



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

ELABORACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE SISTEMAS BINARIOS
DE DOS FÁRMACOS ANTIPARASITARIOS Y CICLODEXTRINAS, EMPLEANDO
LA TÉCNICA DE MICROONDAS.

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B. JULIO ARMANDO MENA HERNÁNDEZ

TUTOR: HELGI JUNG COOK
FACULTAD DE QUÍMICA

MÉXICO D.F. OCTUBRE 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** por ser la institución que me ha formado espiritual, humanística y académicamente.

A mi tutora la **Dra. Helgi Jung** por su dirección, por la grata experiencia de la convivencia y por sus enseñanzas.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** organismo federal mediante el cual el pueblo de México me otorgo la beca de maestría con número de becario: 405733.

A la **M. en C. Alicia Hernández** y al **M. en C. Pedro Trejo** por el apoyo que me ofrecieron en el equipo de microondas.

A mis sinodales: **Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez, Dra. María del Pilar Cañizares Mancías, Dra Flora Adriana Ganem Rondero, Dra Adriana Miriam Domínguez Ramírez** y al **Dr. Emilio Bucio Carrillo** por sus valiosas observaciones y su experiencia transmitida durante la revisión de éste trabajo.

Este trabajo se realizó en el laboratorio 112-113 del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química de la UNAM.

Este trabajo se presentó en la XVIII REUNIÓN ANUAL DE INVESTIGACIÓN del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velazco Suárez” celebrada el 23 y 24 de mayo de 2013 en México D.F. y en el evento SEMANA DE LA INVESTIGACIÓN EN LA FQ 2013 celebrado del 12 al 16 de agosto de 2013 en la Facultad de Química de la UNAM, México D.F.

I ÍNDICE GENERAL

Capítulo	Página
Índice general.	I
Índice de tablas.	II
Índice de figuras.	III
Lista de abreviaturas.	IV
Resumen.	V
1 Introducción.	1
2 Antecedentes.	2
2.1 Infecciones parasitarias atribuidas a helmintos.	2
2.1.1 Las helmintiasis clasificadas como enfermedades tropicales desatendidas.	3
2.1.2 Características comunes de las ETDs.	4
2.2 La quimioterapia en el tratamiento de las helmintiasis.	4
2.2.1 Benzimidazoles.	6
2.2.1.1 Mecanismo de acción de los benzimidazoles.	7
2.2.1.2 Albendazol (ABZ).	9
2.2.1.3 <i>Alfa</i> (α BIOF10).	10
2.3 Solubilidad en los fármacos.	12
2.3.1 Estrategias para el incremento de la solubilidad de los fármacos.	13
2.3.2 Formulación con base en la clasificación biofarmacéutica.	13
2.3.3 Sistemas desarrollados para incrementar la solubilidad de albendazol.	15
2.4 Ciclodextrinas como estrategia para incrementar la solubilidad de fármacos.	16
2.4.1 Complejos de inclusión con ciclodextrinas.	19
2.4.2 Ventajas al emplear ciclodextrinas.	21
2.4.3 Métodos en la elaboración de los Sistemas Binarios.	21
2.4.3.1 Homogenización o mezclado simple.	21
2.4.3.2 Amasado.	21
2.4.3.3 Co precipitación.	22
2.4.3.4 Co evaporación.	22
2.4.3.5 Molido o cizallado.	22
2.4.3.6 Liofilizado.	22
2.4.3.7 Microondas.	22

2.4.3.7.1	Mecanismo de calentamiento por irradiación de microondas.	22
2.4.3.7.2	Factores implicados en la transmisión de energía por radiación de microondas.	25
2.4.3.7.3	Sistemas Binarios elaborados empleando microondas.	25
2.4.4	Sistemas Binarios de ciclodextrinas y ABZ	26
3	Justificación del trabajo.	28
4	Hipótesis.	29
5	Objetivo general.	30
5.1	Objetivos particulares.	30
6	Parte experimental.	31
6.1	Reactivos, material y equipos.	31
6.2	Metodología.	32
6.2.1	Estudio de solubilidad de Fases.	32
6.2.1.1	Estudio de Solubilidad de Fases en el sistema ABZ/ β CD y albendazol/HP- β CD.	33
6.2.1.2	Estudio de Solubilidad de Fases en el sistema <i>Alfa</i> / β CD y <i>Alfa</i> /HP- β CD.	33
6.2.2	Estandarización de las condiciones del método de microondas.	33
6.2.2.1	Evaluación del efecto del volumen, concentración y tipo de disolvente.	34
6.2.2.2	Evaluación del efecto de la temperatura, la potencia y el tiempo de irradiación de microondas sobre el sistema.	35
6.2.3	Elaboración de los Sistemas Binarios (SBs).	37
6.2.3.1	Mezcla física (MF).	37
6.2.3.2	Método de co evaporación (CE).	37
6.2.3.3	Método de microondas (MO).	37
6.2.4	Caracterización de los SBs.	37
6.2.4.1	Calorimetría diferencial de barrido (DSC).	38
6.2.4.1.1	Estudio piloto del grado relativo de cristalinidad (GRC)	38
6.2.4.2	Espectroscopía de infrarrojo (IR).	38
6.2.4.3	Difracción de rayos X polvos (DRXP).	38
6.2.5	Método analítico para cuantificar ABZ.	39
6.2.5.1	Solución Stock de 100 μ g/mL de ABZ.	39
6.2.5.2	Curva de calibración para la cuantificación de ABZ.	39
6.2.6	Método analítico para cuantificar <i>Alfa</i> .	39
6.2.6.1	Solución Stock de 100 μ g/mL de <i>Alfa</i> .	39

6.2.6.2	Curva de calibración para la cuantificación de <i>Alfa</i> .	39
6.2.7	Evaluación <i>in vitro</i> de los SBs.	40
6.2.7.1	Perfil de disolución.	40
6.2.7.2	Factor de similitud	41
7	Resultados y discusión.	42
7.1	Sistemas ABZ/ β CD y ABZ/HP- β CD.	42
7.1.1	Estudios de Solubilidad de Fases para los sistemas ABZ/ β CD y ABZ/HP- β CD	42
7.1.2	Estandarización de las condiciones del método de microondas para los sistemas binarios de ABZ.	43
7.1.2.1	Evaluación del efecto del volumen, concentración y tipo de disolvente.	43
7.1.3	Caracterización de los SBs de ABZ.	47
7.1.3.1	DSC para los sistemas binarios de ABZ por microondas.	48
7.1.3.2	DSC para el sistema binario de ABZ/HP- β CD por co evaporación.	50
7.1.3.3	Estudio piloto del grado relativo de cristalinidad para los sistemas binarios de ABZ.	51
7.1.3.4	Espectroscopía de IR para los sistemas binarios de ABZ por microondas.	51
7.1.3.5	Espectroscopía de IR para el sistema binario de ABZ/HP- β CD por co evaporación.	53
7.1.3.6	DRXP para los sistemas binarios de ABZ por microondas.	54
7.1.3.7	DRXP para el sistema binario de ABZ/HP- β CD por co evaporación.	56
7.1.4	Método analítico para cuantificar ABZ	56
7.1.4.1	Curva de calibración para la cuantificación de ABZ.	56
7.1.5	Evaluación <i>in vitro</i> de los SBs de ABZ.	57
7.1.5.1	Perfil de disolución de los sistemas binarios de albendazol por microondas.	57
7.1.5.2	Perfil de disolución del método de co evaporación para el sistema ABZ/HP- β CD.	59
7.2	Sistemas <i>Alfa</i> / β CD y <i>Alfa</i> /HP- β CD.	60
7.2.1	Estudios de Solubilidad de Fases para los sistemas ABZ/ β CD y ABZ/HP- β CD	60
7.2.2	Estandarización de las condiciones del método de microondas para los sistemas binarios de <i>Alfa</i> .	61
7.2.2.1	Evaluación del efecto del volumen, concentración y tipo de disolvente.	61
7.2.3	Caracterización de los SBs de <i>Alfa</i> .	63
7.2.3.1	DSC para los sistemas binarios de <i>Alfa</i> por microondas.	63

7.2.3.2	DSC para el sistema binario de <i>Alfa</i> /HP-βCD por co evaporación.	65
7.2.3.3	Estudio piloto del grado relativo de cristalinidad para los sistemas binarios de <i>Alfa</i> .	65
7.2.3.4	Espectroscopía de IR para los sistemas binarios de <i>Alfa</i> por microondas.	66
7.2.3.5	Espectroscopía de IR para el sistema binario de <i>Alfa</i> /HP-βCD por co evaporación.	68
7.2.3.6	DRXP para los sistemas binarios de <i>Alfa</i> por microondas.	69
7.2.3.7	DRXP para el sistema binario de <i>Alfa</i> /HP-βCD por co evaporación.	70
7.2.4	Método analítico para cuantificar <i>Alfa</i> .	71
7.2.4.1	Curva de calibración para la cuantificación de <i>Alfa</i> .	71
7.2.5	Evaluación <i>in vitro</i> de los SBs de <i>Alfa</i> .	73
7.2.5.1	Perfil de disolución de los SBs de <i>Alfa</i> por microondas.	73
7.2.5.2	Perfil de disolución del método de co evaporación para el sistema <i>Alfa</i> /HP-βCD.	74
7.3	Uso del método de microondas y el método de co evaporación.	75
8	Conclusiones.	77
9	Perspectiva.	78
10	Referencias bibliográficas.	79

II ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No	Título	pág.
Tabla 1	Principales helmintiasis humanas y su prevalencia y distribución global.	3
Tabla 2	Fármacos empleados en las helmintiasis intestinales.	5
Tabla 3	Propiedades fisicoquímicas del ABZ y del <i>Alfa</i> .	12
Tabla 4	Propiedades fisicoquímicas y biológicas de la β CD y de la HP- β CD.	18
Tabla 5	Subgrupos en los que se divide la región de las microondas.	23
Tabla 6	Sistemas Binarios Fármaco-CDs empleando la técnica de microondas que han mostrado un incremento en la solubilidad del fármaco reportado.	26
Tabla 7	Valores de <i>Perdida de ángulo</i> (δ) de diversos disolventes.	35
Tabla 8	Condiciones iniciales de prueba en el equipo de microondas.	36
Tabla 9	Condiciones finales empleadas en el equipo para el método de microondas.	47
Tabla 10	Estudio piloto del grado de cristalinidad relativa para los sistemas binarios de ABZ y <i>Alfa</i> .	51
Tabla 11	Método analítico para la cuantificación de ABZ	57
Tabla 12	Porcentaje disuelto a los diferentes tiempos de muestreo de ABZ en los Sistemas Binarios desarrollados	59
Tabla 13	Condiciones finales empleadas en el método de microondas para <i>Alfa</i> .	63
Tabla 14	Estudio piloto del grado de cristalinidad relativa para los sistemas binarios de <i>Alfa</i> .	66
Tabla 15	Método analítico para la cuantificación de <i>Alfa</i>	72
Tabla 16	Porcentaje disuelto a los diferentes tiempos de muestreo de <i>Alfa</i> en los Sistemas Binarios desarrollados	75

III ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.	Título	pág.
Figura 1	Estructuras químicas de benzimidazoles, carbamatos benzimidazolicos y el trematocida tiabendazol.	7
Figura 2	Mecanismo de acción de los benzimidazoles	8
Figura 3	Metabolismo de albendazol.	10
Figura 4	Estructura del compuesto <i>Alfa</i> .	11
Figura 5	Proceso de disolución.	12
Figura 6	Estrategias de formulación de fármacos basadas en el SCB	14
Figura 7	Efecto en las concentraciones plasmáticas de danazol cuando se elaboran en tres diferentes formulaciones.	15
Figura 8	Estructura cíclica de los oligosacaridos que conforman a la ciclodextrina	17
Figura 9	Representación esquemática del la geometría cónica cilíndrica de la ciclodextrina	19
Figura 10	Representación esquemática de la formación del Complejo de Inclusión	20
Figura 11	Espectro electromagnético	23
Figura 12	Mecanismo de calentamiento por irradiación de microondas.	24
Figura 13	Diagrama de trabajo utilizado en el proyecto.	32

Figura 14	Estudio de Solubilidad de Fases de ABZ con β CD y HP- β CD.	43
Figura 15	Termogramas de la caracterización por tipo de disolvente para el sistema ABZ/ β CD.	44
Figura 16	Termogramas de la caracterización por tipo de disolvente para el sistema ABZ/HP- β CD.	45
Figura 17	Termogramas de la caracterización por concentración de EtOH para el sistema (ABZ/ β CD))	46
Figura 18	Termogramas de la caracterización por concentración de EtOH para el sistema (ABZ/HP- β CD)	47
Figura 19	Termogramas del método de microondas para el sistema (ABZ/ β CD)	49
Figura 20	Termogramas del método de microondas para el sistema (ABZ/HP- β CD)	49
Figura 21	Termogramas para el sistema (ABZ/HP- β CD)	50
Figura 22	Espectro de IR del método de MO para el sistema (ABZ/ β CD)	51
Figura 23	Espectro de IR del método de MO para el sistema (ABZ/HP- β CD)	53
Figura 24	Espectro de IR del método de co evaporación para el sistema (ABZ/HP- β CD)	54
Figura 25	PDRXP del método de microondas para el sistema (ABZ/ β CD)	55
Figura 26	PDRXP del método de microondas para el sistema (ABZ/HP- β CD)	55
Figura 27	PDRXP para el sistema (ABZ/HP- β CD)	56

Figura 28	Linealidad del método analítico para la cuantificación de ABZ	57
Figura 29	Perfil de disolución para el sistema (ABZ/ β CD)	58
Figura 30	Perfil de disolución para el sistema (ABZ/HP- β CD)	59
Figura 31	Perfil de disolución para el sistema (ABZ/HP- β CD)	60
Figura 32	Estudio de Solubilidad de Fases de <i>Alfa</i> con β CD y HP- β CD	61
Figura 33	Termogramas de la caracterización por concentración de EtOH para el sistema (<i>Alfa</i> / β CD)	62
Figura 34	Termogramas de la caracterización por concentración de EtOH para el sistema (<i>Alfa</i> /HP- β CD)	62
Figura 35	Termogramas del método de microondas para el sistema (<i>Alfa</i> / β CD)	64
Figura 36	Termogramas del método de microondas para el sistema (<i>Alfa</i> /HP- β CD)	64
Figura 37	Termogramas para el sistema (<i>Alfa</i> /HP- β CD)	65
Figura 38	Espectro de IR del método de MO para el sistema (<i>Alfa</i> / β CD)	67
Figura 39	Espectro de IR del método de MO para el sistema (<i>Alfa</i> /HP- β CD)	68
Figura 40	Espectro de IR para el sistema (<i>Alfa</i> /HP- β CD)	69
Figura 41	PDRXP del método de microondas para el sistema (<i>Alfa</i> / β CD)	70

Figura 42	PDRXP del método de microondas para el sistema (<i>Alfa</i> /HP- β CD)	70
Figura 43	PDRXP del método de co.evaporación para el sistema (<i>Alfa</i> /HP- β CD)	71
Figura 44	Linealidad del método analítico para la cuantificación de <i>Alfa</i>	72
Figura 45	Perfil de disolución para el sistema (<i>Alfa</i> / β CD)	73
Figura 46	Perfil de disolución para el sistema (<i>Alfa</i> /HP- β CD)	74
Figura 47	Perfil de disolución para el sistema (<i>Alfa</i> /HP- β CD)	75

IV LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Descripción
HP-βCD	2-Hidroxi propil beta ciclodextrina.
<i>Alfa</i> (αBIOF10)	5-Cloro-2-metiltio-6-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol.
ABZ	Albendazol.
αCD	Alfa ciclodextrina.
βCD	Beta ciclodextrina.
DCS	Calorimetria diferencial de barrido (por sus siglas en inglés).
CD's	Ciclodextrinas.
CE	Co evaporación.
CI	Complejo de Inclusión
DRXP	Difracción de rayos X de polvos.
DMSO	Dimetil sulfoxido.
ETD	Enfermedades tropicales desatendidas.
EtOH	Etanol.
γCD	Gama ciclodextrina.
IR	Infrarrojo.
IprOH	Isopropanol.
MeOH	Metanol.
Me-βCD	Metil beta ciclodextrina.
MF	Mezcla física.
MO	Microondas.
OMS	Organización Mundial para la Salud.
PVP	Polivinilpirrolidona.
rpm	Revoluciones por minuto.
SCB	Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.
SB's	Sistemas Binarios.

V RESUMEN

Algunas enfermedades causadas por parásitos en países en vías de desarrollo representan un problema de salud pública que afecta en dos niveles sociales, el primero a nivel colectivo por la baja productividad y pérdidas económicas; el segundo, en lo individual, ya que los pacientes son relegados y discriminados. Además, también afecta en el terreno veterinario pues implica pérdidas económicas a la industria ganadera.

La mayor parte de los fármacos empleados para el tratamiento de las parasitosis presenta una baja solubilidad acuosa lo cual impacta en su biodisponibilidad. Por otra parte, el desarrollo de nuevos fármacos antiparasitarios o nuevas estrategias para incrementar la solubilidad es reducido. Se ha reportado que el uso de las ciclodextrinas incrementa la solubilidad de diversos fármacos. Recientemente se ha reportado que la técnica de microondas favorece la interacción entre los sistemas elaborados con ciclodextrinas.

En el presente trabajo se evaluó la influencia de las microondas en la solubilidad de dos fármacos antiparasitarios: albendazol (ABZ) y un compuesto en etapa preclínica conocido como *Alfa* al preparar sistemas binarios fármaco-ciclodextrina. Las ciclodextrinas que se utilizaron fueron beta ciclodextrina (β CD) e hidroxil propil beta ciclodextrina (HP- β CD). Como controles se consideraron los fármacos puros y la mezcla de los componentes (mezcla física). Se comparó también el método de microondas contra el método de co evaporación con la finalidad de establecer una relación entre la interacción de los componentes y la transmisión de energía al sistema.

Para la caracterización del estado sólido de los sistemas desarrollados se empleó calorimetría diferencial de barrido, espectroscopia de infrarrojo y difracción de rayos X de polvos. Además se evaluó el perfil de disolución empleando el aparato de disolución tipo 2.

Los estudios de disolución demostraron un incremento en la solubilidad de ABZ y *Alfa* en los sistemas binarios desarrollados por el método de microondas (MO). La caracterización del estado sólido mostró que el método de MO favorece la interacción entre ABZ y *Alfa* con la HP- β CD. En particular, el sistema ABZ/HP- β CD presentó una mayor interacción lo cual se correlacionó con el 95% de fármaco disuelto a los 15 min. No se observaron diferencias entre el calentamiento convencional y el de microondas, sin embargo, el método de MO presentó una mayor eficiencia en la reducción de tiempo y uso de reactivos con respecto al método de co evaporación en la elaboración de los Sistemas Binarios.

1 INTRODUCCIÓN

Se estima que 40% o más de los fármacos empleados en la clínica son de baja solubilidad acuosa. La solubilidad y permeabilidad de los fármacos impacta en su biodisponibilidad (Merisko-Liversidge, *et al*, 2003). Los fármacos que pertenecen a la clase II del sistema de clasificación biofarmacéutico presentan una alta permeabilidad a la membrana sin embargo, su baja solubilidad es el factor limitante en su absorción (Kawabata, *et al*, 2011).

Una de las estrategias empleadas para incrementar la solubilidad es el desarrollo de sistemas binarios (SBs) con ciclodextrinas (CDs) (Davis, Brewster, 2004, Corti, *et al*, 2007, Loftsson, Brewster, 2012). Los SBs se han aplicado extensamente en diversos campos incluyendo el ámbito farmacéutico ya que han demostrado incrementar, la velocidad de disolución, la biodisponibilidad y la estabilidad del fármaco. Además se ha reportado una disminución de la irritabilidad en el tejido gástrico (Carrier, *et al*, 2007).

Entre los métodos que han sido empleados extensivamente para la preparación de SBs se encuentran co precipitación, co evaporación y liofilizado (Wen, *et al*, 2004). Estos métodos implican procesos largos y generalmente requieren grandes cantidades de disolventes. Por lo tanto existe la necesidad de generar procesos más convenientes y rápidos para el desarrollo de los SBs. La irradiación de microondas (MO) es un método de reciente empleo en la preparación de SBs con CDs, las ventajas que se han reportado han sido tiempos cortos y mayores rendimientos (Shen, *et al*, 2005, Moneghini, *et al*, 2008, Mohit, *et al*, 2010).

Los compuestos benzimidazolicos, como el albendazol (ABZ), han mostrado una actividad antiparasitaria, sin embargo, la baja solubilidad acuosa que presentan impacta en su biodisponibilidad (Jung, *et al*, 1998).

En el presente trabajo se reporta el empleo de irradiación de MO en el desarrollo de SBs de ABZ y el compuesto *Alfa* (compuesto benzimidazolico en etapa preclínica) usando beta ciclodextrina (β CD) e hidroxil propil beta ciclodextrina (HP- β CD). Los cambios del estado sólido realizados por calorimetría diferencial de barrido, espectroscopia de infrarrojo y difracción de rayos X de polvos confirmaron el cambio del estado sólido de los sistemas desarrollados además la evaluación *in vitro* por medio de los perfiles de disolución reveló que el método de MO aumentó la solubilidad del ABZ y el compuesto *Alfa*. El sistema ABZ/HP- β CD mostró una inclusión efectiva a diferencia de los demás sistemas desarrollados.

2 ANTECEDENTES

2.1 Infecciones parasitarias atribuidas a helmintos.

Los helmintos representan un grupo de parásitos que han afectado a los humanos desde la aparición propia del hombre. En la actualidad, esta enfermedad, que en algunos casos podría ser desproporcionada, afecta a sectores marginados, de bajos recursos y de servicios públicos limitados alrededor del mundo. Se ha estimado que más de dos billones de personas en regiones en desarrollo de África Sub-Sahariana, Asia y América se encuentran infectadas por una o más especies de helmintos (Hotez, *et al*, 2008, Kumar *et al*, 2013).

Los helmintos que infectan a la especie humana se dividen en dos categorías taxonómicas: El primer grupo corresponde a los *nematodos* (conocidos también como gusanos cilíndricos). Es en esta clasificación donde se incluyen la mayoría de helmintos intestinales (reconocidos por organismos de salud como helmintos transmitidos por el suelo), así también los gusanos filiarías causantes de las filiarías y oncocercosis. El segundo grupo corresponde a los *platelmintos*, (conocidos también como gusanos planos), estos a su vez, se dividen en dos clases: “Tremátodos” siendo el más conocido la *Fasciola hepatica* y “Cestodos”, como la *Taenia Solium*, ver Tabla 1 (Hotez, *et al*, 2008, Flórez, 2003).

Epidemiológicamente, las helmintiasis humanas se caracterizan por ser infecciones de larga duración y usualmente los casos suelen ser de más de una especie helmíntica infectiva. Éste fenómeno, conocido como poli-parasitismo, es el resultado de las conjunción de diversos factores tales como ambientales, ecológicos, vías de transmisión y la exposición y susceptibilidad del hospedero al parásito, así también como factores sociológicos, y económicos (Lustigman, *et al*, 2012).

Tabla 1. Principales helmintiasis humanas; su prevalencia y distribución global. Tomado de Hotez, *et al*, 2008.

PADECIMIENTO	PRINCIPAL AGENTE ETIOLOGICO	PREVALENCIA	REGIONES DE ALTA PREVALENCIA
Nematodos Transmitidos por el suelo			
Ascariasis	<i>Ascariasis lumbricoides</i>	807 millones	Regiones en desarrollo de Asia, África y América Latina (especialmente áreas de pobreza rural)
Trichuriasis	<i>Trichuris trichiura</i>	604 millones	
Anquilostomiasis	<i>Necator americanus, Ancylostoma</i>	576 millones	
Strongyloides	<i>Strongyloides stercoralis</i>	30-100 millones	
Nematodos Filiarias			
Filariasis Linfática	<i>Wuchereria bancrofti, Brugia malayi</i>	120 millones	Regiones en desarrollo de India, sureste de Asia y África sub-Sahariana
Oncocercosis	<i>Onchocerca volvulus</i>	37 millones	África sub-Sahariana
Loiasis	<i>Loa loa</i>	13 millones	
Dracunculiasis	<i>Dracunculus medinensis</i>	0.01 millones	
Platelmintos Trematodos			
Schistosomiasis	<i>Schistosoma haematobium</i> <i>Schistosoma mansoni</i> <i>Schistosoma japonicum</i>	207 millones	África sub-Sahariana África sub-Sahariana y Brazil oriental China y sureste de Asia
Trematodiasis transmitidas por	<i>Clonorchis sinensis</i> <i>Opisthorchis viverrini</i> <i>Paragonimus spp.</i> <i>Fasciolopsis buski</i> <i>Fasciola hepatica</i>	> 40 millones	Regiones en desarrollo de Asia
Platelmintos Cestodos			
Cisticercosis	<i>Taenia solium</i>	0.4 millones (sólo en América Latina)	Regiones en desarrollo de Asia, África y América Latina

2.1.1 Las helmintiasis clasificadas como enfermedades tropicales desatendidas.

La Organización Mundial para la Salud (OMS) clasifica a la helmintiasis, dentro de las enfermedades tropicales desatendidas (ETD) y las define como un conjunto de enfermedades infecciosas, incluidas las parasitarias, que afectan principalmente a las poblaciones más vulnerables, especialmente a las que viven en estado de pobreza en áreas rurales remotas y en zonas que presentan litorales.

Las ETDs son consideradas tradicionalmente, como temas de bajo impacto en las agendas de salud nacionales e internacionales. Estas enfermedades tienen alcances masivos, son de sufrimiento silencioso, debido a los tiempos de manifestación de la enfermedad, y frecuentemente no son mortales. La mortalidad que alcanzan no es comparable con otras enfermedades como el VIH/SIDA, tuberculosis o la malaria, sin embargo, la prevalencia de estas enfermedades en zonas tropicales las convierte en enfermedades invisibles para el resto del mundo. En la actualidad, las clases sociales que se encuentran en el abandono del progreso económico de los países en vías de desarrollo, se convierten en un sector desprotegido para enfrentar las ETDs (WHO, 2010).

2.1.2 Características comunes de las ETDs.

Una característica social prevalente en las ETDs es la pobreza a la que están sujetas las poblaciones que las padecen. Las ETDs tienen un enorme impacto sobre los individuos, familias y comunidades en los países en vías de desarrollo en términos de calidad de vida, reducción en la productividad y en términos económicos por los costos elevados que generan los tratamientos médicos, que suelen ser por periodos largos. Muchas ETDs causan una estigmatización y discriminación social. Es de suma importancia el desarrollo e investigación de nuevas estrategias de diagnóstico y medicamentos, así como generar estrategias de prevención, tratamientos de cura y manejo en el caso de todas las ETDs (WHO, 2010).

La OMS plantea que las ETDs pueden controlarse, prevenirse y posiblemente eliminarse empleando soluciones efectivas y adecuadas mediante cinco estrategias: 1) provisión de agua potable a las comunidades, 2) el control de los casos positivos, 3) control del vector, 4) quimioterapia preventiva y 5) control sanitario veterinario. Estas estrategias son relativamente de bajo costo.

Las parasitosis intestinales por helmintos, en nuestro país, sigue siendo un problema de salud pública y representa una de las primeras veinte causas de morbilidad (Montoya, 2011).

2.2 La quimioterapia en el tratamiento de las helmintiasis.

Como se mencionó anteriormente para el combate de las helmintiasis son importantes: un programa económico, educacional y médico que contemple estrategias de prevención y atención a las poblaciones más vulnerables, además de programas de distribución de medicamentos a nivel masivo (Hotez, et al, 2008, Lustigman S, *et al*, 2012). Es por lo anterior que la OMS propone el concepto de quimioterapia preventiva (QP). Esta estrategia tiene por objetivo dar una guía del uso de los fármacos antihelmínticos administrados solos o combinados como una herramienta en la prevención de la morbilidad que presentan las ETDs.

El número de medicamentos empleados para el control de las ETDs resulta limitado. De las 1556 nuevas moléculas comercializadas entre 1975 y 2004 solamente el albendazol, prazicuantel, oxamniquina e ivermectina fueron desarrolladas para el tratamiento de estas enfermedades (Chirac y Torreele 2006). Estos fármacos junto con dietilcabamazina (desarrollado en la primera mitad del siglo veinte) y mebendazol, representan, casi en su totalidad, todo el compendio farmacológico en el combate de las infecciones más frecuentes en el mundo causadas por parásitos (Hotez, *et al*, 2008). En la actualidad los fármacos empleados en el tratamiento de las helmintiasis pueden clasificarse de diversas formas entre éstas por su mecanismo de acción o su estructura química. Entre los grupos más representativos de fármacos antihelmínticos se encuentran: 1) Benzimidazoles, 2) Imidazotiazoles (levamisole)/tetrahidropirimidinas, y 3) Avermectinas y milbemicinas. En la Tabla 2 se presenta una lista de los fármacos de primera elección en el tratamiento de las parasitosis, así como otros fármacos alternativos empleados.

Tabla 2. Fármacos empleados en las helmintiasis intestinales. Modificado de Mehta, 2013. * NOM-021-SSA2-1994

PARASITO	FARMACOS DE PRIMERA ELECCIÓN	OTROS FARMACOS
Nematodos Transmitidos por el Suelo		
<i>Ascariasis lumbricoides</i>	Albendazol, Mebendazol	Pirantel, Ivermectina, Piperazina
<i>Trichuris trichiura</i>	Albendazol, Mebendazol, Pirantel pamoato	Ivermectina
<i>Necator americanus, Ancylostoma</i>	Albendazol, Mebendazol, Pirantel pamoato	Ivermectina
<i>Strongyloides stercoralis</i>	Ivermectina	Albendazol
Nematodos Filarias		
<i>Wuchereria bancrofti, Brugia malayi</i>	Dietilcabamazina	Ivermectina
<i>Onchocerca volvulus</i>	Ivermectina	Dietilcarbamazina o Ivermectina
<i>Loa loa</i>	Dietilcabamazina	Ivermectina
<i>Dracunculus medinensis</i>	Metronidazol	Tiabendazol, Mebendazol
Platelmintos Trematodos		
<i>Schistosoma haematobium</i>	Prazicuantel	Metrifinato
<i>Schistosoma mansoni</i>	Prazicuantel	Oxamniquina
<i>Schistosoma japonicum</i>	Prazicuantel	Niridazol, Tartrato de antimonio y potasio
<i>Clonorchis sinensis</i>	Prazicuantel	Niridazol
<i>Opisthorchis viverrini</i>	Prazicuantel	Niridazol
<i>Paragonimus spp.</i>	Prazicuantel	Bitionol
<i>Fasciolopsis buski</i>	Prazicuantel	Bitionol
<i>Fasciola hepatica</i>	Prazicuantel	Tetracloroetileno
Platelmintos Cestodos		
<i>Taenia solium</i>	Prazicuantel (Albendazol en México*)	Albendazol, Niclosamina, Nitazoxanida

2.2.1 Benzimidazoles.

Los benzimidazoles son un grupo de fármacos antihelmínticos con un amplio uso en medicina humana y veterinaria (Frayha, *et al*, 1997). Al inicio de los años sesenta, fue el periodo cuando se emplearon los primeros fármacos benzimidazólicos antihelmínticos con uso clínico. El empleo de tiabendazol fue limitado debido a sus efectos adversos (náuseas, vómito, trastornos gástricos, prurito, diarrea, dolor de cabeza, fatiga, etc), subsecuentemente, el mebendazol empezó a usarse ampliamente y tuvo un impacto enorme al inicio de esta década en el manejo de las nematodiasis intestinales, sin embargo, indudablemente el fármaco helmíntico de mayor espectro es el albendazol (Cook, 1990).

Estructuralmente, este grupo de compuestos poseen un anillo bicíclico, en donde el benceno se fusiona con la posición 4 y 5 del imidazol (Flórez J, 2003). En la Figura 1 se presenta la estructura química básica y los fármacos antihelmínticos benzimidazólicos más utilizados. El Triclabendazol, compuesto trematocida, se asume que actúa mediante el mismo mecanismo que los benzimidazoles (Martin R.J. 1997).

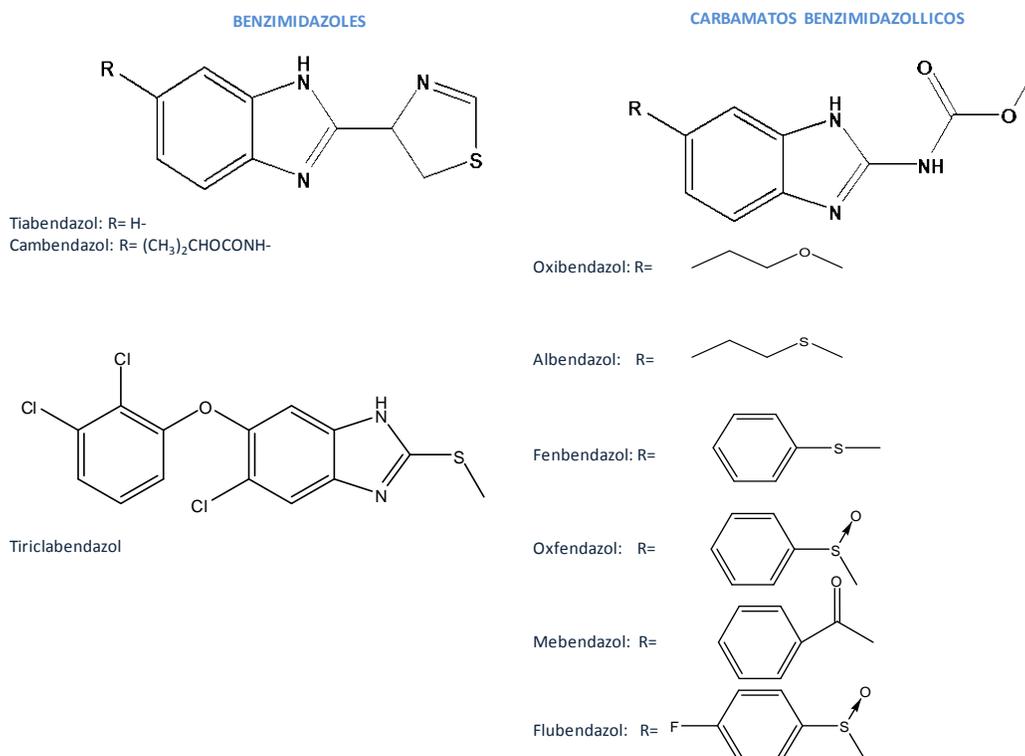


Figura 1. Estructuras químicas de benzimidazoles, carbamatos benzimidazólicos y el trematocida tiabendazol. Tomado de Martin R.J. 1997.

2.2.1.1 Mecanismo de acción de los benzimidazoles.

El mecanismo de acción de los benzimidazoles está dado por la interrupción de la captación de la glucosa por el parásito debido a la inhibición de la polimerización de la β -tubulina impidiendo así los niveles energéticos hasta ser insuficientes para el parásito, de tal forma que primero se paraliza el parásito y posteriormente se da la muerte (El-On, J, 2003).

Los microtubulos son organelos intracelulares que cumplen diversas funciones en el parásito, tales como movimiento de los cromosomas durante la división celular, proveyendo estructura y sostén a la célula. Además, los organelos participan en el movimiento intracelular de metabolitos y partículas generadas en el proceso de exocitosis. Los microtubulos se encuentran, también, en bacterias y en células de plantas y animales (Martin R.J. 1997).

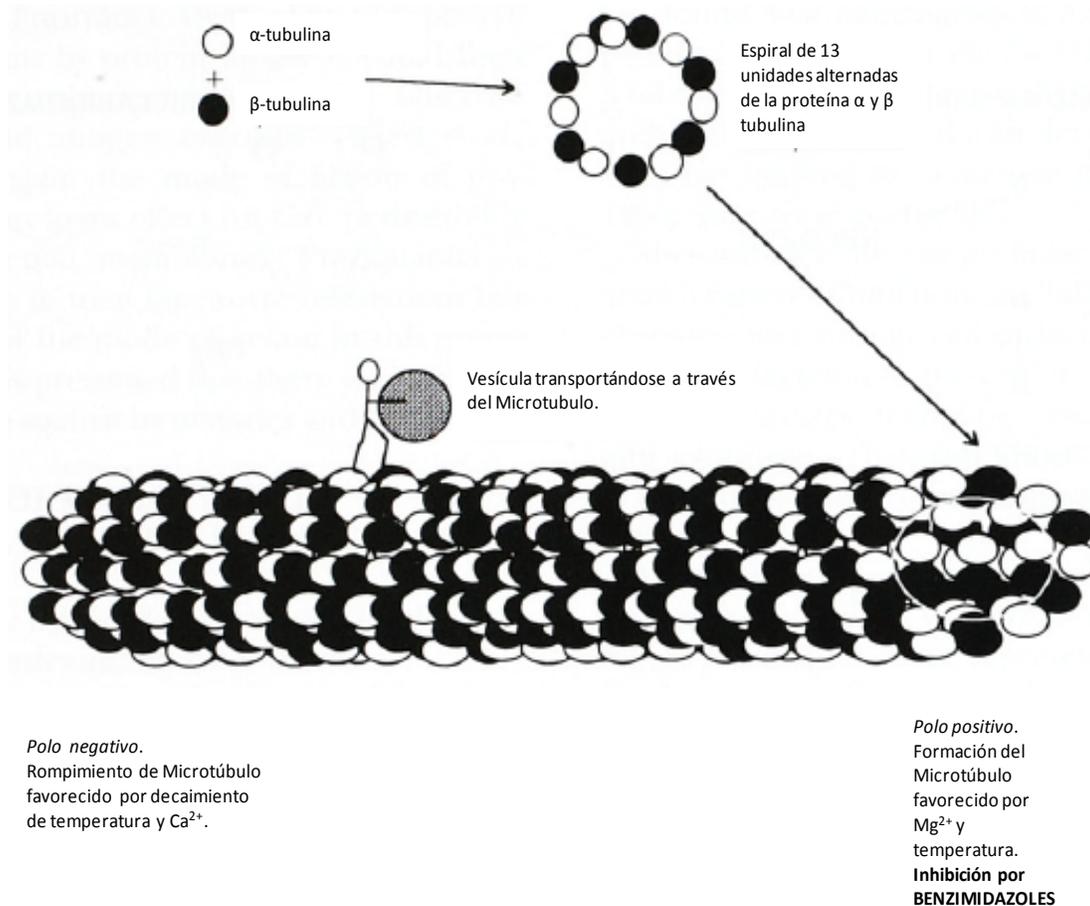


Figura 2. Mecanismo de acción de los benzimidazoles. La formación de microtubulos se da por la polimerización de α -tubulina y β -tubulina, las cuales se agrupan alternándose y en forma de espiral a lo largo del microtubulo. La polimerización de los microtubulos es inhibida por la unión de compuestos benzimidazolicos a la β -tubulina. La función fisiológica de los microtubulos incluye el transporte intracelular de ciertas moléculas, representada por el hombrecito en el esquema. Tomado de Martin R.J. 1997.

Los microtubulos están compuestos por dos proteínas de 450 aminoácidos conocidas como α -tubulina y β -tubulina las cuales forman un anillo de 13 moléculas de tubulina agrupados en forma espiral. Cada anillo está conformado por seis unidades de α -tubulina más siete unidades de β -tubulina alternando con otro anillo conformado por siete unidades de α -tubulina más seis unidades de β -tubulina, y alternando a su vez por la α -tubulina y β -tubulina. Del 75 al 85 % de masa de los microtubulos está compuesta por la proteína tubulina pero adicionalmente se encuentran otras proteínas conocidas como Proteínas Asociados a los Microtubulos, *PAMs*, que dan también, estabilidad y estructura al organelo. La formación de microtubulos es un proceso dinámico que implica la

polimerización de la tubulina en un extremo (polo positivo) y la despolimerización en el otro extremo (polo negativo). Existen diversos factores que favorecen la polimerización de la tubulina como la presencia Mg^{2+} o incremento en la temperatura (más de 37 °C). Una disminución de la temperatura (de 4°C), la presencia de Ca^{2+} o moléculas de calmodulina favorece la despolimerización. La formación de microtubulos puede ser inhibida por uniones de sustancias en la parte externa de polimerización (polo positivo) del microtubulo. En la Figura 2 se presenta el esquema de la β -tubulina, sitio activo de los benzimidazoles (Martin R.J. 1997).

El presente trabajo se concentró en dos fármacos antihelmínticos: el primero es una molécula ampliamente utilizada en nuestro país, el albendazol (ABZ) con actividad antihelmíntica (Massaiti T. O. 2004). El segundo corresponde a una molécula no comercializada con actividad fasciolicida, (Hernández-Campos, *et al*, 2002), y conocido en trabajos previos con el nombre de *Alfa* (α BIOF10).

2.2.1.2 Albendazol.

El albendazol (ABZ), metil-5-(propiltio)-2-benzimidazolcarbamato, es un derivado benzimidazólico, (Figura 3), con un amplio espectro anhelmíntico, cuya autorización para uso humano se dio en 1982 (Dayan A.D. 2003); El tratamiento con ABZ es importante en infecciones sistémicas especialmente en casos inoperables y diseminados de hidatidosis y neurocisticercosis (Massaiti T. O. 2004).

El ABZ se absorbe en diferentes zonas del tracto gastrointestinal después de su administración por vía oral (Cook G.C. 1990, Dayan A.D. 2003, Jung, *et al*, 1998). Se ha observado un extenso “efecto de primer paso” debido al metabolismo intestinal y del sistema hepático (Molina, *et al*, 2007). El albendazol es oxidado en el hígado por la flavina monooxigenasa y por el sistema del Citocromo P450, principalmente por el CYP3A4, dando como resultado el metabolito activo, sulfóxido de albendazol (ABZSO), el cual vuelve a ser oxidado por el CYP dando origen al metabolito inactivo sulfona de albendazol (Figura 3).

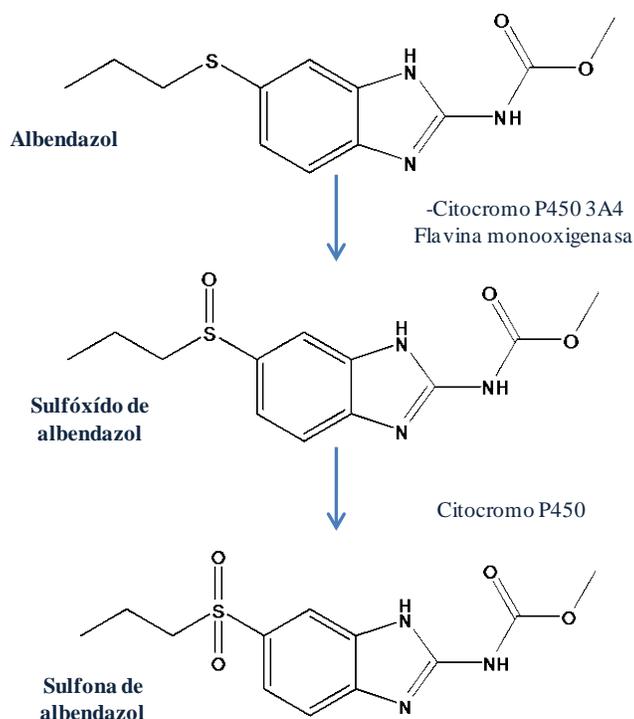


Figura 3. Metabolismo de albendazol. Tomado de Massaiti T. O. 2004.

Se sabe que el ABZSO puede atravesar hacia tejidos y la barrera hematoencefálica, sin embargo, se ha encontrado que existe una gran variabilidad intra e interindividual en las concentraciones plasmáticas del fármaco después de la administración, (Massaiti T. O. 2004). Dicha variabilidad se atribuye, entre otros factores a la baja solubilidad del fármaco. (Jung, *et al*, 1998).

2.2.1.3 Alfa (α BIOF10).

La síntesis de este compuesto estuvo dirigida en ofrecer una alternativa en la reducida lista de fármacos contra la *Fasciola hepática*, helmintiasis responsable de severas bajas económicas en la producción de animales de granja en nuestro país.

El compuesto *Alfa*, 5-Cloro-2-metilthio-6-(1-naftiloxi)-1H-benzimidazol, es un análogo del triclabendazol, fármaco de primera elección en el combate de la fasciolosis. En su estructura, el grupo 1-naftiloxi sustituye al grupo 3,4-diclorofenilo que se encuentra en el fármaco triclabendazol en el anillo benzimidazolico de éste (Figura 1).

En estudios previos *in vivo* del compuesto *Alfa*, se encontró que el compuesto presentó una actividad del 100 % cuando se evaluó contra *Fasciola hepatica* en borregos a una dosis de 15 mg/Kg (Hernández-Campos, *et al*, 2002, Ibarra, *et al*, 1997). Además, se ha realizado el estudio farmacocinéticos del compuesto *Alfa*, y sus metabolitos: el sulfóxido de *Alfa* y la sulfona de *Alfa* (Figura 4), concluyendo que, el compuesto es viable para uso en el campo veterinario (Del Rivero, 1998, Vértiz, 2000).

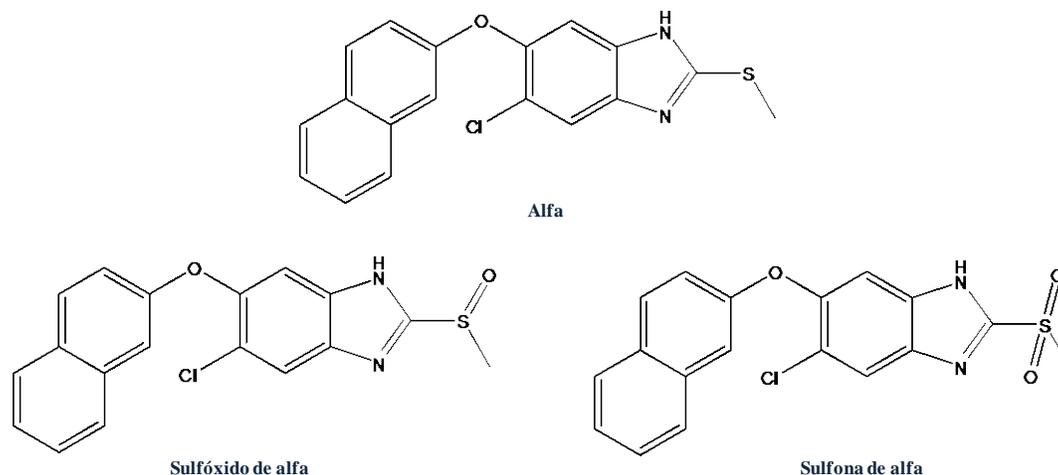


Figura 4. Estructura del compuesto *Alfa*, sulfóxido de *Alfa* y sulfona de *Alfa*. Tomado de Del Rivero, *et al*, 1998.

El ABZ es el fármaco de primera elección en el tratamiento de la helmintiasis, mientras que el compuesto *Alfa* ha demostrado eficacia en el tratamiento de la fasciolosis.

En la Tabla 3 se presentan las propiedades fisicoquímicas del ABZ y del *Alfa*. Se sabe que fármacos con solubilidad menor a 100 µg/mL son considerados como fármacos de baja solubilidad y que dicho parámetro puede comprometer su biodisponibilidad (Hörter, y Dressman, 2001).

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas del ABZ y del alfa. Se presentan las diversas fuentes consultadas.

FÁRMACO	PESO MOLECULAR (g/mol)	pKa	logP	SOLUBILIDAD a 25 °C	PUNTO DE FUSIÓN (°c)	DÓSIS	TOXICIDAD (mg/Kg/día)
ALBENDAZOL	265.33 ^a	2.8-10.26 ^b	3.46 ^b	0.2 µg/ml (en agua) ^d	209 ^e	15 mg/Kg ⁱ	1320-2400 ^c
ALFA	340.86 ^g	2.87 ^g	1.44 ^g	0.47 µg/ml (Buffer fostatos pH 6) ^g	171-179 ^g	15 mg/Kg ^h	NR

NR: No se

a: SIGMA-ALDRICH

b: Jung, *et al*, 1997.

c: Dayan A.D. 2003.

d: Evrarda, *et al*, 2002.e: Castro, *et al*, 2010.

f: NOM-021-SSA2-1994.

g: Del Rivero L. M. 1998, Vértiz S.G. 2000.

h: Hernández-Campos, *et al*, 2003.

i: Massaiti, 2004.

2.3 Solubilidad en los fármacos.

Las formas farmacéuticas de administración oral, deben disolverse en los fluidos del tracto gastrointestinal para poder absorberse, llegar a la circulación sistémica y posteriormente alcanzar el órgano blanco para llevar a cabo el efecto terapéutico. La disolución por lo tanto, representa un punto crítico en la disponibilidad del fármaco (Figura 5). La velocidad de disolución y de absorción puede estar modificada por factores fisiológicos como el pH del tracto gastrointestinal, la presencia de sales biliares, el movimiento intestinal y también por las propiedades fisicoquímicas del fármaco como son el tamaño de partícula, la forma amorfa o cristalina y el grado de hidratación entre otras.(Mudie, *et al*, 2010).

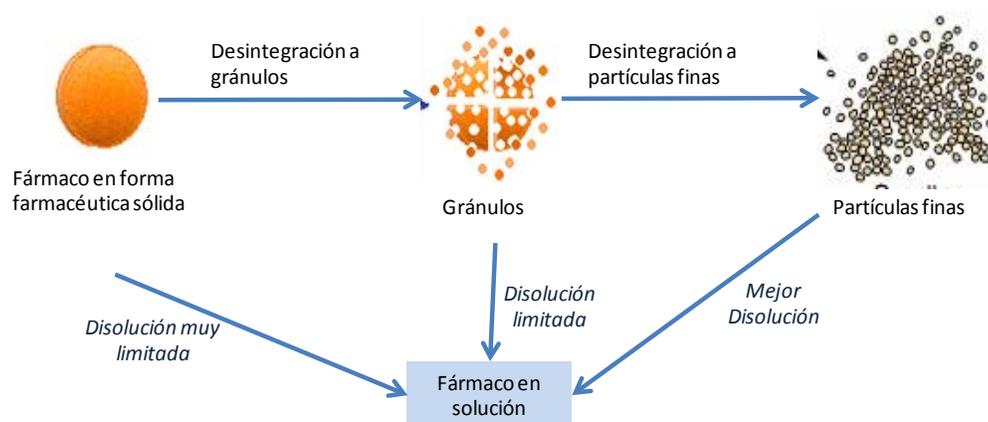


Figura 5. Proceso de disolución. El proceso de la desintegración y la disolución son puntos críticos en el proceso de absorción de un fármaco.

La baja solubilidad de los fármacos implica que se requiera una dosis mayor, sin embargo, en algunos casos este incremento de dosis puede dar lugar a irritación del epitelio intestinal así como casos de toxicidad. Además, el desarrollo de formulaciones conteniendo altas cantidades de fármaco resulta complicado, ya que las propiedades reológicas del polvo en ocasiones se modifican con lo cual los proceso de producción farmacéutica de granulación y tableteo se ven afectados, adicionalmente los costos a nivel industrial tampoco resultan viables (Kawabata, *et al*, 2011).

2.3.1 Estrategias para el incremento de la solubilidad de los fármacos.

En la actualidad el avance científico y tecnológico ha permitido emplear diferentes estrategias encaminadas al incremento de la solubilidad de fármacos. Estas estrategias pueden clasificarse en tres rubros: 1) *Modificaciones Físicas*, como reducción de tamaño de partícula (un ejemplo es la micronización y nanocristales), modificaciones del hábito cristalino (polimorfismo, amorfismo y cocrystalización), elaboración de dispersiones con acarreadores (mezclas eutécticas, dispersiones solidas) y técnicas criogénicas; 2) *Modificaciones Químicas*, como cambios de pH o empleo de soluciones buffer, derivatizaciones, formación de complejos de inclusión, formación de sales del fármaco, modificaciones estructurales por grupos polares y diseño de profármacos con grupos polares y 3) *Métodos Micelares* como procesos de fluido supercrítico, empleo de adyuvantes como surfactantes y cosolventes. (Savjani, *et al*, 2012).

2.3.2 Formulación con base en la clasificación biofarmacéutica.

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (SCB) es una herramienta útil en el desarrollo de formulaciones. El SCB establece cuatro categorías para los fármacos con base a su solubilidad y su permeabilidad intestinal. Estas categorías están definidas como *Clase I*: Alta solubilidad-Alta permeabilidad, *Clase II*: Baja solubilidad-Alta permeabilidad, *Clase III*: Alta solubilidad-Baja permeabilidad y la *Clase IV*: Baja solubilidad-Baja permeabilidad. Un fármaco es considerado altamente permeable cuando el grado de absorción en humanos es del 90 % o más de la dosis administrada. Por otra parte, un fármaco es considerado de alta solubilidad cuando la dosis más alta se solubiliza en un

volumen de 250 mL o menos en medios acuosos en el rango de pH de entre 1.0 a 7.5 a 37 °C (Kawabata, *et al*, 2011).

Actualmente el concepto de SCB se utiliza tanto para la bioexención como en el diseño de formulaciones en las etapas previas a los estudios clínicos. El SCB permite visualizar la estrategia y dificultad a considerar durante la formulación. Para fármacos de clasificación I y III el diseño de la estrategia es simple, sin embargo, los fármacos de la clasificación II y IV representan un reto mayor (Kawabata, *et al*, 2011). En la Figura 6 se presentan las estrategias de formulación planteadas bajo el concepto de SCB.

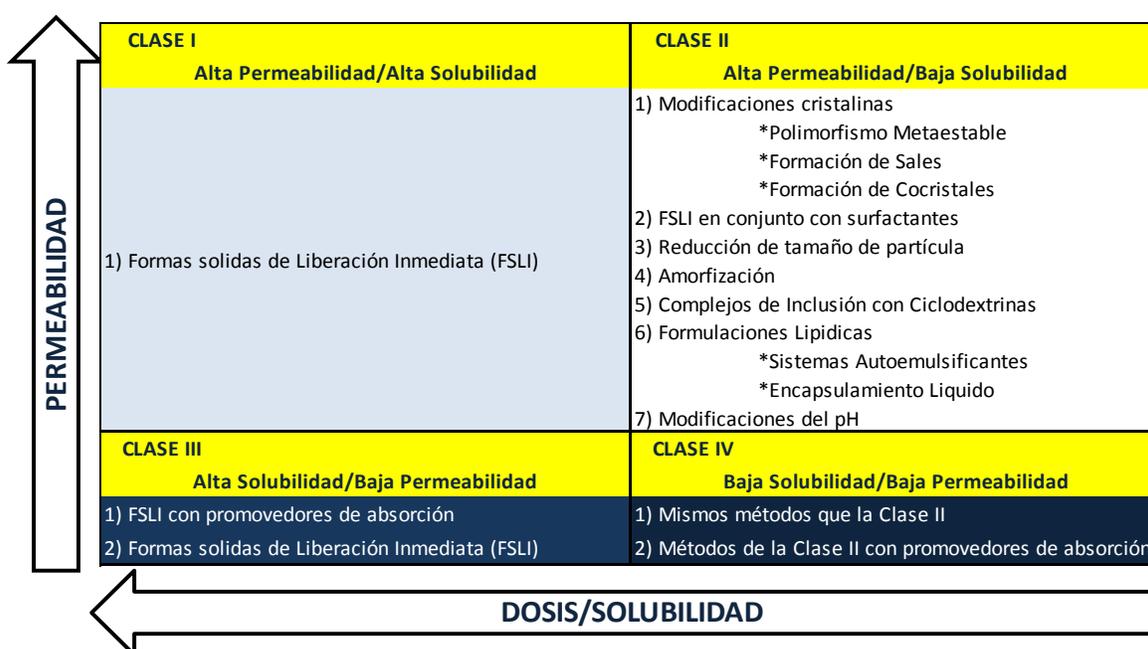


Figura 6. Estrategias de formulación de fármacos basadas en el SCB. En el cuadro se presenta la permeabilidad y la relación dosis/solubilidad. Tomado de Kawabata, *et al*, 2011.

El empleo de las diferentes estrategias de formulación de fármacos de baja solubilidad ha mostrado un incremento en la biodisponibilidad de dichos fármacos. En la Figura 7 se presenta el efecto del sistema de danazol en la biodisponibilidad (Liversidge y Cundy, 1995) después de la administración de tres formulaciones diferentes por vía oral a perros. Las formulaciones fueron: a) dispersión de nanopartículas, b) complejos de inclusión con hidroxipropil-beta-ciclodextrina y c) una suspensión convencional de polivinilpirrolidona conteniendo en todos los casos 200 mg de fármaco. En el estudio se encontró

que el área bajo la curva para la suspensión convencional fue de 1.0 ± 0.4 , para la nanosuspensión fue de 16.5 ± 3.2 y para el complejo de inclusión fue de 20.4 ± 1.9 .

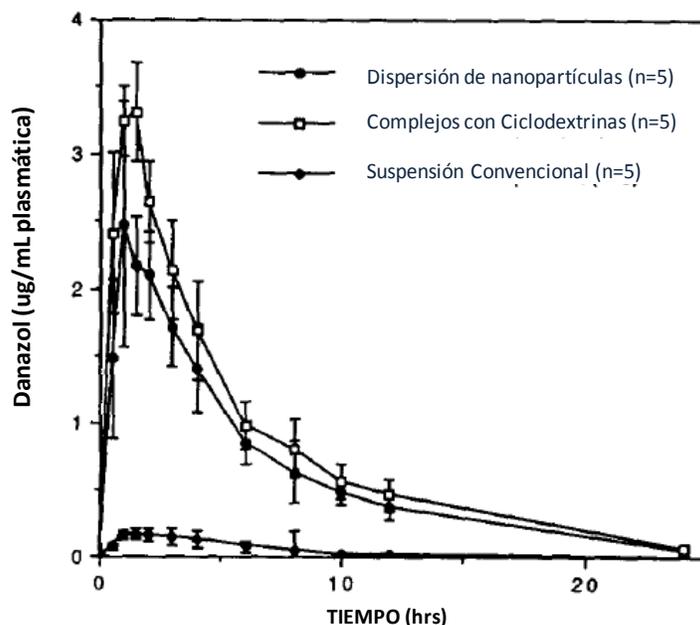


Figura 7. Niveles plasmáticos de tres diferentes formulaciones (promedio \pm desviación estándar) de danazol al ser administrado por vía oral a perros Tomado de Liversidge, Cundy, 1995.

2.3.3 Sistemas desarrollados para incrementar la solubilidad de albendazol.

Los reportes del desarrollo de sistemas para incrementar la solubilidad de albendazol han sido amplios. Por ejemplo, se ha reportado el desarrollo de liposomas de albendazol en combinación con cimetidina. En dicho estudio el sistema mostró un efecto en el estudio *in vivo*, sin embargo, este efecto no se pudo atribuir que haya sido por un aumento de la solubilidad del albendazol sino por el efecto de los excipientes (Wen, *et al*, 1996). También existen reportes en el uso de cosolventes. Torrado y colaboradores en 1997 emplearon Trascutol en combinación con ABZ, encontrando un incremento significativo de la biodisponibilidad cuando se administró a ratones, comparado contra una dispersión convencional de ABZ. También se ha reportado el desarrollo de sistemas dispersos con acarreadores hidrofílicos como poloxamero o polietilenglicol, con un aumento del 75% y un 45% de ABZ disuelto a los 15 min respectivamente para cada sistema desarrollado (Castro, *et al*, 2010). Además, se han elaborado formulaciones de nanocristales con PVP.

En este estudio se reportó un aumento en el porcentaje disuelto de ABZ de 64% a los 30 min (Koradia y Parikh, 2012). Se ha reportado, también que la formulación de sistemas esferoides desarrollados con celulosa microcristalina, lactosa y quitosan aumentó el porcentaje disuelto de ABZ del 58% a los 30 min (Ibrahim y Al-Anazi, 2013).

2.4 Ciclodextrinas como estrategia para incrementar la solubilidad de los fármacos.

Las Ciclodextrinas (CDs) son moléculas que pueden emplearse como excipientes farmacéuticos y que pueden aumentar la solubilidad y la biodisponibilidad de varios fármacos de baja solubilidad mediante la formación de sistemas constituidos por fármaco-ciclodextrina cuya solubilidad acuosa es mayor que el fármaco inicial. A estas interacciones se les conoce con el nombre de Complejos de Inclusión (CI).

La capacidad de las ciclodextrinas de formar CI o para modificar las propiedades fisicoquímicas de varios fármacos se ha reportado extensivamente. Además se ha reportado la mejora de la estabilidad química (degradación fotolítica, hidrólisis, u oxidación) y física. También se ha demostrado un incremento en la solubilidad de los fármacos cuando se generan sistemas binarios (SBs) ciclodextrina-fármaco (Liu, *et al*, 2003, Cabral-Marques, *et al*, 1990, Han-Gon, *et al*, 2003).

Estructuralmente, las ciclodextrinas son oligosacaridos cíclicos, conformadas, por seis, siete u ocho unidades de glucopiranososa conocidas por *Alfa* ciclodextrina (α CD), beta ciclodextrina (β CD) y gama ciclodextrina (γ CD) respectivamente, las cuales son denominadas como ciclodextrinas naturales (Figura 8). La unión entre las unidades de glucopiranososa de las ciclodextrinas está dada por enlaces glucosídicos α -1,4 en una conformación de silla.

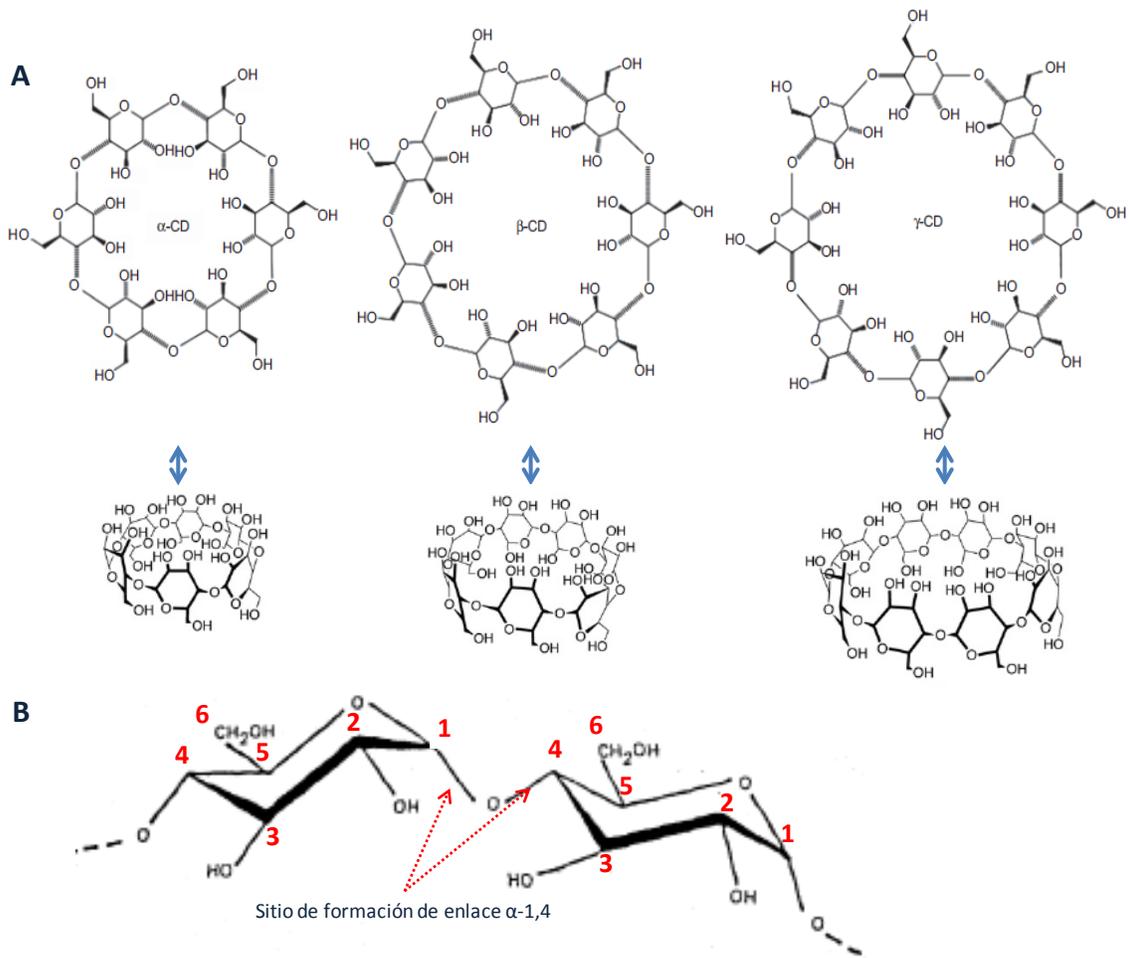


Figura 8. Estructura cíclica de los oligosacáridos que conforman a la ciclodextrina. A) α CD, β CD y γ CD constituidas por 6, 7 y 8 unidades de glucopiranososa respectivamente. B) se enumeran los carbonos constituyentes de glucopiranososa y se presenta la formación del enlace α 1, 4. Tomado de Laza-Knoerr *et al.*, 2010. Crini, Morcellet, 2002.

Este tipo de arreglo proporciona a las ciclodextrinas una geometría toroidal o cónica cilíndrica caracterizada por un lado estrecho y un lado amplio. La parte estrecha está conformada por los hidroxilos primarios de la posición C6, mientras que en la parte amplia están situados los hidroxilos secundarios de la posición C2 y C3. La geometría cónica cilíndrica de las ciclodextrinas genera dos zonas, la primera hacia el interior, caracterizada por una cavidad hidrofóbica atribuida a los grupos metilo que quedan expuestos hacia el interior de la cavidad y una segunda zona hacia el exterior, con características hidrofílicas dadas por los grupos hidroxilos, responsable de la solubilidad de las ciclodextrinas (Laza-Knoerr *et al.*, 2010, Crini, Morcellet, 2002), ver Figura 9.

El número de grupos hidroxilos expuestos en el exterior de cada ciclodextrina determina también la diferencia de solubilidades en un ambiente acuoso entre cada ciclodextrina. Así la solubilidad en condiciones ambientales normales es de 13, 2 y 26% para α CD, β CD y γ CD respectivamente. La baja solubilidad de β CD en comparación con α CD, se atribuye a la formación de puentes de hidrógeno del C₂-OH con C₃-OH de la glucopiranososa vecina formándose una estructura rígida (Frömming, Szejtli, 1994), así también, se ha reportado la auto-agregación de la β CD con ella misma como un factor que contribuye a la baja solubilidad de esta CD (Messner, *et al*, 2010). La solubilidad acuosa de β CD puede incrementarse por la modificación de los grupos hidroxilos al incorporar en la posición C6 grupos hidroxilo propilos para originar la hidroxilo propil beta ciclodextrina (HP- β CD) cuya solubilidad es 60% más soluble que la CD inicial (Davis, Brewster, 2004). En la Tabla 4 se presentan algunas propiedades fisicoquímicas de las ciclodextrinas empleadas en el presente trabajo.

Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas y biológicas de β CD y de HP- β CD.

CDs	PESO MOLECULAR (g/mol)	MS	UNIDADES DE GLUCOSA	DIAMETRO DE LA CAVIDAD (Å)	SOLUBILIDAD a 25 °C	PUNTO DE FUSIÓN (°C)	pK a 25 °C	TOXICIDAD (mg/Kg/día)	ABSORCIÓN EN RATAS % de dosis (mg/kg)
β CD	1135 ^a	NA	7 ^a	6.0-6.5 ^a	18.5 mg/mL (en agua) ^b	280	12.202 ^a	675 (en rata) ^d	0.6 (500) ^d
HP- β CD	1400 ^b	0.65 ^b	7 ^a		>600 mg/mL (en agua) ^b	278		450 (en rata, 7 días) ^c 2250 (en perro, 1 mes) ^c	3.0 (40) ^d

MS (Grado de Sustitución Molar): No. promedio de sustituyentes que reaccionaron con una unidad de glucosa

NA: No aplica,

a: Szejtli, 1998.

b: Loftsson, T. Brewster, M. 2012

c: Gould S., Scott R. C. 2005

d: Stella V. J. y He, Q.2008

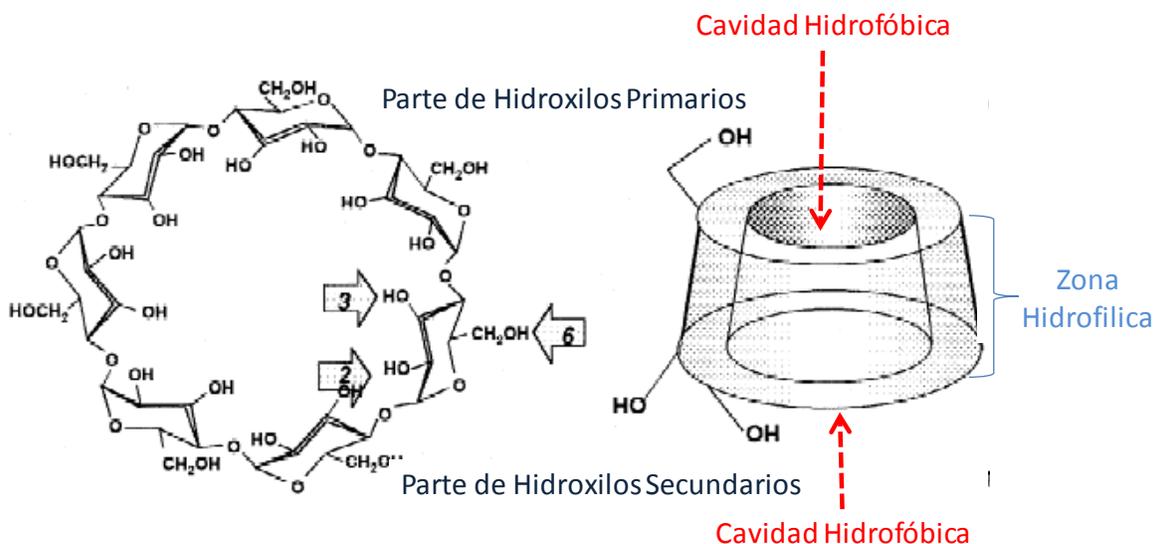


Figura 9. Representación esquemática de la geometría cónica cilíndrica de la ciclodextrina. Se señala la ubicación de los hidroxilos primarios y secundarios. Se presentan también las zonas hidrofóbicas e hidrofílicas que se forman en el arreglo de las CDs. Modificado de Hirayama, Uekama, 1999.

2.4.1 Complejos de inclusión de ciclodextrinas.

El término de complejo de inclusión (CI) fue introducido por primera vez en 1950 por Schlenk (Frömming, Szejtli, 1994). Un CI consiste en la asociación química entre dos o más moléculas donde una de ellas, considerada como hospedera, puede admitir en su cavidad a otra molécula considerada a su vez como huésped, dando como resultado una “encapsulación” estable, sin la formación de una interacción de tipo covalente (Figura 10-A). La afinidad que tiene el fármaco (huésped) por un tipo de ciclodextrina dada (hospedero) es una interacción espacial específica (Crini, Morcellet, 2002). Diversos factores están relacionados en la formación de un CI, tales como: *a) efectos hidrofóbicos*, en los cuales los grupos apolares inducen, preferentemente, la interacción entre el fármaco y la cavidad hidrofóbica, *b) Interacciones de Van Der Vals*, estas interacciones envuelven dipolos inducidos y fuerzas de dispersión de London; *c) Puentes de Hidrógeno* entre los hidroxilos del huésped y los hidroxilos secundarios de la cavidad de las ciclodextrinas (este efecto se incrementa en fármacos polares) (Figura 10, C-1), *d) Efecto estérico*, el proceso de inclusión también está dado por la polaridad, la distribución espacial y el tamaño de la molécula (agente huésped) y *e) efectos del disolvente* (Crini, Morcellet, 2002), en un ambiente acuoso, el disolvente presenta un factor determinante en el proceso de inclusión, incluso puede considerarse como un tercer componente.

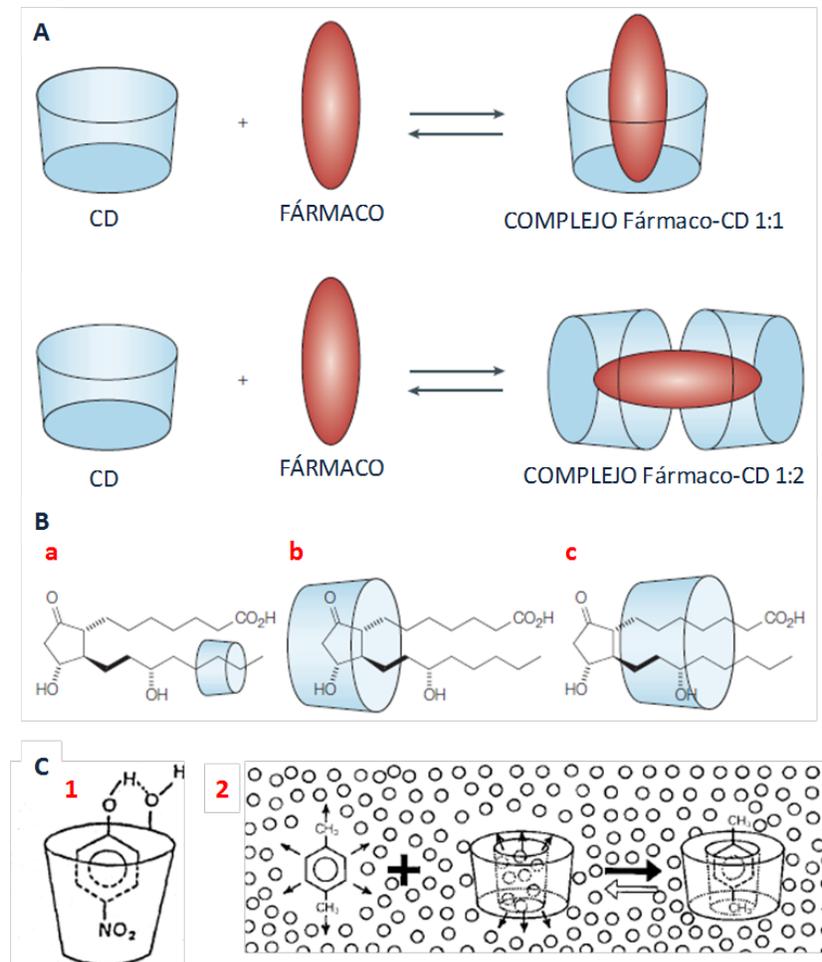


Figura 10. Esquema de la formación del Complejo de Inclusión. A) Asociación entre la CD libre y el fármaco para la formación del CI en una relación estequiometrica 1:1 o 1:2 (Fármaco-CD), B) Sitios posibles de interacción entre la Prostaglandina E₂ y la a) α CD, b) β CD y c) γ CD y C) factores que contribuyen en el proceso de la inclusión 1) formación de puentes de hidrogeno entre el huésped y el hospedero y 2) proceso de inclusión en un ambiente acuoso. Tomado de Davis, Brewster, 2004, Crini, Morcellet, 2002, Szejtli, 1998.

En un sistema acuoso, el disolvente representa un factor importante en el proceso de inclusión, además el CI implica un equilibrio dinámico entre el fármaco, la ciclodextrina y el propio disolvente (Figura 10, C-2).

2.4.2 Ventajas al emplear ciclodextrinas.

Las principales ventajas del uso de CDs para incrementar la solubilidad de fármacos son: *a)* Presentan una estructura química definida que permite su caracterización química en los controles de forma relativamente sencilla, *b)* presentan sitios reactivos, lo que las hace viables para la posible incorporación de grupos funcionales que permitan la modificación de las propiedades iniciales de la CD, *c)* ofrecen opciones con respecto al tamaño de la cavidad hidrofóbica, *c)* presentan baja toxicidad y reducida actividad farmacológica, *d)* las agencias reguladoras internacionales de salud las han contemplado en sus listados de componentes farmacéuticos y *e)* su solubilidad acuosa es reconocida (Uekama, *et al*, 1998).

2.4.3 Métodos en la elaboración de los Sistemas Binarios.

Los métodos convencionales que han sido reportados para la formación de SBs entre fármaco y CD suelen ser relativamente fáciles de desarrollar. A continuación se presenta una descripción de estos.

2.4.3.1 Homogenización o mezclado simple.

Consiste en mezclar los componentes sin agregar disolventes. El mezclado se da comúnmente en un mortero con pistilo, en ocasiones, esta homogenización es considerada como control y es reconocida como “mezcla física” (Castillo, *et al*, 1999, Cirri, *et al*, 2009) en algunas ocasiones la diferencia puede radicar en un simple mezclado o la aplicación de una fuerza durante la operación de mezclado de los componentes.

2.4.3.2 Amasado.

El método se refiere al mezclado en mortero de los componentes agregando durante la homogenización un disolvente, comúnmente se emplea agua o etanol hasta la formación de una pasta, continuando el mezclado evitando la evaporación del disolvente para mantener la consistencia (Ain, *et al*, 2008).

2.4.3.3 Co precipitación.

En el método de co precipitación, el fármaco es disuelto en un disolvente capaz de disolver al fármaco y que además sea miscible con el agua, normalmente se elige etanol. Por otra parte, la CD es disuelta en agua, posteriormente ambas soluciones son mezcladas y agitadas durante tiempos establecido y que en ocasiones suelen ser prolongados, la diversidad del método radica en el calentamiento o no y del tiempo de agitación de la solución (Ain, *et al*, 2008, Castillo, *et al*, 1999, Cirri, *et al*, 2009).

2.4.3.4 Co evaporación.

Consiste en agregar los componentes, en una mezcla de disolventes que comúnmente suelen ser agua y etanol y agitarlos hasta la posterior evaporación de la mezcla de disolventes. Al igual que el método de co precipitación las modificaciones radican en el empleo de temperatura, tiempos de agitación y en ocasiones la mezcla se somete a proceso de sonicación (Mohit, *et al*, 2010).

2.4.3.5 Molido o cizallado.

Este método consiste en depositar en seco y al mismo tiempo los componentes en un molino y triturarlos a diferentes condiciones de tiempo y potencia (Cirri, *et al*, 2009).

2.4.3.6 Liofilizado.

Los componentes son agregados a soluciones de agua-etanol y posteriormente son sometidos al proceso de liofilización (Ain, *et al*, 2008).

2.4.3.7 Microondas.

Recientemente se ha reportado el empleo de radiaciones de microondas por tiempos cortos y condiciones suaves (potencia no superiores a los 200 w y temperaturas no superiores a los 100 °C) como método en la elaboración de Sistemas Binarios (Savjani, *et al*, 2012).

2.4.3.7.1 Mecanismo de calentamiento por irradiación de microondas.

Las microondas (MO) son ondas electromagnéticas que se encuentra en el intervalo comprendido entre 0.3 a 300.0 GHz (3 a 300 X10⁹ Hz). Poseen un período de oscilación

de 3 nanosegundos a 3 picosegundos y se encuentran en el intervalo de longitud de onda de 1 m a 1 mm (Figura 11).

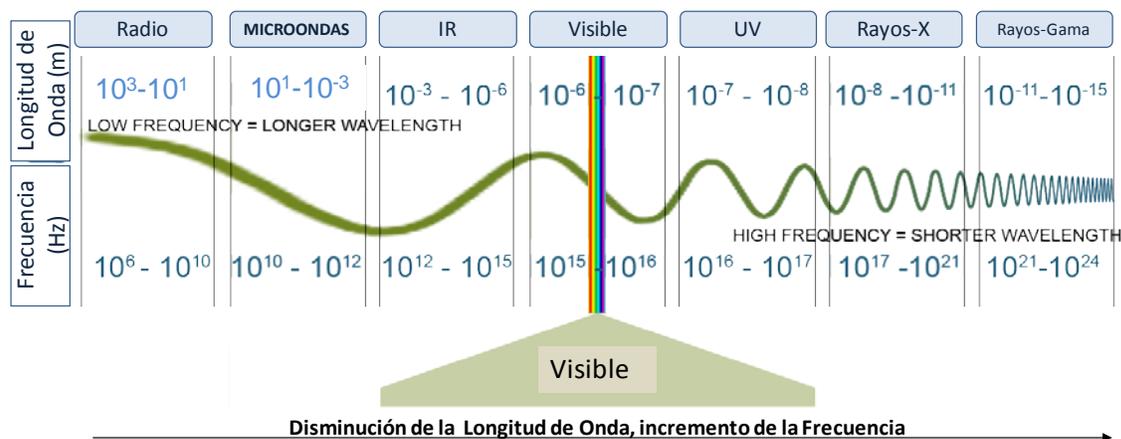


Figura 11. Espectro electromagnético. Se presentan las diferentes regiones del espectro electromagnético.

A su vez la banda de las MO se divide en subgrupos de frecuencia, en los cuales, cada subgrupo se emplea en diferentes usos, estos se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Subgrupos en los que se divide la región de las microondas. Tomado de Juaristi, 2009.

DESIGNACIÓN	LONGITUD POR INTERVALOS EN cm	FRECUENCIAS EN MULTIPLOS DE Hertz	USOS REPORTADOS
Frecuencias muy altas (VHF)	10^5 a 10^2	30 a 300 MHz	Radio FM y Televisión
Frecuencias ultra altas (UHF)	10^2 a 10	300 MHz a 3 GHz	Hornos de microondas, radar y algunas diatermias
Frecuencias super altas (SHF)	10^5 a 1	3 a 30 GHz	Radar y comunicaciones con microondas (telefonía celular)
Frecuencias extra altas (EHF)	1 a 0.1	30 a 300 GHz	Comunicaciones entre satélites y la Tierra

Para el uso de equipos de microondas de empleo doméstico y científico se han establecido condiciones de una frecuencia de 2450 MHz y una Longitud de Onda de 12.2 cm.

Cuando las moléculas polares interactúan con un campo eléctrico, tienden a alinearse con respecto a éste. Si el campo oscila, la orientación de los dipolos de las moléculas se modifica con cada cambio de fase (alternación). El intenso movimiento resultado de la reorientación de las moléculas, las cuales se encuentran en fase con la excitación del

campo eléctrico, da lugar a un intenso calentamiento interno superior a 10 °C por segundo cuando se utiliza ondas con una alta energía (Figura 12-A).

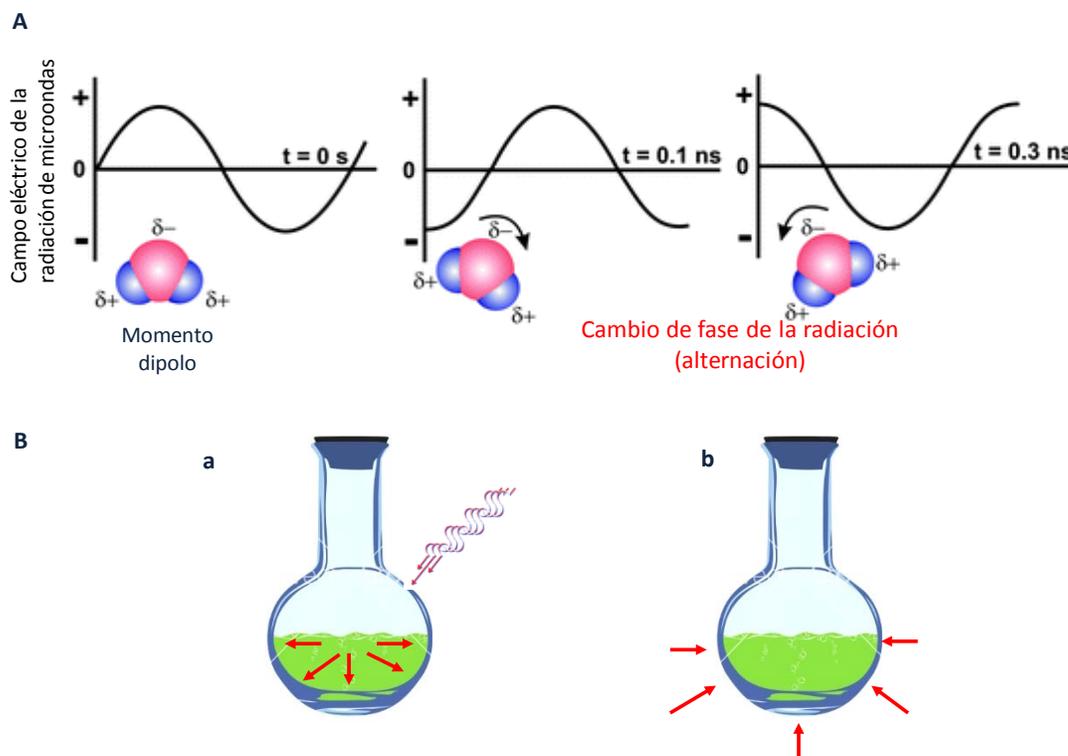


Figura 12. Mecanismo de calentamiento por irradiación de microondas. A) El campo electromagnético de las MO interactúa con los dipolos, B-a) Calentamiento con microondas y B-b) calentamiento convencional. Tomado de Bilecka., Niederberger, 2010, Juaristi, 2009.

Cuando se utiliza una fuente de calor convencional (un baño de aceite o una canastilla de calentamiento) se calienta el recipiente de vidrio antes que la mezcla de reacción, la cual se calienta por un mecanismo de conducción o convección, y esto da lugar a una pérdida considerable de energía en forma de calor (Figura 12-b).

Al emplear la energía de las microondas son las propias moléculas las que se calientan, ya que el calentamiento es interno. Su principal ventaja es que no se presentan pérdidas de energía ya que el calentamiento interno se lleva a cabo de una forma selectiva y homogénea.

2.4.3.7.1 Factores implicados en la transmisión de energía por radiación de microondas.

Algunos disolventes con constante dieléctrica alta, alcanzan su punto de ebullición (metanol, etanol, acetona) mientras que otros llegan a una temperatura alta pero sin alcanzar dicho punto (agua y cloroformo). Sin embargo, los disolventes con una constante dieléctrica baja, prácticamente no se calientan (hexano y heptano). Así cualquier molécula que posea momento dipolo como el cloroformo, al ser irradiado con las MO experimentará la rotación del dipolo, fenómeno en el cual las moléculas se alinean con la dirección del campo eléctrico de la radiación y, al rotar cada una de ellas 43 veces por segundo, se desprende calor.

El que una muestra sea propensa o no a experimentar calentamiento con MO, depende de sus propiedades dieléctricas (Juaristi, 2009). Dos parámetros definen las propiedades dieléctricas de una sustancia: a) *La constante dieléctrica ϵ'* , la cual describe la habilidad de ser polarizada por un campo eléctrico y b) *el factor de pérdida dieléctrica ϵ''* , la cual representa la habilidad de convertir la energía de las MO en calor. La relación de estos dos parámetros define a la *Pérdida de ángulo (δ)*, la cual está dada por la siguiente ecuación $\tan\delta = \epsilon''/\epsilon'$. El factor $\tan\delta$ proporciona una medida acerca de la habilidad del material de convertir la energía electromagnética de las MO en calor. Un medio de reacción con valores altos de $\tan\delta$, son imprescindibles para una eficiencia en la absorción de las MO y un calentamiento rápido. Típicamente una alta absorción de las MO de los disolventes tiene valores de $\tan\delta > 0.5$, mientras que absorciones medias y bajas presentan valores de 0.1-0.5 y < 0.1 respectivamente. Disolventes que no presentan momento dipolo son básicamente “transparentes” a las MO (Bilecka., Niederberger, 2010).

2.4.3.7.1 Sistemas Binarios elaborados empleando microondas.

En los últimos años se ha mostrado un gran interés por el empleo de microondas en síntesis química debido al rendimiento y la reducción de tiempos (Adam D, 2003). También se han reportado diversas metodologías que emplean las radiaciones de microondas como una alternativa para incrementar la solubilidad de fármacos con baja solubilidad tanto en la

preparación de sistemas dispersos (Maurya, *et al*, 2010, Isaac, *et al*, 2012) como en la de los Sistemas Binarios (SB's). En la Tabla 6 se presenta una lista de estudios realizados que han demostrado un incremento en la solubilidad de los fármacos implicados cuando se emplea la técnica de microondas.

Tabla 6. Sistemas Binarios Fármaco-CDs empleando la técnica de microondas que han mostrado un incremento en la solubilidad del fármaco reportado.

FÁRMACO	TIPO DE SISTEMA	REFERENCIA
Andrografolide	SISTEMA BINARIO (Fármaco- β CD)	Zhao, <i>et al</i> , 2002.
Carvelidol	SISTEMA BINARIO (Fármaco- β CD)	Wen, <i>et al</i> , 2004.
Gossypol	SISTEMA BINARIO (Fármaco- β CD)	Shen, <i>et al</i> , 2005.
Ibuprofeno	SISTEMA TERNARIO (Fármaco-PVP-HP- β CD)	Moneghini, <i>et al</i> , 2008.
Loratadina	SISTEMA BINARIO (Fármaco-Me β CD)	Nacsá, <i>et al</i> , 2008.
Gemfibrozilo	SISTEMA BINARIO (Fármaco- β CD)	Ain, <i>et al</i> , 2008.
Ketoprofeno	SISTEMA BINARIO (Fármaco- β -CD) SISTEMA TERNARIO (Fármaco-Fosfatidilcolina-Me- β CD)	Cirri, <i>et al</i> , 2009.
Cefdinir	SISTEMA BINARIO (Fármaco- β CD)	Mohit, <i>et al</i> , 2010.
Aceclofenac	SISTEMA BINARIO (Fármaco- β CD) y (Fármaco-HP- β CD)	Ranpise, <i>et al</i> , 2010.

2.4.3 Sistemas Binarios de ciclodextrinas y ABZ.

Existen diversos reportes de sistemas binarios entre ABZ y ciclodextrinas que han sido evaluados tanto *in vivo* como *in vitro*. Las metodologías reportadas en los estudios *in vivo* se basan en procesos simples. Se ha reportado la formación de sistemas binarios de ABZ con HP- β CDs mediante un mezclado simple de los componentes. Agregando a esta mezcla

ácido cítrico a una concentración de 50 mM, se observó un incremento en la biodisponibilidad de ABZ en relación a una suspensión comercial después de administrarse a ovejas (Evrarda, *et al*, 2002). En 2003 García y colaboradores, encontraron un incremento de la biodisponibilidad y la eficacia antihelmíntica de albendazol en ratones cuando se administró el fármaco en una solución de HP- β CD. La solución fue preparada disolviendo los componentes en HCl 0.2 M y carboximetil celulosa sódica. Se han reportado también, estudios clínicos en voluntarios sanos de tres formulaciones de ABZ. Una de estas formulaciones consistió en un sistema de ABZ/HP- β CD. La metodología que se empleó fue por un mezclado simple de los componentes (Rigter, *et al*, 2004).

La metodología utilizada en estudios *in vitro* para la preparación de sistemas binarios de ABZ ha mostrado diferencias en las asociaciones que generan con la ciclodextrina. En 1999 Castillo y colaboradores reportaron la preparación de sistemas binarios de ABZ/HP- β CD y ABZ/Me- β CD empleando el método de co evaporación y el método de liofilizado. Los resultados mostraron un aumento de la solubilidad del ABZ en relación al fármaco puro y la mezcla física correspondiente, sin embargo sólo el método de liofilizado demostró un efecto de inclusión del albendazol en las ciclodextrinas mientras que en el método de co evaporación no se observó éste efecto.

3 JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

La investigación dirigida al desarrollo de estrategias sencillas y eficientes que incrementen la solubilidad de fármacos benzimidazolicos es limitada. Aún cuando se ha reportado que las microondas aumentan la interacción entre fármacos poco solubles y ciclodextrinas, a la fecha no se ha reportado si ésta técnica puede ser una alternativa para incrementar la solubilidad de albendazol y el compuesto *Alfa*. Por lo que el presente trabajo pretende aportar evidencia de que la técnica de microondas favorece la interacción entre estos fármacos con beta ciclodextrina e hidroxipropil beta ciclodextrina.

4 HIPÓTESIS

La radiación de microondas favorecerá la interacción entre fármaco y ciclodextrina en los siguientes sistemas: albendazol/beta ciclodextrina, albendazol/hidroxi propil beta ciclodextrina, *Alfa* / beta ciclodextrina y *Alfa* / hidroxipropil beta ciclodextrina y con ello se incrementará la solubilidad del fármaco.

5 OBJETIVO GENERAL

5.0 OBJETIVO GENERAL.

Determinar el efecto de la radiación de microondas en la solubilidad de albendazol y *Alfa* en los Sistemas Binarios de: albendazol/beta ciclodextrina, albendazol/hidroxi propil beta ciclodextrina, *Alfa*/beta ciclodextrina y *Alfa*/hidroxi propil beta ciclodextrina.

5.1 OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Obtener la relación estequiométrica de albendazol y el compuesto *Alfa* con beta ciclodextrina e hidroxi propil beta ciclodextrina mediante los estudios de solubilidad de fases.
2. Determinar las condiciones óptimas para el método de microondas en la elaboración de los Sistemas Binarios de ABZ/beta ciclodextrina, ABZ/hidroxi propil beta ciclodextrina, *Alfa*/beta ciclodextrina y *Alfa*/hidroxi propil beta ciclodextrina.
3. Establecer si la transmisión de energía por microondas favorece la inclusión de los fármacos en los sistemas desarrollados.
4. Evaluar, mediante el perfil de disolución, los Sistemas Binarios desarrollados.

6 PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Reactivos, material y equipos.

- Albendazol (Donado por Laboratorios Armstrong).
- Compuesto *Alfa* (α BIOF10) [Sintetizado en el laboratorio 122 del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química, UNAM].
- 2-Hidroxi propil beta ciclodextrina MS=0.60 (Sigma-Aldrich CO, USA).
- Beta ciclodextrina (Sigma-Aldrich CO, USA).
- Etanol anhidro RA (J.T. Baker USA).
- Propanol RA (J.T. Baker USA).
- Metanol RA (J.T. Baker USA).
- Ácido clorhídrico RA (J.T. Baker USA).
- Dimetil sulfóxido RA (Sigma-Aldrich CO, USA).
- Agua desionizada y destilada (Milli q).
- Viales de 5 mL para equipo de microondas.
- Tapas de teflón para viales de 5 mL para equipo de microondas.
- Mortero con pistilo de porcelana.
- Jeringas de 10 mL (Becton Dickinson, México).
- Membranas de filtración 0.45 μ m HV (Millipore).
- Membranas de filtración 0.45 Nylon (Sun Sri).
- Cápsulas de gelatina dura # 00.
- Balanza analítica (Sartorius analytic A210P).
- Agitador mecánico tipo Vortex (Science Med, MX-S).
- Baño de ultrasonido (Fischer Scientific, FS60).
- Baño con agitación y temperatura controlada (Thermo Scientific, 3582).
- Equipo de microondas (Synthos 3000 Anton Parr).
- Rotavapor (Büchi R124) adaptado con baño de agua (Büchi B-480) y Bomba de vacío (Büchi V-850).

- Potenciómetro (Termo Arion, 410 A).
- Aparato de disolución tipo 2 (Vankel, VK7000).
- Espectrofotómetro de UV (Shimadzu, UV-1601).
- Espectrómetro Perkin-Elmer (Spectrum 400).
- Difractómetro de rayos x polvo Bruke (D8 Advance)

6.2 Metodología.

En la Figura 13 se presenta el diagrama de trabajo utilizado en el presente trabajo:

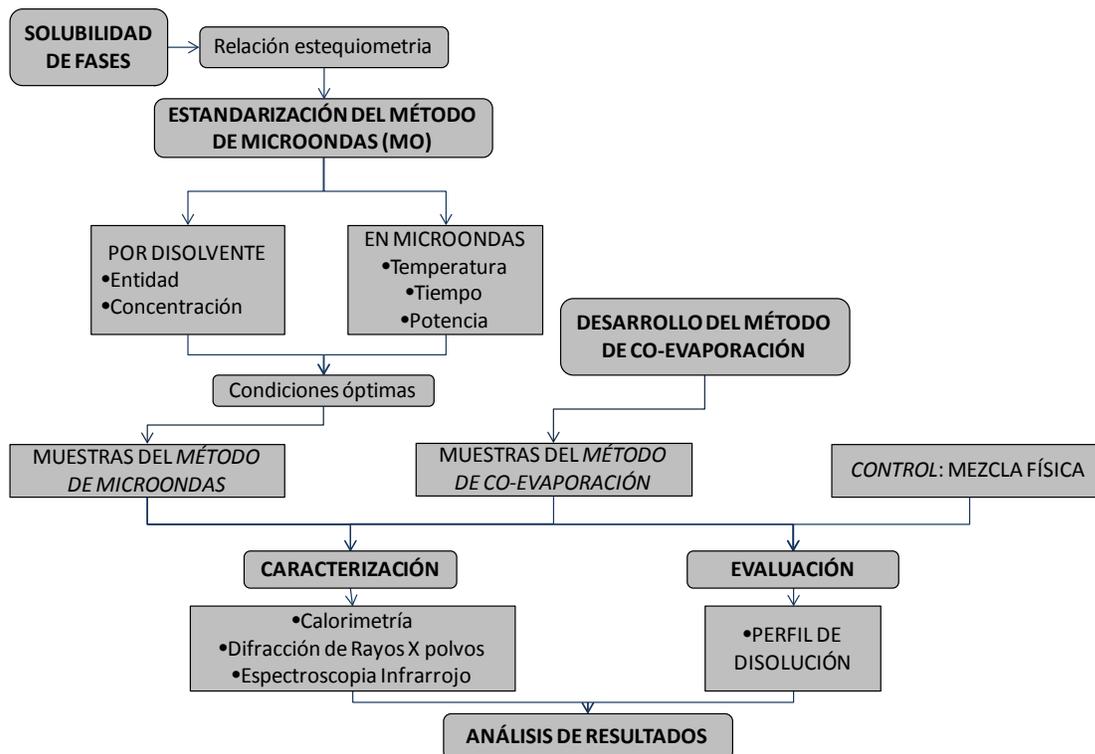


Figura 13. Diagrama de trabajo utilizado en el proyecto.

6.2.1 Estudios de Solubilidad de Fases.

En un medio acuoso, las ciclodextrinas (CDs) pueden incrementar la solubilidad de un fármaco por interacciones de tipo no covalente. Esta interacción es un equilibrio dinámico entre el complejo de inclusión y las especies iniciales, dicho equilibrio está determinado por una constante, conocida como Constante de Equilibrio, K_c . Mediante los estudios de Solubilidad de Fases puede determinarse esta constante. En el presente trabajo se utilizó el

método reportado por Higuchi y Connors en 1965 para obtener el valor de las constantes de ambos fármacos bajo estudio, empleando la siguiente ecuación:

$$K_c = \frac{\text{pendiente}}{S_0(1-\text{pendiente})}$$

Donde la *pendiente* se obtiene al graficar la concentración de CD contra la concentración modificada del fármaco. Y S_0 es la concentración intrínseca del fármaco, es decir, la concentración obtenida en la ausencia de CD.

6.2.1.1 Estudio de solubilidad de Fases en el sistema albendazol/ β CD y albendazol/HP- β CD.

Se prepararon soluciones de β CD y de HP- β CD, a concentraciones de 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0 mM empleando ácido clorhídrico 0.1 N como disolvente. La concentración final de albendazol en todos los niveles de ciclodextrinas fue de 9 mM. Los tubos se mantuvieron en agitación a una temperatura de 25 °C durante 48 h. Concluido éste tiempo, las muestras se filtraron en una membrana de 0.45 μ m HV y se analizaron en el espectrofotómetro a 291 nm. El estudio se realizó por triplicado.

6.2.1.2 Estudio de Solubilidad de Fases en el sistema *Alfa* / β CD y *Alfa*/HP- β CD.

Se prepararon soluciones de β CD y de HP- β CD a concentraciones de 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 y 8.0 mM de β -CD y de HP- β CD, empleando ácido clorhídrico 0.1 N como disolvente. La concentración final de *Alfa* en todos los niveles de ciclodextrinas fue de 24 mM. Los tubos se mantuvieron en agitación a una temperatura de 25 °C durante 48 h, concluido éste tiempo, las muestras se filtraron en una membrana de 0.45 μ m HV y se analizaron en el espectrofotómetro Shimadzu a 303.5 nm. El estudio se realizó por triplicado.

6.2.2 Estandarización de las condiciones del método de microondas.

Para estandarizar las condiciones a emplear en el método de microondas, se evaluó el tipo, el volumen, y la concentración de disolvente. Además, se evaluó el efecto de la temperatura, la potencia y el tiempo de irradiación de microondas sobre el sistema.

Durante ésta etapa del proyecto la masa total de los sistemas binarios fue de 400 mg, ya sea con albendazol (ABZ) o *Alfa* en el complejo con β CD o HP- β CD.

6.2.2.1 Evaluación del efecto del volumen, concentración y tipo de disolvente.

Para evaluar el efecto del disolvente, se prepararon muestras pesando cantidades estequiométricas (1:1) de ABZ con β CD y de ABZ con HP- β CD y se agregaron los siguientes disolventes a cada vial: dimetil sulfoxido:agua (1:1), etanol al 30% v/v, etanol:isopropanol:agua 15:15:70% v/v e isopropanol al 30%. Los viales se agitaron en vortex durante un minuto, concluido este tiempo, la suspensión formada se irradió en el equipo de microondas a 58°C, con una potencia de 150 W durante 2 min. Posteriormente se evaporó el disolvente a 50 °C a 10 mbar. Las muestras se almacenaron en desecador hasta su análisis por DSC.

La elección del disolvente estuvo dirigida por el valor de “pérdida de ángulo $\tan \delta$ ”. En la Tabla 7 se presentan los valores de “pérdida de ángulo $\tan \delta$ ” de algunos disolventes. Se seleccionó el isopropanol (IprOH) y etanol (EtOH) en diferentes proporciones con el agua, estos disolventes poseen un punto de ebullición de 82 y 72 °C respectivamente, lo cual permite evaporarlos de forma ciertamente fácil, además, estos disolventes están clasificados de bajo riesgo (ICH, 2009). El parámetro de “pérdida de ángulo $\tan \delta$ ” permite llegar a las temperaturas programadas en tiempos de irradiación más cortos comparándolos con un calentamiento convencional, con lo cual la eficiencia del proceso puede favorecerse.

Tabla 7. Valores de *Pérdida de ángulo* (δ) de algunos disolventes. Parámetro importante a considerar en el empleo de radicación de MO para un sistema en solución. Tomado de Anton Paar Inc.

DISOLVENTE	PUNTO DE EBULLICIÓN (°C)	PERDIDA DE ANGULO $\tan\delta$	EFICIENCIA DE ACOMPLAMIENTO	PRESIÓN A 300 °C (bar)
Acetona	56	0.054	Débil	>80
Cloroformo	61	0.091	Reducida	>70
Metanol	65	0.659	Buena	>200
Hexano	69	0.020	Reducida	>70
Acetato de etilo	77	0.059	Débil	>50
Etanol	78	0.941	Buena	>120
Acetonitrilo	81	0.062	Mediana	52.00
2-Propanol	82	0.799	Buena	>100
Dicloroetano (DCE)	84	0.127	Mediana	>60
Agua	100	0.123	Mediana	85.90
Ácido fórmico	101	0.722	Buena	>60
Ácido acético	118	0.174	Mediana	44.30
1-Butanol	118	0.571	Buena	49.90
Dimetilsulfoxido	189	0.825	Buena	16.00
Etilenglicol	197	1.350	Buena	10.90

Para ello se pesaron cantidades estequiométricas (1:1) de ABZ o *Alfa* con β CD o con HP- β CD las cuales se trasvasaron al vial de microondas. A los viales se les agregó EtOH al 5%, 10%, 15%, 30%, 40% y 50% v/v. Para aquellos tratamientos que contenían *Alfa* la concentración de EtOH que se agregó fue de: 30%, 40% y 50% v/v. Los viales se agitaron en vortex durante un minuto, concluido el tiempo; la suspensión formada se irradió en el equipo de microondas a 58°C, con una potencia de 150 W durante 2 min. Concluido el tiempo, se evaporó el disolvente a 47 °C a 10 mbar. Las muestras se almacenaron en desecador hasta su análisis por DSC. En la Tabla 8 se presentan las condiciones empleadas para el compuesto *Alfa*.

6.2.2.2 Evaluación del efecto de la temperatura, la potencia y el tiempo de irradiación de microondas sobre el sistema.

Para llevar a cabo los estudios, se empleó como disolvente EtOH y se siguió la metodología: se prepararon muestras pesando cantidades estequiométricas (1:1) de ABZ o *Alfa* con β CD o HP- β CD las cuales se colocaron en un mortero y se mezcló

homogéneamente durante 10 minutos con un pistilo aplicando presión sobre los reactivos. La mezcla se trasvasó al vial de microondas y se agregó etanol (EtOH) a diferentes concentraciones y volúmenes. Los viales se agitaron en vortex durante un minuto. Concluido el tiempo, la pasta o suspensión formada se irradió en el equipo de microondas. Las variables que se estudiaron para establecer las condiciones de trabajo en el método de microondas en el equipo fueron: temperatura (expresado en °C), tiempo (expresado en minutos) y potencia (expresado en Watts). El disolvente se evaporó a 47 °C a 10 milibares (mbar). Las muestras se almacenaron en desecador hasta su posterior análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC). En la Tabla 8 se presentan las diferentes condiciones evaluadas. Estas condiciones se establecieron tomando en cuenta trabajos previos.

Tabla 8. Condiciones iniciales de prueba en el equipo de microondas. En las pruebas iniciales se consideró la temperatura, el tiempo y la potencia para establecer las condiciones de trabajo.

Fármaco	CD empleada	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Potencia (W)	Disolvente (concentración v/v)
ABZ	βCD	56	1.5	150	EtOH al 50%/1.0 mL
		58	2.0	150	EtOH al 30%/0.3 mL
		58	2.5	180	EtOH al 66%/0.9 mL
		58	10.0	180	EtOH al 66%/0.9 mL
		59	1.0	150	EtOH al 50%/1.0 mL
		64	1.0	180	EtOH al 50%/1.0 mL
	HP-βCD	58	2.0	150	EtOH al 30%/0.3 mL
		58	3.0	150	EtOH al 30%/0.3 mL
		58	3.0	180	EtOH al 66%/0.9 mL
		58	3.0	180	EtOH al 66%/1.5 mL
		58	4.0	150	EtOH al 30%/0.3 mL
		58	10.0	150	EtOH al 30%/0.3 mL
		70	1.5	180	EtOH al 50%/1.0 mL
		70	5.0	150	EtOH al 66%/1.5 mL
ALFA	βCD	58	2.0	150	EtOH al 30%/0.7 mL
		58	2.0	150	EtOH al 40%/0.7 mL
		58	2.0	150	EtOH al 50%/0.7 mL
		62	2.0	170	EtOH al 40%/2.0 mL
	HP-βCD	58	2.0	150	EtOH al 30%/0.4 mL
		58	2.0	150	EtOH al 40%/0.4 mL
		58	2.0	150	EtOH al 50%/0.4 mL
		60	2.0	160	EtOH al 50%/0.4 mL

6.2.3 Elaboración de los Sistemas binarios (SB's).

6.2.3.1 Mezcla física (MF).

La mezcla física (MF) se empleó como estándar negativo de los tratamientos. Se preparó pesando cantidades estequiométricas en una relación 1:1 molar del fármaco con β CD o con HP- β CD, posteriormente los componentes se mezclaron homogéneamente en un mortero durante diez minutos. La MF se almacenó en desecador hasta su análisis.

6.2.3.2 Método de co evaporación (CE).

Se pesaron cantidades estequiométricas en una relación molar 1:1 del fármaco con HP- β CD. En un matraz bola de 100 ml se depositaron 50 mL de etanol, posteriormente se agregó la HP- β CD. Una vez que se solubilizó la CD, se agregó el fármaco en cantidad suficiente para obtener una proporción 1:1. El sistema se mantuvo cerrado y en agitación a 70 °C durante 48 h. Posteriormente el disolvente se evaporó a 47 °C y una presión de 10 mbar; las muestras se almacenaron en desecador hasta su análisis.

Esta metodología fue elegida con el fin de comparar un sistema de calentamiento convencional contra el calentamiento por microondas.

6.2.3.3 Método de microondas (MO).

El método se desarrolló de la siguiente manera: se pesaron cantidades estequiométricas en una relación molar 1:1 del fármaco con β -CD o HP- β CD y se mezclaron homogéneamente en un mortero con el pistilo durante 10 minutos. Una vez concluido el tiempo, la mezcla se colocó en el vial de microondas, se agregó la cantidad del disolvente establecida (ver Tabla 7) cerrando el vial con las tapas de teflón y se agitó en vortex por 1 minuto. La suspensión formada en el vial se irradió en el equipo de microondas. Concluido el tiempo de radiación, el disolvente se evaporó a 47 °C a una presión de 10 mbar. Las muestras se almacenaron en desecador hasta su análisis.

6.2.4 Caracterización de los SBs.

La caracterización de los SB's de ABZ y *Alfa* se realizó por calorimetría diferencial de barrido, difracción de rayos X polvos y espectroscopía de infrarrojo.

6.2.4.1 Calorimetría diferencial de barrido (DSC).

La caracterización por DSC se realizó empleando contenedores de aluminio de 40 μL . Para ello se pesaron de 2.0 a 4.0 mg de muestra, la velocidad de calentamiento fue de 10 $^{\circ}\text{C}$ por minuto en un intervalo de 30 a 400 $^{\circ}\text{C}$ con un flujo de 100 mL/m de N_2 de ultra alta pureza.

6.2.4.1.1. Estudio piloto del grado relativo de cristalinidad (GRC).

Los estudios de calorimetría permiten determinar el GRC en los sistemas binarios expresados en porcentaje en relación a la masa del fármaco inicial mediante una relación entre los calores de fusión del fármaco puro y los calores de fusión de los sistemas binarios, mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Fármaco}_{\text{GRC}\%} = \frac{\Delta H_{\text{mez}}}{\Delta H_{\text{fpuro}}}$$

Donde ΔH_{mez} y ΔH_{fpuro} corresponden a los calores de fusión del fármaco contenido en los sistemas binarios y del fármaco puro respectivamente. Este parámetro ciertamente no aporta evidencia acerca de la formación de un CI en estado sólido, sin embargo, el GRC está relacionado con el comportamiento amorfo o cristalino del fármaco lo cual puede explicar la solubilidad acuosa del mismo (Mura, *et al*, 2003).

6.2.4.2 Espectroscopía de infrarrojo (IR).

El espectro de infrarrojo se obtuvo empleando un espectrómetro Perkin-Elmer modelo Spectrum 400, con una resolución de 4 cm^{-1} en un rango de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} .

6.2.4.3 Difracción de rayos X de polvos (DRXP).

Los patrones de difracción de rayos X de polvos se obtuvieron empleando un difractómetro de rayos x polvo Bruke D8 Advance, equipado con un detector (monocromador de Cu). Las muestras fueron analizadas en un rango de $2\theta = 3^{\circ}$ a 40° , con un tiempo de adquisición de 28 min

6.2.5 Método analítico para cuantificar ABZ.

6.2.5.1 Solución Stock de 100 µg/mL de ABZ.

Se pesaron 10 mg de estándar de ABZ y se agregaron a 0.5 mL de DMSO. Se agregaron 30 mL de ácido clorhídrico 0.1 N, se sonicó por 10 minutos y se aforó con el mismo disolvente a 100 mL. La solución se almacenó en refrigeración hasta su uso empleándose en no más de una semana. Esta solución tiene una concentración de 100 µg/mL.

6.2.5.2 Curva de calibración para la cuantificación de ABZ.

La curva de calibración para la cuantificación de ABZ se preparó de la siguiente forma: de la solución Stock de ABZ se tomaron los siguientes volúmenes: 30, 300, 650, 1300, 1950 y 2600 µL los cuales se colocaron en matraces de 10 mL, los matraces se agitaron en vortex por 10 segundos y se aforaron con HCl 0.1 N. La curva se realizó con tres réplicas y se leyó a 291 nm. Las concentraciones finales fueron 0.3, 3.0, 6.5, 13.0, 19.5 y 26 µg/mL.

6.2.6 Método analítico para cuantificar Alfa.

6.2.6.1 Solución Stock de 100 µg/mL de Alfa.

Se pesaron 10 mg del compuesto *Alfa* se añadió 1.0 mL de DMSO y se sonicó por 10 minutos se aforó a 100 mL, con ácido clorhídrico 0.1 N. La solución se empleó el mismo día de análisis. Esta solución tiene una concentración de 100 µg/mL.

6.2.6.2 Curva de calibración para la cuantificación de Alfa.

La curva de calibración para la cuantificación del compuesto *Alfa* se preparó de la siguiente forma: de la solución Stock de *Alfa* se tomaron los siguientes volúmenes: 30, 300, 650, 1300, 1950 y 2600 µL, los cuales se colocaron en matraces de 10 mL, los matraces se agitaron en vortex por 10 segundos y se aforaron con HCl 0.1 N. La curva se realizó con tres réplicas y se leyó a 303.5 nm.

6.2.7 Evaluación *in vitro* de los SBs.

6.2.7.1 Perfil de disolución.

El medio de disolución se preparó de la siguiente forma: En un matraz aforado de 5000 mL se agregaron 1000 mL de agua destilada, posteriormente se agregaron 41 mL de ácido clorhídrico dejándolo caer lentamente por las paredes del recipiente y se aforó con agua. El pH de esta solución fue de 1.2. La homogenización de la solución se realizó empleando un agitador magnético. El medio se empleó el mismo día de análisis. Esta solución corresponde a una concentración de 0.1 N de ácido clorhídrico.

El medio fue desgasificado de la siguiente forma: Se calentó a 45 ° C con agitación vigorosa en una placa de calentamiento, una vez alcanzada esta temperatura inmediatamente se filtró por una membrana de 0.45µm de Nylon aplicando vacío y con agitación vigorosa. Concluida la filtración se mantuvo en agitación durante cinco minutos más. El medio se colocó en un baño de agua fría hasta reducir la temperatura a 25 °C.

Para el estudio de perfil de disolución de los Sistemas Binarios se emplearon cápsulas de gelatina dura, las cuales se llenaron manualmente. En el caso de los sistemas de ABZ, la cantidad contenida fue de 100 mg y para el *Alfa* fue de 85 mg. Las cápsulas se pesaron antes y después del llenado. Las cápsulas se almacenaron en desecador hasta su evaluación.

El estudio se realizó en el aparato de disolución tipo 2 de la FEUM, empleando un volumen de 900 mL de medio de disolución de HCl 0.1 N (pH= 1.2). El medio se colocó en cada vaso del equipo de disolución. La velocidad de agitación fue de 50 rpm. La temperatura que se utilizó durante el estudio fue 37.0 °C. Se tomaron muestras de 4 mL a los siguientes tiempos: 5, 10, 15, 20, 30, 50 y 90 minutos. Las muestras se filtraron a través de una membrana de 0.45 µm HV y se analizaron en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 291 nm para el ABZ y a 303.5 para el *Alfa*. La cuantificación se llevó a cabo extrapolando los valores en una curva de calibración preparada el mismo día de análisis.

6.2.7.2 Factor de similitud.

Para la comparación de los perfiles de disolución se empleó el cálculo del factor de similitud. El cálculo se realizó empleando la siguiente fórmula:

$$f_2 = 50 \text{Log} \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (R_t - P_t)^2 \right] \right\}^{-0.5} \times 100$$

Donde n es el número de tiempos de muestreo, R es el promedio del porcentaje disuelto de referencia en el i-ésimo tiempo de muestreo y P se refiere al promedio del porcentaje disuelto de la prueba en el i-ésimo tiempo de muestreo.

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Sistemas ABZ/ β CD Y ABZ/HP- β CD.

7.1.1 Estudios de Solubilidad de Fases para los sistemas ABZ/ β CD y ABZ/HP- β CD.

En la Figura 14 se presenta la gráfica que corresponde al estudio de Solubilidad de Fases para los sistemas ABZ/ β CD y ABZ/HP- β CD. Los datos con el símbolo \blacklozenge corresponden al sistema en el cual se empleó β CD y los datos con el símbolo \blacksquare corresponden al sistema en el cual se empleó HP- β CD. Se puede observar que existe una relación directa entre la concentración de CD y la concentración del fármaco, por lo que, de acuerdo a Higuchi y Connors (1965) describe un sistema de tipo A_L , la relación estequiométrica entre ambas ciclodextrinas y el albendazol fue de 1:1, Los valores de la constante de asociación para ALB/ β CD y ABZ/HP- β -CD fueron 4.54 M^{-1} y 5.71 M^{-1} respectivamente. Ello demuestra que HP- β CD presenta una mayor afinidad por el fármaco, lo cual puede estar asociado a la mayor solubilidad de esta ciclodextrina en el medio acuoso. Este valor difiere con el valor reportado por Castillo y colaboradores (1999) el cual fue de 68.9 M^{-1} y 203.7 M^{-1} para el sistema albendazol/ β CD y para el sistema albendazol/HP- β CD respectivamente, lo cual puede deberse a intervalos de concentración diferentes de las CDs las cuales fueron de 10 a 150 mM el cual es mucho mayor que en el presente trabajo y que de ahí radique la diferencia entre valores de las constantes.

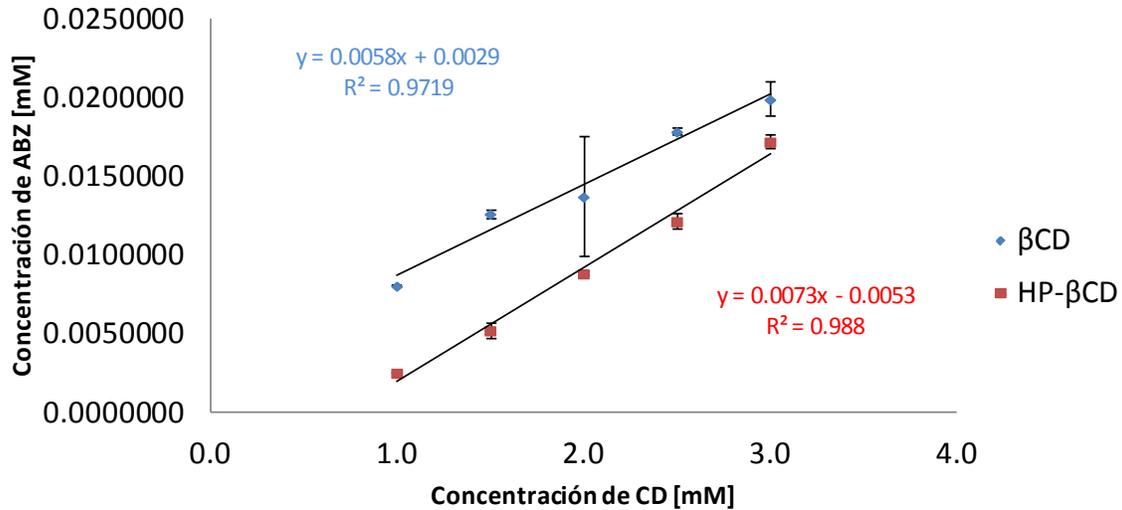


Figura 14. Estudio de Solubilidad de Fases de ABZ con β CD y HP- β CD.

7.1.2 Estandarización de las condiciones del método de microondas para los sistemas binarios de ABZ.

7.1.2.1 Evaluación del efecto del volumen, concentración y tipo de disolvente.

En la Figura 15 y 16 se presentan los termogramas del sistema ABZ/ β CD y ABZ/HP- β CD respectivamente al emplear isopropanol, etanol o la combinación de ambos a diferentes proporciones.

En el sistema ABZ/ β CD se puede observar que la endoterma de los tratamientos es semejante a la de la mezcla física (203 °C) al irradiar a 58 °C, 150 w durante 2 min. Los tipos de disolventes a diferentes proporciones no favorecieron la interacción con respecto a la observada en la MF, lo cual supone que los disolventes empleados en estas condiciones no favorece la inclusión de ABZ, lo cual podría deberse a estados en competencia entre el disolvente y el albendazol. Otra posibilidad puede ser la formación de autoagregados. En 2010, Messner y colaboradores establecieron que éste fenómeno está relacionado a la capacidad de la β CD de adquirir conformaciones micelares con ella misma, lo cual reduce la capacidad de interacción con los fármacos.

En el sistema ABZ/HP- β CD se puede observar un cambio de la endoterma de los tratamientos en relación a la MF al agregar isopropanol o etanol a diferentes proporciones. La reducción de área del pico de la endoterma fue más pronunciada al emplear EtOH al

30%. Este cambio de endoterma puede atribuirse a que el EtOH permite distribuir mejor la energía en forma de calor por irradiación de microondas y esa transmisión de energía favorece la interacción del albendazol en la HP- β CD.

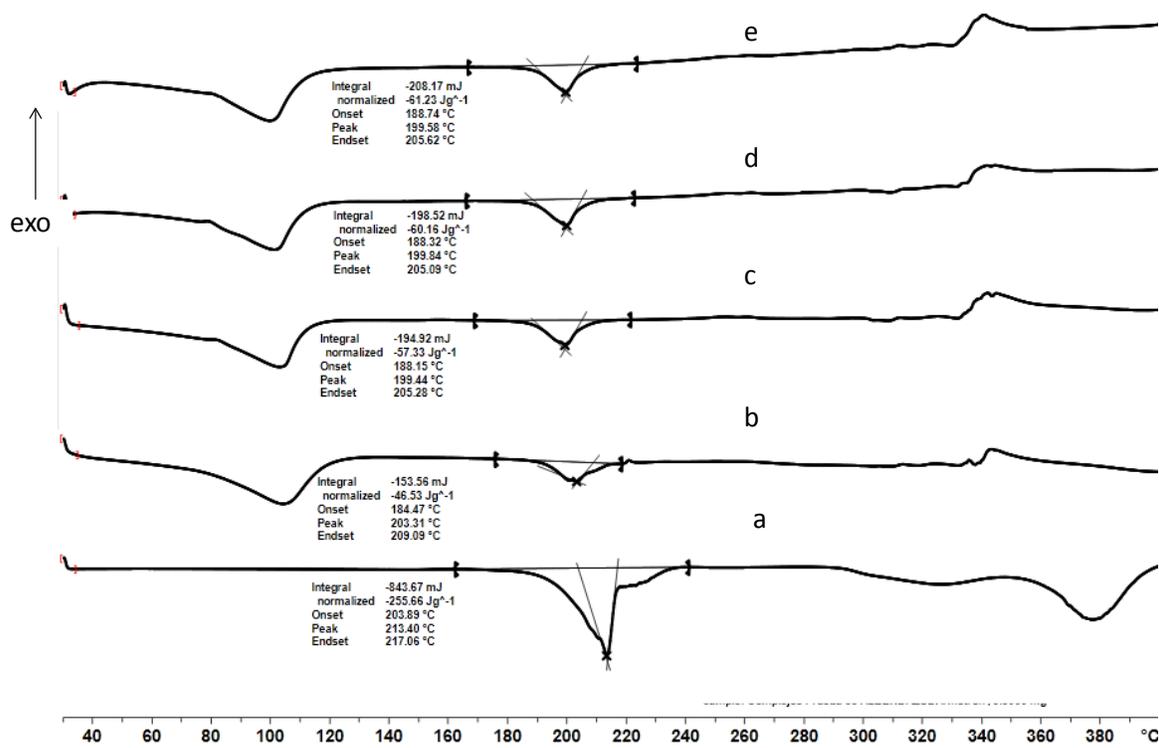


Figura 15. Termogramas del sistema (ABZ/ β CD), correspondientes a: a) ABZ b) Mezcla Física, c) EtOH:IprOH:H₂O [15:15:70% v/v], d) IprOH al 30% y e) EtOH al 30%.

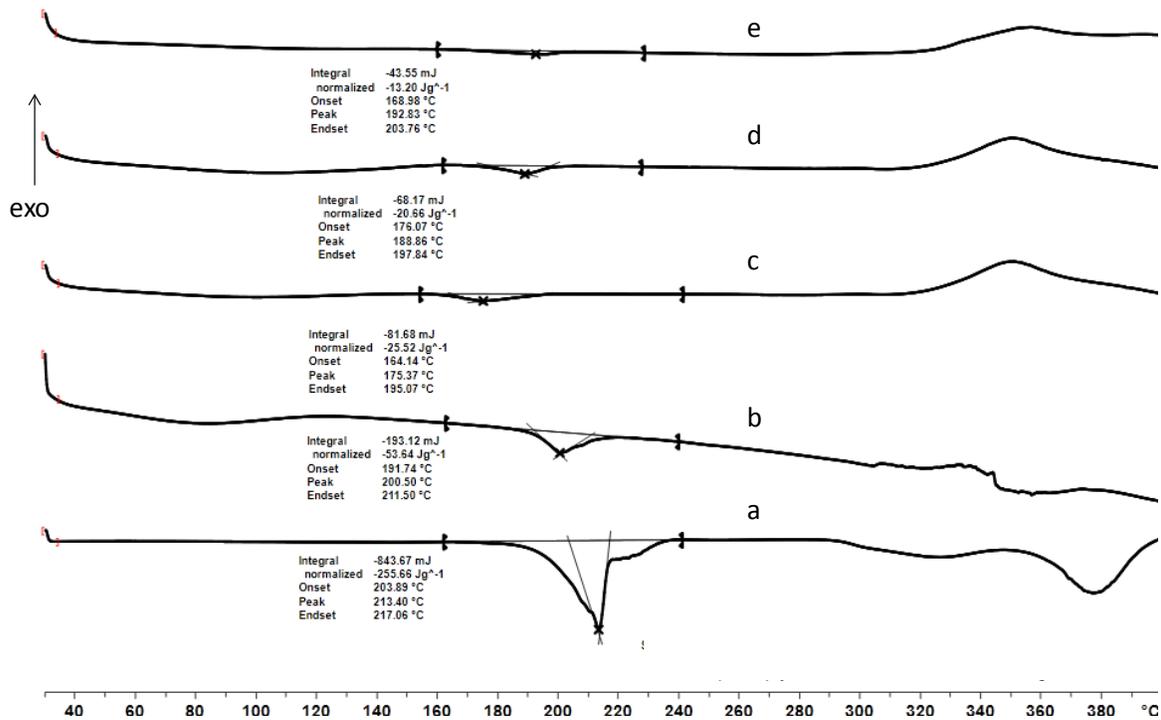


Figura 16. Termogramas del sistema (ABZ/HP- β CD), correspondientes a: a) ABZ b) MF, c) IprOH al 30%, d) EtOH:IprOH:H₂O [15:15:70% v/v], y e) EtOH al 30%.

Otro aspecto a considerar, es la señal correspondiente a humedad de la muestra. Esta señal se observa en el intervalo de 80 y 110 °C en el sistema ABZ/ β CD, sin embargo, para el sistema ABZ/HP- β CD estas señales son casi nulas, lo cual sugiere que el agua presente en la muestra también podría contribuir a la interacción entre ABZ y ciclodextrina.

Con base en los resultados obtenidos, se eligió emplear EtOH como disolvente, y se decidió estudiar la influencia de la proporción y volumen del EtOH en la interacción entre ABZ y las CDs.

En la Figura 17 y 18 se presentan los termogramas del sistema ABZ/ β CD y ABZ/HP- β CD respectivamente empleando diferentes proporciones y volúmenes de EtOH. Para el sistema ABZ/ β CD se puede observar una reducción del área de la endoterma al agregar 2000 μ L de EtOH al 40 %. La señal muestra un pico distorsionado de la endoterma lo cual sugiere un cambio en el comportamiento cristalino del fármaco atribuido a la interacción con la ciclodextrina. Se observó también que a menor volumen de disolvente, la interacción entre ABZ y β CD fue menor. Ello puede atribuirse a diferencias de homogeneidad de la

muestra; ya que con un volumen pequeño se obtuvo una pasta compacta mientras que a mayor volumen se forma una suspensión la cual permite una mayor área de distribución de la radiación de microondas sobre el sistema. No se observaron diferencias en los termogramas al estudiar cambios en las proporciones del disolvente.

En el sistema ABZ/HP- β CD se puede observar que a proporciones bajas y volúmenes de 300 μ L de EtOH al irradiar a 58 $^{\circ}$ C, 150 w durante 2 min el área de la endoterma correspondiente al fármaco no se ve reducida comparándola con la MF, sin embargo, cuando la concentración de EtOH aumenta, la endoterma para estas muestras se modifica, esto es debido probablemente a que el aumento de EtOH permite una mayor distribución de la radiación por la capacidad del disolvente a distribuir mejor la radiación, lo cual modifica la interacción entre ABZ y HP- β CD.

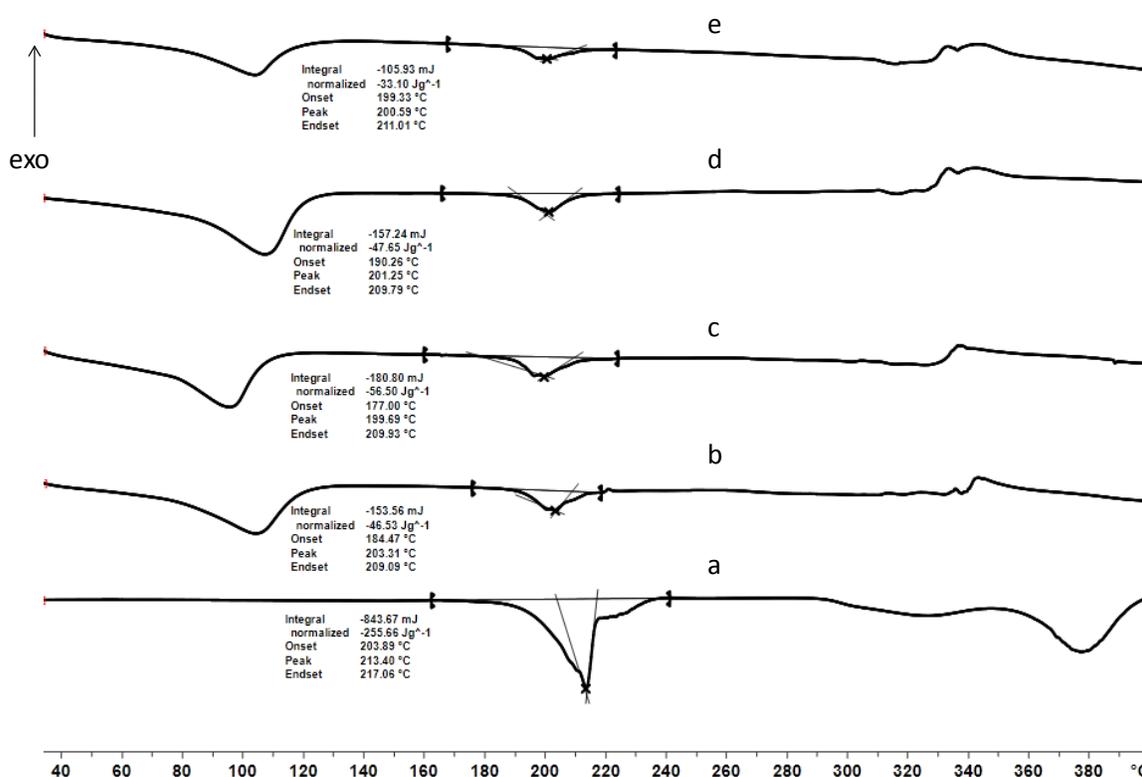


Figura 17. Termogramas del sistema (ABZ- β CD), donde: **a)** ABZ **b)** MF, **c)** 300 μ L de EtOH al 30%, **d)** 300 μ L de EtOH al 40%, **e)** 2000 μ L de EtOH al 40%.

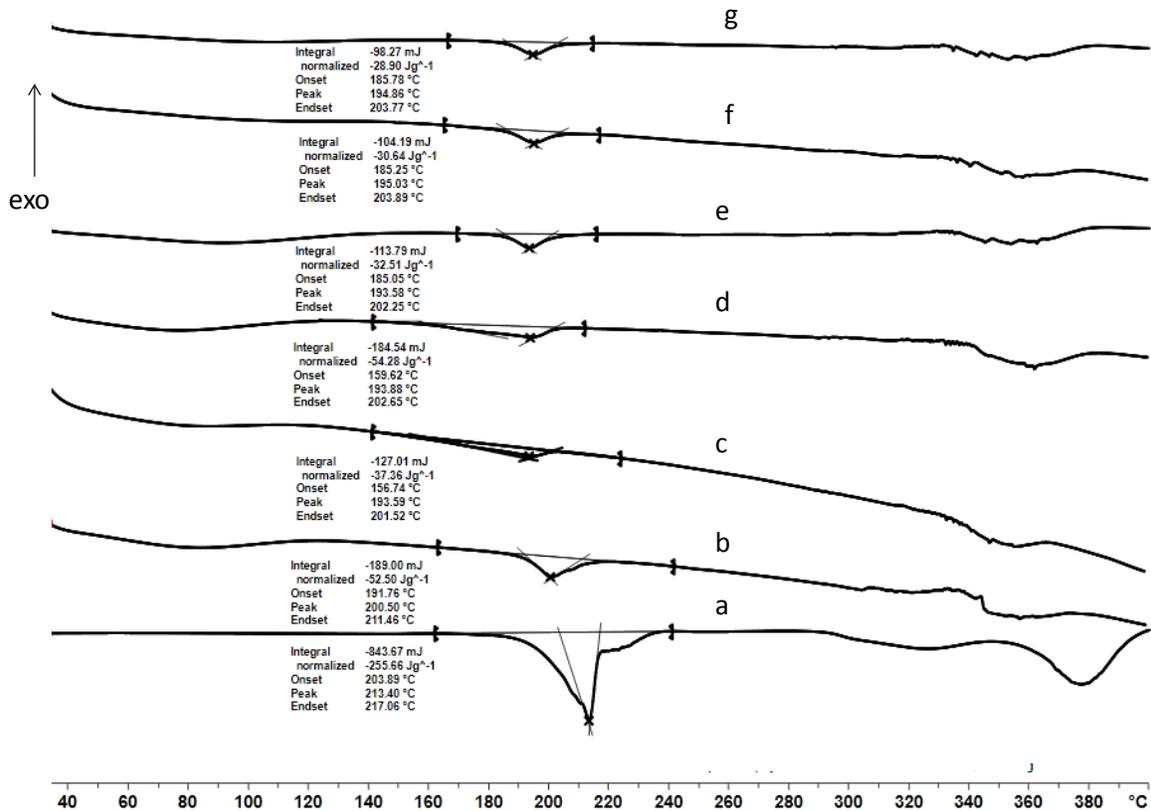


Figura 18. Termogramas del sistema (ABZ/HP-βCD), donde: a) ABZ, b) MF, c) EtOH al 50%, d) EtOH al 40%, e) EtOH al 5%, f) EtOH al 10% y g) EtOH al 15%. Empleando 300 μL en todas las pruebas

Con base en los resultados de efecto de tipo, volumen y concentración de disolvente se decidieron utilizar las condiciones que se presentan en la Tabla 9. En ella se puede observar que la concentración y el volumen empleado son diferentes.

Tabla 9. Condiciones finales empleadas en el método de microondas para ABZ.

Fármaco	CD empleada	Temperatura (°C)	Potencia (W)	Tiempo (min)	Concentración del Disolvente
ABZ	βCD	58	150	2.0	EtOH al 30%/2000μL
	HP-βCD	58	150	2.0	EtOH al 40%/300μL

7.1.3 Caracterización de los SBs de ABZ.

En el presente trabajo se emplearon tres técnicas de caracterización, cuyos resultados se describen a continuación.

7.1.3.1 DSC para los sistemas binarios de ABZ por microondas.

En las figuras 19 y 20 se presentan los termogramas correspondientes a los sistemas ABZ/ β CD y ABZ/HP- β CD respectivamente. El ABZ muestra el comportamiento cristalino de la molécula con una señal a 213.4 °C, el pico distorsionado puede atribuirse al polimorfismo del fármaco (Castillo, *et al*, 1999), a temperaturas mayores se observan señales generadas posiblemente por reareglos cristalinos de la molécula. La β CD muestra una señal exotérmica a 303 °C. La mezcla física (MF) presenta una señal endotérmica a 203 °C la cual corresponde a ABZ. En el método MO; se observa la señal endotérmica a 200 °C, la endoterma también se aprecia ligeramente abatida con respecto a la MF, lo cual permite sugerir una interacción entre ABZ y la β CD. La distorsión del pico de la endoterma del método de MO podría evidenciar que la interacción de ABZ es reducida o un efecto de amorfización de la fase sólida o ambos. Los termogramas de β CD presentan una señal en el intervalo de temperaturas comprendido entre 80 a 120 °C, la cual se atribuye al agua contenida en las muestras (Giordano, *et al*, 2001).

En 2009 Cirri y colaboradores observaron que los termogramas de los sistemas β CD y ketoprofeno preparados por microondas, generaron un abatimiento de la señal del fármaco, lo cual se atribuyó a la amorfización del estado sólido, sin embargo no se observó el abatimiento total de la endoterma. Los resultados concernientes a los sistemas que implican β CD en el presente trabajo, concuerdan con lo reportado por Cirri, ya que la caracterización permite observar cambios en el estado cristalino de ABZ atribuidos a la influencia del método de microondas.

En el caso de la HP- β CD se observa una señal exotérmica a 305°C. A temperaturas mayores a los 320 °C se aprecia una señal atribuida a la descomposición de la molécula. La MF muestra una señal endotérmica a 200 °C atribuida al ABZ. El método de MO presenta una disminución de la intensidad de la señal endotérmica, lo cual sugiere una interacción efectiva entre la cavidad de la HP- β CD y el ABZ. Los resultados obtenidos hacen pensar que el método de MO puede ser una alternativa viable para el desarrollo de sistemas binarios ABZ/HP- β CD.

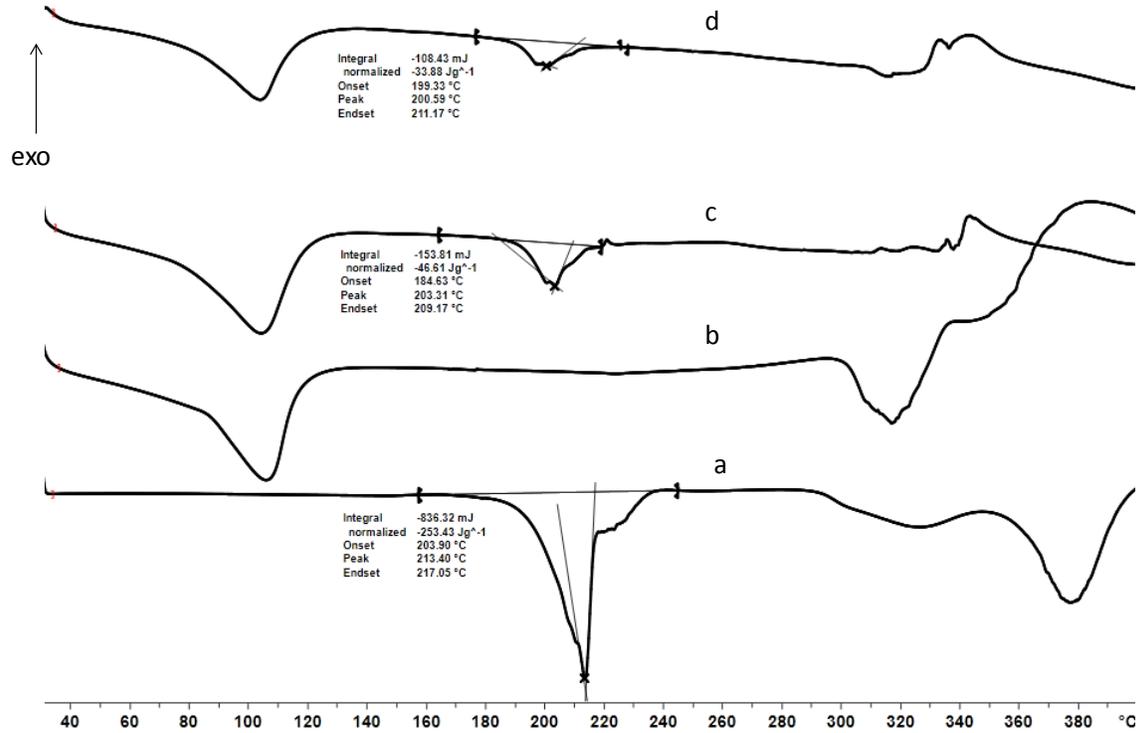


Figura 19. Termogramas del método de microondas para el sistema (ABZ/βCD), los cuales corresponden a: a) ABZ, b) βCD, c) MF, y d) MO.

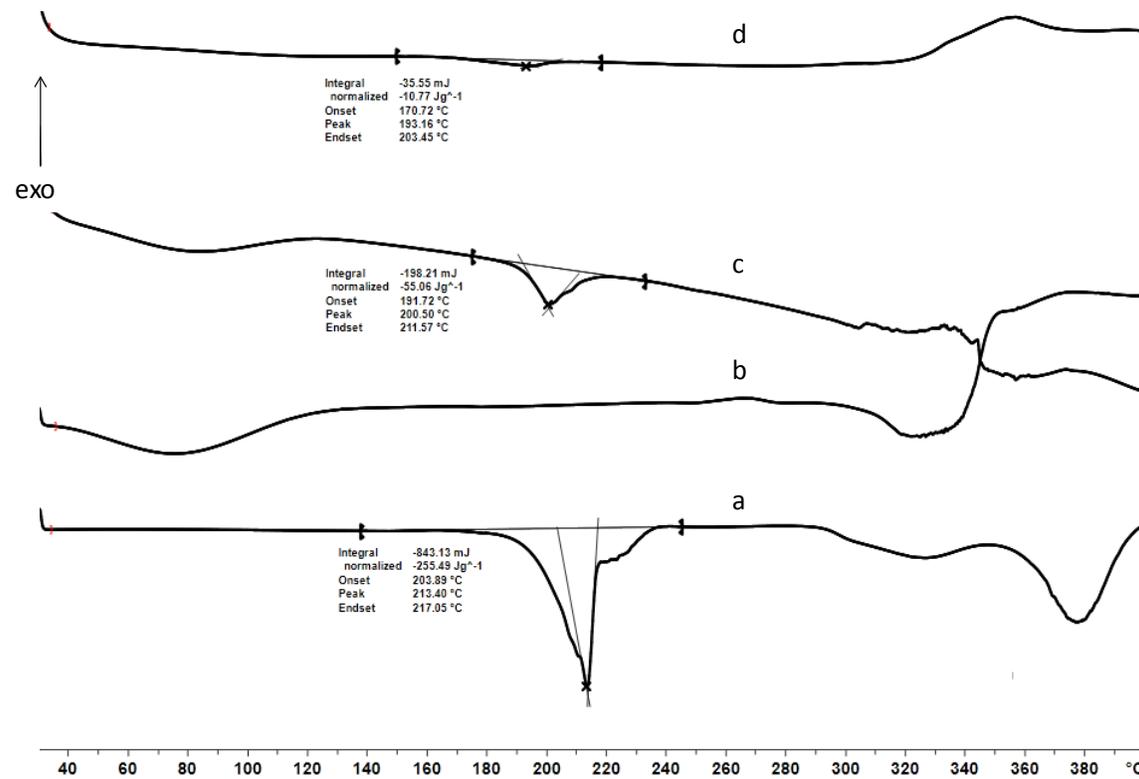


Figura 20. Termogramas del método de microondas para el sistema (ABZ/HP-βCD), los cuales corresponden a: a) ABZ, b) HP-βCD, c) MF y d) MO.

7.1.3.2 DSC para el sistema binario de ABZ/HP- β CD por co evaporación.

La Figura 21 muestra el termograma obtenido al preparar el sistema ABZ/HP- β CD empleando el método de co evaporación (CE). Se observa una endoterma a 195 °C similar a la obtenida con el método de MO. Estos resultados sugieren que el efecto por un calentamiento convencional o por microondas favorece la interacción de ABZ con la HP- β CD. Castillo y colaboradores reportaron la preparación de complejos de inclusión de ABZ con HP- β CD por co precipitación y liofilizado. El estudio de calorimetría evidenció que solamente el método de liofilizado provocó una interacción efectiva entre los componentes atribuido a la formación de un complejos de inclusión. Sin embargo, el tiempo requerido por el método de liofilizado fue de dos días. Sin embargo, en el presente trabajo se encontró que un calentamiento por irradiación de microondas favorece también, la inclusión del ABZ en la HP- β CD.

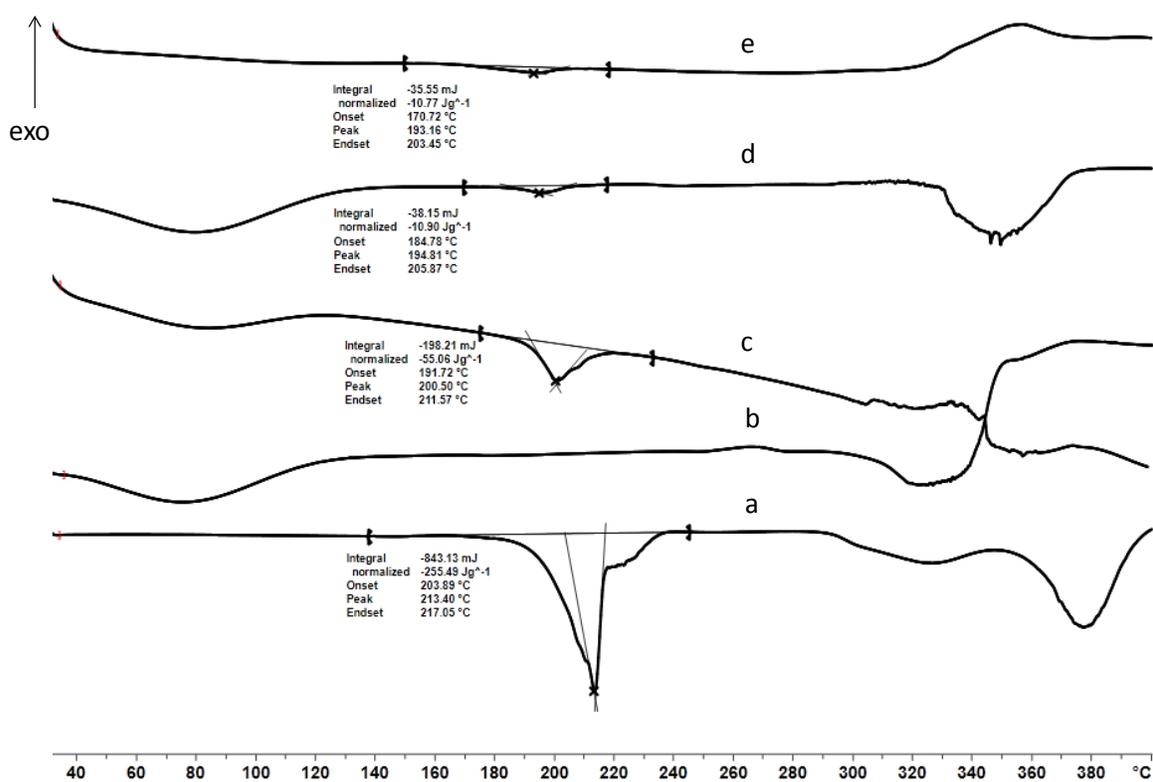


Figura 21. Termogramas para el sistema (ABZ/HP- β CD), los cuales corresponden a: a) ABZ, b) HP- β CD, c) MF, d) CE y e) MO.

7.1.3.3 Estudio piloto del grado relativo de cristalinidad para los sistemas binarios de ABZ.

En la Tabla 10 se presenta los valores correspondientes al grado relativo de cristalinidad (GRC) de los sistemas binarios de ABZ. El 100% de GRC corresponde al fármaco puro, que es el valor de referencia. En la Tabla se puede observar que el método de MO disminuye la cristalinidad del ABZ. Este efecto es atribuido a una amorfización del fármaco. La amorfización del fármaco esta relacionado con el incremento de la solubilidad de éste. Los métodos de MO y de CE no presentaron diferencias en el GCR.

Tabla 10. Estudio piloto del grado de cristalinidad relativa para los sistemas binarios de ABZ.

MUESTRA	SEÑAL DE LA ENDOTERMA (°C)	ENTALPIA ΔH° (J/g)	GRADO DE CRISTALINIDAD (%)
ABZ	213.40	-255.43	100.0
MF (ABZ/ β CD)	203.31	-46.61	18.2
MO (ABZ/ β CD)	200.59	-33.88	13.3
MF (ABZ/HP- β CD)	200.50	-55.06	21.6
CE (ABZ/HP- β CD)	194.81	-10.90	4.3
MO (ABZ/HP- β CD)	193.16	-10.77	4.2

7.1.3.4 Espectroscopía de IR para los sistemas binarios de ABZ por microondas.

Los estudios de espectroscopía de infrarrojo han sido empleados como otra herramienta en el análisis de los sistemas binarios fármaco-CD, cuando ocurre una interacción entre el fármaco y la CD se observan cambios en los espectros; los cuales en ocasiones suelen ser sutiles (Hedges,1998).

En la Figura 22 y 23 se presentan los espectros de infrarrojo (IR) para los sistema ABZ/ β CD y ABZ/HP- β CD respectivamente. Al comparar el espectro de la MF y del método de MO ambos del sistema ABZ/ β CD no se observan cambios significativos entre estos, sin embargo, se aprecia una reducción y un desplazamiento de la señal a 1094-1009 cm^{-1} atribuida al enlace S=C sugiriendo una posible interacción en el enlace S=C del ABZ con la β CD.

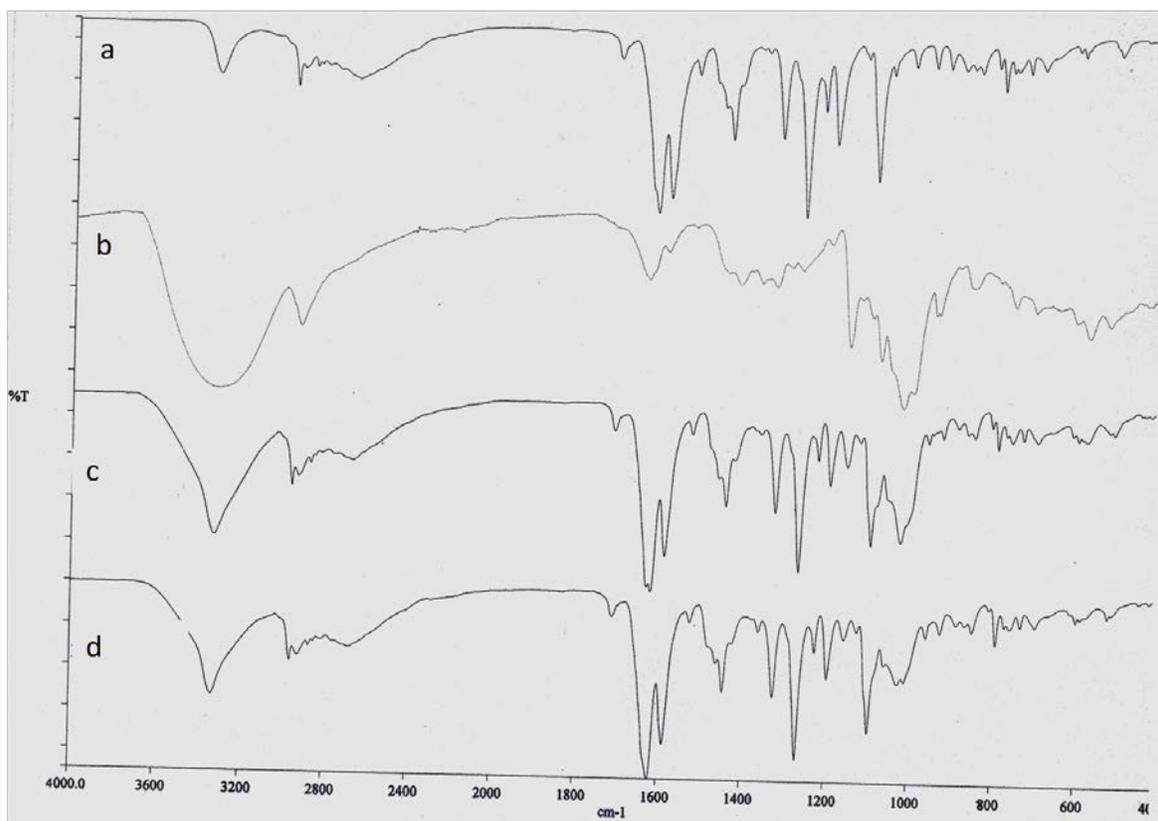


Figura 22. Espectro de IR del método de MO para el sistema (ABZ/ β CD) donde: **a)** ABZ, **b)** β CD, **c)** MF y **e)** MO.

El espectro de la MF del sistema ABZ/HP- β CD no presenta cambios significativos con respecto a las señales caracterizadas para el ABZ. En el IR del método de MO no se observa la señal de 2957cm^{-1} atribuida a la unión alifática C-H de la molécula, tampoco se observa la señal a 1093cm^{-1} atribuida al grupo sulfuro de la molécula, lo cual sugiere una interacción marcada entre la cavidad hidrofóbica de la HP- β CD y esta parte de la molécula de ABZ, además, se observa una reducción en las señales de 1711cm^{-1} así como también una reducción en el intervalo de $1617\text{-}1524\text{cm}^{-1}$, esta señales se atribuyen a las uniones C=O y N-H del ABZ, respectivamente, lo cual podría deberse a que los grupos electronegativos del ABZ pueden interaccionar formando “puentes de hidrógeno” con los OH de la ciclodextrina. Esta idea se apoya por la presencia y aumento de la señal a 3327cm^{-1} que ha sido atribuida a enlaces de hidrógeno. También se observa una reducción en el intervalo de $1400\text{ a }1200\text{cm}^{-1}$.

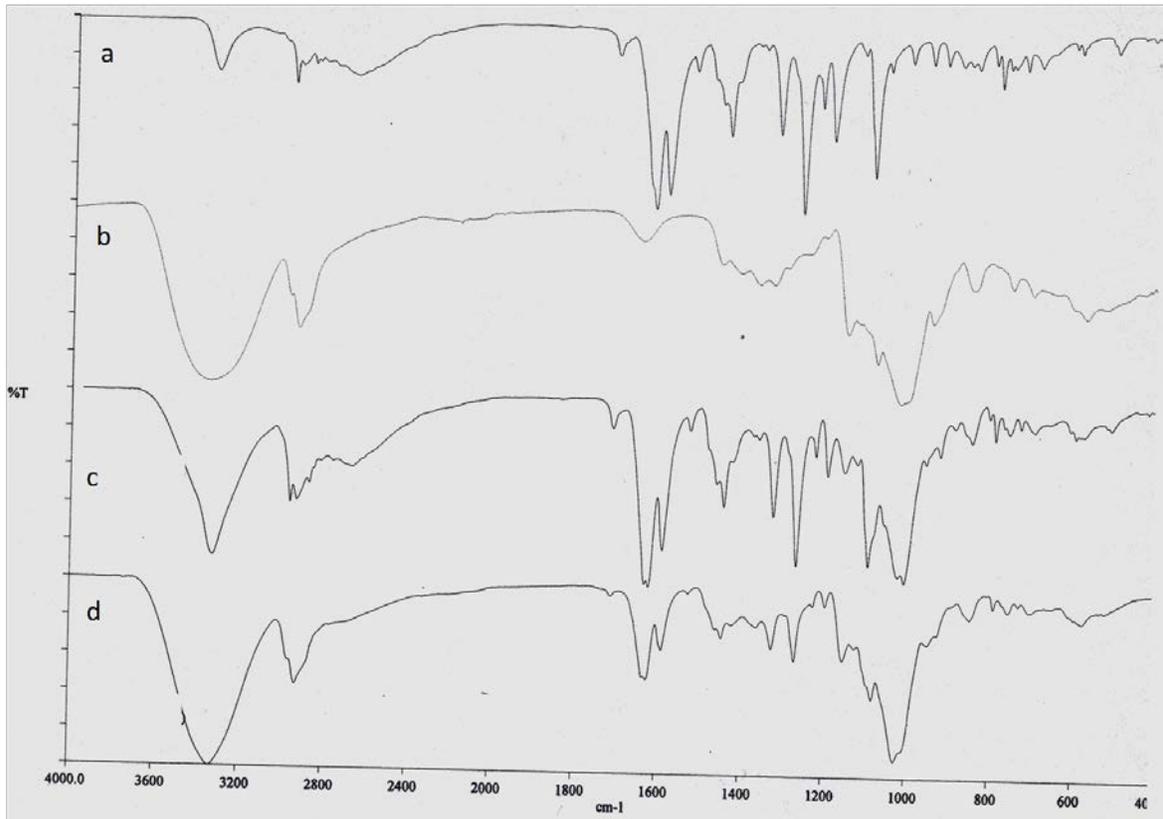


Figura 23. Espectro de IR del método de MO para el sistema (ABZ/HP- β CD) donde: **a)** ABZ, **b)** HP- β CD, **c)** MF y **d)** MO.

7.1.3.5 Espectroscopía de IR para el sistema binario de ABZ/HP- β CD por co evaporación (CE).

En el espectro del método de CE del sistema ABZ/HP- β CD (Figura 24) se observa el desplazamiento y el abatimiento de las señales correspondientes a las uniones N-H. El método de MO y el de CE muestran cambios en el espectro, soportando la idea de que la interacción entre el ABZ y la HP- β CD se favorece por la transmisión de energía en forma de calor.

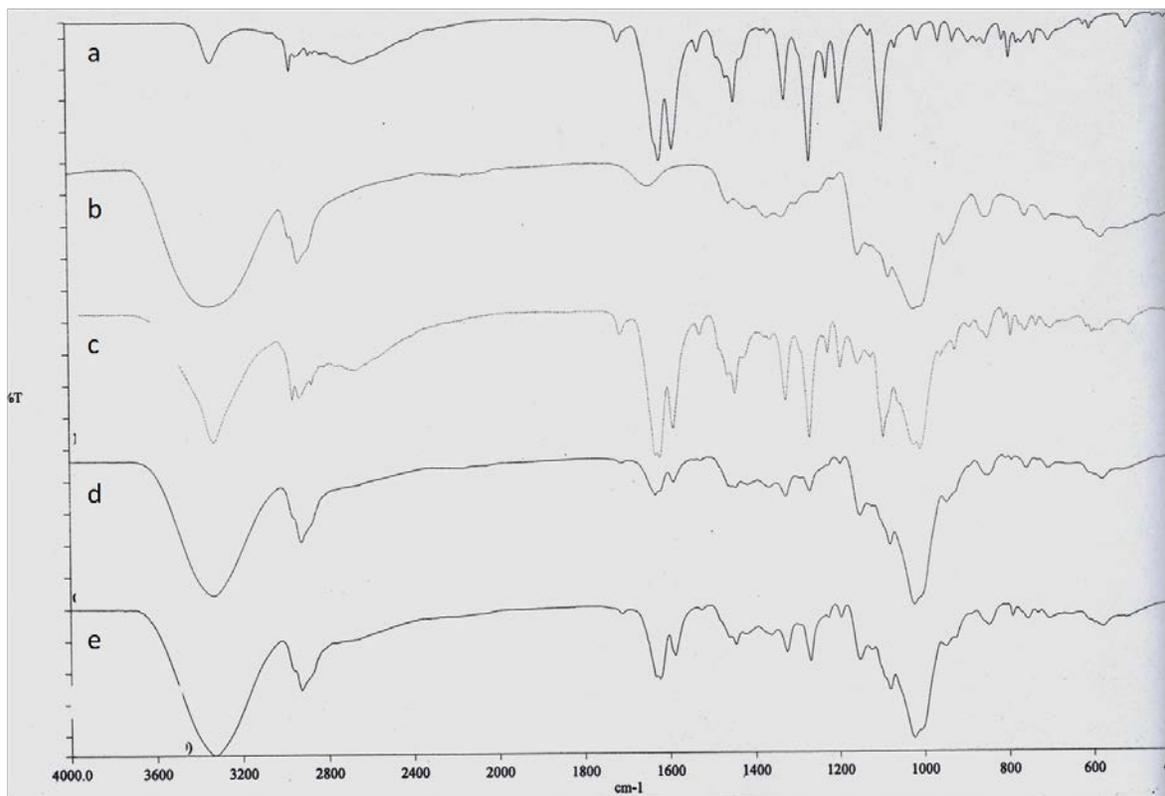


Figura 24. Espectro de IR del método de co evaporación para el sistema (ABZ/HP- β CD) donde: **a)** ABZ, **b)** MF, **c)** MO **d)** CE y **e)** MO.

7.1.3.6 DRXP para los sistemas binarios de ABZ por microondas.

Se ha reconocido que el incremento de la solubilidad de un fármaco puede asociarse a los cambios de las propiedades cristalinas de éste, por lo que los estudios de difracción permiten evaluar el cambio de la fase del estado sólido de los SBs entre fármaco y la ciclodextrina.

Las Figura 25 y 26 muestran el patrón de difracción de rayos X de polvos (PDRXP) para el sistema ABZ/ β CD y ABZ/HP- β CD respectivamente. El ABZ presenta diversos picos de difracción en el rango de $7-27^\circ$ evidenciando su carácter cristalino. También la β CD presenta picos de difracción. La MF presenta los picos de difracción correspondientes a ABZ. Cuando se observa el patrón de difracción del MO del sistema ABZ/ β CD, los picos presentan ligeras diferencias en relación a los de ABZ, sin embargo no se observa la formación de una nueva fase sólida. Sin embargo, en el método de MO para el sistema ABZ/HP- β CD se observan una disminución en la intensidad de picos de difracción

correspondientes para ABZ, además, algunos picos dejan de percibirse. Dichos cambios confirman la formación de una nueva fase sólida debido a un estado parcialmente amorfo atribuido a la inclusión. La HP- β CD muestra un comportamiento amorfo.

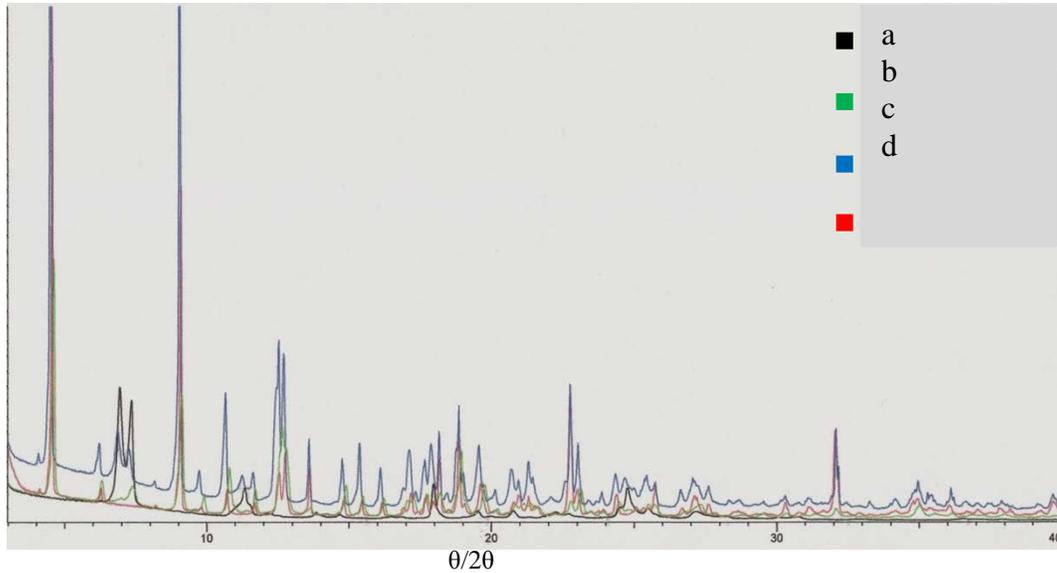


Figura 25. PDRXP del método de microondas para el sistema (ABZ/ β CD) donde: **a)** ABZ, **b)** β CD, **c)** MF y **d)** MO.

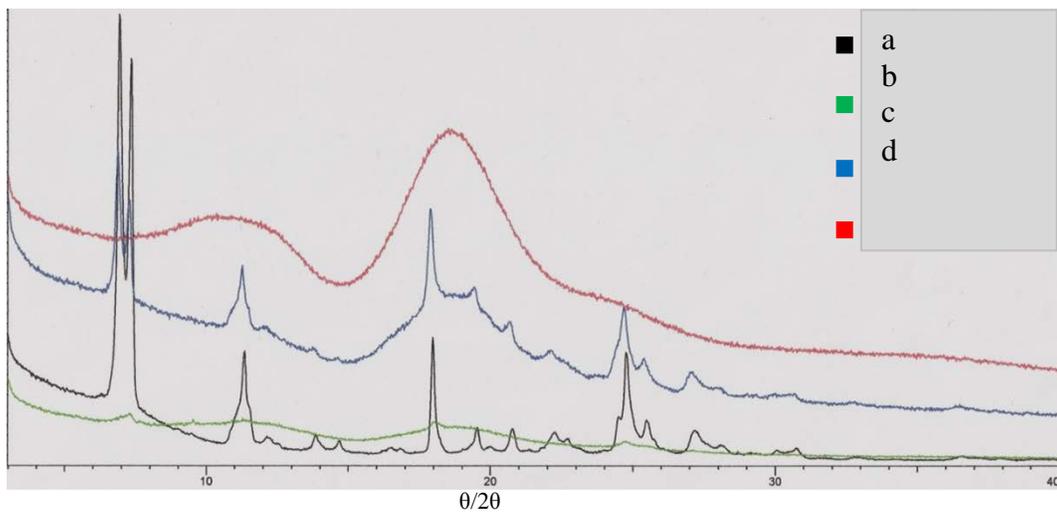


Figura 26. PDRXP del método de microondas para el sistema (ABZ/HP- β CD) donde: **a)** ABZ, **b)** HP- β CD, **c)** MF y **d)** MO.

7.1.3.7 DRXP para el sistema binario de ABZ/HP- β CD por co evaporación.

En la Figura 27 se presenta el patrón de difracción para el sistema ABZ/HP- β CD del método de CE, en él se observan algunos picos que corresponden a ABZ. Los resultados confirman que la transmisión de energía al sistema por un calentamiento, ya sea por microondas o convencional favorece una amorfización de la fase sólida.

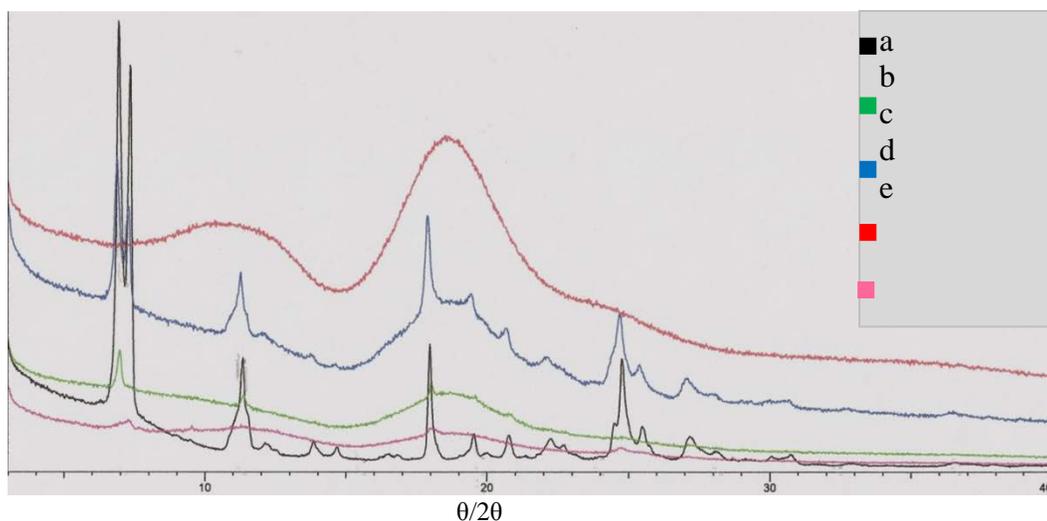


Figura 27. PDRXP para el sistema (ABZ/HP- β CD) donde: a) ABZ, b) HP- β CD, c) MF, d) CE y e) MO.

7.1.4 Método analítico para cuantificar ABZ.

7.1.4.1 Curva de calibración para la cuantificación de ABZ.

En la Figura 28 se presentan los resultados de linealidad del método para cuantificar albendazol empleando el método espectrofotométrico. En el rango de 0.3 a 26.0 μ g/mL el coeficiente de correlación fue de 0.999 y el error relativo de la regresión fue de 0.562%, por lo tanto el método se considero lineal en este rango de concentraciones. En la Tabla 11 se presentan los datos de precisión. En ella se puede observar que el coeficiente de variación fue menor al 2%.

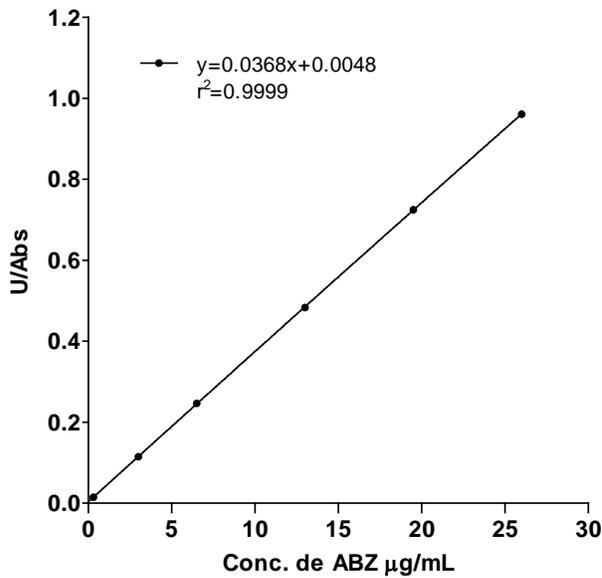


Figura 28. Linealidad del método analítico para la cuantificación de ABZ. El Error Relativo de la Regresión fue de 0.562%. n=3.

Tabla 11. Método analítico para la cuantificación de ABZ. DE: desviación estándar y CV: coeficiente de variación.

CONCENTRACIÓN TEÓRICA (µg/mL)	CONCENTRACIÓN RECUPERADA (µg/mL)
0.3	0.31
	0.31
	0.30
	Promedio 0.30
	DE 0.004
	CV (%) 1.28
3.0	2.99
	2.96
	2.99
	Promedio 2.98
	DE 0.02
	CV (%) 0.53
6.5	6.52
	6.60
	6.55
	Promedio 6.55
	DE 0.04
	CV (%) 0.63
13.0	12.95
	13.03
	13.01
	Promedio 13.00
	DE 0.04
	CV (%) 0.32
19.5	19.47
	19.63
	19.55
	Promedio 19.55
	DE 0.08
	CV (%) 0.42
26.0	25.87
	26.06
	25.93
	Promedio 25.95
	DE 0.10
	CV (%) 0.38

7.1.5 Evaluación *in vitro* de los SBs de ABZ.

7.1.5.1 Perfil de disolución de los sistemas binarios de albendazol por microondas.

En la Figura 29 y 30 se presentan los perfiles de disolución de los sistemas ABZ/ β CD y ABZ/HP- β CD respectivamente, en las cuales se aprecian marcadas diferencias entre ellos. Los resultados mostraron que la incorporación de la β CD o HP- β CD al ABZ, favorece la disolución (MF), y ésta fue mayor al emplear el método de microondas, especialmente en el sistema ABZ/HP- β CD. La idea de que el método de microondas favorece ésta

interacción se apoya en los estudios de DSC y los de DRXP, en los cuales se observan un cambio, para los sistemas ABZ/ β CD o un nuevo comportamiento para los sistemas ABZ/HP- β CD de la fase sólida de estas muestras. La interacción de ABZ con la HP- β CD fue evidenciada por los espectros de IR. Estos resultados sugieren una inclusión del ABZ en la HP- β CD. El cálculo de f_2 no mostró similitud entre los perfiles de los sistemas ABZ/ β CD y ABZ/HP- β CD.

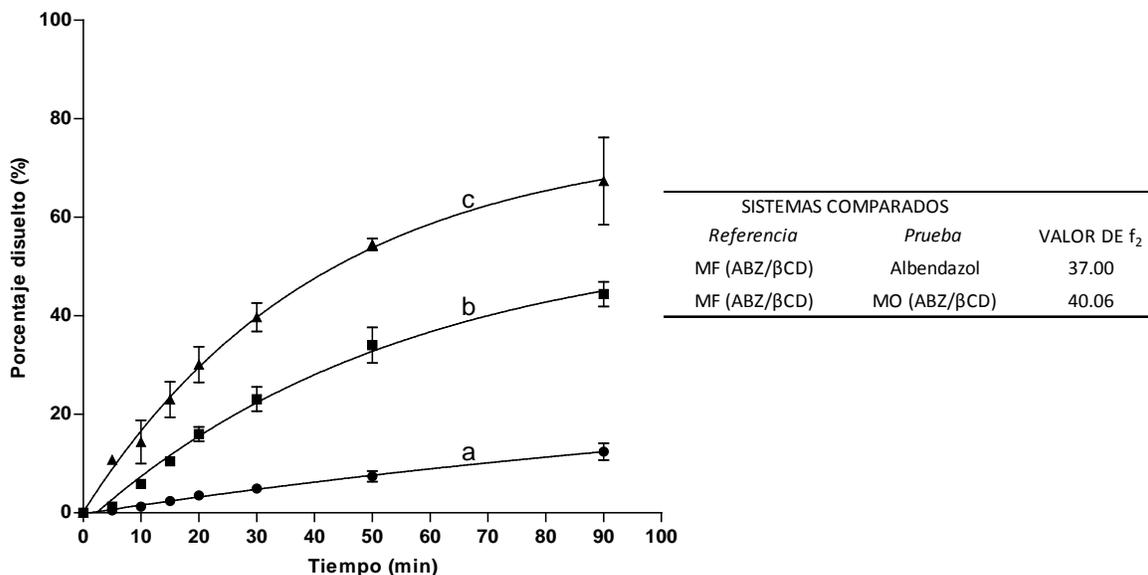


Figura 29. Perfil de disolución para el sistema (ABZ/ β CD) a) ABZ, b) MF y c) MO. Se muestra el valor de f_2 calculado.

El 89% de ABZ disuelto a los 10 min en el sistema ABZ/HP- β CD, hace que el sistema desarrollado mediante la técnica de microondas, sea un sistema atractivo para la evaluación de su biodisponibilidad.

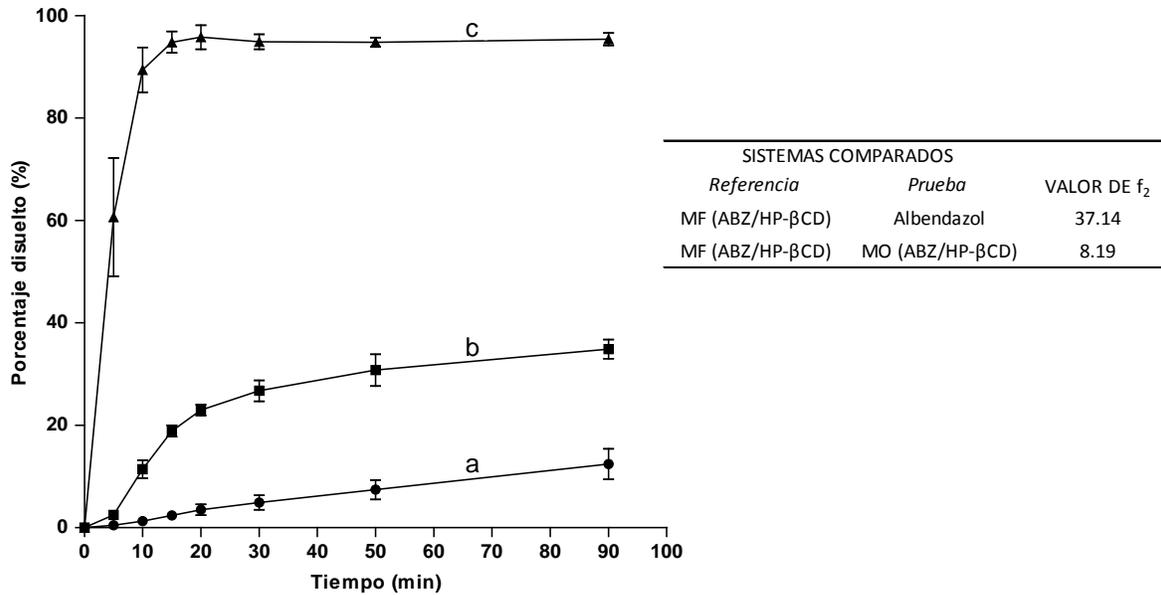


Figura 30. Perfil de disolución para el sistema (ABZ/HP- β CD) donde: a) ABZ, b) MF y c) MO. Se muestra el valor de f_2 calculado.

En la Tabla 12 se presentan los resultados promedio de porcentaje disuelto de los sistemas binarios de ABZ desarrollados.

Tabla 12. Porcentaje disuelto a los diferentes tiempos de muestreo de ABZ en los Sistemas Binarios desarrollados, (promedio \pm desviación estándar, n=3).

Tiempo de muestreo	Porcentaje disuelto de fármaco					
	ABZ	MF (ABZ/ β CD)	MF (ABZ/HP- β CD)	MO (ABZ/ β CD)	MO (ABZ/HP- β CD)	CE (ABZ/HP- β CD)
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5	0.48 \pm 0.4	1.24 \pm 0.2	2.51 \pm 0.5	10.80 \pm 0.02	60.64 \pm 11.6	35.81 \pm 16.1
10	1.29 \pm 0.6	5.84 \pm 0.3	11.45 \pm 1.8	14.39 \pm 6.2	89.38 \pm 4.4	67.40 \pm 12.2
15	2.38 \pm 0.8	10.49 \pm 0.8	18.90 \pm 1.1	23.00 \pm 5.2	94.82 \pm 2.1	84.72 \pm 8.2
20	3.52 \pm 1.1	16.01 \pm 2.5	22.95 \pm 1.1	30.07 \pm 5.1	95.77 \pm 2.4	91.21 \pm 2.1
30	4.92 \pm 1.4	23.09 \pm 4.2	26.70 \pm 2.0	39.71 \pm 4.1	94.84 \pm 1.4	95.48 \pm 2.7
50	7.41 \pm 1.9	34.05 \pm 6.3	30.77 \pm 3.1	54.50 \pm 1.7	94.74 \pm 0.9	97.03 \pm 3.7
90	12.44 \pm 3.0	44.40 \pm 4.4	34.86 \pm 1.9	67.31 \pm 12.5	95.41 \pm 1.2	97.69 \pm 3.3

7.1.5.2 Perfil de disolución del método de co evaporación para el sistema ABZ/HP- β CD.

Una vez que se realizaron las caracterizaciones y evaluaciones *in vitro* del método de MO se decidió compararlo contra el método de co evaporación. La interrogante a responder fue si es la transmisión de energía en forma de calor ya sea por radiación (microondas) o por convección (co evaporación) es un factor determinante en la interacción entre fármaco y

ciclodextrina. Para este experimento se decidió elegir a los sistemas formados con HP- β CD por ser los que mejor disolución presentaron tanto de ABZ como del *Alfa*.

La Figura 31 corresponde al perfil de disolución del sistema ABZ/HP- β CD. Se observa que a los 15 minutos el método de CE y el de MO el porcentaje disuelto fue del 85% o más. El sistema binario de ABZ con HP- β CD se considera de muy rápida disolución cuando se desarrolla por el método de MO y por CE.

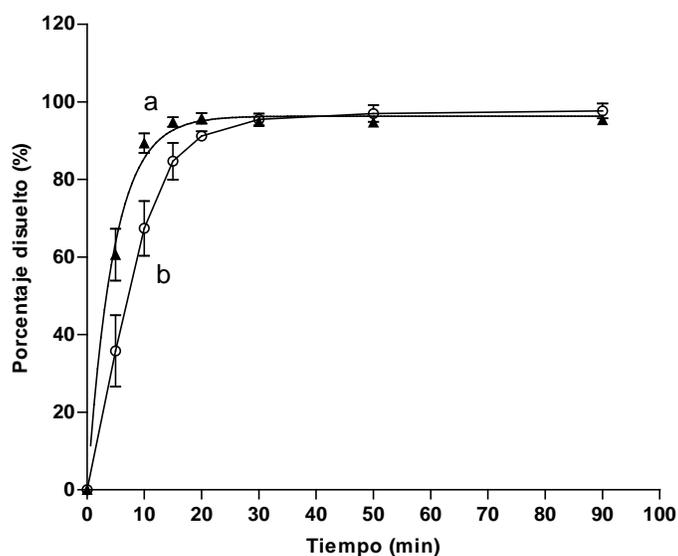


Figura 31. Perfil de disolución para el sistema (ABZ/HP- β CD) donde: a) MO y b) CE.

7.2 Sistemas ALFA/ β CD Y ALFA/HP- β CD.

7.2.1 Estudios de Solubilidad de Fases para los sistemas *Alfa*/ β CD y *Alfa*/HP- β CD.

En la Figura 32 se presenta la gráfica correspondiente al estudio de Solubilidad de Fases para los sistemas *Alfa*/ β CD (\blacklozenge) y *Alfa*/HP- β CD (\blacksquare). En el gráfico se observa la misma relación lineal entre la concentración de CD y la concentración de *Alfa*, sugiriendo que la relación estequiométrica entre ambas ciclodextrinas y el compuesto *Alfa*, al igual que los sistemas de ABZ, también es 1:1, siendo los valores de la constante de 1.43 M^{-1} y de 2.17 M^{-1} . Los valores tienen una magnitud muy baja, lo cual podría deberse a la precipitación y compactación del fármaco, con lo cual se impide el contacto con la ciclodextrina.

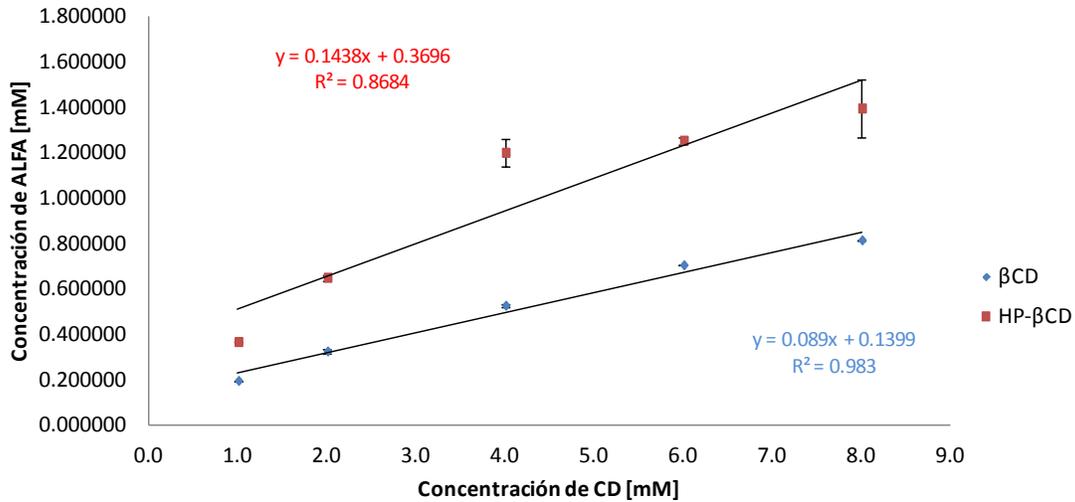


Figura 32. Estudio de Solubilidad de Fases de *Alfa* con β CD y HP- β CD.

7.2.2 Estandarización de las condiciones del método de microondas para los sistemas binarios de *Alfa*.

7.2.2.1 Evaluación del efecto del volumen, concentración y tipo de disolvente.

Con base en los resultados obtenidos para ABZ, se decidió evaluar únicamente el efecto de las proporciones de EtOH en los sistemas conteniendo el compuesto *Alfa*.

En la Figura 33 y 34 se presentan los termogramas correspondientes al sistema *Alfa* / β CD y *Alfa* / HP- β CD respectivamente a diferentes proporciones de EtOH.

Para el sistema *Alfa* / β CD se puede observar que a un volumen de 700 μ L de EtOH al 40% el área de la endoterma se redujo más en relación a la MF, siendo ésta reducción ligeramente mayor a un volumen de 700 μ L en una proporción de EtOH al 50 %.

Para el sistema *Alfa* / HP- β CD se observó que a un volumen de 300 μ L de EtOH a las diferentes proporciones de EtOH no hubo diferencias entre los tratamientos, sin embargo es evidente la reducción del área de la endoterma con respecto a la MF, además en los tratamientos de MO se observa una distorsión correspondiente a esta señal, lo cual indica que las MO generan una interacción mayor que en la MF entre el compuesto *Alfa* y la HP- β CD.

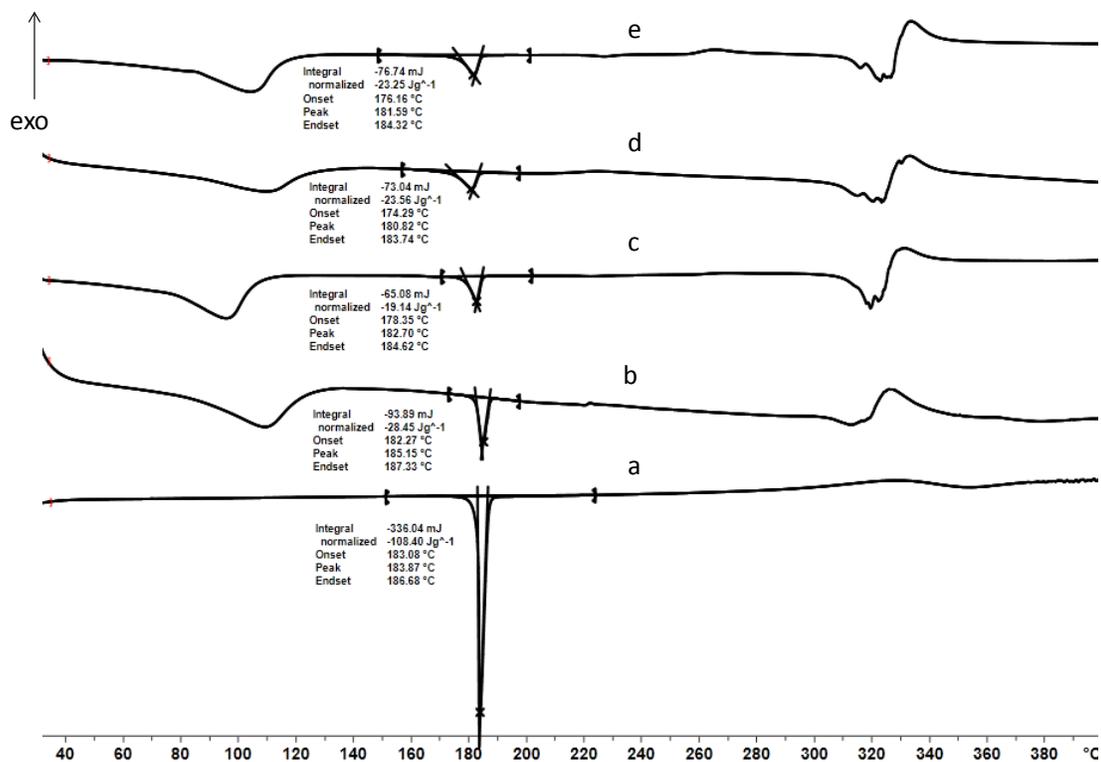


Figura 33. Termogramas de la caracterización por concentración de EtOH para el sistema (*Alfa*/ β CD), los cuales corresponden a: **a)** *Alfa* **b)** MF, **c)** EtOH al 30%, **d)** EtOH al 40% y **e)** EtOH al 50%.

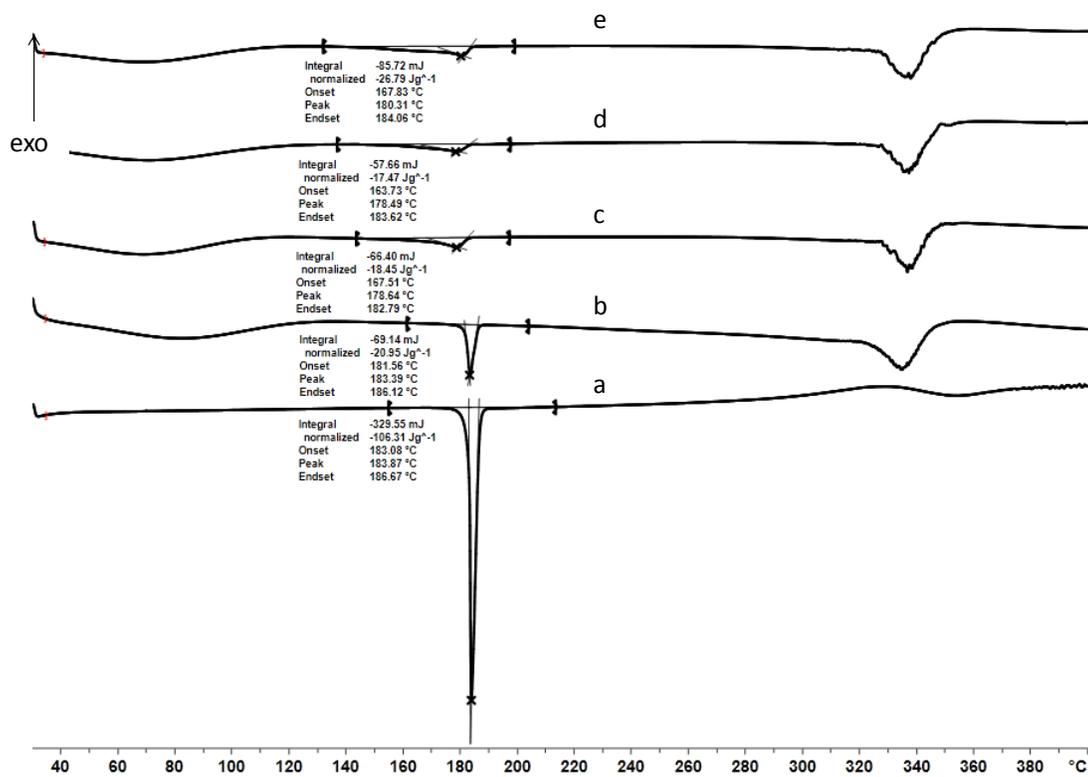


Figura 34. Termogramas de la caracterización por concentración de EtOH para el sistema (*Alfa*/HP- β CD), los cuales corresponden a: **a)** *Alfa*, **b)** MF, **c)** EtOH al 30%, **d)** EtOH al 40% y **e)** EtOH al 50%.

Con base en los resultados de efecto de proporciones y volumen del EtOH se decidieron utilizar las condiciones que se presentan en la Tabla 13.

Tabla 13. Condiciones finales empleadas en el método de microondas para alfa.

Fármaco	CD empleada	Temperatura (°C)	Potencia (W)	Tiempo (min)	Concentración del Disolvente
<i>ALFA</i>	βCD	62	160	2.0	EtOH al 40 %
	HP-βCD	58	150	2.0	EtOH al 40 %

7.2.3 Caracterización de los Sistemas Binarios de *Alfa*.

7.2.3.1 DSC para los sistemas binarios de *Alfa* por microondas.

En la Figura 35 y 36 se presentan los termogramas para los sistemas *Alfa* / βCD y *Alfa* / HP-βCD respectivamente. El termograma de *Alfa* presenta el comportamiento típico cristalino definido por una señal endotérmica a 184 °C. En este caso, a diferencia de ABZ, la señal no se observa distorsionada, lo cual sugiere la ausencia de polimorfismo de la molécula. La MF presenta una señal a 183 °C atribuida al *Alfa*, lo cual implica que no hubo una inclusión de *Alfa* en la ciclodextrina. En el método de MO, se aprecia un abatimiento y desplazamiento de la señal a 182 °C, la cual, aún cuando no se abate considerablemente se observa un cambio en el comportamiento térmico de los componentes, lo cual, permite sugerir una interacción entre el compuesto *Alfa* y la βCD.

En el sistema *Alfa* / HP-βCD, el método de MO presenta un comportamiento térmico diferente en relación al compuesto *Alfa* y a la MF. La señal se observa distorsionada con un desplazamiento a 178 °C sugiriendo una interacción más estable. Si bien, la mezcla física muestra que hay una alta afinidad del *Alfa* por la HP-βCD con el método de MO se incrementa ésta interacción.

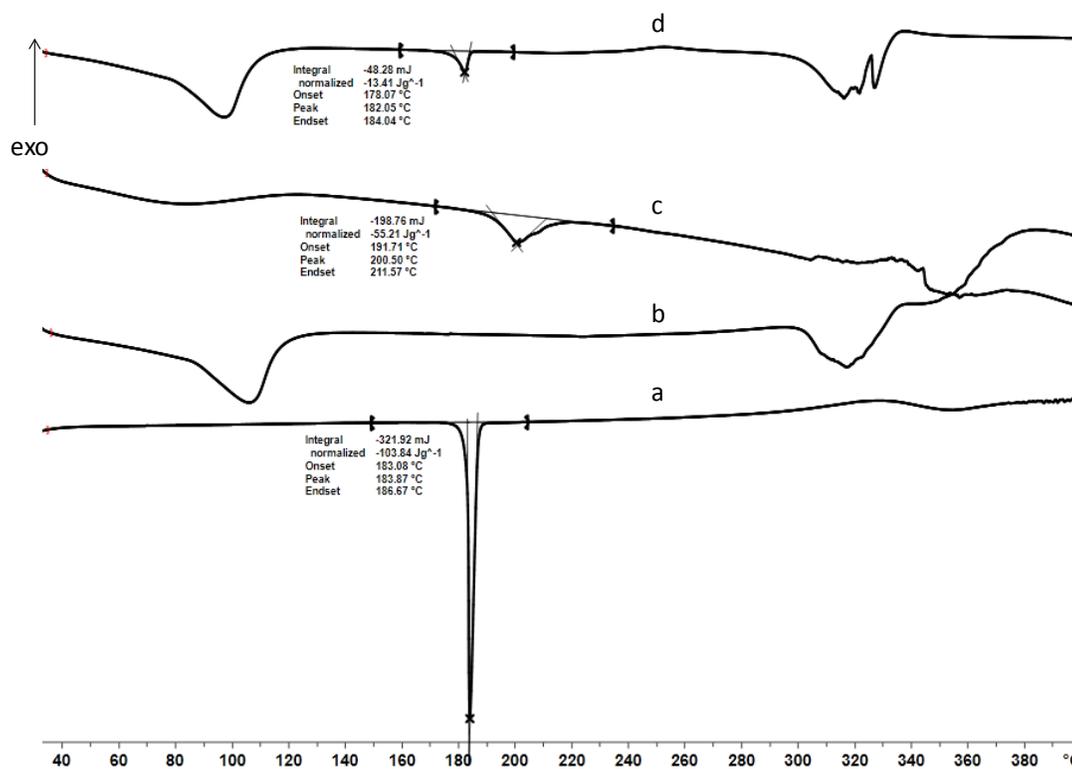


Figura 35. Termogramas del método de microondas para el sistema (*Alfa/βCD*) donde: **a)** *Alfa*, **b)** β CD, **c)** MF y **d)** MO.

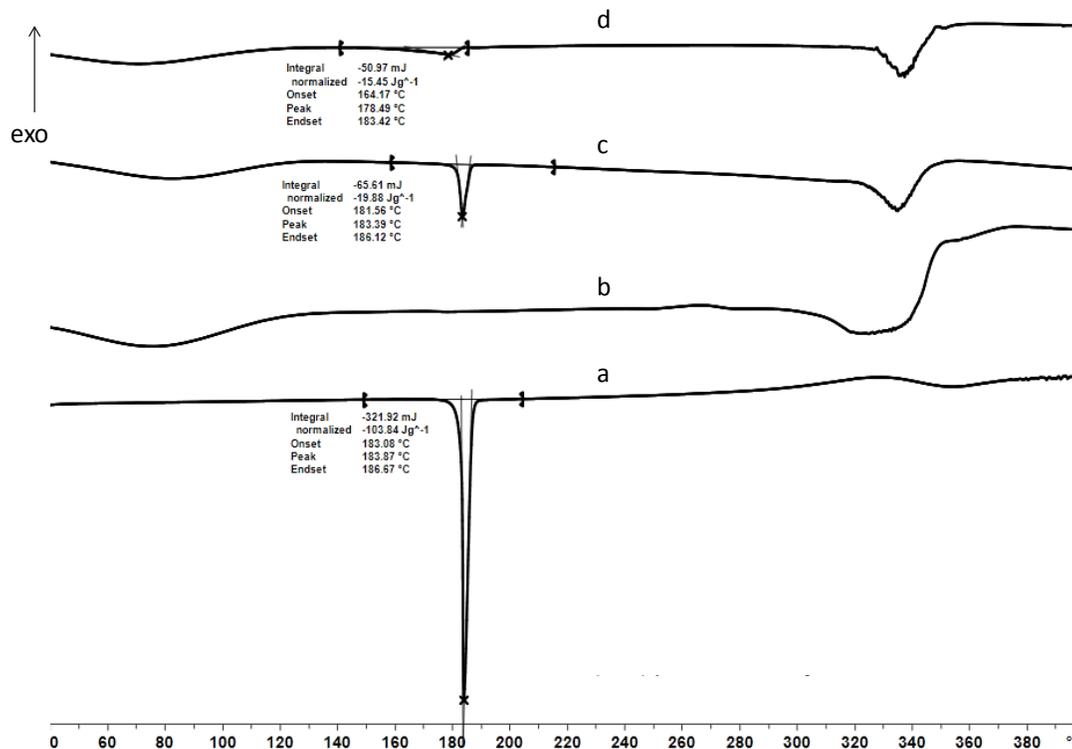


Figura 36. Termogramas del método de microondas para el sistema (*Alfa/HP-βCD*) donde: **a)** *Alfa*, **b)** HP- β CD, **c)** MF y **d)** MO.

7.2.3.2 DSC para el sistema binario de *Alfa* / HP- β CD por co evaporación.

En la Figura 37 se presenta el termograma del método de CE para el sistema *Alfa* / HP- β CD. La señal de la endoterma que se presentó para éste método se encuentra reducida en relación a la de la MF, lo cual indica una amorfización del fármaco atribuida a una interacción entre los componentes, sin embargo, el método de CE no favorece la inclusión del fármaco. Para éste sistema, el calentamiento por microondas, favorece la interacción de los componentes a diferencia del calentamiento convencional.

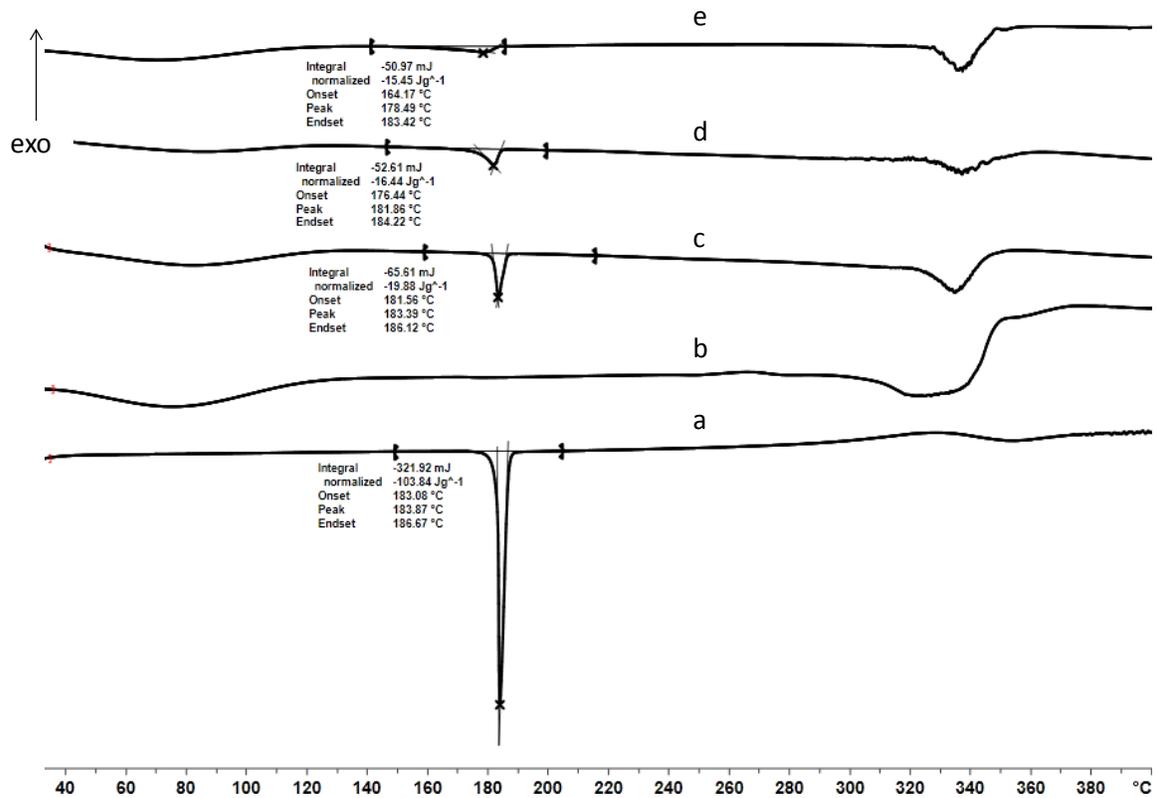


Figura 37. Termogramas para el sistema (*Alfa*/HP- β CD) los cuales corresponden a) *Alfa*, b) HP- β CD, c) MF, d) CE y e) MO.

7.2.3.3 Estudio piloto del grado relativo de cristalinidad para los sistemas binarios de *Alfa*.

El estudio piloto del GRC de los sistemas binarios de *Alfa* mostró que el método de microondas disminuye la cristalinidad de *Alfa* en relación a la MF. Este efecto se puede

atribuir a una amorfización del fármaco. Los métodos de MO y de CE no presentan diferencias en el GCR (Tabla 14).

Tabla 14. Estudio piloto del grado de cristalinidad relativa para los sistemas binarios de *Alfa*.

MUESTRA	SEÑAL DE LA ENDOTERMA (°C)	ENTALPIA ΔH° (J/g)	GRADO DE CRISTALINIDAD (%)
ALFA	183.87	-103.84	100.0
MF (ALFA/ β CD)	183.15	-55.21	53.2
MO (ALFA/ β CD)	182.05	-13.41	12.9
MF (ABZ/HP- β CD)	183.39	-19.88	19.1
CE (ALFA/HP- β CD)	181.86	-16.44	15.8
MO (ALFA/HP- β CD)	178.49	-15.45	14.9

7.2.3.4 Espectroscopía de IR para los sistemas binarios de *Alfa* por microondas.

En las Figuras 38 y 39 se presentan los espectro de infrarrojo (IR) correspondientes a los sistemas *Alfa* / β CD y *Alfa* / HP- β CD respectivamente. La MF y el método de MO para el sistema *Alfa*/ β CD presentan pocas diferencias entre sí. Se observa que en el método de MO hay un ligero abatimiento y un desplazamiento de la señal de 1575cm^{-1} atribuida a la unión C=C de la molécula de *Alfa* generado posiblemente por una interacción en esta parte de la molécula de *Alfa* con la ciclodextrina.

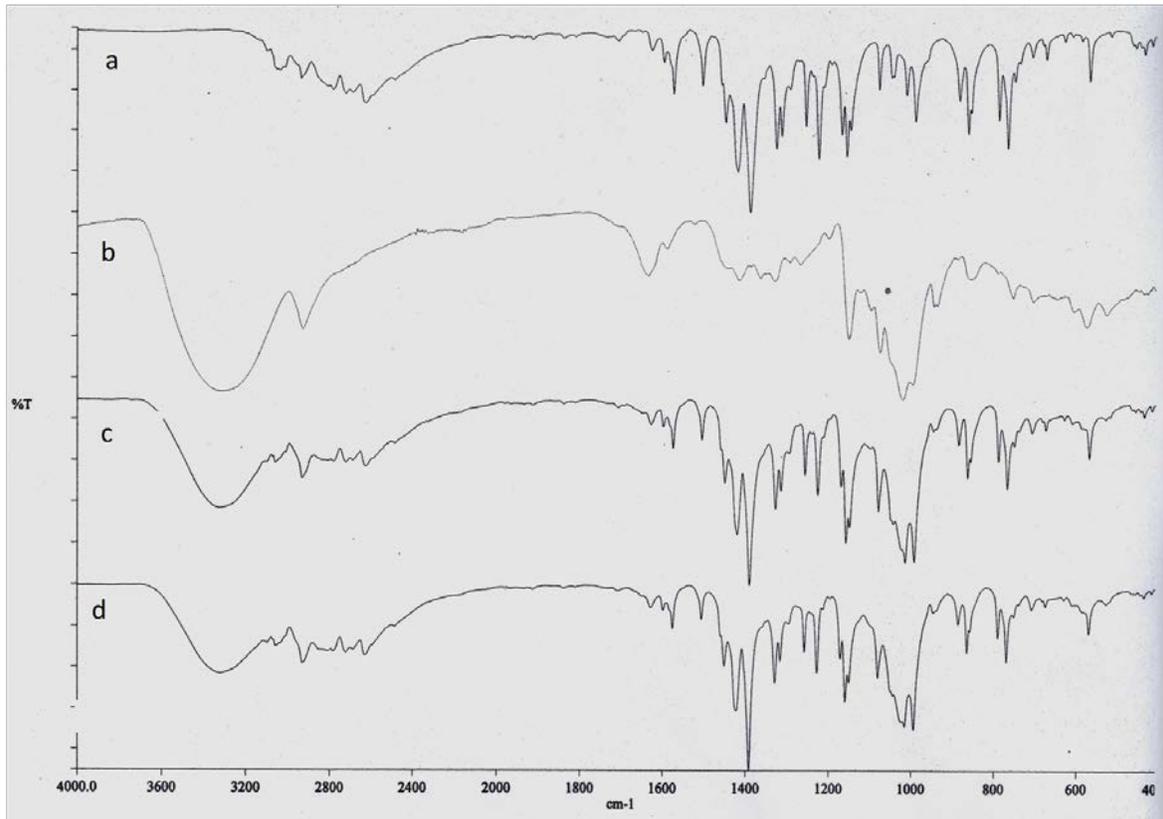


Figura 38. Espectro de IR del método de MO para el sistema (*Alfa*/βCD) donde: **a)** *Alfa*, **b)** βCD, **c)** MF, y **d)** MO.

En el sistema *Alfa* / HP-βCD las señales presentes en el compuesto *Alfa* comprendidas en el intervalo entre $2000\text{-}1700\text{cm}^{-1}$ no se observan en el espectro del método de MO, también se aprecia una evidente reducción de las señales de 1574 , 1226 y 2778cm^{-1} dichas señales se atribuyen a la uniones C=C, C-O-C, H-C-H, H-C respectivamente. Los cambios anteriormente mencionados sugieren que la interacción del compuesto *Alfa* con la HP-βCD se presenta en la zona del grupo naftilo, el cual posee propiedades hidrofóbicas.

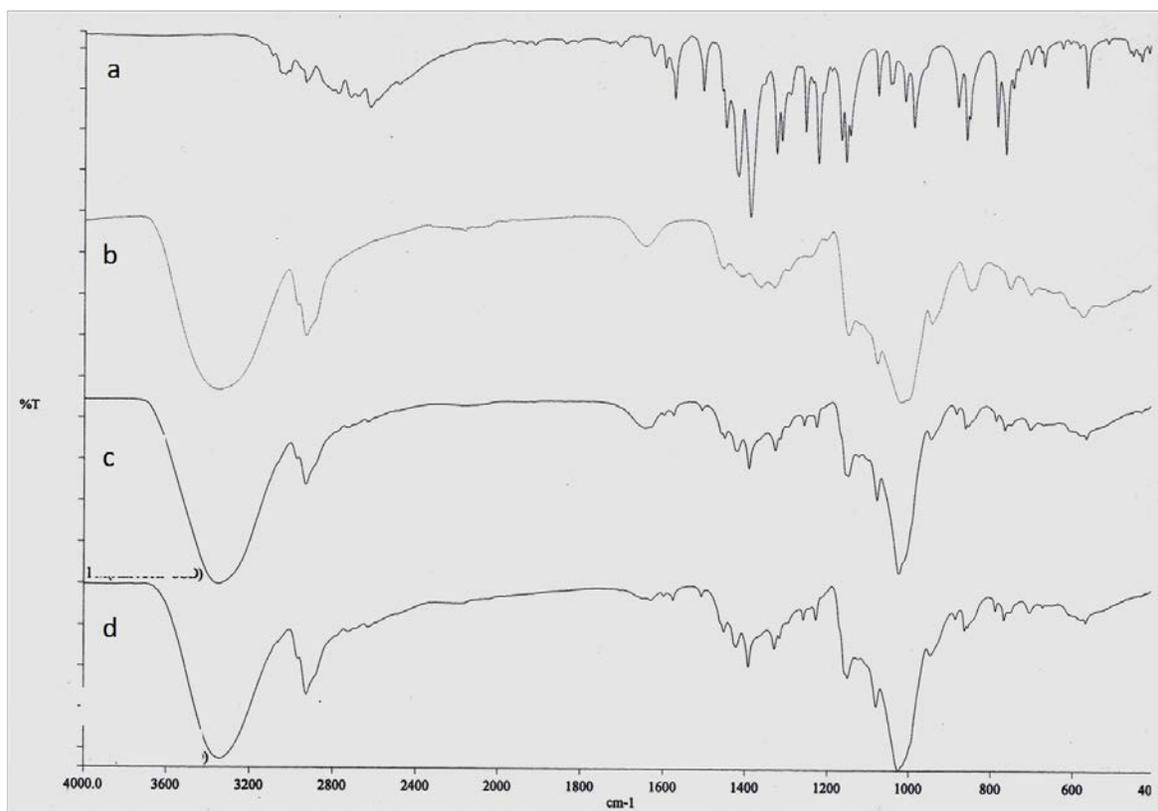


Figura 39. Espectro de IR del método de MO para el sistema (*Alfa*/HP-βCD): **a)** *Alfa*, **b)** HP-βCD, **c)** MF y **d)** MO.

7.2.3.5 Espectroscopía de infrarrojo para el sistema binario de *Alfa*/HP-βCD por co evaporación (CE).

La Figura 40 corresponde al IR para el sistema *Alfa*/HP-βCD. El espectro del método de CE no evidencio diferencias con respecto al método de MO, lo cual permite mencionar que ambos procesos de transmisión de energía, favorecen la interacción entre el *Alfa* y la HP-βCD.

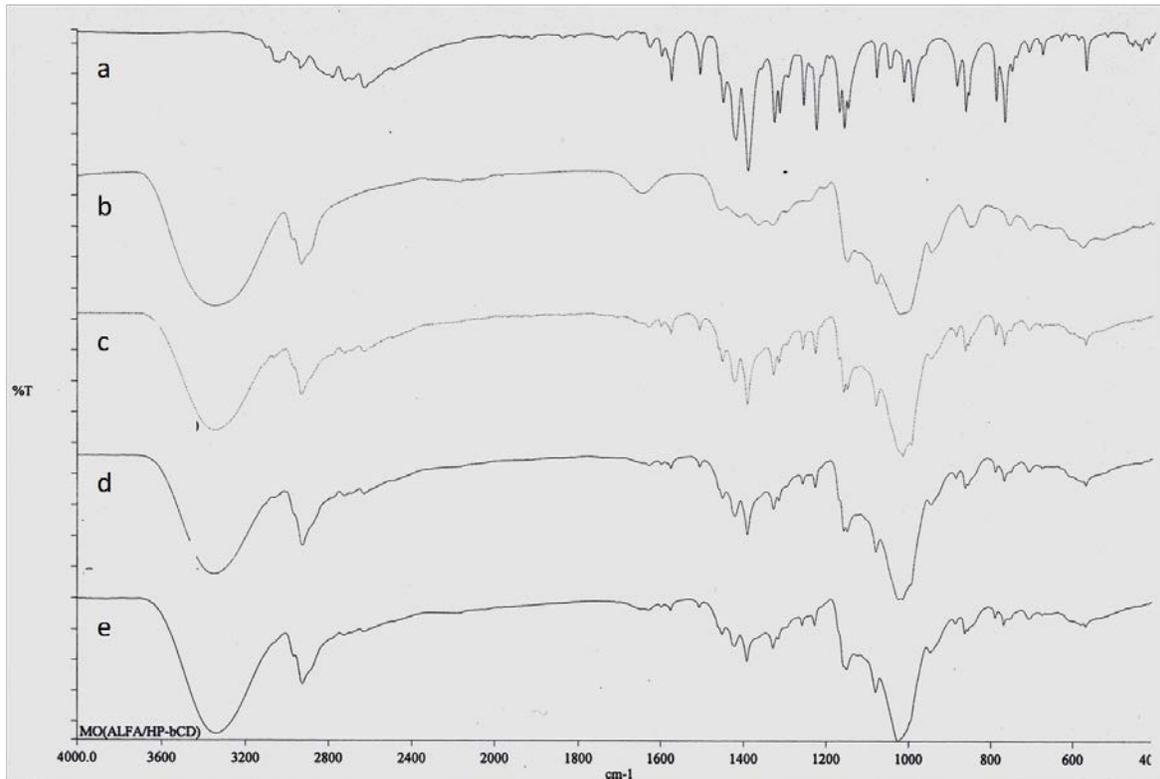


Figura 40. Espectro de IR para el sistema (Alfa/HP- β CD) donde: a) Alfa, b) MF, c) CE y d) MO.

7.2.3.6 DRXP para los sistemas binarios de Alfa por microondas.

En las Figuras 41 y 42 se presentan los PDRXP para los sistemas *Alfa*/ β CD y *Alfa*/HP- β CD respectivamente. Se observa el carácter cristalino de *Alfa* por los picos de difracción en el rango de 12-30°. En la MF del sistema *Alfa*/ β CD, se observa una superposición de los picos de difracción correspondientes a *Alfa* junto con los de la β CD. En el MO se presentan los picos de difracción correspondientes al compuesto *Alfa* ligeramente abatidos además se observa un patrón de difracción similar al de la β CD, lo cual permite sugerir que no sucedió un cambio en la fase sólida correspondiente a *Alfa*. La MF del sistema *Alfa*/HP- β CD muestra los picos de difracción correspondientes al compuesto *Alfa*. En el método de MO se aprecian los picos correspondientes al compuesto *Alfa* de una intensidad menor, lo cual permite sugerir un posible cambio de fase sólida en este sistema lo cual indica que es mejor que la β CD.

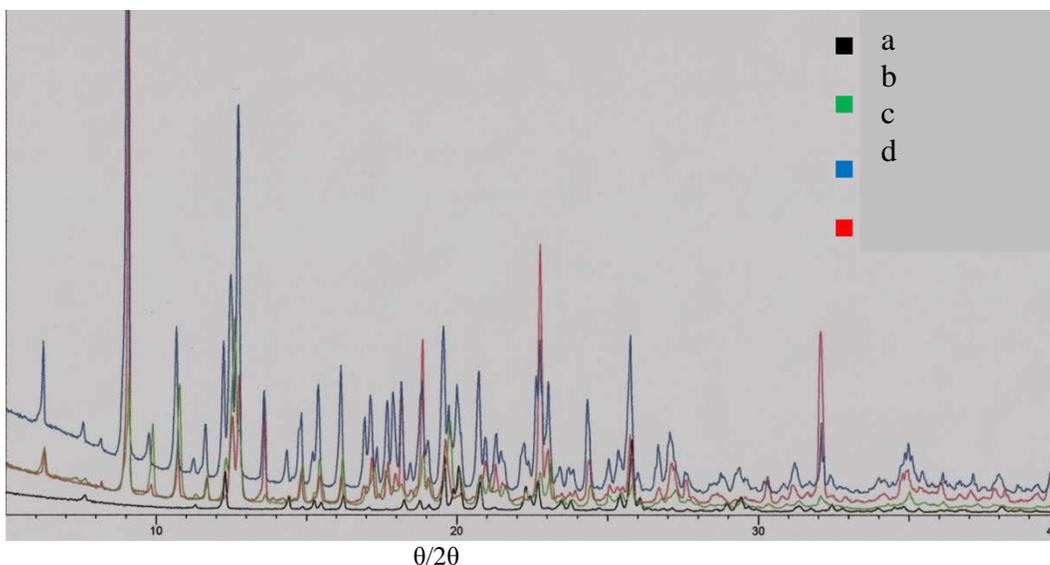


Figura 41. PDRXP del método de microondas para el sistema (Alfa/ β CD) donde: **a)** Alfa, **b)** β CD, **c)** MF y **d)** MO.

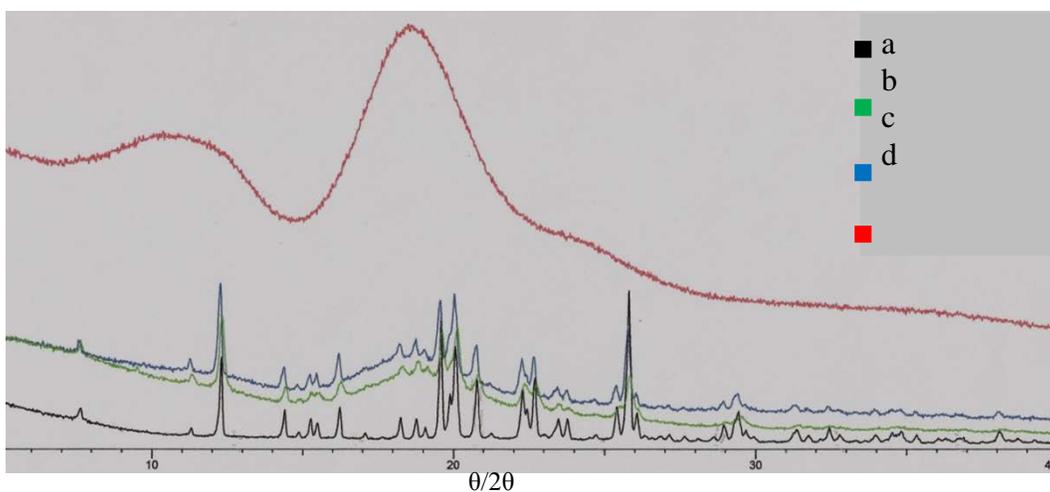


Figura 42. PDRXP del método de microondas para el sistema (Alfa/HP- β CD) donde: **a)** Alfa, **b)** HP- β CD, **c)** MF y **d)** MO.

7.2.3.7 DRXP para el sistema binario de Alfa/HP- β CD por co evaporación.

En la Figura 43 se presenta el patrón de difracción del método de CE para el sistema Alfa/HP- β CD, en él se observan los picos de difracción correspondientes al compuesto Alfa. De igual forma que en el método de MO, estos picos se ven ligeramente disminuidos con respecto al patrón del Alfa, lo anterior sugiere que el calentamiento por irradiación de

microondas o por calentamiento convencional provoca un ligero cambio en la fase sólida de éste sistema. Por lo tanto, ambos métodos son iguales.

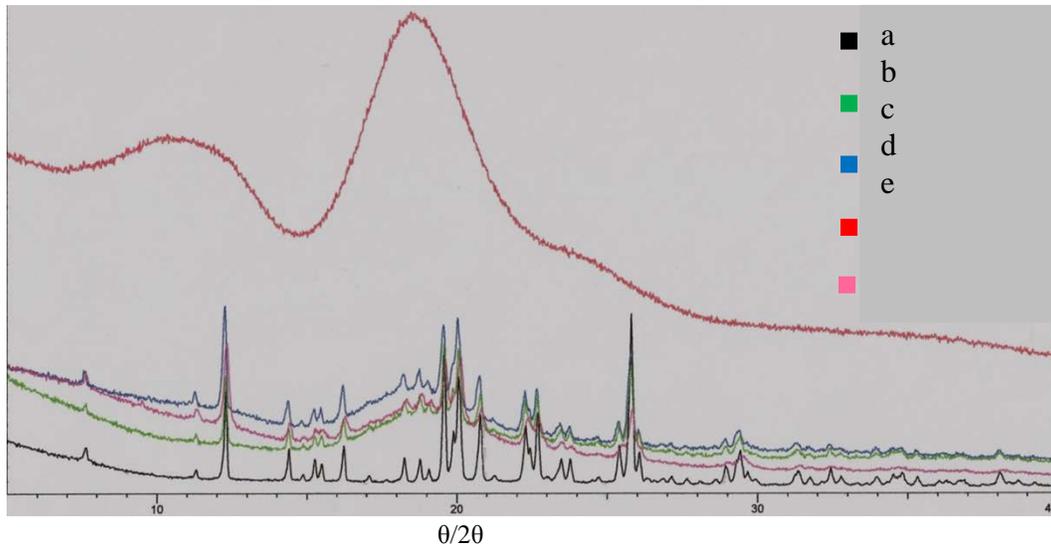


Figura 43. PDRXP del método de co.evaporación para el sistema (Alfa/HP- β CD) donde: **a)** Alfa, **b)** HP- β CD, **c)** MF, **d)** CE y **e)** MO.

7.2.4 Método analítico para cuantificar *Alfa*.

7.2.4.1 Curva de calibración para la cuantificación de *Alfa*.

En la Figura 44 se muestran los resultados de linealidad del método para cuantificar el compuesto *Alfa* empleando el método espectrofotométrico. En el intervalo de concentraciones de 0.3 a 25 $\mu\text{g/mL}$ el coeficiente de correlación fue de 0.999 y el porcentaje de error relativo de la regresión fue de 1.214%, el método es lineal en este rango.

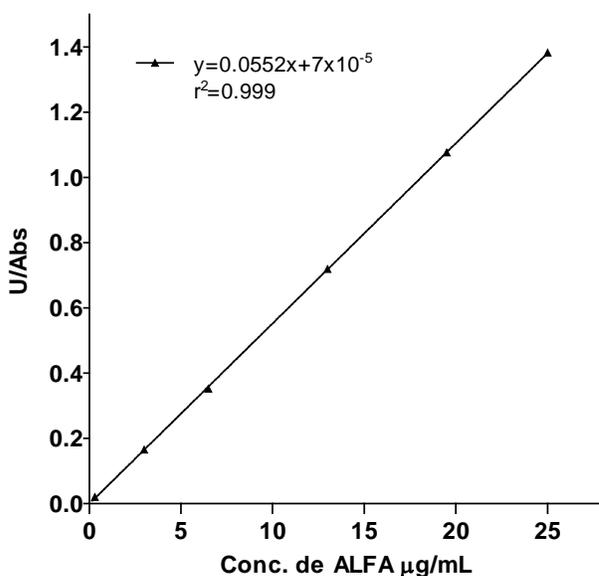


Figura 44. Linealidad del método analítico para la cuantificación de alfa. El Error Relativo de la Regresión fue de 1.214%. $n=3$.

Tabla 15. Método analítico para la cuantificación de alfa. DE: desviación estándar y CV: coeficiente de variación.

CONCENTRACIÓN TEÓRICA (µg/mL)	CONCENTRACIÓN RECUPERADA (µg/mL)
0.3	0.31
	0.31
	0.31
	<hr/> 0.31
Promedio	0.31
DE	0.00
CV (%)	0.006
3.0	3.03
	2.99
	3.01
	<hr/> 3.01
Promedio	3.01
DE	0.02
CV (%)	0.60
6.5	6.41
	6.37
	6.36
	<hr/> 6.36
Promedio	6.38
DE	0.03
CV (%)	0.43
13.0	12.96
	13.05
	13.05
	<hr/> 13.05
Promedio	13.02
DE	0.05
CV (%)	0.40
19.5	19.29
	19.69
	19.51
	<hr/> 19.51
Promedio	19.50
DE	0.20
CV (%)	1.02
25.0	25.24
	25.82
	25.81
	<hr/> 25.81
Promedio	25.62
DE	0.33
CV (%)	1.29

Los datos de precisión se presentan en la Tabla 15. En ella se puede observar que, el coeficiente de variación en cada nivel de concentración fue menor al 2% por lo tanto el método se consideró preciso.

7.2.5 Evaluación *in vitro* de los SBs de *Alfa*.

7.2.5.1 Perfil de disolución de los SBs de *Alfa* por microondas.

En las Figuras 45 y 46 se presentan los perfiles de disolución para los sistemas *Alfa*/βCD y *Alfa*/HP-βCD preparados mediante el método de MO y en la Tabla 16 se presentan los valores promedio de porcentaje disuelto en los Sistemas Binarios desarrollados.

El porcentaje disuelto del compuesto *Alfa* a los 20 minutos fue del 6%. Cuando se combinó con la βCD, el porcentaje disuelto aumenta ligeramente a 11%, sin embargo, cuando el sistema se somete a la radiación de microondas el porcentaje disuelto del fármaco aumentó a 32%. El cálculo de f_2 mostró que no existe similitud entre los perfiles de la MF y el de MO. Dado que la caracterización del estado Sólido no evidenció una inclusión, los resultados de disolución apoyan la conclusión de que el método de microondas sólo favorece una interacción parcial en este sistema.

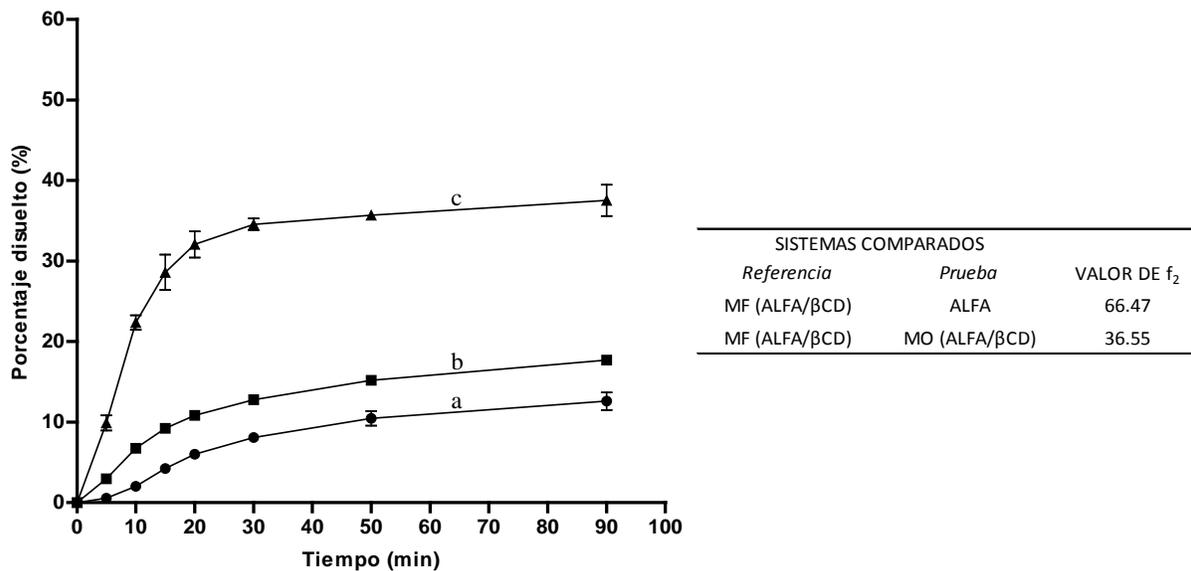


Figura 45. Perfil de disolución para el sistema (Alfa/βCD): a) Alfa, b) MF y c) MO. Se muestra el valor de f_2 calculado.

Para el sistema *Alfa*/HP-βCD se puede observar que a los 20 min el método de MO incrementa el porcentaje disuelto del compuesto *Alfa* a 40%. Ello demuestra que la radiación de microondas, favorece la disolución del fármaco.

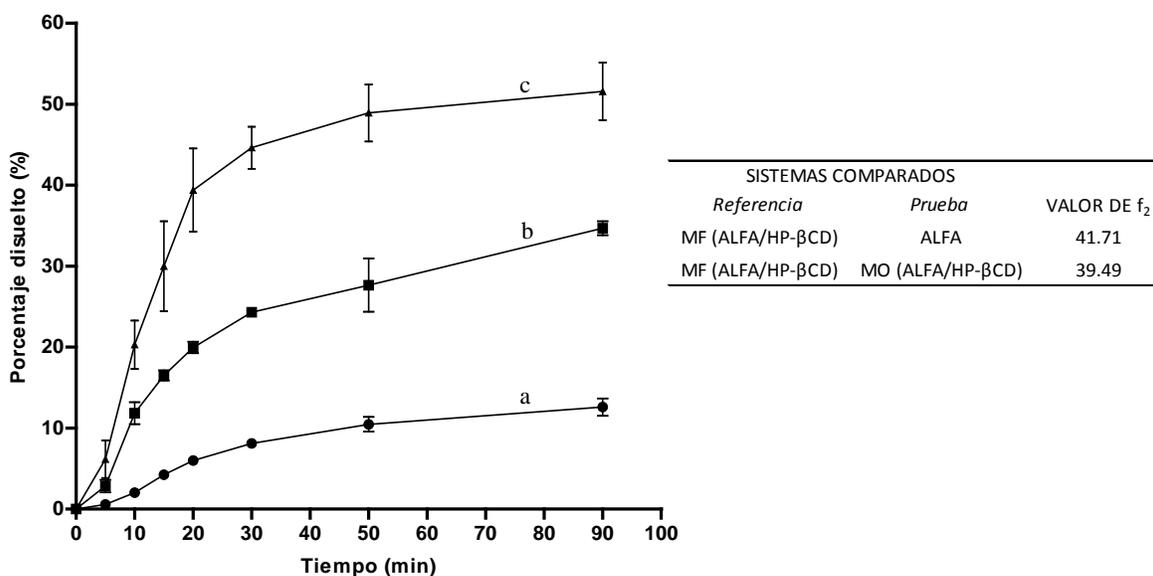


Figura 46. Perfil de disolución para el sistema (*Alfa*/HP-βCD) donde: **a)** *Alfa*, **b)** MF y **c)** MO. Se muestra el valor de f_2 calculado.

7.2.5.2 Perfil de disolución del método de co evaporación para el sistema *Alfa*/HP-βCD.

En la Figura 47 se presenta el perfil de disolución para el sistema *Alfa*/HP-βCD. Los resultados muestran que el método de CE mostró un porcentaje disuelto a los 15 min del 31%, mientras que con el método de MO fue de 32%. El valor de f_2 fue de 66 lo cual indica que existe similitud entre los perfiles de disolución. Este resultado sugiere que para el compuesto *Alfa*, al igual que para el albendazol, la interacción con las ciclodextrinas se favorece por la transmisión de energía al sistema en forma de calor y no de la forma en cómo este se transmite al sistema.

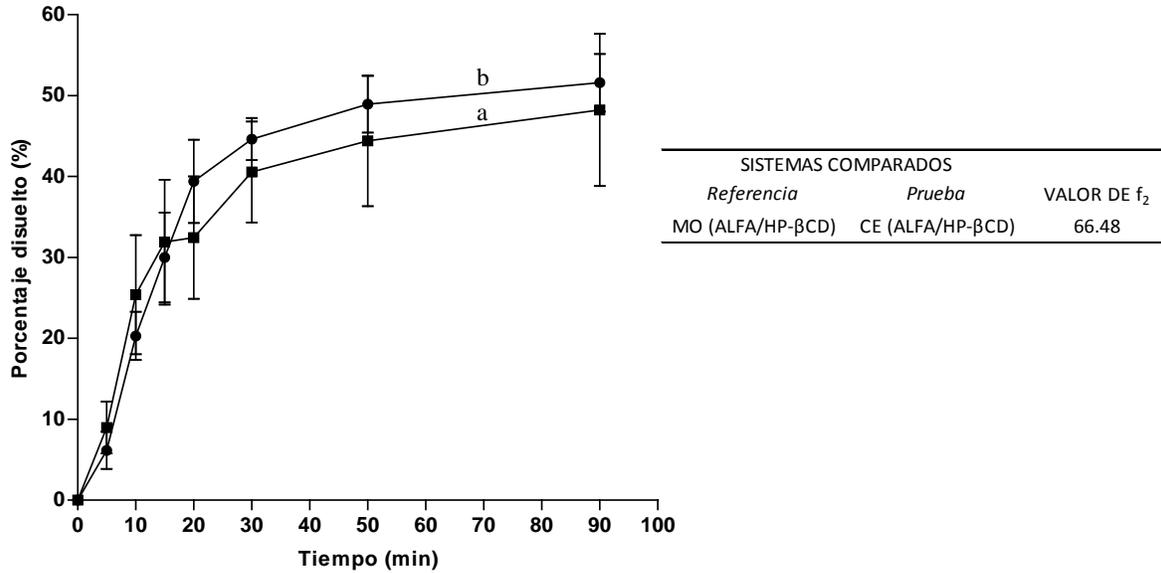


Figura 47. Perfil de disolución para el sistema (Alfa/HP-βCD) donde: **a)** MO y **b)** CE, Se muestran el valor de f_2 calculado.

Tabla 16. Porcentaje disuelto a los diferentes tiempos de muestreo de alfa en los Sistemas Binarios desarrollados, (promedio±desviación estándar, n=3).

Tiempo de muestreo	Porcentaje disuelto de fármaco					
	ALFA	MF (ALFA/βCD)	MF (ALFA/HP-βCD)	MO (ALFA/βCD)	MO (ALFA/HP-βCD)	CE (ALFA/HP-βCD)
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5	0.58±0.2	2.96±0.4	2.84±0.8	9.90±0.1	6.14±2.2	8.99±3.2
10	2.02±0.3	6.78±0.2	11.83±1.3	22.32±0.9	19.83±3.0	25.42±7.4
15	4.22±0.3	9.20±0.7	16.51±0.6	28.60±2.2	30.70±5.4	31.90±7.8
20	6.00±0.3	10.82±0.1	19.95±0.7	32.09±1.6	39.89±5.05	32.46±7.6
30	8.10±0.6	12.77±0.2	24.32±0.5	34.58±0.7	44.86±2.6	40.58±6.3
50	10.50±0.9	15.21±0.4	27.66±3.3	35.73±0.3	49.04±3.5	44.41±8.09
90	12.58±1.1	17.69±0.3	34.71±0.9	27.54±2.0	51.64±3.4	48.21±9.4

7.3 Uso del método de microondas y del método de co evaporación.

La cantidad de fármaco que puede interactuar con la CD, mediante un método empleado, se denomina Eficiencia de Complejamiento (Mohit, *et al*, 2010), dicho valor está en función del tiempo implicado en el proceso y el rendimiento obtenido de producto como Complejo de Inclusión.

La metodología para la preparación de los sistemas binarios empleando la técnica de microondas fue relativamente fácil, siendo el proceso de evaporación del disolvente el que requirió de un periodo mayor de tiempo. Con respecto al proceso de co evaporación (CE)

es el método de elección en la elaboración de Sistemas Binarios a nivel laboratorio (Hedges,1998). La metodología implicada en este proceso fue igualmente sencilla, sin embargo, requiere de mayor cantidad de reactivos ya que en el método de microondas (MO) el gasto de disolvente fue de tan sólo de 2.0 mL por muestra mientras que en el método de co evaporación fue de 80.0 mL. Con respecto al tiempo de transmisión de energía al sistema; el método MO requiere de tan sólo 2 min mientras que el método CE es de 48 h. Por lo tanto, contemplando el ahorro de energía y empleo de disolvente, el método de MO ofrece una mayor eficiencia con respecto al método de CE, factores importantes a considerar en los procesos industriales.

8 CONCLUSIONES

- 1) La radiación de microondas aumentó la solubilidad de albendazol y el compuesto *Alfa* en los sistemas binarios: albendazol/beta ciclodextrina, albendazol/hidroxi propil beta ciclodextrina, *Alfa*/beta ciclodextrina y *Alfa*/hidroxi propil beta ciclodextrina, atribuido a la modificación de la cristalinidad de los fármacos.
- 2) La irradiación con microondas favoreció considerablemente la interacción entre albendazol e hidroxi propil beta ciclodextrina, lo anterior sugiere la formación de un complejo de inclusión, lo cual se confirmó por calorimetría diferencial de barrido, espectroscopia de infrarrojo y difracción de rayos X de polvos, este sistema presentó un perfil de muy rápida disolución.
- 3) Los estudios de solubilidad de fases revelaron que la relación estequiométrica entre el compuesto Alfa y el albendazol con la beta ciclocedxtrina y la hidroxipropil beta ciclodextrina fue de 1:1.
- 4) El uso de microondas es una metodología viable en el desarrollo del Sistema Binario albendazol/hidroxipropil beta ciclodextrina que permite el ahorro de tiempo y reactivo en más del 90% para éste fármaco.

9 PERSPECTIVA

Se sugiere realizar el estudio de biodisponibilidad del sistema binario albendazol/hidroxi propil beta ciclodextrina desarrollado mediante la técnica de microondas para estudiar su viabilidad de empleo en el tratamiento sistémico.

10 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adam, D. (2003). Microwave chemistry: Out of the kitchen. *Nature*. 421, 571 – 572.

Ain, S., Philip, B., Pathak, K. (2008). Preformulative Assessment of Preformed Complexes of Gemfibrozil, with Cyclodextrins. *J Pharm Sci and Tech*. 62, 300-308.

Bilecka, I., Niederberger, M. (2010). Microwave chemistry for inorganic nanomaterials synthesis. *Nanoscale*. 2, 1358–1374.

Boldescu, V., Bratu, I., Borodi, G., Kacso, I., Bende, A., Duca, G., Macaev, F., Pogrebnoi, S., Ribkovskaia, Z. (2012) Study of binary systems of b-cyclodextrin with a highly potential anti-mycobacterial drug. *J Incl Phenom Macrocycl Chem*. 74, 129–135

Cabral-Marques, H., Hadgraft, J., Kellaway, I. (1990). Studies of cyclodextrin inclusion complexes. I. The salbutamol-cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC. *Int J Pharm*. 63, 259–266.

Carrier, R., Miller, L., Ahmed, I. (2007). The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability. *J Control Release*. 6; 78-99.

Castillo, J., Palomo-Canales, J., Garcia J., Lastres, L., Bolas, F., Torrado, J. (1999). Preparation and Characterization of Albendazole b-Cyclodextrin Complexes. *Drug Dev Ind Pharm*. 25, 1241–1248.

Castro, S., Sanchez Bruni S.F., Urbizu L.P., Confalonieri., Ceballos A.L., Lanusse C.E., Allemandi D.A, Palma S.D. (2013). Enhanced dissolution and systemic availability of albendazole formulated as solid dispersions. *Pharm Dev Technol*. 18, 434–442.

Castro, S., Sanchez, S., Lanusse, C., Allemandi, D., Palma, S. (2010). Improved Albendazole Dissolution Rate in Pluronic 188 Solid Dispersions. *AAPS PharmSciTech*. 11, 1518-1525.

Chirac, P., Torreele, E. (2006). Global framework on essential health R&D. *Lancet*. 367, 1560–1561.

Cirri, M., Maestrelli, F., Mennini, N., Mura, P. (2009). Influence of the preparation method on the physical–chemical properties of ketoprofen–cyclodextrin–phosphatidylcholine ternary systems. *J Pharm Biomed Anal.* 50, 690–694.

Cirri, M., Maestrelli F., Mennini, N., Mura, P. (2009). Physical–chemical characterization of binary and ternary systems of ketoprofen with cyclodextrins and phospholipids. *J Pharm Biomed Anal.* 50, 683–689

Cook, C. (1990). Use of Benzimidazole Chemotherapy in Human Helminthiases: Indication and Efficacy. *Parasitol Today.* 6, 134-136.

Corti, G., Capasso, G., Maestrelli, F., Cirri, M., Mura, P. (2007). Physical–chemical characterization of binary systems of metformin hydrochloride with triacetyl- β -cyclodextrin. *J Pharm Biomed Anal.* 45,480–486.

Crini, G., Morcellet, M. (2002). Synthesis and applications of adsorbents containing cyclodextrins. *J. Sep. Sci.* 25, 789–813.

Davis, E., Brewster, E. (2004). Cyclodextrin-Based pharmaceuticals: Past, present and future. *Nat Rev Drug Discov.* 4, 1023-1035.

Dayan, A.D. (2003). Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics. *Acta Tropica.* 86, 141-159.

Del Rivero, M. (1998). Farmacocinética del [Alfa]-BIOF10 en borregos. Tesis de Maestría, UNAM

Del Rivero, M., Jung, H., Castillo, R., Hernández-Campos, A. (1998). High-performance liquid chromatographic assay for a new fasciolicide agent, aBIOF10, in biological fluids. *J. Chromatogr. B.* 712, 237 –241.

Diaz, D., Bernad-Bernad, M.J., Gracia, M., Escobar, C. (1998). Complexation and Solubility Behavior of Albendazole with Some Cyclodextrins. *Pharm Dev Technol.* 3, 395-403.

- Ehteda, A., Galettis, P., Chu, S., Pillai, K., Morris, D. (2012). Complexation of albendazole with hydroxypropyl- β -cyclodextrin significantly improves its pharmacokinetic profile, cell cytotoxicity and antitumor efficacy in nude mice. *Anticancer Res.* 32, 3659-66.
- Evrarda, B., Chiap, P., De Tullio, P., Ghalmid, F., Piela, G., Van Heesa, T., Crommen, J., Losson, B., Delattre, L. (2002). Oral bioavailability in sheep of albendazole from a suspension and from a solution containing hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *J Control Release.* 85, 45-50.
- Flórez, J. (2003). *Farmacología humana*. 4.^a ed. Barcelona: Masson; p. 175-89.
- Frayha, G., Smyth, J.D., Gobert, G.J., Savel, J. (1997). The Mechanisms of Action of Antiprotozoal and Anthelmintic Drugs in Man. *Gen. Pharmac.* 28, 273-299.
- Frömming, K.H., Szejtli, J. (1994). *Cyclodextrins in Pharmacy*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- García, J.J., Bolás, F., Torrado, J.J. (2003). Bioavailability and efficacy characteristics of two different oral liquid formulations of albendazole. *Int J Pharm.* 250, 351-358.
- Giordano, F., Novak, C., Moyano, J.R. (2001). Thermal analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds. *Thermochim Acta.* 380, 123-151.
- Gould, S., Scott, R.C. (2005). 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): A toxicology review. *Food Chem Toxicol.* 43, 1451-1459.
- Han-Gon, C., Dae-Duk, K., Jun, H.W., Bong-Kyu, Y., Chul-Soon, Y. (2003). Improvement of Dissolution and Bioavailability of Nitrendipine by Inclusion in Hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Drug Dev Ind Pharm.* 29, 1085-1094.
- Hedges, A.R. (1998). Industrial Applications of Cyclodextrins. *Chem. Rev.* 98, 2035-2044.
- Hernández-Campos, A., Ibarra-Velarde, F., Vera-Montenegro, Y., Rivera-Fernández, N., Castillo, R. (2002). Synthesis and Fasciolicidal Activity of 5-Chloro-2-methylthio-6-(1-naphthyloxy)-1H-benzimidazole. *Chem. Pharm. Bull.* 50, 649-652.

- Higuchi, T., Connors, K. A. (1965). Phase-Solubility Techniques. *Adv Anal Chem Instrum.* 4, 117-112.
- Hirayama, F., Uekama, K. (1999). Cyclodextrin-based controlled drug release system. *Adv Drug Deliv Rev.* 36, 125–141.
- Hörter, D., Dressman, J.B. (2001). Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Adv Drug Deliv Rev.* 46, 75 –87.
- Hotez, P.J., Brindley, P.J., Bethony, J.M., King, Ch.H., Pearce, E.J., Jacobson, J. (2008). Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *J. Clin. Invest.* 118, 1311–1321.
- Ibarra, F.V., Vera, Y.M., Hernandez-Campos, A., Castillo, R.B. (1997). Eficacia Fasciolicida del compuesto “Alfa” contra estadios juveniles y adultos en ovinos. *Vet Méx.* 28, 297-301.
- Ibrahim, M.A., Al-Anazi, F.K. (2013). Enhancement of the dissolution of albendazole from pellets using MTR technique. *Saudi Pharmaceutical Journal.* 21, 215–223.
- ICH Topic Q3C (R4) (2009). Impurities: Guideline for Residual Solvents.
- Jinu, I., Santanu, K., Swastika, G., Animesh, G. (2012). Microwave-induced solid dispersion technology to improve bioavailability of glipizide. *J Pharm Pharmacol.* 65, 219–229.
- Juaristi, E. (2009). Aplicaciones de microondas en química y en biología. Colegio Nacional, México pp. 152.
- Jung, H., Medina, L., García, L., Fuentes, I., Moreno-Esparza, R. (1998). Absorption Studies of Albendazole and Some Physicochemical Properties of the Drug and Its Metabolite Albendazole Sulphoxide. *J. Pharm. Pharmacol.* 50, 43-48.
- Kawabata, Y., Wada, K., Nakatani, M., Yamada, S., Onoue, S. (2011). Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. *Int J Pharm.* 420, 1-10.

- Koradia, D.K., Parikh, H.R. (2012). Dissolution enhancement of albendazole through nanocrystal formulation. *J Pharm Bioallied Sci.* 4, S62-S63.
- Laza-Knoerr, A.L., Gref, R., Couvreur, P. (2010). Cyclodextrins for drug delivery. *J Drug Target.* 18, 645–656.
- Liu, X., Lin, H., Thenmozhiyal, J.C., Yung, S.C., Ho, P.C. (2003). Inclusion of Acitretin into Cyclodextrins: Phase Solubility, Photostability, and Physicochemical Characterization. *J Pharm Sci.* 92, 2449–2457.
- Liversidge, G.G., Cundy, K.C. (1995). Particle size reduction for improvement of oral bioavailability of hydrophobic drugs: I. Absolute oral bioavailability of nanocrystalline danazol in beagle dogs. *Int J Pharm.* 125, 91-97.
- Loftsson, T., Brewster, M. (2012). Cyclodextrins as Functional Excipients: Methods to Enhance Complexation Efficiency. *J Pharm Sci.* 101, 3019–3032.
- Lustigman, S., Prichard, R.K., Gazzinelli, A., Grant, W.N., Boatman, B.A., McCarthy, J.S., Basáñez, M.G. (2012). A Research Agenda for Helminth Diseases of Humans: The Problem of Helminthiasis. *PLoS Negl Trop Dis.* 6, 1582-1595.
- Manca, M.L., Zaru, M., Ennas, G., Valenti, D., Sinico, C., Loy, G., Fadda, A.M. (2005). Diclofenac- β -Cyclodextrin Binary Systems: Physicochemical Characterization and In Vitro Dissolution and Diffusion Studies. *AAPS PharmSciTech.* 6, E464-E472.
- Martin, R.J. (1997). Modes of Action of Anthelmintic Drugs. *Vet J.* 154, 11-34.
- Massaiti, T. O. (2004). Therapy for neurocysticercosis. *Expert Rev Neurotherapeutics.* 4, 129-139.
- Maurya, D., Belgamwar, V., Tekade, A. (2010). Microwave induced solubility enhancement of poorly water soluble atorvastatin calcium. *J Pharm Pharmacol.* 62, 1599–1606.
- Mehta, PN, (2013). Drugs for intestinal helminths, *Pediatric Infectious Disease*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pid.2013.03.004>

- Merino, G., Molina, A.J., García, J.L., Pulido, M.M., Prieto, J.G., Álvarez, A.I. (2003). Intestinal elimination of albendazole sulfoxide: pharmacokinetic effects of inhibitors. *Int. J. Pharm.* 263, 123–132.
- Merisko-Liversidge, E., Liversidge, G.G., Cooper, E.R. (2003). Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds. *Eur J Pharm Sci.* 18, 113–120.
- Messner, M., Kurkov, S.V., Jansook, P., Loftsson, T. (2010). Self-assembled cyclodextrin aggregates and nanoparticles. *Int J Pharm.* 387, 199–208.
- Messner, M., Kurkova, S.V., Maraver, M.P., Álvarez, B.F., Brewster, M.E., Loftsson, T. (2001). Self-assembly of cyclodextrin complexes: Effect of temperature, agitation and media composition on aggregation. *Int J Pharm.* 419, 322– 328.
- Mohit, V., Harshal, G., Neha, D., Vilasrao, K., Rajashree, H. (2010). Effect of preparation method on complexation of Cefdinir with b-cyclodextrin. *J Incl Phenom Chem.* 67, 39-47.
- Molina, A.J., Merino, G., Prieto, J.G., Real, R., Mendoza, G., Alvarez, A.I. (2007). Absorption and metabolism of albendazole after intestinal ischemia/reperfusion. *Eur J Pharm Sci.* 31, 17-34.
- Moneghini, M., Bellich, B., Baxa, P., Princivalle, F. (2008). Microwave generated solid dispersions containing Ibuprofen. *Int J Pharm.* 361 (2008) 125–130.
- Montoya, N.Y.A. (2011). Ascaris en población menor de 15 años de edad en México 1990-2010 . Del 27 de marzo al 2 de abril de 2011. Boletín epidemiológico. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Secretaria de Salud México. 13 (28), 1-3.
- Moriwaki, C., Costa, G L., Ferracini, C N., Moraes, F.F, Zanin, G M., Pineda, EA G., Matioli, G. (2008). Enhancement of solubility of albendazole by complexation with b-cyclodextrin. *Braz J Chem Eng.* 25, 255 – 267.
- Mudie, D.M., Amidon, G.L., Amidon, G.E. (2010). Physiological Parameters for Oral Delivery and In vitro Testing. *Mol Pharm.* 7,1388–1405.

Mura, P., Maestrelli, F. Cirri, M., Furlanetto, S., Pinzauti, S. (2003). Differential scanning calorimetry as an analytical tool in the study of drug. Cyclodextrin interactions. *J Therm Anal Calorim.* 73, 635-646.

Nacsa, Á., Ambrus, R., Berkesi, O., Szabó-Révész, P., Aigner, Z. (2008). Water-soluble loratadine inclusion complex: Analytical control of the preparation by microwave irradiation. *J Pharm Biomed Anal.* 48, 1020–1023.

Nisharani, S.R., Nilesh, S.K., Parth, D.M., Arati, N.R. (2010). Improvement of water solubility and in vitro dissolution rate of aceclofenac by complexation with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Pharm Dev Technol.* 15, 64–70.

NOM-021-SSA2-1994, Para la prevención y control del binomio teniosis/cisticercosis en el primer nivel de atención médica.

Palomares-Alonso, F., Rivas, C.G., Bernad-Bernad, M.J, Castillo, M.D.M., Palencia, G.H., González-Hernández, I., Castro-Torres, N., Pinzón, E.E., Jung-Cook, H. (2010). Two novel ternary Albendazole–cyclodextrin–polymer systems: Dissolution, bioavailability and efficacy against *Taenia crassiceps* cysts. *Acta Trop.* 113, 56–60.

Ranpise, N.S., Kulkarni, N.S., Mair, P.D., Ranade, A.N. (2010). Improvement of water solubility and in vitro dissolution rate of aceclofenac by complexation with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Pharm Dev Technol.* 15, 64–70.

Rigter, I.M., Schipper, H.G., Koopmans, R.P., M. van Kan, H.J., Frijlink, H.W., Kager, P.A., Guchelaar, H.J. (2004). Relative Bioavailability of Three Newly Developed Albendazole Formulations: a Randomized Crossover Study with Healthy Volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48, 1051–1054.

Roden, D.M., George Jr, A.L. (2002). The genetic basis of variability in drug responses. *Nat Rev Drug Discov.* 1, 37-44.

Savjani, K.T., Gajjar, A.K., Savjani, J.K. (2012). Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. *ISRN Pharm.* 2012:195727. doi: 10.5402/2012/195727.

- Shah, A.K., Agnihotri, S.A. (2011). Recent advances and novel strategies in pre-clinical formulation development: An overview. *J Control Release*. 156, 281–296.
- Shen, Y., Sheng-hua, Y., Long-min, W., Xue-yi, M. (2005). Study on structure and characterization of inclusion complex of gossypol/beta cyclodextrin. *Spectrochim Acta A*. 61, 1025–1028.
- Stella, V.J., He, Q. (2008). Cyclodextrins. *Toxicol Pathol*. 36, 30-42.
- Szejtli, J. (1998). Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chem. Rev*. 98, 1743-1753.
- Torrado, S., López, M.L., Torrado, G., Bolás, F., Torrado, S., Cadórniga, R. (1997). A novel formulation of albendazole solution: oral bioavailability and efficacy evaluation. *Int J Pharm*. 156, 181–187
- Uekama, K., Hirayama, F., Irie, T. (1998). Cyclodextrin Drug Carrier Systems. *Chem. Rev*. 98, 2045-2076.
- Vértiz, S.G. (2000). Evaluación farmacocinética de [Alfa]-BIOF10 en ganado vacuno, Tesis de Maestría, UNAM.
- Wen, H., New, R.R., Muhmut, M., Wang, J.H., Wang, Y.H., Zhang, J.H, Shao, Y.M, Craig, P.S. (1996). Pharmacology and efficacy of liposome-entrapped albendazole in experimental secondary alveolar echinococcosis and effect of co-administration with cimetidine. *Parasitology*. 113, 111-121.
- Wen, X., Tan, F., Jing, Z., Liu, Z. (2004). Preparation and study the 1:2 inclusion complex of carvedilol with β -cyclodextrin. *J Pharm Biomed Anal*. 34,517–523.
- WHO. (2010). First WHO report on neglected tropical diseases, Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. ISBN 978 92 4 1564090. NLM Classification: WC 680.

WHO. (2011). Global Health Observatory map gallery. Geneva: World Health Organization, Disponible: <http://gamapserver.who.int/mapLibrary/>. Temas: neglected tropical diseases.

Zhao, D., Liao, K., Ma, X., Yan, X. (2002). Study of the Supramolecular Inclusion of β -Cyclodextrin with Andrographolide. *J Incl Phenom Macrocycl Chem.* 43, 259–264.