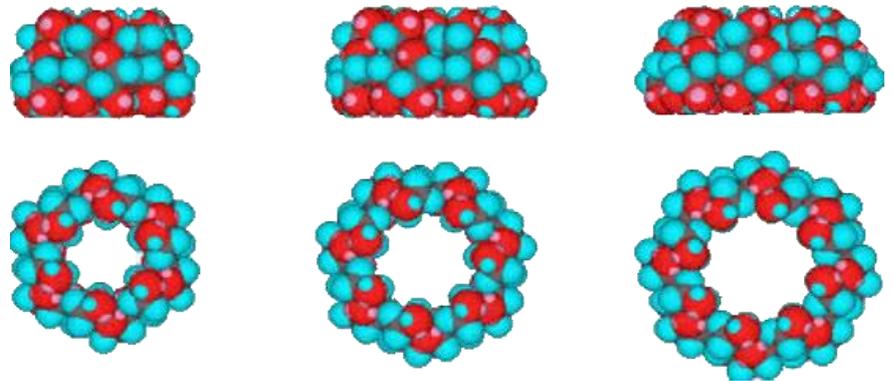


UNIVERSIDAD DE SEVILLA



Trabajo Fin de Grado

UTILIDAD DE LAS CICLODEXTRINAS Y DERIVADOS EN EL CAMPO FARMACÉUTICO



ALFONSO MANUEL PINEDA REY

FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y
TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

TRABAJO FIN DE GRADO DEL GRADO EN FARMACIA. PROMOCIÓN 2012/2017

TÍTULO: UTILIDAD DE LAS CICLODEXTRINAS Y DERIVADOS EN EL CAMPO
FARMACÉUTICO

TRABAJO DE REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

ALFONSO MANUEL PINEDA REY

DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

TUTELADO POR EL DOCTOR: JUAN MANUEL GINÉS DORADO

Lugar de presentación: aula 2.3

Fecha de presentación: 6 de Julio de 2017

RESUMEN

El presente trabajo de fin de grado se centra en el estudio de las ciclodextrinas, oligosacáridos cíclicos constituidos por unidades de glucosa unidas por enlaces α -(1,4), con estructura toroidal, capaces de formar complejos de inclusión.

La industria farmacéutica utiliza tanto las ciclodextrinas naturales como sus diferentes derivados como recurso tecnológico para la mejora de la solubilidad y velocidad de disolución de fármacos poco solubles, aumentando así su biodisponibilidad oral. En el presente trabajo se recogen los requisitos necesarios y los diferentes métodos existentes para obtención de dichos complejos. Además, se describen las distintas aplicaciones que ofrecen estos excipientes en el campo farmacéutico según la vía de administración.

La última parte del trabajo se centra en evaluar la producción científica en este tema en los últimos 20 años, tratando de identificar los medicamentos que se han comercializado utilizando ciclodextrinas en su formulación, tanto a nivel de la agencia española de medicamentos y productos sanitarios (AEMPS) como a nivel mundial. Sin embargo, a pesar de sus propiedades solubilizantes y del resto de ventajas que como excipiente puede aportar su utilización en una formulación, respaldada por las numerosas publicaciones al respecto, hay muy pocos medicamentos que han sido comercializados. También es frecuente encontrarnos medicamentos que fueron comercializados en su día y que posteriormente han sido retirados del mercado. A nuestro juicio, han sido factores farmacoeconómicos los responsables de esta situación ya que, aunque se trate de excipientes capaces de mejorar algunas propiedades biofarmacéuticas siguen siendo un grupo de excipientes excesivamente caros. Sólo cuando otras alternativas no funcionan, se recurre a ellos para solucionar la problemática en cuestión.

PALABRAS CLAVE: complejo de inclusión, ciclodextrina, solubilidad, constante de complejación y biodisponibilidad.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	4
2	OBJETIVOS DE LA REVISIÓN	6
3	METODOLOGÍA	6
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	7
4.1	CICLODEXTRINAS	7
4.1.1	<i>HISTORIA Y CONCEPTO</i>	7
4.1.2	<i>OBTENCIÓN</i>	8
4.1.3	<i>ESTRUCTURA QUÍMICA</i>	8
4.1.4	<i>METABOLISMO Y TOXICIDAD DE LAS CICLODEXTRINAS</i>	10
4.1.5	<i>DERIVADOS DE CICLODEXTRINAS</i>	11
4.1.5.1	Metilciclodextrinas.....	11
4.1.5.2	Hidroxipropilciclodextrinas	12
4.1.5.3	Hidroxietilciclodextrinas.....	13
4.1.5.4	Etilciclodextrinas	13
4.1.5.5	Sulfoalquil éter- β -ciclodextrinas.....	13
4.1.5.6	Otros derivados	13
4.2	COMPLEJOS DE INCLUSIÓN	13
4.2.1	<i>REQUERIMIENTOS PARA LA FORMACIÓN DE COMPUESTOS DE INCLUSIÓN</i> . 14	
4.2.1.1	Compatibilidad geométrica	14
4.2.1.2	Polaridad y carga.....	15
4.2.1.3	Medio	15
4.2.2	<i>DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE COMPLEJACIÓN Y EFICACIA SOLUBILIZANTE</i>	16
4.3	MÉTODOS DE ELABORACIÓN DE COMPUESTOS DE INCLUSIÓN	19
4.3.1	<i>PREPARACIÓN DE COMPLEJOS EN MEDIO LÍQUIDO</i>	19
4.3.1.1	Coprecipitación.....	20
4.3.1.2	Neutralización.....	20
4.3.1.3	Atomización (spray-drying).....	21
4.3.2	<i>PREPARACIÓN DE COMPLEJOS EN MEDIO SÓLIDO</i>	21
4.3.2.1	Amasado.....	21
4.3.2.2	Trituración (co-grinding)	21
4.3.2.3	Fusión	22
4.3.2.4	Calentamiento en contenedor sellado	22
4.3.2.5	Método de compactación.....	22
4.3.3	<i>PREPARACIÓN DE COMPLEJOS EN MEDIO GASEOSO</i>	22
4.4	APLICACIONES EN EL CAMPO FARMACÉUTICO	23
4.4.1	<i>PREFORMULACIÓN</i>	23
4.4.2	<i>AUMENTO DE LA SOLUBILIDAD Y VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN</i>	23
4.4.3	<i>MEJORA DE LA BIODISPONIBILIDAD</i>	24
4.4.3.1	Administración oral.....	24
4.4.3.2	Administración rectal.....	26
4.4.3.3	Administración tópica	26
4.4.3.4	Administración ocular	26
4.4.3.5	Administración parenteral	26

4.4.4	<i>MEJORA DE LA ESTABILIDAD FÍSICA Y QUÍMICA</i>	27
4.4.4.1	Reducción de la toxicidad	28
4.4.4.2	Liberación sostenida	28
5	PRODUCCIÓN CIENTÍFICA EN EL CAMPO DE LAS CICLODEXTRINAS: ESTUDIO DE LOS MEDICAMENTOS COMERCIALIZADOS EN ESPAÑA	29
6	CONCLUSIONES	35
7	BIBLIOGRAFÍA	36

1 INTRODUCCIÓN

Para que los fármacos ejerzan su acción terapéutica, es necesario que sufran una serie de procesos consecutivos, que constituyen el proceso LADME- liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción- con el fin de alcanzar su biodisponibilidad en la biofase (Blass, 2015).

Entre los factores que influyen sobre la biodisponibilidad de los principios activos se pueden citar en primer lugar los fisiopatológicos, los cuales dependen, en su mayor parte, del individuo o sustrato biológico, escapando así a la acción directa del farmacéutico (Hambidge, 2010). Pero, por el contrario, existen otros factores dependientes del propio medicamento, de su forma farmacéutica y del proceso tecnológico de elaboración, que influyen casi siempre de forma más directa e importante que los anteriores en la biodisponibilidad medicamentosa.

Las propiedades fisicoquímicas de los fármacos en estado sólido presentan un gran interés, ya que pueden condicionar su biodisponibilidad. Esto será particularmente determinante cuando se trate de principios activos poco solubles, en cuyo caso el proceso de disolución se constituirá en factor limitante de su absorción. Recordemos que en el proceso de incorporación de un principio activo a la circulación sistémica pueden distinguirse dos etapas claramente definidas, que se reflejan en la figura 1.

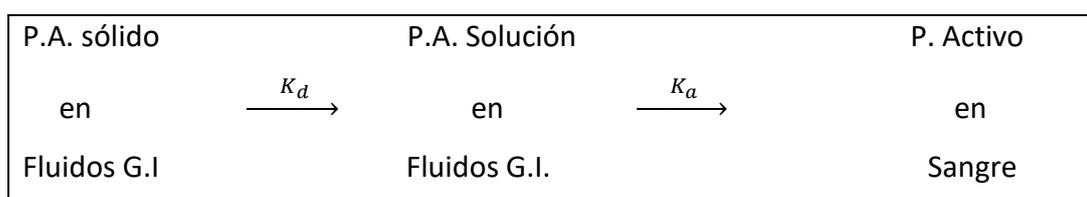


Figura 1. Esquema secuencial del proceso de absorción de un fármaco a partir de una forma sólida de dosificación (Sripanidkulchai et al., 2013).

donde:

k_d = constante de velocidad del proceso de disolución

k_a = constante de velocidad del proceso de absorción

Si $k_d \ll k_a$, el proceso de disolución del fármaco en los fluidos orgánicos es mucho más lento que el propio paso de las moléculas a través de las membranas absorbentes y, por tanto, la cinética de absorción quedará limitada en realidad por la disolución del fármaco.

Existen diferentes estrategias para lograr una mejora en la solubilidad y velocidad de disolución de fármacos poco solubles entre las que destacan la formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas. En este caso, hay que tener en cuenta que el excipiente elegido, es decir la ciclodextrina, ejerce un papel activo no sólo en el proceso de solubilización, sino también en el de absorción, ya que el complejo formado, por su elevado tamaño molecular, no puede ser absorbido. En este es necesario caracterizar el proceso de complejación y determinar las constantes que rigen dicho equilibrio. En la figura 2 se esquematiza el proceso del paso a circulación sistémica de un fármaco administrado en forma de complejo de inclusión con ciclodextrinas.

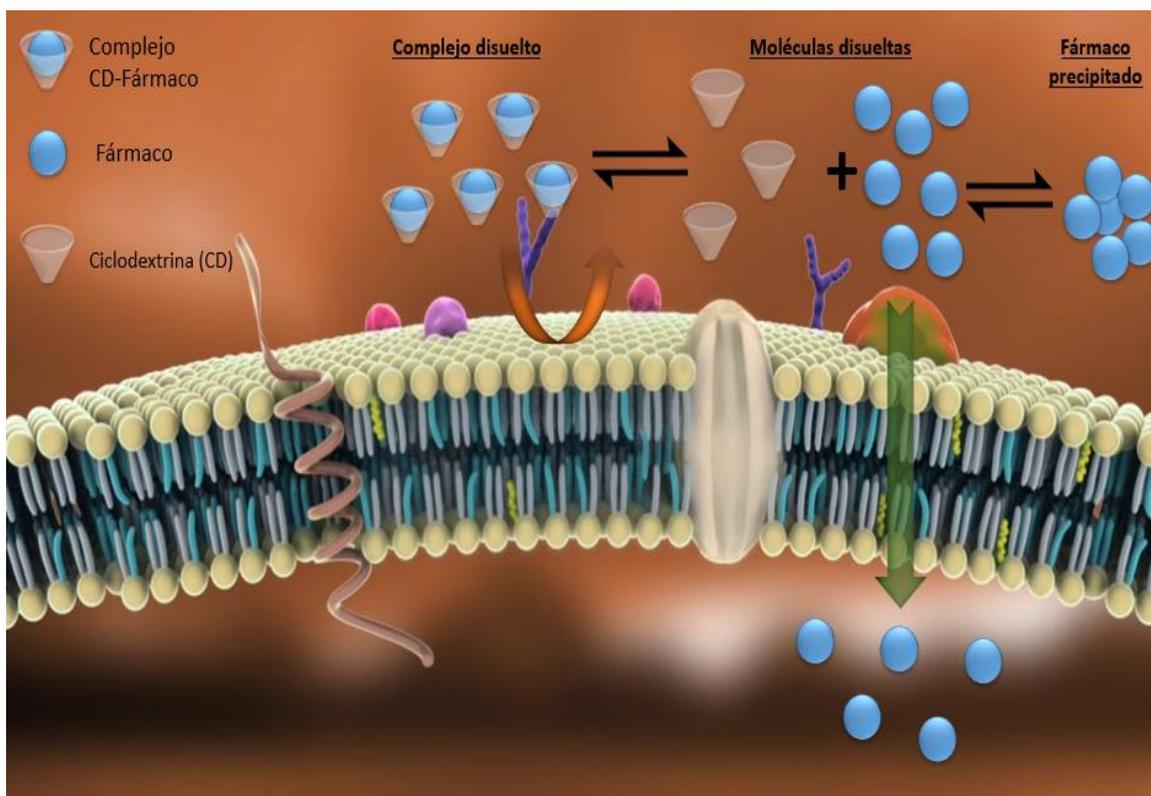


Figura 2. Representación esquemática del proceso disolución-disociación-absorción de un compuesto de inclusión fármaco-ciclodextrina en el tracto gastrointestinal.

2 OBJETIVOS DE LA REVISIÓN

El objetivo de este trabajo es doble. En primer lugar, realizar una revisión bibliográfica sobre las ciclodextrinas, y su utilidad en la industria farmacéutica a la hora de la formulación de medicamentos, centrándonos en los diferentes métodos de obtención de los complejos de inclusión. En segundo lugar, pretendemos identificar los medicamentos comercializados en España que contiene en su formulación ciclodextrinas e intentaremos justificar su utilización.

3 METODOLOGÍA

Para lograr el primer objetivo, se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica cuya finalidad es resumir los resultados de los estudios existentes en la literatura científica sobre las ciclodextrinas y su aplicación a la industria farmacéutica.

El proceso de documentación de este trabajo fin de grado se ha realizado en varias etapas. En primer lugar, realizamos una búsqueda que nos permitió una primera aproximación al tema objeto de nuestro estudio centrándonos en los trabajos de revisión anteriormente publicados y que nos permitió definir las palabras clave para una segunda búsqueda más específica. Como palabras clave se eligieron en inglés las siguientes palabras: ciclodextrins, inclusion complex, solubility y complexation constant para la búsqueda. Por último, se realizó una tercera búsqueda más exhaustiva, para localizar o intentar localizar la bibliografía citada en los artículos seleccionados que consideramos de especial interés.

Las búsquedas se realizaron en las siguientes bases de datos: PubMed, Science Direct, NIH.gov y Scielo L en la librería electrónica: PubMed, y la base de datos ScienceDirect a partir del 18 de febrero de 2017 e incluye artículos de revistas, libros y obras de consulta. Una vez finalizada la búsqueda bibliográfica e identificados los artículos más relevantes para el tema de la revisión, se procedió a una selección de los mismos para incluirlos en la bibliografía de este trabajo fin de grado.

Para lograr el segundo objetivo, identificar los medicamentos comercializados en España que contienen ciclodextrinas es su formulación se ha consultado la página web de la

AEMPS. Primeramente, utilizo el filtro de Google poniendo site: aemps ciclodextrina y de esta manera aparecen los medicamentos que contienen ciclodextrinas en España. Finalmente he realizado una búsqueda bibliográfica a través de Google más amplia para identificar posibles medicamentos comercializados a nivel mundial.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CICLODEXTRINAS

4.1.1 HISTORIA Y CONCEPTO

El primer trabajo sobre el aislamiento de un producto reconocible como ciclodextrina fue realizado en 1891 por Villiers. Aisló una pequeña cantidad de sustancia cristalina de un medio de cultivo de *Bacillus amylobacter*, el cual contenía almidón. Este compuesto fue denominado "celulosina", debido a su semejanza con la celulosa (Crini, 2014). El siguiente avance en la química de las ciclodextrinas fue realizado por Schardinger entre 1903 y 1911 (Schardinger, 1911).

Schardinger fue el primero en aislar el bacilo productor del enzima responsable de la transformación del almidón en ciclodextrina; se trataba del *Bacillus macerans* (Szejtli, 1998). Este investigador caracterizó la mencionada sustancia cristalina como una mezcla de dos oligosacáridos cíclicos, a los cuales denominó dextrina cristalina α y dextrina cristalina β . Por otra parte, publicó la primera descripción detallada para la preparación y aislamiento de estos oligosacáridos cíclicos. Por ello, las ciclodextrinas también son conocidas como dextrinas de Schardinger, cicloamilosas o cicloglucanos (Loftsson y Duchêne, 2007). Más tarde, Pringsheim descubre el poder complejante de estas sustancias, es decir, su aptitud para formar compuestos de inclusión con diversas moléculas, a las cuales modificaba sus características de solubilidad, velocidad de disolución, estabilidad, etc. (Duchêne et al., 1987).

Actualmente, los trabajos recaen sobre la segunda generación de ciclodextrinas, con especial atención en su producción industrial y en la utilización de ciclodextrinas químicamente modificadas, donde la gran variedad de derivados existentes abre numerosas posibilidades (Duchêne, 2011).

Las ciclodextrinas se pueden definir como oligosacáridos cíclicos constituidos por un número variable de unidades de glucosa unidas por enlaces α -(1,4). La característica estructural más importante de estos compuestos es su conformación toroidal o de "donut", que delimita una cavidad interior relativamente apolar, siendo su exterior de naturaleza hidrofílica. Gracias a dicha conformación, estas moléculas son capaces de formar compuestos de inclusión con muchos otros productos, tanto en medio líquido como en estado sólido (Davis y Brewster, 2004).

En los últimos años, las ciclodextrinas han acaparado un considerable interés dentro del campo farmacéutico, debido a su capacidad para formar compuestos de inclusión con fármacos de muy diferentes estructuras. Tales inclusiones o "encapsulaciones moleculares" pueden ser utilizadas en la formulación farmacéutica para mejorar, por ejemplo, la solubilidad acuosa, la estabilidad química o la biodisponibilidad de un principio activo (Wade y Weller, 1994).

4.1.2 OBTENCIÓN

Las ciclodextrinas son producidas por la acción del enzima *ciclodextrina glicosiltransferasa* en un medio rico en almidón. Debido a la estructura helicoidal de las moléculas de almidón, el producto primario de la rotura del mismo por la acción de la enzima experimenta una reacción intramolecular, que da lugar a productos cíclicos por medio de enlaces α -(1,4) (Dodziuk, 2006).

Las ciclodextrinas se nombran por medio de letras griegas para denotar el número de unidades de D-glucosa que contienen: α , β y γ para las de 6, 7 y 8 unidades respectivamente y así sucesivamente para ciclodextrinas superiores. Pueden existir homólogos de 9 o más unidades, pero presentan dificultades para ser purificados y, además, su capacidad de complejación es pobre. Por otra parte, no pueden formarse ciclodextrinas de menos de 6 unidades debido a impedimentos estéricos (Larsen, 2002).

4.1.3 ESTRUCTURA QUÍMICA

Como se ha comentado, las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos constituidos por un número variable de unidades de glucosa unidas por enlaces α -(1,4). Como consecuencia

de la conformación del C₁ de las unidades de α-D-glucopiranososa y la ausencia de libre rotación de los enlaces glucosídicos, estas moléculas no son totalmente cilíndricas, sino que presentan una conformación troncocónica como podemos ver en la figura 3 (Szejtli, 1996).

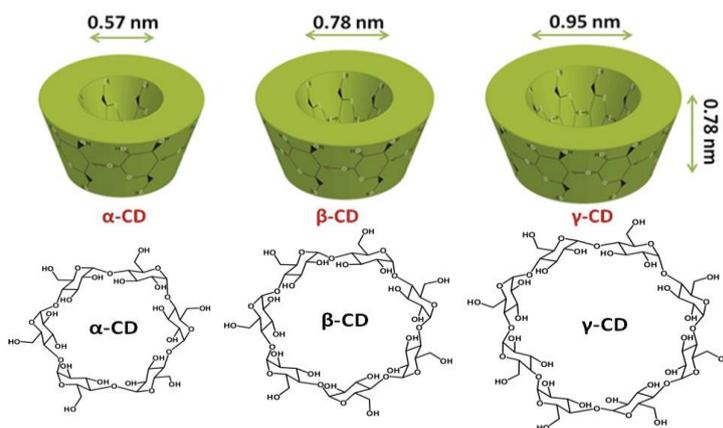


Figura 3. Estructura química y forma de los distintos tipos de ciclodextrinas.

(<https://scientiablog.com/2014/10/21/la-arqueobacteria-que-convirtio-una-patata-en-el-perfume-mas-innovador-del-mundo/>)

Por otra parte, los grupos hidroxilos secundarios (que se encuentran en los átomos C₂ y C₃ de las unidades de glucosa) están situados en un polo del anillo y todos los hidroxilos primarios en el otro. Esta particular ordenación determina que el exterior sea altamente hidrofílico (Loftsson et al., 2002).

El lado donde se encuentran situados los hidroxilos secundarios es más ancho que el de los hidroxilos primarios. La libre rotación de estos últimos, no rodeados por átomos de hidrógeno, puede reducir el diámetro efectivo de la cavidad en el lado donde éstos se encuentran, mientras que los hidroxilos secundarios, situados en cadenas más rígidas, no tienen posibilidad de rotación (Loftsson y Brewster, 1996).

4.1.4 METABOLISMO Y TOXICIDAD DE LAS CICLODEXTRINAS

Tras su administración oral, las ciclodextrinas naturales no presentan hidrólisis durante el tránsito a través del intestino delgado; sin embargo, sufren degradación enzimática por acción de la flora intestinal en el colon (Dona et al., 2010).

Se han realizado ensayos de toxicidad aguda referidos a la administración oral de ciclodextrinas en ratas, dando como resultado valores de DL₅₀ muy altos, superiores a 10 g/Kg. Estos valores indican una toxicidad muy baja por vía oral. Los estudios de toxicidad de las ciclodextrinas se han completado con ensayos para determinar los efectos mutagénicos, teratogénicos y de carcinogénesis, tanto en ratas como en conejos. Los resultados obtenidos confirman que la administración de ciclodextrinas por vía oral es totalmente inocua, hecho debido probablemente a que sólo cantidades insignificantes son absorbidas en el tracto intestinal (Arima et al., 2011).

Por el contrario, las consecuencias de la administración parenteral de ciclodextrinas son completamente diferentes, mostrándose signos de toxicidad severa tras la administración de altas dosis. Estos efectos tóxicos se manifiestan principalmente a nivel renal. (Frank et al, 1976).

Las ciclodextrinas administradas por vía intravenosa producen además cambios morfológicos y hemolisis en los eritrocitos humanos. Se ha observado que la actividad hemolítica de las ciclodextrinas en soluciones isotónicas sigue el orden de β - > α - > γ -ciclodextrina. Esta actividad hemolítica es debida a la acción que ejercen las ciclodextrinas a nivel de membranas celulares, a causa de la liberación y solubilización de algunos componentes de membrana, tales como colesterol, fosfolípidos y proteínas (Davis y Brewster, 2004).

Desde el punto de vista de la seguridad, la ciclodextrina natural más indicada para la administración parenteral es la γ -ciclodextrina, la cual no posee una nefrotoxicidad marcada (probablemente como consecuencia de su alta solubilidad y rápida degradación enzimática) y, además, presenta una baja actividad hemolítica (Kurkov et al., 2012).

Actualmente, el empleo de ciertos derivados de ciclodextrinas permite paliar los problemas de toxicidad que presenta su administración por vía parenteral.

4.1.5 DERIVADOS DE CICLODEXTRINAS

La baja solubilidad relativa de las ciclodextrinas naturales en agua, en especial de la β -ciclodextrina, limita considerablemente el campo de aplicación farmacéutica de estos compuestos. Como ya se ha comentado, este hecho parece ser el resultado de la presencia de enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares entre los grupos hidroxilo. Con el fin de mejorar algunas de sus características, como por ejemplo aumentar la baja solubilidad en agua de la β -ciclodextrina o disminuir su toxicidad en aplicación por vía parenteral, las ciclodextrinas naturales pueden ser modificadas. Los grupos hidroxilo de las ciclodextrinas se encuentran disponibles como puntos de partida de modificaciones estructurales, habiéndose incorporado diversos grupos funcionales a las moléculas de ciclodextrina (Brewster y Loftsson, 2007).

4.1.5.1 Metilciclodextrinas

Las metilciclodextrinas se encuentran entre los primeros derivados que han sido estudiados intensamente desde el punto de vista de sus aplicaciones farmacéuticas. La introducción de grupos metilo a nivel de los hidroxilos de los C₂, C₃ y C₆ evita la formación de estos enlaces de hidrógeno intramoleculares estabilizadores, dando lugar a una mayor flexibilidad de la conformación macrocíclica. Ello origina cambios importantes en las propiedades fisicoquímicas de las ciclodextrinas de partida. Por ejemplo, la solubilidad acuosa y la solubilidad en disolventes orgánicos es mucho más alta que la de las ciclodextrinas naturales (Schönbeck et al., 2011).

Las características fisicoquímicas de ciclodextrinas naturales y sus derivados metilados más comunes vienen recogidas en la tabla 1.

Molécula	Unidades de glucosa	Peso molecular	Diámetro cavidad (Å)	Punto fusión (°C)	Solubilidad en agua a 25°C (g/100mL)	Contenido en agua (%)
α-CD	6	973	5	275	15	10
Dimetil-α-CD	6	1,141	5	260-264	-	-
Trimetil-α-CD	6	1,225	3-6	205	-	< 1
β-CD	7	1,135	6	280	1,85	13
Dimetil-β-CD	7	1,331	6	295-300	57	1
Trimetil-β-CD	7	1,429	4-7	157	31	< 1
γ-CD	8	1,297	8	275	23	16
Dimetil-γ-CD	8	1,521	8	255-260	-	-
Trimetil-γ-CD	8	1,633	5-9	135	48	-

Tabla 1. Características fisicoquímicas de las ciclodextrinas naturales y sus derivados metilados (Szejtli, 1982).

4.1.5.2 Hidroxipropilciclodextrinas

Las hidroxipropilciclodextrinas han sido preparadas con el objetivo principal de aumentar la solubilidad acuosa del producto de partida. La hidroxipropilación de las ciclodextrinas no da como resultado una sustitución selectiva, sino que conduce a una mezcla de productos con diferentes grados de sustitución. La existencia conjunta de varios tipos de hidroxipropilciclodextrinas en el mismo producto de reacción explica su incapacidad para cristalizar y, en consecuencia, la obtención de un producto amorfo (Li et al., 2016).

Las hidroxipropilciclodextrinas presentan una alta solubilidad acuosa, superior al 50 % p/v, no sólo como resultado de su naturaleza química, sino también debido a su estructura amorfa. Por otra parte, se debe resaltar la baja higroscopicidad de estos productos, hecho interesante, pues la absorción de humedad puede iniciar procesos hidrolíticos en productos sólidos (Muller y Brauns, 1986).

El principal interés de estos derivados es su aplicación para la administración por vía parenteral, ya que presentan una actividad hemolítica inferior a la de la ciclodextrina natural correspondiente. Esta actividad hemolítica es menor a medida que aumenta el grado de sustitución (Kaluvu et al., 2015).

4.1.5.3 Hidroxietilciclodextrinas

Estos derivados presentan características bastante similares a las de las hidroxipropilciclodextrinas. De hecho, la hidroxietilación también da como resultado una mezcla de hidroxietilciclodextrinas con diferentes grados de sustitución. Presentan una alta solubilidad en agua, superior al 50 % p/v a 25 °C, y una actividad hemolítica particularmente baja (Markenstein et al., 2014).

4.1.5.4 Etilciclodextrinas

No todas las modificaciones conducen a un aumento de la solubilidad. Así, la etilación de las ciclodextrinas reduce su solubilidad acuosa en proporción al grado de sustitución. Estos derivados pueden utilizarse para lograr la liberación sostenida de algunos principios activos (Horiuchi et al., 1990).

4.1.5.5 Sulfoalquil éter- β -ciclodextrinas

La capacidad complejante de este grupo de derivados depende del tipo de radical alquilo empleado, así algunos autores ponen de manifiesto que la reducción en la longitud de la cadena alquilo de butilo (sulfobutil éter- β -ciclodextrina) a propilo (sulfopropil éter- β -ciclodextrina) disminuye la capacidad de complejación de estos derivados (Zia et al., 1997).

4.1.5.6 Otros derivados

Además de los derivados anteriores, existen otros muchos con diferentes aplicaciones, tales como ciclodextrinas sulfatadas y ciclodextrinas ramificadas.

4.2 COMPLEJOS DE INCLUSIÓN

Los complejos de inclusión son compuestos moleculares en el cual la molécula hospedadora envuelve espacialmente a otra. El compuesto encerrado (la molécula huésped), se encuentra situado en la cavidad del hospedador, sin que su estructura se afecte de forma significativa. Aparte de una leve deformación, un hecho característico es que el tamaño y la forma de la cavidad disponible permanecen prácticamente inalterados (Liu y Guo, 2002).

Las ciclodextrinas presentan la posibilidad de interactuar con una amplia variedad de especies iónicas y moleculares. Los compuestos de inclusión resultantes pertenecen a los complejos del tipo "hospedador-invitado".

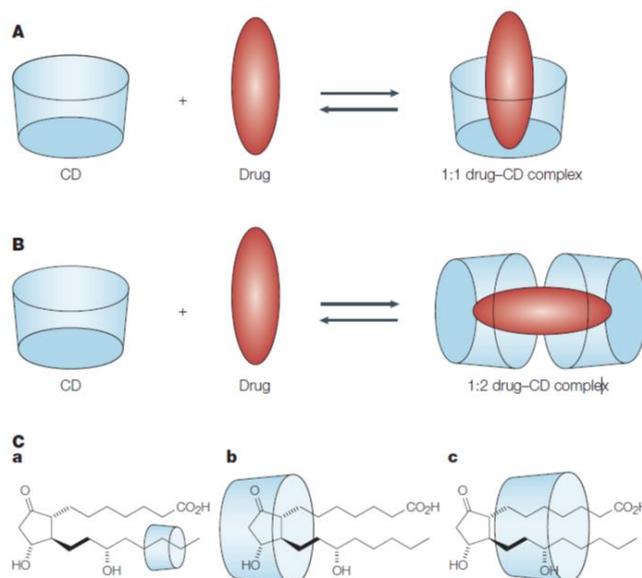


Figura 4. Esquema de la formación de un complejo de inclusión. **A/** 1:1 Complejo fármaco-ciclodextrina. **B/** 1:2 Complejo fármaco- ciclodextrina. **C/** Modelos de complejo de inclusión entre prostaglandina E2 y (a) α -ciclodextrina, (b) β - ciclodextrina y (c) γ - ciclodextrina (Davis y Brewster, 2004).

4.2.1 REQUERIMIENTOS PARA LA FORMACIÓN DE COMPUESTOS DE INCLUSIÓN

4.2.1.1 Compatibilidad geométrica

El primer requerimiento para la formación de un compuesto de inclusión es que la molécula huésped pueda introducirse total o, al menos, parcialmente, en la cavidad de la ciclodextrina (Singh, 2010).

Como hemos indicado, las ciclodextrinas naturales presentan cavidades de diferentes dimensiones ($\gamma > \beta > \alpha$), por lo que una buena adaptación de la molécula huésped al tamaño de cavidad de un tipo concreto de ciclodextrina se traducirá en un mayor número de interacciones entre ambas moléculas: esto se refleja en un valor más alto de constante de estabilidad.

La estequiometría de los complejos depende de la naturaleza de la sustancia a complejar y de las dimensiones de la cavidad de la ciclodextrina o sus sustituyentes. Así, dependiendo de propiedades tales como el tamaño y forma del huésped, no sólo podemos encontrar en solución complejos de estequiometría 1:1, sino también 1:2, 2:1, ó 2:2 (Chmurski, 2015).

4.2.1.2 Polaridad y carga

Moléculas fuertemente hidrófilas (muy solubles en agua) y grupos fuertemente hidratados e ionizados son débilmente complejables, frecuentemente, los complejos de especies iónicas son mucho menos estables que los de especies no ionizadas, hallándose favorecida la entrada de estas últimas moléculas en la cavidad hidrofóbica de las ciclodextrinas. En general, moléculas hidrofóbicas presentan una alta afinidad por la cavidad de la ciclodextrina en solución acuosa (Zhang y Ma, 2013).

4.2.1.3 Medio

En principio, aunque no es necesario ningún tipo de disolvente para que se pueda formar un compuesto de inclusión, el proceso de complejación se ve mejorado en presencia de agua. La formación de complejos en solución es un proceso muy rápido, pero por regla general, las sustancias que posean buena solubilidad se compleja sólo débilmente. En cambio, las moléculas que presenten una buena complejación suelen presentar baja solubilidad acuosa.

La formación de los compuestos de inclusión en medio líquido se puede dividir en 6 etapas (Liu et al., 2013):

- (I) Aproximación de la molécula huésped hacia la ciclodextrina.
- (II) Ruptura del agua de estructura del interior de la cavidad de la ciclodextrina.
- (III) Desordenación de la estructura del agua alrededor de la molécula.
- (IV) Interacción de la molécula del sustrato o de algún sustituyente con grupos del borde o del interior de la cavidad de la ciclodextrina.
- (V) Formación de posibles puentes de hidrógeno entre el sustrato y la ciclodextrina.

(VI) Restablecimiento de la estructura del agua alrededor de la parte exterior de la molécula después de la inclusión.

El proceso global se ve esquematizado en la figura 5.

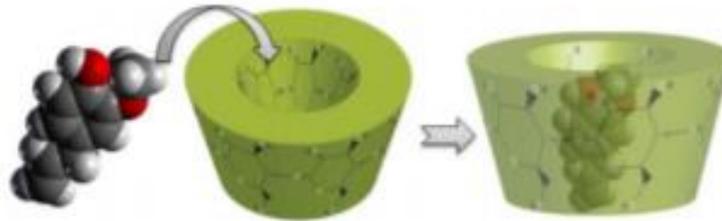


Figura 5. Formación del complejo de inclusión.

(<https://scientiablog.com/2014/02/19/el-comienzo-de-una-edad-la-historia-de-como-sauron-creo-sus-ciclodextrinas/>)

4.2.2 DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE COMPLEJACIÓN Y EFICACIA SOLUBILIZANTE

Existen diversas técnicas para la determinación de la constante de estabilidad del complejo de inclusión fármaco-ciclodextrina, tanto en medio sólido como en medio líquido. La realización del diagrama de solubilidad sustrato: ligando es una de las más utilizadas y permite, además, poner de manifiesto la composición del compuesto de inclusión sustrato: ciclodextrina (S_mL_n), formado según el siguiente esquema: (Hirayama y Uekama 1987).



El método que se describe fue propuesto por Higuchi y Connors (Higuchi y Connors., 1965). Se basa en la determinación del cambio de solubilidad de un sustrato en el curso de la adición de un agente complejante. La molécula a incluir se adiciona en exceso a soluciones que contienen concentraciones crecientes de ciclodextrina, bajo agitación y a temperatura constante. Tras alcanzar el equilibrio, se analiza la concentración total de molécula solubilizada. Para obtener los correspondientes diagramas, la cantidad de sustrato solubilizado se representa frente a la concentración de ciclodextrina adicionada. Estos diagramas se pueden clasificar en diferentes tipos (figura 6).

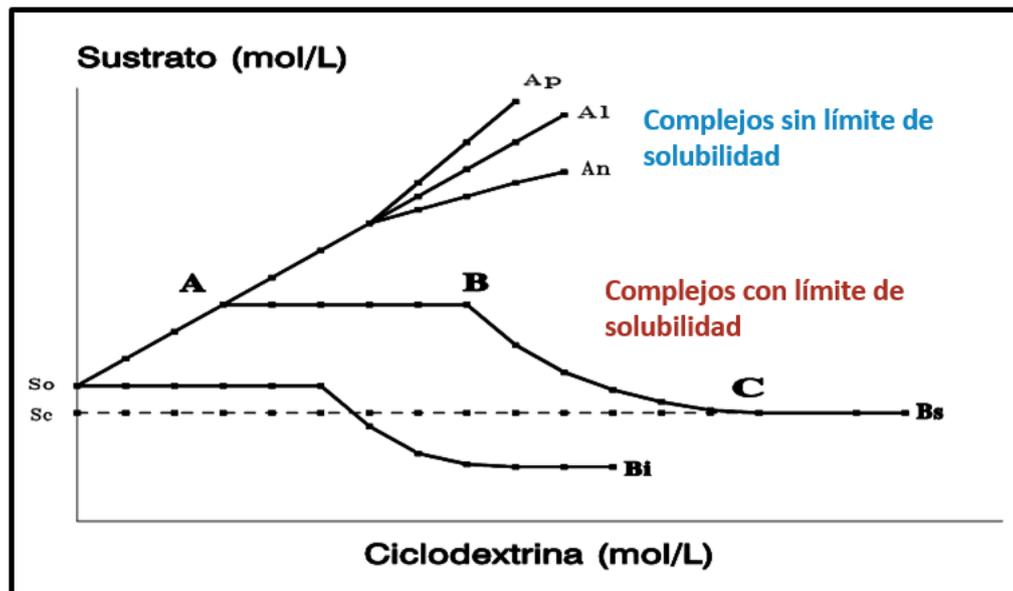


Figura 6. Representación de los distintos tipos de diagramas de solubilidad existentes (Szejtli, 1982).

* Tipo A: el diagrama obtenido es una línea recta. Este resultado indica la presencia de un compuesto de inclusión sin límite de solubilidad, al menos a las concentraciones de ciclodextrina ensayadas. A su vez, podemos diferenciar tres subtipos:

- A_L : en este caso se trata de un complejo de inclusión de estequiometría 1:1.
- A_P : el complejo de inclusión posee, probablemente, una estequiometría superior a 1:1.
- A_N : son curvas difíciles de interpretar cuantitativamente, pues las interacciones soluto/solvente o soluto/soluto complican el sistema.

* Tipo B: se obtienen cuando, el complejo de inclusión posee un límite de solubilidad por encima del cual precipita. Las curvas de tipo B se dividen en:

- B_S : en estas curvas, la solubilidad aparente del principio activo (S_t) aumenta linealmente gracias a la formación de un complejo de inclusión soluble. En el punto A (figura 6), se alcanza el límite de solubilidad del complejo, de tal forma que una posterior adición de ciclodextrina conduce a su precipitación. La concentración de sustrato permanece constante debido a la disolución del sólido remanente. Esta situación se traduce en el diagrama por la aparición de una meseta entre los puntos A y B. Después del punto B, la totalidad del sólido se ha consumido y la posterior

adición de ciclodextrina produce una disminución en la solubilidad aparente, debido a la precipitación del compuesto de inclusión en solución.

- B₁: en el caso de estas curvas, el complejo de inclusión formado es prácticamente insoluble, no existiendo mejora en la solubilidad del principio activo.

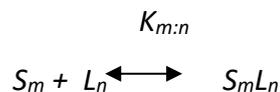
A partir de los diagramas de solubilidad se puede calcular la eficacia solubilizante de la ciclodextrina, que se define como el aumento de solubilidad relativa del fármaco observado a una determinada concentración de ciclodextrina, a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Eficacia solubilizante} = S_{CD} / S_0$$

donde S_{CD} representa la solubilidad de fármaco a dicha concentración de ciclodextrina y S_0 representa la solubilidad de fármaco en ausencia de ciclodextrina.

Por último, puede calcularse la constante de estabilidad aparente del complejo (K_c), a partir de la pendiente del diagrama A_L o bien de la porción ascendente de la curva B_S (comprendida entre la intersección con el eje de ordenadas y el punto A) (Higuchi y Connors, 1965).

Para ello consideremos la formación de un complejo m:n entre el sustrato (S) y ligando (ciclodextrina) según el siguiente esquema:



La constante de formación (o estabilidad) del complejo se pueden expresar como:

$$K_{m:n} = (S_m L_n) / (S)^m (L)^n$$

Las concentraciones de cada una de las especies serían:

$$(S) = S_0$$

$$(L) = L_t - n (S_m L_n)$$

$$(S_m L_n) = S_t - S_0 / m$$

donde S_0 es la concentración de sustrato disuelto en ausencia de ligando (L), S_t es la concentración de sustrato en solución, y L_t es la concentración total de ligando adicionado al sistema. Combinando estas ecuaciones y aplicándolas para concentraciones conocidas ($n = 1$ y $m = 1$) (Hirayama y Uekama, 1987) se llega a la expresión: representando gráficamente S_T , frente a L_T se obtendrá una línea recta, con una ordenada en el origen igual a S_0 y cuya pendiente es, $Pendiente = K_{11} S_0 / 1 + K_{11} S_0$

$$S_t = S_0 + \frac{K_{11} S_0 L_t}{1 + K_{11} S_0} \quad Pendiente = \frac{K_{11} S_0}{1 + K_{11} S_0}$$

Una expresión simplificada para el caso específico en el que se forme un complejo 1:1 para la constante de estabilidad vendrá dada por la ecuación:

$$K_{1:1} = \frac{pendiente}{S_0 (1 - pendiente)}$$

donde S_0 es la ordenada en el origen.

4.3 MÉTODOS DE ELABORACIÓN DE COMPUESTOS DE INCLUSIÓN

No existe un método universal de preparación para los complejos de inclusión; de esta forma, el método empleado debe adaptarse a las características del principio activo y a sus requerimientos. Por otra parte, hay que considerar si el método va destinado a la preparación a pequeña escala en laboratorio o, por el contrario, a una producción a gran escala a nivel industrial (Challa et al., 2005).

Los métodos de elaboración de los complejos de inclusión recogidos en la bibliografía son muy diversos. Sin embargo, éstos pueden ser agrupados en distintos tipos y presentan cada uno de ellos diferentes variantes.

4.3.1 PREPARACIÓN DE COMPLEJOS EN MEDIO LÍQUIDO

Estos métodos consisten, generalmente, en adicionar a una solución acuosa de ciclodextrina bajo agitación, el principio activo o una solución del mismo en agua u otro

disolvente si el principio activo es insoluble. El pH puede ser neutro, ácido o básico, dependiendo de la naturaleza del principio activo, con objeto de evitar su ionización.

Una vez adicionado, se somete a agitación durante un tiempo variable, con objeto de alcanzar el equilibrio. La técnica de obtención del complejo en estado sólido va a depender del comportamiento fármaco-ciclodextrina en solución, es decir, del tipo de diagrama de solubilidad obtenido (Connors, 1997). Así hemos recogido en la bibliografía los siguientes métodos:

4.3.1.1 Coprecipitación

Este método sólo es aplicable a principios activos que presenten un diagrama de solubilidad con una determinada ciclodextrina del tipo B_s de Higuchi. Las cantidades de principio activo y ciclodextrina y otras condiciones experimentales de la precipitación se calculan a partir de la porción descendente de la curva del diagrama de solubilidad donde no existe principio activo en forma sólida. La mezcla se somete a agitación en un recipiente cerrado durante varios días a temperatura constante hasta alcanzar el equilibrio. El complejo precipita en forma de un polvo microcristalino, el cual se aísla mediante filtración. Por último, se seca en estufa o a vacío, o bien se emplea un desecador. Este es uno de los métodos más ampliamente recogido en la literatura (Tomren et al., 2007).

4.3.1.2 Neutralización

Este método consiste en adicionar a una solución ácida o básica de ciclodextrina (variable según el caso), el principio activo en forma de sal. Posteriormente, se ajusta el pH del medio a la neutralidad y el precipitado obtenido se filtra y se somete a secado. No es aplicable a principios activos inestables en medio ácido o básico. Por otra parte, también hay que tener en cuenta que en medio fuertemente ácido las ciclodextrinas se hidrolizan a oligosacáridos lineales.

En aquellos casos en los que no es posible la precipitación (principios activos que presentan una curva de tipo A de Higuchi), el aislamiento del complejo formado se realiza por eliminación del disolvente. Las técnicas más utilizadas son spray-drying (Reinhard, 2008), freeze-drying (Santagapita et al., 2015).

4.3.1.3 Atomización (spray-drying)

Este método consiste en preparar una solución, generalmente etanólica, de la ciclodextrina y del principio activo en proporciones molares variables según el caso. Posteriormente, se somete a agitación y se deja evaporar el disolvente a temperatura ambiente, con calefacción o bien con la ayuda de un rotavapor (Prinn et al., 2002).

4.3.2 PREPARACIÓN DE COMPLEJOS EN MEDIO SÓLIDO

Existen varios métodos en estado sólido que nos permiten la obtención de complejos de inclusión, entre los que se incluyen el amasado, la trituración, la fusión, el calentamiento en contenedor sellado o la compactación.

4.3.2.1 Amasado

Otro método para la preparación de inclusiones es el llamado amasado. En este caso, la ciclodextrina no se disuelve, sino que se amasa hasta formar una pasta junto con una pequeña cantidad de agua en un mortero (en otros casos se pueden emplear etanol o mezclas agua/disolventes orgánicos, a la cual se va adicionando poco a poco el principio activo, en forma sólida, sin disolvente, o bien en una pequeña cantidad de etanol en la cual el principio activo se encuentra suspendido. La mezcla se somete a amasado durante un tiempo variable, generalmente comprendido entre 45 minutos y 1 hora; por último, la pasta obtenida se seca en estufa o a vacío. El producto sólido obtenido se pulveriza y tamiza, pudiendo someterse a lavado durante un corto espacio de tiempo, con objeto de eliminar moléculas de principio activo libres o no complejadas, adsorbidas en la superficie del complejo (Aburahma et al., 2010).

4.3.2.2 Trituración (co-grinding)

La preparación de compuestos de inclusión por este método consiste en la mezcla de ciclodextrina y principio activo en proporciones variables, según el caso, y posterior trituración, mediante diferentes procedimientos (molino vibracional, molino cerámico, molino coloidal, mortero, etc.). Está indicado para principios activos sensibles a la hidrólisis. Se suele incluir un termómetro para controlar la temperatura de la mezcla durante el proceso. (Aigner, 2012).

4.3.2.3 Fusión

Los compuestos de inclusión también pueden prepararse mediante fusión del principio activo, al que se adiciona la ciclodextrina finamente pulverizada. Tras enfriamiento, este exceso es retirado por medio de un cuidadoso lavado con un disolvente que posea baja tendencia a incluirse en la cavidad de la ciclodextrina.

4.3.2.4 Calentamiento en contenedor sellado

Este método consiste en introducir una mezcla triturada de ciclodextrina y principio activo en un recipiente (de acero o una ampolla de vidrio), la cual es cerrada posteriormente. A continuación, se somete a agitación y calentamiento a una temperatura definida durante un tiempo determinado. Este método está especialmente indicado para principios activos volátiles y presenta la ventaja de que no es necesario ningún proceso de disolución para obtener el compuesto de inclusión (Wang, 2007).

4.3.2.5 Método de compactación

La técnica de compactación se basa en someter una mezcla física de fármaco y ciclodextrina a la acción de una prensa hidráulica, lo que conlleva una interacción en estado sólido, dando lugar a la formación del compuesto de inclusión. Este proceso presenta la enorme ventaja a nivel industrial de su sencillez y economía, debido al ahorro en tiempo y energía frente a otros métodos (liofilización, amasado, spray-drying, etc.). Sin embargo, es necesario tener en cuenta que en los estudios realizados no se suele producir una complejación total, obteniéndose una mezcla de fármaco en forma cristalina, fármaco en estado amorfo y compuesto de inclusión. De este modo, los factores a tener en cuenta en el proceso son la cristalinidad del fármaco de partida y la presión aplicada en el proceso de compactación (Gazzaniga et al., 1992).

4.3.3 PREPARACIÓN DE COMPLEJOS EN MEDIO GASEOSO

Por último, están los métodos de preparación en medio gaseoso. Así, ciertos productos volátiles pueden ser incorporados a una disolución acuosa de ciclodextrinas mediante burbujeo.

4.4 APLICACIONES EN EL CAMPO FARMACÉUTICO

La inclusión de una determinada molécula dentro de la cavidad de la ciclodextrina da como resultado la modificación de sus propiedades físicas y químicas, generalmente de forma ventajosa, por lo que su utilización ha ido ganando importancia con el paso de los años en muy diversos campos (alimentación, cosmética y perfumería, pesticidas, química analítica, etc.) y muy en especial en la industria farmacéutica (Singh et al., 2002).

En efecto, las propiedades fisicoquímicas de las moléculas invitadas pueden verse alteradas al ser rodeadas por el entorno hidrofóbico de la cavidad de la ciclodextrina, siendo estas modificaciones útiles para la formulación de potenciales medicamentos. De esta forma, un fármaco puede aumentar su solubilidad y su velocidad de disolución, presentar una mayor biodisponibilidad, reducir posibles efectos secundarios, además de mejorar su estabilidad (Loftsson y Duchêne, 2007). Seguidamente comentamos las aplicaciones en diferentes aspectos del desarrollo de un medicamento.

4.4.1 PREFORMULACIÓN

El empleo de ciclodextrinas proporciona mejoras en los procesos tecnológicos de elaboración de formas farmacéuticas; así, un fármaco líquido puede ser transformado en polvo, mejorando de este modo su manipulación y manufactura. Por otra parte, la dosificación uniforme de pequeñas cantidades de fármaco puede mejorarse mediante formulación de complejos microcristalinos; asimismo, pueden prepararse inyectables de preparación extemporánea mediante la elaboración de compuestos de inclusión con ciclodextrinas, obtenidos por liofilización (Hanawa, 2010).

4.4.2 AUMENTO DE LA SOLUBILIDAD Y VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN

El compuesto de inclusión de un fármaco poco soluble es, generalmente, más hidrofílico que el fármaco en forma libre. Ello se traduce en una humectación más fácil y en una disolución del fármaco más rápida y completa. El aumento de la solubilidad puede ponerse de manifiesto a partir del estudio de diagramas de solubilidad, mientras que la velocidad de disolución puede ser determinada mediante estudios cinéticos.

Mientras que el aumento de la solubilidad solamente puede ocurrir por medio de la formación de un compuesto de inclusión en solución, el incremento en la velocidad de disolución también puede ser debido a la disminución de la cristalinidad de estos complejos. Esto puede conseguirse utilizando diferentes métodos de preparación de compuestos de inclusión, tales como trituración, liofilización o nebulización, que dan lugar a una disminución de la cristalinidad o incluso polvos amorfos (Ginés et al., 1994).

En general, podemos llegar a la conclusión que el aumento de la velocidad de disolución de moléculas de fármaco formuladas junto con ciclodextrinas es el resultado de varios factores: incremento de la solubilidad, mejora de la humectabilidad, dispersión molecular y aumento de la superficie disponible para disolución. Una alta solubilidad del fármaco puede ser útil, por ejemplo, para la preparación de formas farmacéuticas líquidas, tales como inyectables.

Sin embargo, hemos de señalar que no siempre es necesario preparar verdaderos compuestos de inclusión para mejorar las velocidades de disolución. Las mezclas físicas de principios activos poco solubles o insolubles presentan a menudo mejores velocidades de disolución que los fármacos solos. Si un producto en estado cristalino es dispersado sobre una matriz hidrófila, como es el caso de mezclas mecánicas con ciclodextrinas, éste puede ser transportado pasivamente al medio de disolución, disolviéndose el portador y pudiendo aumentar de esta forma la velocidad de disolución.

4.4.3 MEJORA DE LA BIODISPONIBILIDAD

4.4.3.1 Administración oral

La biodisponibilidad de un fármaco administrado por vía oral depende de varios factores, tales como la velocidad de disolución, la solubilidad o la velocidad de absorción a nivel intestinal. Como todos los fármacos administrados por vía oral deben disolverse en el medio acuoso del tracto gastrointestinal previamente al proceso de absorción, la mejora de la solubilidad y de la velocidad de disolución de aquellos fármacos cuyo factor limitante sea la disolución puede constituir un primer paso hacia la mejora de la biodisponibilidad oral (Baboota y Agarwal, 2003).

La mejora de la solubilidad y velocidad de disolución mediante la formación de compuestos de inclusión con ciclodextrinas puede conducir a una mejora en su biodisponibilidad. Sin embargo, también debe tenerse en cuenta la importancia de la constante de estabilidad del complejo formado; de esta forma, complejos con bajos valores de constantes de estabilidad, al ser administrados, tienden a una rápida liberación del fármaco, pudiendo llegar a la concentración de saturación y precipitando, reduciéndose de esta manera el efecto que la complejación posee sobre la biodisponibilidad del fármaco.

Por el contrario, si la constante de estabilidad del complejo es alta, la velocidad de liberación del fármaco tiende a ser lenta y la concentración de fármaco libre en las proximidades del área donde se produce la absorción tiende a ser baja. Las ciclodextrinas sólo pueden actuar como portadores que transfieren el fármaco desde el medio acuoso a la membrana lipófila gastrointestinal, no pudiendo absorberse los compuestos de inclusión debido a su tamaño y carácter hidrófilo. En vista de todo ello, se ha establecido que solamente aquellos compuestos de inclusión que posean valores de constante de estabilidad entre 200 y 5000 M⁻¹ pueden utilizarse para mejorar la biodisponibilidad de fármacos hidrofóbicos (Blanco, 1991).

En este último caso, la administración de un compuesto de inclusión junto con otra molécula que compita con el fármaco por la cavidad de la ciclodextrina puede mejorar la biodisponibilidad de ese fármaco. Esto ha sido demostrado por Tokurama *et al.* en el estudio de la biodisponibilidad oral del complejo cinarizina-β-ciclodextrina con DL-fenilalanina como agente competidor.

En resumen, la rápida disolución de los compuestos de inclusión se traduce en un incremento neto en la permeación del fármaco y contrarresta el efecto negativo debido a una pobre permeación, sobre todo en aquellos casos en que la absorción se encuentra limitada. De esta forma, se pueden obtener altos niveles plasmáticos de fármacos poco solubles mediante la interacción con ciclodextrinas; y en aquellos casos en que no sean deseables altos niveles plasmáticos, se puede contemplar una reducción de la dosis.

4.4.3.2 Administración rectal

El aumento de la hidrofilia de los fármacos mediante inclusión en ciclodextrinas también puede mejorar la absorción vía rectal. La liberación de un fármaco o su compuesto de inclusión a partir de un supositorio (lo cual está relacionado directamente con su biodisponibilidad) depende de varios factores, tales como interacciones fármaco-vehículo, coeficiente de partición, tamaño de partícula y tipo de excipiente empleado. Existen varios trabajos que hacen referencia al aumento de los niveles plasmáticos de fármacos administrados por vía rectal en forma de compuestos de inclusión (Beraldo et al., 2002).

4.4.3.3 Administración tópica

La absorción de fármacos vía percutánea puede ser mejorada mediante inclusión en ciclodextrinas. Por vía percutánea puede afirmarse que, aunque las ciclodextrinas tienden a retardar la penetración a través de la piel, la rápida liberación del principio activo del vehículo de la pomada y la mejora en la disolución pueden contrarrestar el efecto negativo debido a la baja permeabilidad del compuesto de inclusión y producir un incremento en la absorción del fármaco. Las ciclodextrinas también pueden actuar como promotores de la absorción percutánea por alteración de la función barrera de la piel (Bibby et al., 2000).

4.4.3.4 Administración ocular

Existen pocos trabajos sobre la aplicación de ciclodextrinas bajo esta forma de administración. Entre ellos destaca el estudio del efecto de la 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina sobre la absorción a nivel ocular de la dexametasona y el acetato de dexametasona y la mejora de la liberación a partir del vehículo de una pomada oftálmica de sulfacetamida mediante inclusión con β -ciclodextrina (Usayapant et al., 1991).

4.4.3.5 Administración parenteral

A pesar de que las ciclodextrinas son ampliamente utilizadas en multitud de aplicaciones, la administración parenteral de fármacos complejados con ciclodextrinas naturales se encuentra muy limitada; así, en el caso de la β -ciclodextrina, su solubilidad no es satisfactoria para su uso en inyectables, además de presentar toxicidad cuando se

administra por vía parenteral, lo cual hace imposible su utilización en formulaciones parenterales; sin embargo, podemos recurrir al empleo de derivados solubles de ciclodextrinas. Entre ellos destaca la 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina, que tiende a ser un solubilizante y portador de fármacos por vía parenteral de amplia utilización, gracias a su baja toxicidad por vía parenteral (Szejtli, 1991). A este respecto, Brewster ha estudiado la liberación de tres fármacos en solución acuosa de 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina: alfaxolona, carbamazepina y dexametasona; por otra parte, la DIMEB también ha sido propuesta como portador de fármacos por vía parenteral, debido a que presenta una nefrotoxicidad menor que la β -ciclodextrina.

4.4.4 MEJORA DE LA ESTABILIDAD FÍSICA Y QUÍMICA

El contenido de principio activo en distintas formulaciones puede disminuir con el tiempo debido a procesos de degradación tales como hidrólisis, oxidación, volatilización, sublimación, descomposición por el calor o la luz, reacción con otros componentes de la formulación, etc.

Muchos fármacos pueden ser estabilizados frente a estas reacciones mediante complejación con ciclodextrinas. Se han realizado numerosos trabajos, de los cuales citaremos, a modo de ejemplo sólo algunos de ellos; así, la vitamina D₃ mejora su estabilidad frente a la oxidación mediante inclusión en la β -ciclodextrina (Szejtli et al., 1980).

Szejtli ha estudiado la inclusión de diferentes sustancias volátiles, tales como aromas vegetales, esencias, anetol, alcanfor, mentol y timol (Gialne-Fuzy et al., 1984), observándose una disminución de sus pérdidas por volatilización, tanto disminución de la evaporación en líquidos como de la sublimación en sólidos.

También es importante tener en cuenta la estabilidad del fármaco al pH del medio gástrico. Así, la proscillaridina, por inclusión en β - y γ -ciclodextrina, aumenta su resistencia al medio gástrico; por otra parte, la hidrólisis del benzoato de metronidazol se reduce por complejación con β -ciclodextrina.

4.4.4.1 Reducción de la toxicidad

La inclusión puede disminuir los efectos secundarios derivados de la administración de medicamentos. Esto ha sido demostrado mediante la disminución del efecto ulcerogénico de varios antiinflamatorios no esteroideos, por inclusión con β -ciclodextrina. Por otra parte, la disminución de la irritación local en músculo y de los efectos hemolíticos inducidos por fármacos administrados por vía parenteral o tópica mediante complejación con ciclodextrinas, confirman este hecho (Szejtli et al., 2015).

4.4.4.2 Liberación sostenida

Como ya hemos señalado, con el objeto de diseñar mejores portadores de fármacos, se han preparado múltiples derivados de ciclodextrinas: metilados, hidroxipropilados, etc. Estos derivados hidrofílicos son particularmente utilizados para mejorar la solubilidad y/o la velocidad de disolución de fármacos poco solubles por medio de la formación de compuestos de inclusión.

Pero, por otra parte, si se introducen grupos etilo en la molécula de β -ciclodextrina como sustituyentes de los grupos hidroxilo, su solubilidad acuosa decrece en orden a su grado de sustitución. Estos derivados hidrofóbicos, como por ejemplo heptakis (2,6-di-O-etil)- β -ciclodextrina y heptakis (2,3,6-tri-O-etil)- β -ciclodextrina, son candidatos a ser empleados como portadores de fármacos para obtener liberación sostenida. En los trabajos de Uekama, se recogen diferentes ejemplos de la posibilidad del empleo de derivados etilados en liberación sostenida de ciertos fármacos, como el diltiazem y el dinitrato de isosorbide. Asimismo, se han realizado estudios sobre el empleo de un compuesto de inclusión diazepam-2-hidroxipropil- β -ciclodextrina vehiculizado en matrices erosionables para la elaboración de una forma liberación sostenida. En este caso, el objetivo de la preparación del compuesto de inclusión es la obtención de una forma soluble del diazepam para, posteriormente, controlar la liberación del mismo mediante la dispersión en la matriz (Uekama et al., 1987).

5 PRODUCCIÓN CIENTÍFICA EN EL CAMPO DE LAS CICLODEXTRINAS: ESTUDIO DE LOS MEDICAMENTOS COMERCIALIZADOS EN ESPAÑA

Como se recoge en el apartado de metodología, hemos evaluado la producción científica en el campo de las ciclodextrinas utilizando la base de datos ScienceDirect, plataforma electrónica que ofrece más de 9 millones de artículos, con más de 26.000 títulos de libros y más de 2.500 títulos de revistas, representando aproximadamente 25% de la producción científica mundial.

Vía su interfaz web, hemos usado la herramienta de “Advanced Search” (búsqueda avanzada) introduciendo la palabra “cyclodextrin” en la barra de búsqueda, y hemos seleccionado la opción de mostrar los resultados desde 1996 hasta la actualidad.

Los resultados por año recogidos en la figura 7 muestran un aumento progresivo en el número de publicaciones alcanzándose una meseta en 2014, resultados indicativos del gran interés que este tema ha despertado en la comunidad científica en los últimos años.

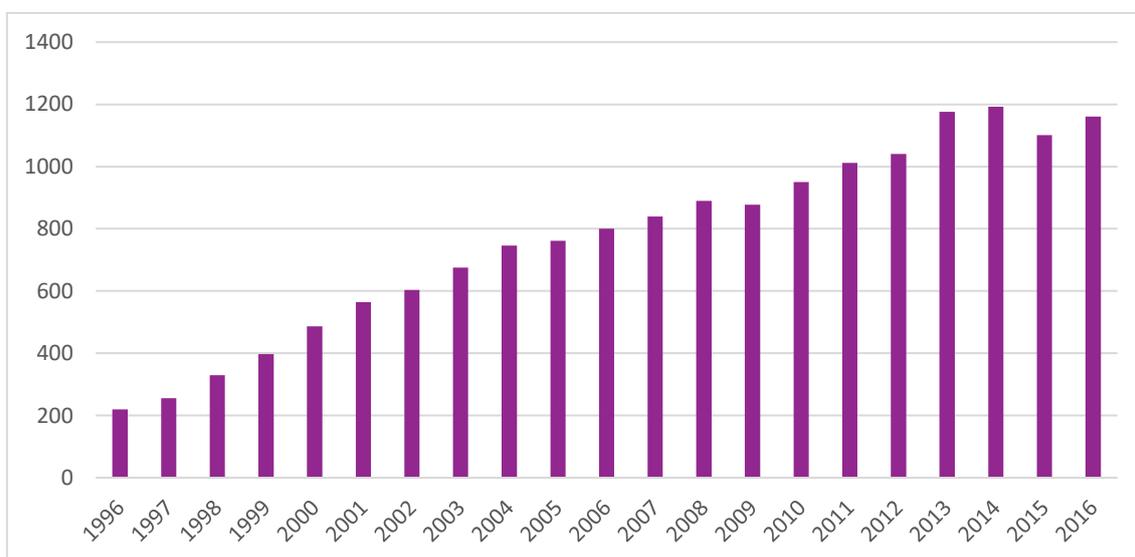


Figura 7. Número de publicaciones que contengan “cyclodextrins” de 1996 hasta 2016.

Como ya hemos indicado en este trabajo también nos planteamos el objetivo poner de manifiesto si existía una correlación entre producción científica y resultados a nivel práctico, identificando para ello los medicamentos recogidos en la AEMPS que incluyan

en su formulación ciclodextrinas como excipientes. Los resultados, recogidos en la tabla 2 son un poco sorprendentes, ya que el número de principios activos que han aparecidos no llega a la decena, y aunque el número de marcas comerciales es superior, algunas han sido revocadas y otros como el Cycladol®, uno de los primeros medicamentos formulado a partir de un complejo de inclusión entre el Piroxicam y la β -ciclodextrina, ni aparecía recogido.

Si analizamos en más profundidad estos datos observamos que no existe una ciclodextrina ideal a la hora de desarrollar una formulación. Así encontramos medicamentos comercializados con las tres ciclodextrinas naturales (α , β y γ), aunque resulta evidente que la ciclodextrina más utilizada es β -ciclodextrina y más en concreto sus derivados la hidroxipropil- β -ciclodextrina y la sulfobutiléter- β -ciclodextrina. Estos resultados se justifican en base a que el proceso de complejación requiere que una buena acomodación de la molécula huésped (o alguna parte de la misma) al tamaño de cavidad de la ciclodextrina. Resulta evidente que no formarán complejos de inclusión estables moléculas que sean demasiado pequeñas para ser atrapadas dentro de la cavidad de la ciclodextrina, ya que tenderán a deslizarse fuera de ésta. Tampoco es posible formar compuestos de inclusión con moléculas que sean demasiado voluminosas ya que tendrían dificultad para introducirse dentro de la cavidad de la ciclodextrina. En cualquier caso, el proceso si sería posible si penetraran ciertos grupos funcionales o cadenas laterales del fármaco. Así podemos señalar que los grupos bencénicos son fácilmente complejables en la cavidad de la β -ciclodextrina.

Por otra parte, como queda recogido en la presente memoria, un problema adicional que existe a la hora de formular un medicamento en forma de complejo de inclusión con β -ciclodextrina es su baja solubilidad acuosa, lo que limita el proceso de complejación en medio líquido. Por eso los medicamentos de administración en forma de solución que son la amplia mayoría, no la emplean y han de recurrir derivados como la hidroxipropil- β -ciclodextrina o a otras ciclodextrinas como la α o la γ que presentan mayor solubilidad. Así, único principio activo formulado con β -ciclodextrina comercializado actualmente es el ibuprofeno en forma de suspensión oral.

Tipo de ciclodextrina/Precio (€/kg)	Principio activo	Solubilidad	Forma farmacéutica	Nombre comercial
α - ciclodextrina/ 854	Alprostadil	0,0267 mg/mL	Polvo para solución para perfusión	Alprostadil® y Sugiran®*
β - ciclodextrina/ 368	Ibuprofeno	0,021 mg/mL	Polvo para suspensión oral	Algidrin®, Dolorac®, Alogesia® y Nurofen®
γ - ciclodextrina/ 929	Minoxidil	2,2 mg/mL	Solución cutánea	Alopexy®
HP- β - ciclodextrina/ 3655	Itraconazol	0,00964 mg/mL	Concentrado y disolvente para solución para perfusión	Itraconazol Genfarma EFG y Canadiol®*
	Voriconazol	0,0978 mg/mL	Polvo para solución para perfusión	Voriconazol Accord EFG
	Hidroquinona	0,07 mg/mL	Crema	Nadona®
HP- γ - ciclodextrina/ 6540	Diclofenaco sódico	0,00237 mg/mL	Colirio en solución	Voltaren®
Sulfobutiléter β -ciclodextrina/ 628000	Posaconazol	$2,7 \times 10^{-5}$ mg/mL	Polvo para solución para perfusión	Noxafil®
	Ziprasidona	0,00718 mg/mL	Polvo y disolvente para solución	Zeldox®

Tabla 2. Medicamentos que contienen ciclodextrinas en su formulación recogidos en la AEMPS. (*) Medicamentos actualmente revocados.

<https://www.aemps.gob.es/> y <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

La amplia utilización de la hidroxipropil- β -ciclodextrina, como hemos indicado en la memoria se puede relacionar con la mayor solubilidad de este derivado respecto a la ciclodextrina natural (β -ciclodextrina), debido a su naturaleza amorfa, y a que la introducción de radicales hidroxipropilo expanden la cavidad de la ciclodextrina por lo que se pueden establecer mayor número de interacciones con la molécula huésped. En cuanto a la vía de administración del medicamento existe una gran variedad, y aunque predominan los fármacos administrados vía intravenosa ya sea en forma de polvo para perfusión (alprostadil, itraconazol o Voriconazol), solución para perfusión (posaconazol), o polvo para solución inyectable (ziprasidona), también hay fármacos de administración oral como el ibuprofeno, cutánea como el minoxidilo o la hidroquinona, u oftálmica como el diclofenaco. Todos ellos presentan una característica fisicoquímica en común que les hace ser candidatos idóneos para su formulación en forma de complejo de inclusión con ciclodextrinas, su baja solubilidad que oscila entre los aproximadamente 0,1 mg/mL del voriconazol y los $2,7 \times 10^{-5}$ mg/mL del posaconazol.

Los pobres resultados obtenidos hicieron plantearnos la necesidad de ampliar el campo de nuestra búsqueda y extenderlo a nivel mundial. Así, durante nuestro proceso de revisión encontramos información al respecto que recogemos en la tabla 3.

Los resultados mostraron que por una parte se ampliaba notablemente el número de principios activos comercializados, llegando a superar la veintena (tabla 3). Así mismo aparecía una nueva ciclodextrina con aplicación al campo industrial, la metil- β -ciclodextrina y también parecían nuevas vías de administración como la nasal, rectal, sublingual que no aparecían recogidas en los medicamentos recogidos en la AEMPS.

Aun así, los resultados no llegan a alcanzar según nuestra, los valores esperados para unos excipientes que han demostrado, al menos a nivel de investigación tantas posibilidades como las ciclodextrinas tal y como queda recogido en esta memoria.

Aunque encontrar las causas reales a esta situación puede ser difícil y excede las posibilidades de este trabajo, queremos comentar algunas razones que en nuestra opinión pueden justificar estos resultados.

En primer lugar, hay que señalar que las ciclodextrinas son excipientes caros, en comparación con otros más habituales, y aunque en los últimos años el coste de su producción ha bajado notablemente sobre todo en el caso de la β -ciclodextrina cuyo precio actual del mercado oscila alrededor de los 368 euros el Kg, no deja de ser un precio superior a otros excipientes convencionales, por lo que claramente limita su uso a nivel industrial.

También hemos de comentar que, aunque los métodos de obtención de los complejos de inclusión a escala de laboratorio son muy numerosos como aparecen recogidos en la presente memoria, no todos ellos son extrapolables al campo industrial lo que puede suponer una gran limitación a la hora de desarrollar un medicamento comercial.

Fármaco	Vía de administración	Nombre comercial	Mercado
α-Ciclodextrina			
Alprostadil (PGE ₁)	Intravenosa	Prostavastin®	Europa, Japón, EEUU
Cefotiam hexetil HCl	Oral	Pansporin T®	Japón
β-Ciclodextrina			
Benexato HCl	Oral	Ulgut®, Lonmiel®	Japón
Dexametasona	Dérmica	Glymesason®	Japón
Iodina	Tópica	Mena-Gargle®	Japón
Nicotina	Sublingual	Nicorette®	Europa
Nimesulida	Oral	Nimedex®, Mesulid®	Europa
Nitroglicerina	Sublingual	Nitropen®	Japón
Omeprazol	Oral	Omebeta®	Europa
PGE ₂	Sublingual	Prostarmon E®	Japón
Piroxicam	Oral	Brexin®	Europa
Ácido tiaprofénico	Oral	Surgamyl®	Europa
2-Hidroxiopropil-β-ciclodextrina			
Ciprasida	Rectal	Propulsid®	Europa
Hidrocortisona	Bucal	Dexocort®	Europa
Indometacina	Oftálmica	Indocid®	Europa
Itraconazol	Oral, Intravenosa	Sporanox®	Europa, EEUU
Mitomicina	Intravenosa	Mitozytrex®	EEUU
Aleatoria metilación			
β-ciclodextrina		Aerodiol®	Europa
17 β -Estradiol	Nasal		
Cloranfenicol	Oftálmica	Clorocil®	Europa
Sulfobutiléter			
β-ciclodextrina			
Voriconazol	Intravenosa	Vfend®	Europa, EEUU
Maleato de Ziprasidona	Intramuscular	Geodon®, Zeldox®	Europa, EEUU
2-Hidroxiopropil-γ-ciclodextrina			
Diclofenaco sódico	Oftálmica	Voltaren®	Europa

Tabla 3. Ejemplos de medicamentos comercializados que contienen ciclodextrinas a nivel mundial (Loftsson et al., 2005).

Esta hipótesis se refuerza si tenemos en cuenta como queda recogido en la tabla 2, que numerosos medicamentos que en su día fueron formulados con ciclodextrinas, actualmente están revocados o ya ni aparecen en la agencia. Pensamos que esta cuestión responde a temas meramente económicos. En efecto, aunque como hemos puesto de manifiesto en nuestro trabajo, la formulación de medicamentos con ciclodextrinas puede aportar grandes ventajas en la administración de fármacos sobre todo en aspectos relacionados con su biodisponibilidad, ello va acompañado con un aumento del coste de la formulación, que en el momento actual de crisis económica puede hacer inviable su mantenimiento en el mercado, llevándolo por tanto a su retirada por parte del laboratorio comercializador.

Así, y centrándonos en los medicamentos recogidos en la AEMPS, sólo cuando la mejora es un requisito imprescindible para la formulación, como es el caso de los medicamentos de administración parenteral dónde necesariamente el sistema fisicoquímico a administrar debe ser una solución, o vías como la ocular o la dérmica, que presentan grandes dificultades para el proceso de permeación, queda justificado el aumento de coste de la formulación que supone el uso de excipientes como la hidroxipropil- β -ciclodextrina o la sulfobutiléter-ciclodextrina. Este es el caso del Alprostadil, Voriconazol e Itraconazol, que en las formulaciones para perfusión se formula con hidroxipropil- β -ciclodextrina mientras que en las formulaciones sólidas orales en forma de cápsulas o comprimidos carecen de ella.

Por último, queremos comentar el caso del Ibuprofeno, fármaco que tradicionalmente se formula en preparados líquidos en forma de suspensión, debido a su baja solubilidad acuosa y desagradable sabor. Su formulación en sobres de preparación extemporánea utilizando β -ciclodextrina (Algidrin®), es una forma muy original de aumentar su biodisponibilidad oral sin que se manifiesten sus malas características organolépticas. Las ciclodextrinas al formar un complejo de inclusión con el fármaco, favorecen su proceso de solubilización minimizando su sabor desagradable durante su administración, y una vez administrado mejoran su biodisponibilidad oral. Hay que señalar que el contenido del sobre no es un complejo de inclusión, sino una simple mezcla física fármaco-ciclodextrina, el complejo se forma al mezclar el contenido del

sobre con agua previa a su administración, y dado que no toda la dosis de ibuprofeno logra solubilizarse, el medicamento administrado es tipo suspensión.

6 CONCLUSIONES

1. Las numerosas aplicaciones que presentan las ciclodextrinas dentro del campo farmacéutico se derivan de su capacidad de formar complejos de inclusión, modificando las propiedades de los fármacos alojados en su cavidad.

2. No existe una ciclodextrina ideal para obtener dichos complejos, ya que la adecuación del fármaco a la cavidad de la ciclodextrina es el factor principal en el proceso de complejación.

3. Son muy numerosos los posibles métodos de obtención de complejos de inclusión, aunque no todos extrapolables al campo industrial.

4. La producción científica relacionada con las ciclodextrinas ha aumentado de forma lineal en los últimos años alcanzándose una meseta en 2014.

5. A pesar de las numerosas ventajas que pueden aportar la utilización de ciclodextrinas en la formulación de un fármaco, es muy reducido el número de medicamentos recogidos en la AEMPS que las incluyen, estando algunos de ellos revocados. Si la búsqueda se amplía a nivel mundial el número aumenta notablemente.

7 BIBLIOGRAFÍA

- Aburahma MH, El-laithy HM, Hamza Yel-S. Preparation and in vitro/in vivo characterization of porous sublingual tablets containing ternary kneaded solid system of vinpocetine with β -cyclodextrin and hydroxy Acid. *Sci Pharm*. 2010; 78(2): 363-379.
- Aigner Z, Berkesi O, Farkas G, Szabó-révész P. X-ray and FTIR studies of a gemfibrozil/dimethyl- β -cyclodextrin inclusion complex produced by co-grinding. *J Pharm Biomed Anal*. 2012; 5(57): 62-67.
- Arima H, Motoyama K, Irie T. Recent findings on safety profiles of cyclodextrins, cyclodextrin conjugates, and polypseudotaxanes. In: Bilensoy E. (Ed.), *Cyclodextrins in Pharmaceuticals, Cosmetics, and Biomedicine: Current and Future Industrial Applications*. Wiley, Hoboken 2011. p. 91-122.
- Baboota S, Agarwal SP. Inclusion complexes of meloxicam with β -cyclodextrins. *Indian J Pharm Sci*. 2003; 64: 408-411.
- Balaramana K, Vieira NC, Moussab F, Vacusc J, Cojeana S, Pomela S et al. In vitro and in vivo antileishmanial properties of a 2-n-propylquinoline hydroxypropyl β -cyclodextrin formulation and pharmacokinetics via intravenous route. *Biomed Pharmacother*. 2015;76: 127-133.
- Beraldo H, Sinisterra RD, Teixeira LR, Vieira RP, Doretto MC. An effective anticonvulsant prepared following a host-guest strategy that uses hydroxypropyl-beta-cyclodextrin and benzaldehyde semicarbazone. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 296: 241-246.
- Bibby DC, Davies NM, Tucker IG. Mechanisms by which cyclodextrins modify drug release from polymeric drug delivery systems. *Int J Pharm*. 2000; 197: 1-11.
- Blanco J, Vila-jato JL, Otero F, Anguiano S. Influence of method of preparation on inclusion complexes of naproxen with different cyclodextrins. *Drug Dev Ind Pharm*. 1991; 17(7): 943-957.
- Blass BE. *In vitro ADME and In vivo Pharmacokinetics*: Academic Press 1^a ed. USA: Elsevier; 2015.
- Brewster ME, Loftsson T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers, *Adv. Drug Deliv*. 2007; 59: 645-666.
- Challa R, Ahuja A, Ali J, Khar RK. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review. *AAPS PharmSciTech*. 2005; 6(2): 329-357.
- Chmurski K, Stepniak P, Jurczak J. Long-chain-linked β -cyclodextrin dimers: Synthesis and relationship between reactivity and inclusion complex formation. *Carbohydr Polym*. 2016; 15(138): 8-15.
- Connors KA. The stability of cyclodextrin complexes in solution. *Chem Rev*. 1997; 97: 1325-1357.
- Crini G. Review: a history of cyclodextrins. *Chem Rev*. 2014; 114(21): 940-975.
- Davis ME, Brewster ME. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. *Nat Rev Drug Discov*. 2004;3(12): 1023-1035.
- Dodziuk H. (Ed.). *Cyclodextrins and their complexes*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim. 2006.
- Dona AC, Pages G, Gilbert RG, Kuchel PW. Digestion of starch: in vivo and in vitro kinetic models used to characterise oligosaccharide or glucose release. *Carbohydr. Polym*. 2010; 80: 599-617.
- Duchêne D. Cyclodextrins and their inclusion complexes. In *Cyclodextrins in Pharmaceuticals, Cosmetics, and Biomedicine: Current and Future Industrial Applications*; Bilensoy E, Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, USA. 2011. p. 15.

- Duchêne D, Glomot F, Vaution C. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. In: "Cyclodextrins and their industrial uses. (Ed.: D. Duchne), Editions de Santé, Paris. 1987. p. 213.
- Frank DW, Gray JE, Weaver RN. Cyclodextrin nephrosis in the rat. *Am. J. Pathol.* 1976;83(2): 367-382.
- Gazzaniga A, Giordano F, Sangalli ME, Benelli P, Bettinetti G, Interaction between acetaminophen and β -cyclodextrin by poder compaction. Proceedings of the 6th International Conference on Pharmaceutical Technology (Paris). 1992; 5: 394-400.
- Gialne M, Szente L, Szejtli J, Haranji J. Cyclodextrin-stabilized volatile substances for inhalation therapy. *J. Pharm Sci.* 1984; 39: 558-559.
- Ginés J.M., Arias MJ, Moyano JR, Novak C, Fernández-Hervas MJ, Rabasco AM. Comparison of oxazepam solid dispersions and β -cyclodextrin inclusion compounds. 13th Pharmaceutical Technology Conference. 1995;1: 689-704.
- Hambidge KM. Micronutrient bioavailability: Dietary Reference Intakes and a future perspective. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91(5):1430-1432.
- Hanawa K, Hanawa T, Tsuchiya C, Higashi K, Suzuki M. Moribe et al. Development of sarpogrelate external preparation for intractable pain control I Pre-formulation study on application of modified beta-cyclodextrins. *Chem Pharm Bull.* 2010;58(1): 45-50.
- Higuchi T, Connors KA. Phase-solubility techniques. *Adv Anal Chem Instrum.* 1965; 4: 117- 212.
- Hirayama F, Uekama K. Methods of investigating and preparing inclusion compounds. In: Duchene D, editor. *Cyclodextrins and their industrial uses.* Paris: Editions de Santé. 1987. p. 131–172
- Horiuchi Y, Hirayama F, Uekama K. Slow-release characteristics of diltiazem from ethylated beta-cyclodextrin complexes. *J Pharm Sci.* 1990;79(2): 128-132.
- Kurkov SV, Madden DE, Carr D. and Loftsson, T. The effect of parenterally administered cyclodextrins on the pharmacokinetics of coadministered drugs. *J. Pharm. Sci.* 2012; 101: 4402–4408.
- Larsen KL. Inclusion Phenom. *Macrocyclic Chem.* 2002; 43: 1–13.
- Li P, Song J, Ni X, Guo Q, Wen H, Zhou Q et al. Comparison in toxicity and solubilizing capacity of hydroxypropyl- β -cyclodextrin with different degree of substitution. *J Pharm.* 2016; 20: 347-356.
- Liu B, Li W, Zhao J, Liu Y, Zhu X, Liang G. Physicochemical characterization of the supramolecular structure of luteolin/cyclodextrin inclusion complex. *Food Chem.* 2013; 141: 900–906.
- Loftsson T, Brewster ME. Pharmaceutical applications of cyclodextrins 1 Drug solubilization and stabilization. *J Pharm Sci.* 1996;85(10): 1017-1025.
- Loftsson T, Duchene D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int J Pharm.* 2007;329(1-2): 1-11.
- Loftsson T, Jarho P, Måsson M, Järvinen T. Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv.* 2005; 2(2):335-51.
- Loftsson, T, Måsson, M, Brewster, M.E. Self-association and cyclodextrin solubilization of drugs. *J Pharm Sci.* 2002;91(11): 2307-2316.
- Markenstein L, Appelt-Menzel A, Metzger M, Wenz G. Conjugates of methylated cyclodextrin derivatives and hydroxyethyl starch (HES): Synthesis, cytotoxicity and

- inclusion of anaesthetic actives. *Beilstein J Org Chem.* 2014; 19(10): 3087-3096.
- Mohammad N, Malvi P, Meena AS, Singh SV, Chaube B, Vannuruswamy G, et al. Cholesterol depletion by methyl- β -cyclodextrin augments tamoxifen induced cell death by enhancing its uptake in melanoma. *Mol Cancer.* 2014; 1(13): 204.
- Muller BW, Brauns U. Hydroxypropyl- β -cyclodextrin derivatives: Influence of average degree of substitution on complexing ability and surface activity. *J Pharm Sci.* 1986;75(6): 571-572.
- Nährlösungen, darunter kristallisierte Polysaccharide (Dextrine) aus Stärke, Z. *Unters. Nahr. - Genussm.* 1903; 6: 865–880.
- Prinn KB, Costantini RH, Tracy M. (2002). Statistical modeling of protein spray drying at the lab scale. *AAPS PharmSciTech.* 2002; 3: 1–8.
- Reinhard V. Pharmaceutical particle engineering via spray drying. *Pharm Res.* 2008; 25(5): 999-1022.
- Santagapita PR, Mazzobre MF, Buera MP, Ramirez HL, Brizuela LG, Corti HR et al. Impact of supramolecular interactions of dextran- β -cyclodextrin polymers on invertase activity in freeze-dried systems. *Biotechnol Prog.* 2015; 31(3): 791-798.
- Schardinger F. Bildung kristallisierter Polysaccharide (Dextrine) aus Stärkekleister durch Mikroben. *Zentralbl Bakteriol Parasitenk Infektionskr* 1911. 2^e ed. p. 129-188.
- Schardinger F. Über Thermophile Bakterien aus verschiedenen Speisen und Milch, sowie über einige Umsetzungsprodukte derselben in kohlenhydrathaltigen
- Singh R. Characterization of cyclodextrin inclusion complexes-A review. *J Pharm Sci.* 2010;2(3): 171-183.
- Singh M, Sharma R, Banerjee UC. Biotechnological applications of cyclodextrins. *Biotechnol Adv.* 2002: 20; 341–359.
- Stelzl D, Nielsen TT, Hansen T, di Cagno M. β -CD-dextran polymer for efficient sequestration of cholesterol from phospholipid bilayers: Mechanistic and safe-toxicity investigations. *Int J Pharm.* 2015; 496(2):896-902.
- Su J, Sripanidkulchai K, Hu Y, Chaiittanian R, Sripanidkulchai B. Increased in situ intestinal absorption of phytoestrogenic diarylheptanoids from *Curcuma comosa* in nanoemulsion. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 2013: 14; 1055–1062.
- Szejtli J, Bolla-Pusztai J, Szabo E, Ferenczy T. Enhancement of stability and biological effect of cholecalciferol by cyclodextrin complexation. *Pharmazie.* 1980: 35; 779-787.
- Szejtli J. cyclodextrins and their inclusion complexes. *Akademiai, Kiado, Budapest.* 1982.
- Szejtli J. Cyclodextrins in drug formulations: part I. *Pharm. Techn. Int.* 1991;3(2), 15-22.
- Tomren MA, Masson M, Loftsson T, Tonnesen HH. Studies on curcumin and curcuminoids XXXI. Symmetric and asymmetric curcuminoids: stability activity and complexation with cyclodextrin. *Int. J. Pharm.* 2007; 338: 27–34.
- Uekama K, Hirashima N, Horiuchi Y, Hirayama F, Ijitsu, T, y Ueno M. Ethylated β -cyclodextrins as hydrophobic drugs carriers: sustained release of diltiazem in the rat. *J. Pharm. Sci.* 1987; 76: 660-661.
- Usayapant A, Karara A, Narurkar MM. Effect of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on the ocular absorption of dexametasone and dexametasone acetate *Pharm. Res.* 1991; 8:1495-1499.

Wade A, Weller PJ, editors. Handbook of pharmaceutical excipients. London: Pharm. Press & Am. Pharm. Assoc. 1994. p. 145–148.

Wang QF, Fan XW, Xu L, Yao Y. Preparation of inclusion complex of paeonol and beta-cyclodextrin by sealed-control temperature method. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2007; 32(3): 218-221.

Zhang J, Ma PX. Cyclodextrin-based supramolecular systems for drug delivery: recent progress and future perspective, *Adv. Drug Deliv*. 2013; 65: 1215–1233.

Zia V, Rajewski RA, Bornancini ER, Luna EA, Stella VJ. Effect of alkyl chain length and degree of substitution on the complexation of sulfoalkyl ether beta-cyclodextrins with steroids. *J Pharm Sci*. 1997; 86(2): 220-224.