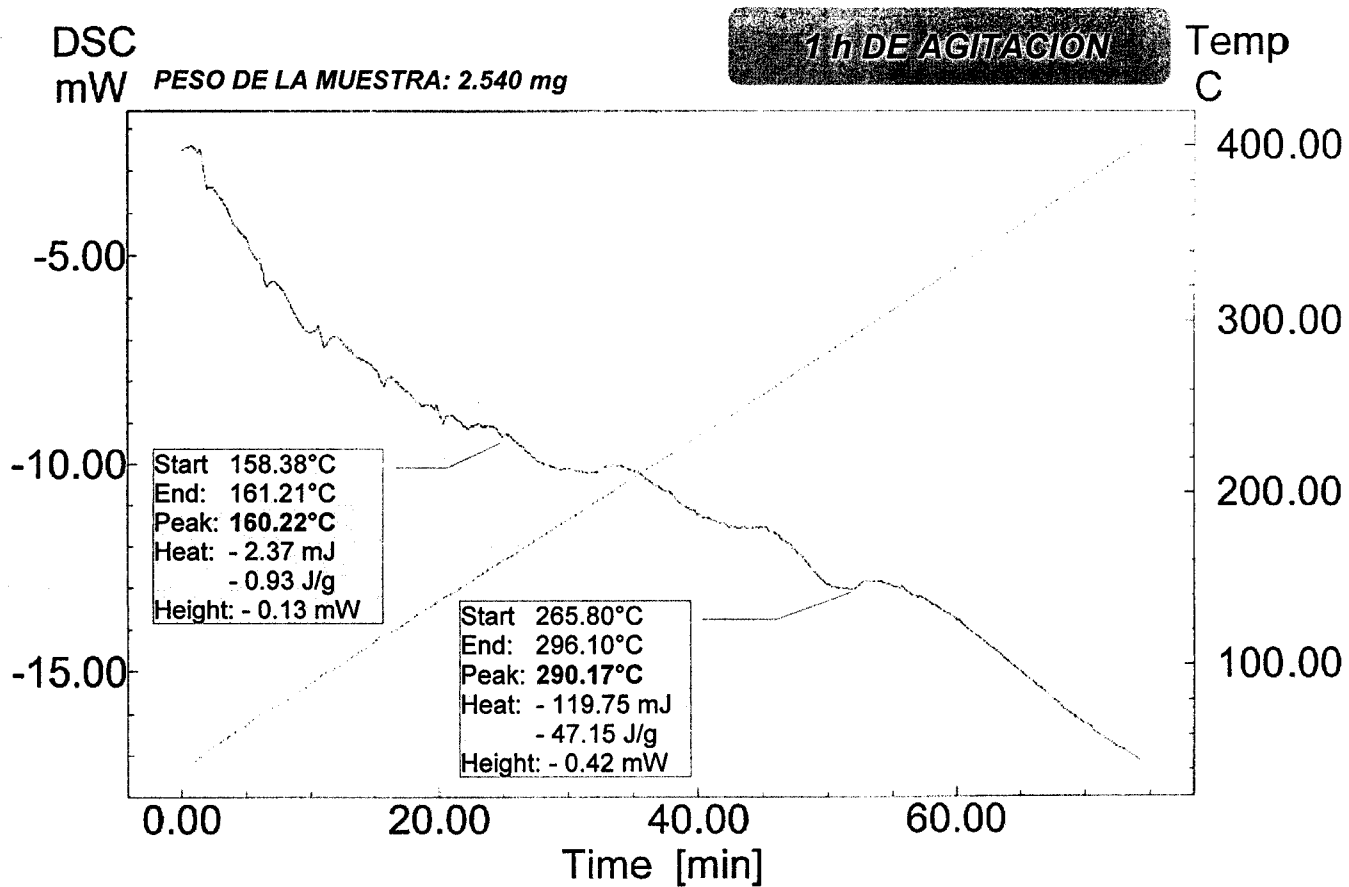


Figura D. Termograma CDB de la suspensión metronidazol :  $\gamma$ -ciclodextrina (1 h).

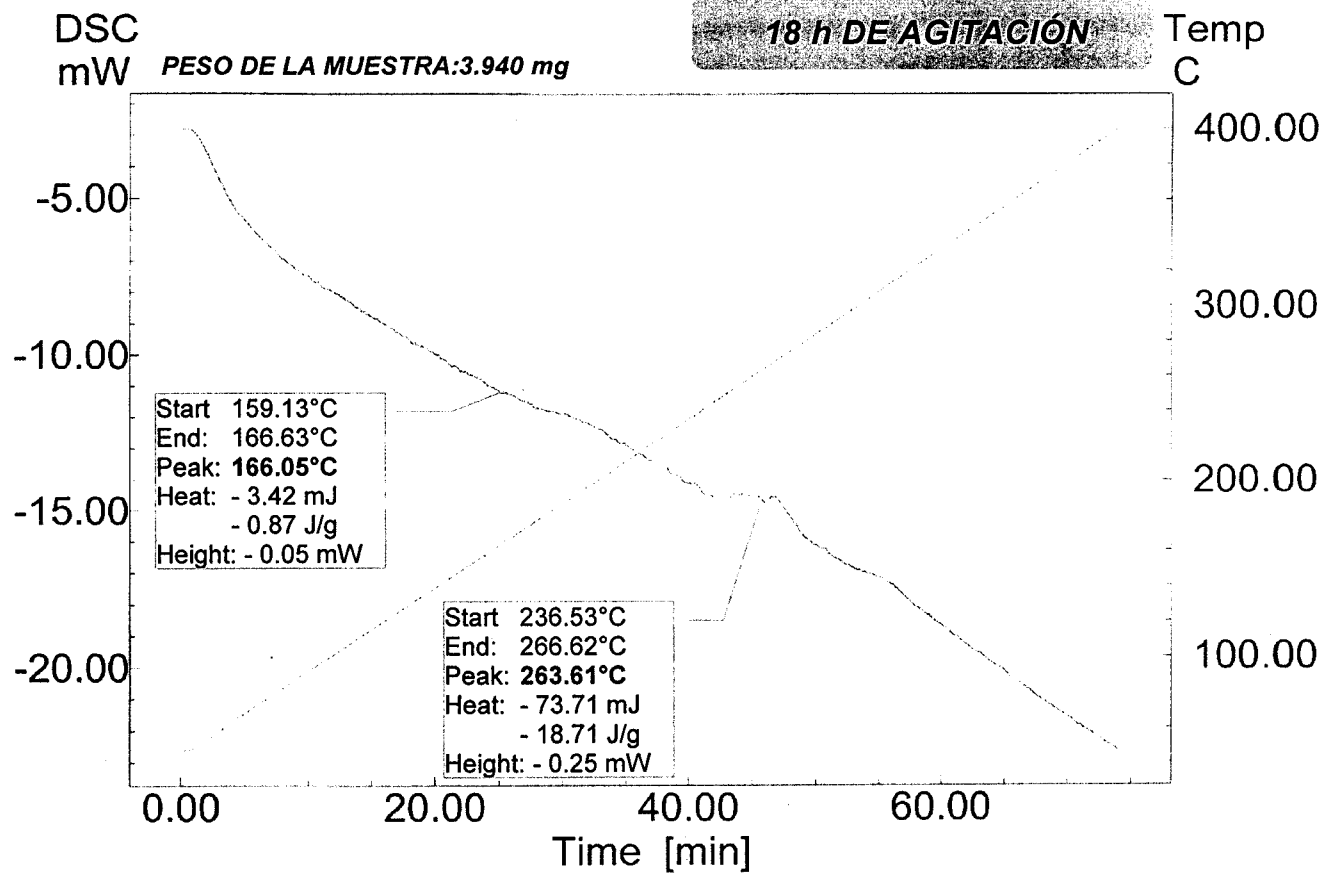


Figura E. Termograma CDB de la suspensión metronidazol :  $\gamma$ -ciclodextrina (18 h).



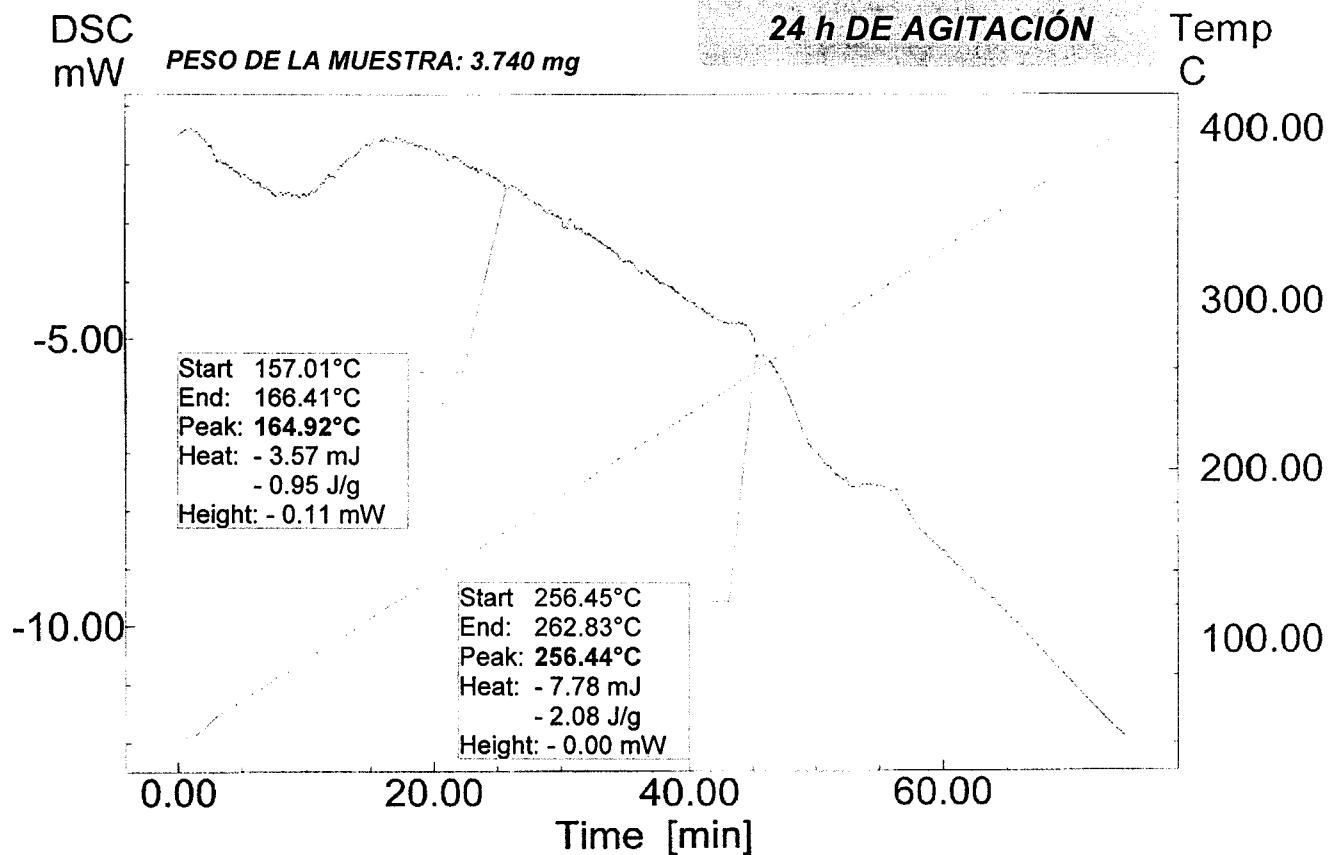
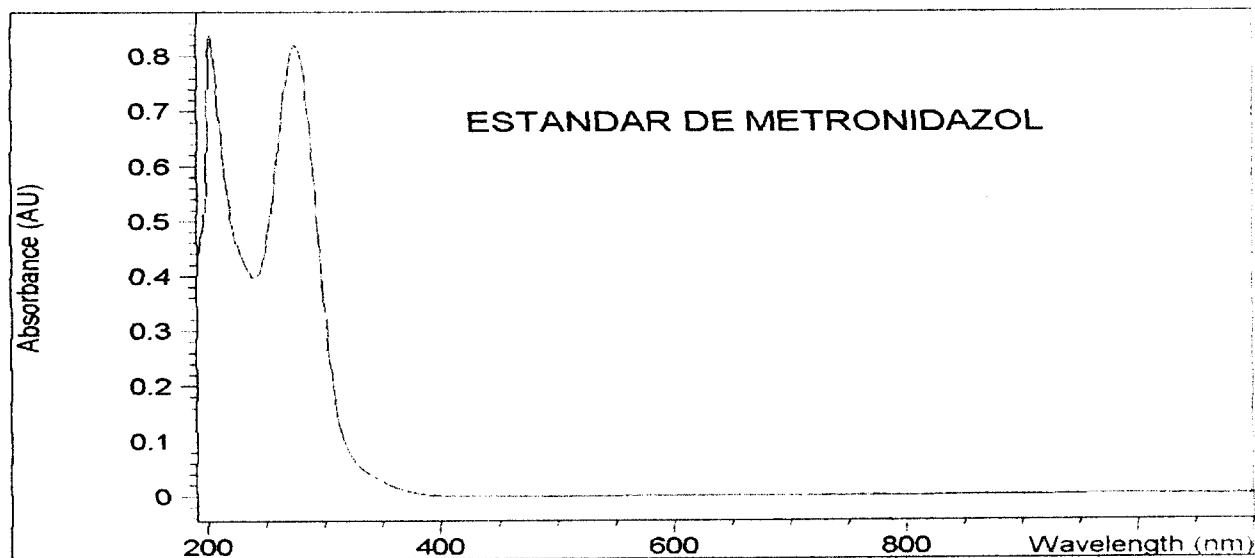


Figura F. Termograma CDB de la suspensión metronidazol :  $\gamma$ -ciclodextrina (24 h).

Last Sample Spectrum

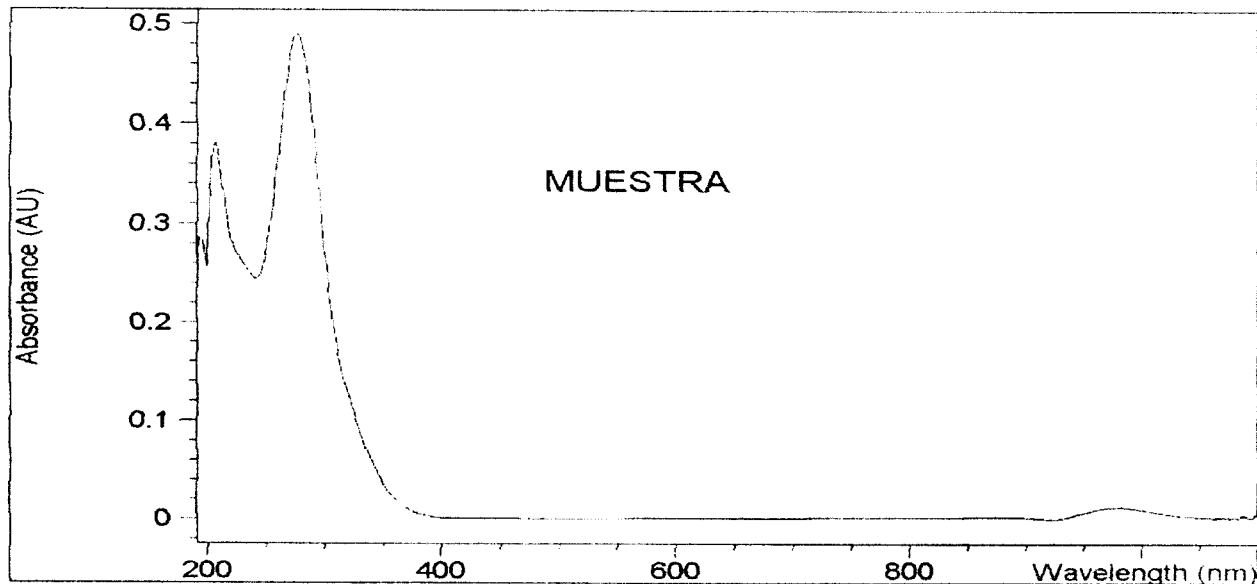


Sample/Result Table

#	Name	Abs<274nm>
1	METRONIDAZOL STD	0.81845

Figura G. Curva espectrofométrica UV del estándar de metronidazol.

Last Sample Spectrum



Sample/Result Table

#	Name	Abs<274nm>
1	MUESTRA	0.48782

Figura H. Curva espectrofométrica UV de la muestra de complejo metronidazol-γ-ciclodextrina..

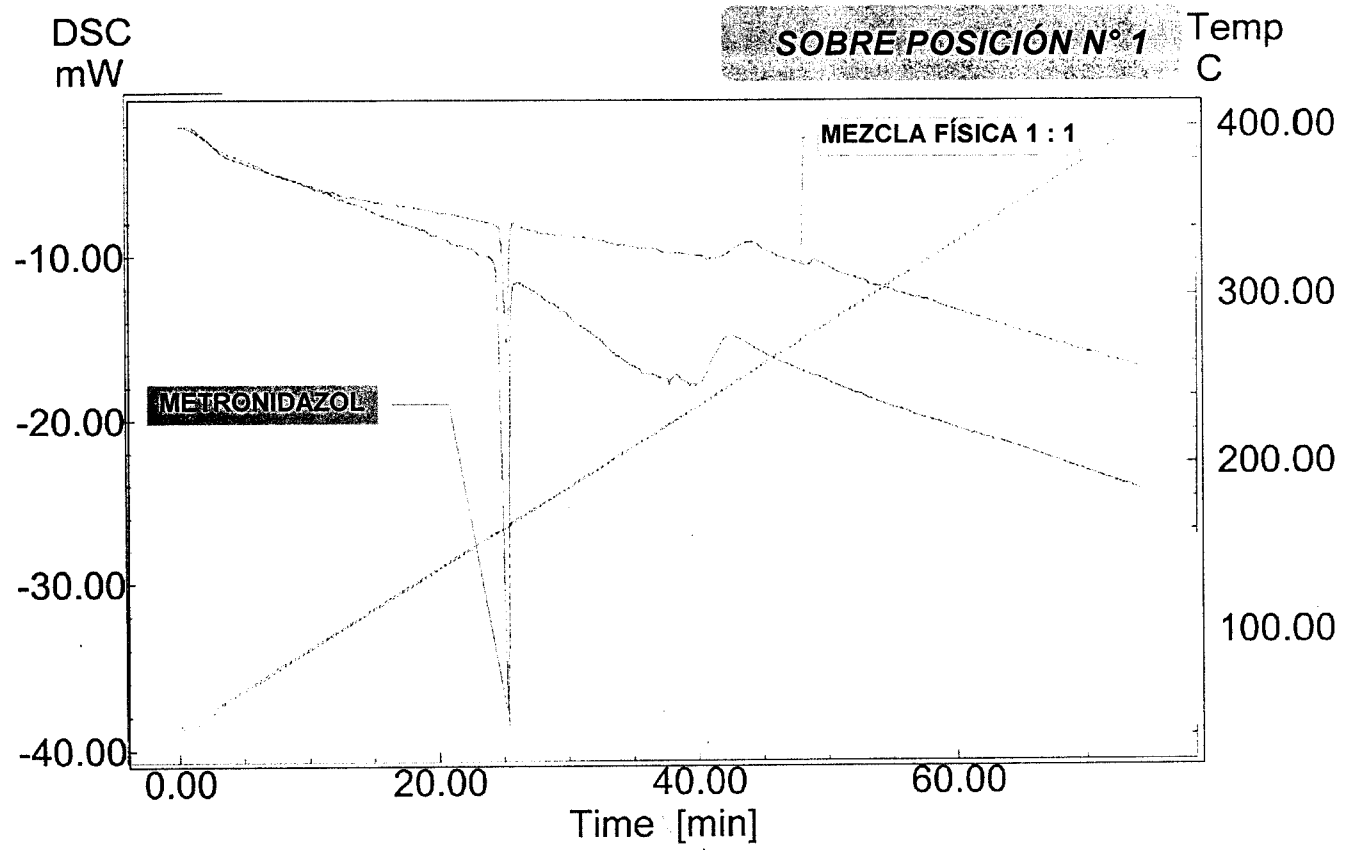


Figura I. Sobre posición de los termogramas CDB de metronidazol y mezcla física metronidazol:γ-ciclodextrina 1:1.

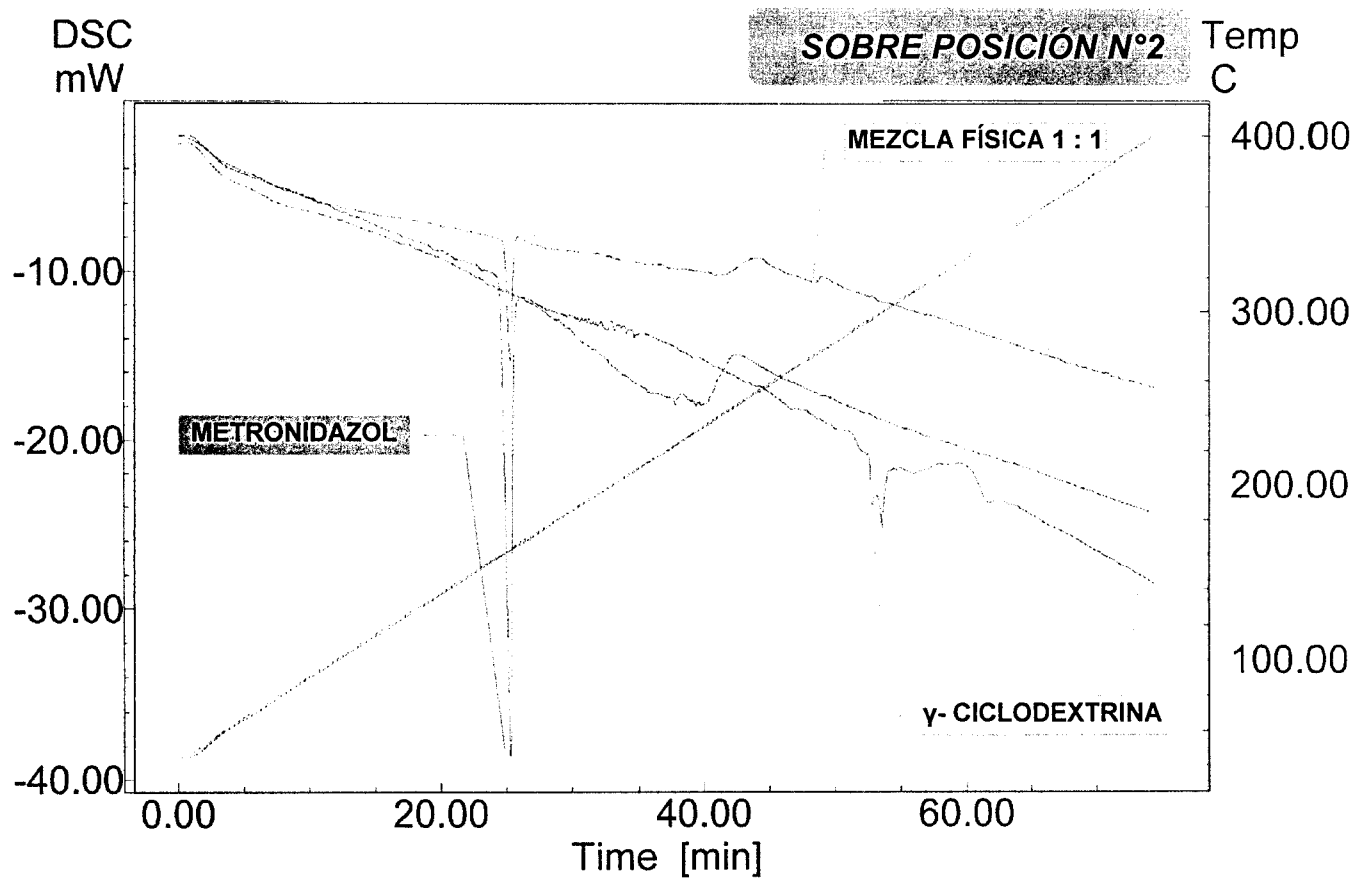


Figura J. Sobre posición de los termogramas CDB de metronidazol, γ-ciclodextrina y mezcla física metronidazol:γ-ciclodextrina 1:1.

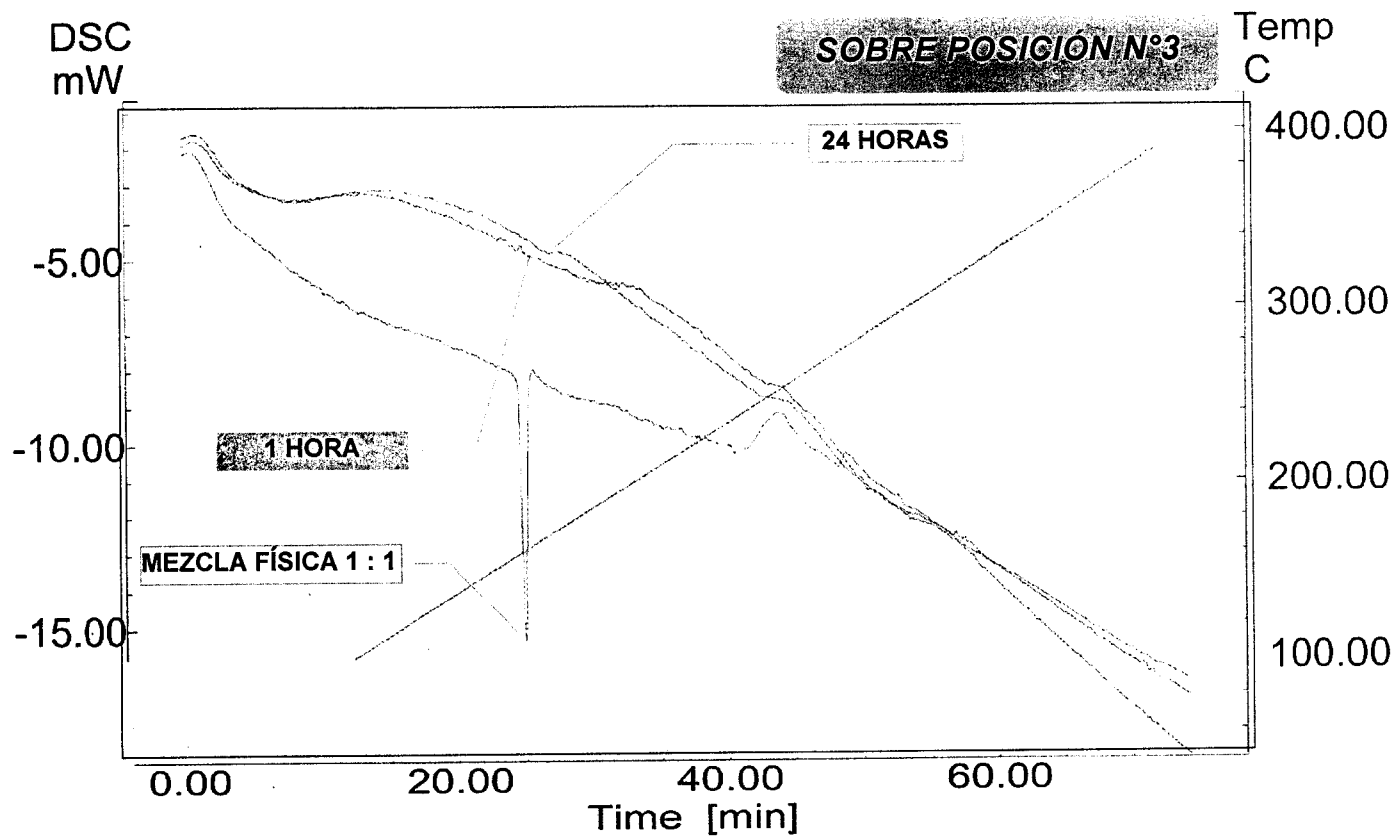


Figura K. Sobre posición de los termogramas CDB de mezcla física metronidazol:γ-ciclodextrina 1:1, 1 y 24 h de agitación.

## 12. BIBLIOGRAFÍA.

1. Frömring KH, Szejtli J. Cyclodextrins In Pharmacy. Netherlands. Kluwer Academic Publishers;1994.
2. Szejtli J. Cyclodextrin Technology. Netherlands. Kluwer Academic Publishers;1988.
3. Andersen FM and Bundgaard H. Inclusion complexation of metronidazole benzoate with  $\beta$ -Ciclodextrin and its depression of anhydrate-hydrate transition in aqueous suspensions. *Int J Pharm* 1984; 19:189-194.
4. Loyd VA, Ericksson MA. Stability of extemporaneously prepared pediatric formulations using Ora-Plus® with Ora-Sweet® and Ora-Sweet SF®. Part I. Secundum Artem Current and Practical Compounding Information for the Pharmacist. 2000; 5:1-4.
5. Zuo Z, Kwon G, Stevenson B, Diakur J and Wiebe L. Flutamide-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin complex: formulation, physical characterization and absorption studies using the Caco-2 *in vitro* model. *J Pharm Sci* 2000; 3: 220-227.
6. Loftsson T. Cyclodextrins and the biopharmaceutics classification system of drugs. *J Incl Phen Macr Chem* 2002; 44: 63-67.
7. Handbook of pharmaceutical excipients. Segunda edición. Edited by Wade A. Washington. The Pharmaceutical London Press;1994.
8. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Séptima edición;2000:(1) 869-870, (2):1462-1463.
9. United States Pharmacopeia 25. National Formulary 20. The USP Convention Inc. Rockville;2002: 1147.
10. Loftsson T, Brewster M. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *J Pharm Sci* 1996; 85.
11. Rajewski R, Stella V. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. In vivo delivery. *J Pharm Sci* 1996; 85.
12. Irie T, Uekama K. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 3. Toxicological issues and safety evaluation. *J Pharm Sci* 1997; 86:2.
13. Florey K. Analytical Profiles Of Drug Sustances. Academic Press Inc. USA. 1976;5: 322-344.
14. Higuchi T, Connors K. Phase-solubility techniques. *Adv Anal Chem Instrum* 1965; 4: 117-211.
15. Martindale The Extra Pharmacopeia. 29 edition. Edited by James E.F. Reynolds. The pharmaceutical press Inc.1989: 667.
16. The Index Merck. Twelfth edition. Merck and Co. Inc.USA;1996..
17. PLM Diccionario de Especialidades Farmacéuticas, DEF 48/2002. Thomson PLM México;2002:929,932, 1617, 2175 y 2483.
18. Mandal TK, Yadava KP, Danerjee NC. Pharmacokinetic studies of metronidazole in goat. *Indian J Pharm* 1987;19: 179-185.
19. Giron D. Thermal analysis and calorimetric methods in characterisation of polymorph and solvates. *Therm Acta* 1995;248: 1-59.
20. Bret TJ, Alexander JM, Clark JL, Ross CR, Harbinson GS and Stezowski JJ. Chemical insight from crystallographic disorder: structural studies of a supramolecular b-cyclodextrin/coumarin photochemical system. *Chem Commun*

- 1999; 1275-1276. Citado 24 sept 2004. Disponible en: [http://stezlab1.unl.edu/WWWjjs/university\\_of\\_nebraska.htm](http://stezlab1.unl.edu/WWWjjs/university_of_nebraska.htm).
21. Pose-Vilarnovo B, Rodríguez-Terneiro C, Diéguez N, Vila-Jato J and Torres-Labandeira J. Effect of hydroxypropylmethylcellulose on the complexation of diclofenac with cyclodextrins. *J Therm Ana. Cal* 2003;73: 661-670.
  22. Remington. *Farmacía*. 20ª edición. Editorial médica panamericana. Argentina;2003:2757-759.
  23. Hardman J, Limbird L editors. *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 10 edition. McGraw-Hill: Medical Publishing Division, New York;2001..
  24. Chakraborty KK, S.R. Naik, Stevenson B, Diakur J and Wiebe L. Therapeutic and hemolytic evaluation of *in situ* liposomal preparation containing amphotericin-B complexed with different chemically modified  $\beta$ -cyclodextrins. *J Pharm Pharmaceut Sci*; 2003: 6:231-237.