

# Las ciclodextrinas: características y aplicaciones de la formación de complejos de inclusión

Cyclodextrins: properties and applications of inclusion complex formation

MUÑOZ-BOTELLA, S.; DEL CASTILLO, B. y MARTÍN, M. A.

Laboratorio de Técnicas Instrumentales. Sección Departamental de Química Analítica.  
Facultad de Farmacia. U. C. M. 28040-Madrid. España.

## RESUMEN

Las ciclodextrinas son macromoléculas formadas por distinto número de residuos de D(+) glucopiranosos unidos mediante enlaces  $\alpha(1-4)$ . Las más utilizadas son la  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -CD que contienen 6,7 y 8 moléculas de glucopiranosos respectivamente. A pesar de que son muy hidrosolubles, el interior de la cavidad de las ciclodextrinas es apolar, por lo que son capaces de formar complejos de inclusión con distintos tipos de moléculas que se alojan en su interior. La mayoría de las aplicaciones de las ciclodextrinas en la industria están encaminadas a mejorar las características del producto terminado (solubilidad, caracteres organolépticos) y a incrementar la estabilidad de los compuestos lábiles. En este artículo se comentan algunas de las aplicaciones de las ciclodextrinas en la industria farmacéutica y en catálisis química así como en química analítica. La formación de los complejos de inclusión incrementa la selectividad y la sensibilidad de la mayoría de los métodos analíticos.

**Palabras clave:** Ciclodextrinas. Complejos de inclusión. Compuestos farmacéuticos. Solubilización.

## ABSTRACT

Cyclodextrins are macrocyclic compounds consisting of a varying number of D(+) glucopyranose residues linked through  $\alpha(1-4)$  bonds. The most widely used are  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -cyclodextrins containing respectively 6,7 and 8 glucose units. In spite of their high aqueous solubility, the inner cyclodextrin cavity is non-polar and they can form complexes with many types of molecules placed inside this cavity. Most industrial applications of cyclodextrins aim at improving certain properties of finished products (solubility, organoleptic properties, stability). In this article several applications of cyclodextrins to pharmaceutical industry and chemical catalysis are reviewed. Analytical applications are also considered, since cyclodextrin inclusion improves the sensitivity and selectivity of most analytical methods.

**Key words:** Cyclodextrins. Inclusion complexes. Pharmaceuticals. Solubilization.

Recibido: 3-2-1995.

Aceptado: 20-3-1995.

BIBLID [0004-2927(1995) 36:2; 187-198]

## INTRODUCCIÓN

Las ciclodextrinas, cicloamilosas o cicloglucanos fueron descubiertos por Villiers en 1891. Sin embargo su descripción, preparación y aislamiento se debe a Schardinger en 1903 (1,2) por lo que durante mucho tiempo se denominaron “dextrinas de Schardinger” y han sido objeto de atención e investigación desde entonces hasta la actualidad debido a sus singulares características químicas. Fue necesario esperar a los años 50 para llevar a cabo la determinación exacta de su peso molecular (3) y confirmar su estructura cíclica mediante difracción de rayos-X (4), momento a partir del cual pasaron a denominarse ciclodextrinas.

Las ciclodextrinas se obtienen por la acción de la amilasa del *Bacillus macerans* sobre el almidón, dando un crudo que contiene  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -CD, junto con pequeñísimas cantidades de otras ciclodextrinas de mayor número de unidades de glucosa. La  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -CD (ciclohexaamilosa, cicloheptaamilosa y ciclooctaamilosa respectivamente) pueden separarse del crudo de reacción por precipitación selectiva mediante la adición de determinados solventes orgánicos. Hasta ahora se han aislado la  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -CD. Además de éstas, la  $\epsilon$ -,  $\zeta$ -,  $\eta$ - y  $\theta$ -CD se han obtenido mediante purificación por cromatografía en columna, junto con otros análogos de cadena abierta. No se conocen ciclodextrinas con menos de seis unidades de glucosa, probablemente debido al impedimento estérico, como se demuestra mediante cálculos conformacionales. Estos compuestos se pueden obtener por síntesis orgánica (5,6) aunque también puede lograrse su obtención mediante biosíntesis (7) gracias a la cual se obtienen considerables mejoras en los procesos de producción y purificación, por lo que la producción a escala industrial de estos compuestos resulta más económica.

## CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES

Las ciclodextrinas están formadas por distinto número de residuos de D (+) glucopiranososa, de conformación “silla”, unidos mediante enlaces  $\alpha(1-4)$ , tal y como se representa en la Figura 1. La  $\alpha$ -,  $\beta$ -, y  $\gamma$ -CD contienen respectivamente

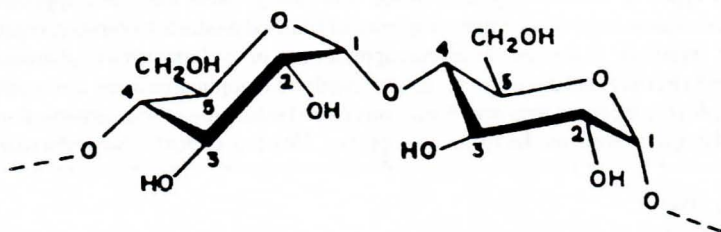


Fig. 1.—Diagrama esquemático de las moléculas de glucopiranososa unidas mediante enlaces  $\alpha(1,4)$ .

6, 7 y 8 residuos de D(+) glucopiranososa. Las ciclodextrinas tienen aspecto de cono truncado, debido a la disposición espacial característica de los distintos grupos funcionales de las unidades de glucosa. Como consecuencia de esta conformación, todos los grupos hidroxilo secundarios (correspondientes a los átomos de carbono  $C_2$  y  $C_3$  de las unidades de glucosa) se encuentran situados en uno de los bordes de la cavidad mientras que los hidroxilos primarios se encuentran en el otro extremo de la cavidad. La rotación de estos grupos -OH reduce el tamaño efectivo de la cavidad, haciendo que ésta posea un aspecto tronco-cónico más abierto hacia el lado de los hidroxilos secundarios tal y como se muestra de forma esquemática en la Figura 2. Esta disposición proporciona

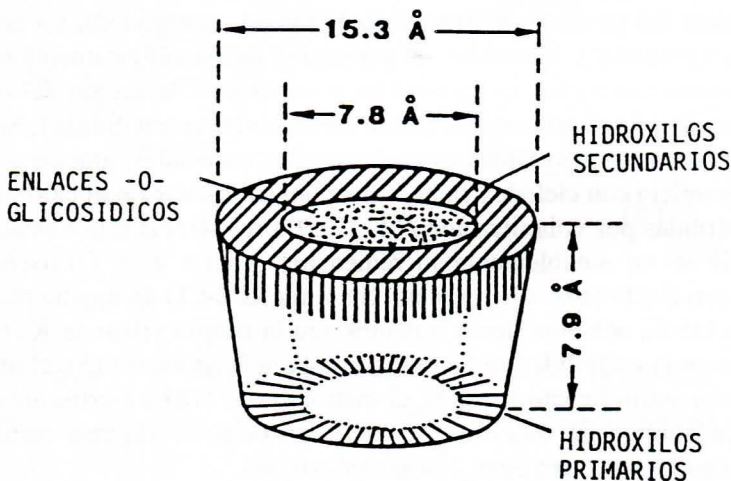


Fig. 2.—Esquema de la estructura de la β-CD.

al interior de la cavidad un carácter apolar, mientras que los bordes del tronco de cono son polares debido a la presencia de los grupos -OH, lo que hace que estos compuestos sean muy hidrosolubles. La característica común de las ciclodextrinas es su capacidad de formar complejos de inclusión tanto en estado sólido como en solución. La idea de que una molécula pueda “envolver” a otra formando un nuevo compuesto (aducto, complejo de inclusión) no fue aceptada hasta que se demostró, mediante difracción de rayos-X, la formación de un complejo de inclusión entre la α-ciclodextrina y el yodo (8, 9, 10). Los huéspedes de carácter hidrofóbico se alojarán en el interior de la cavidad a causa de las interacciones hidrofóbicas de tipo Van der Waals. Sin embargo también pueden establecerse interacciones con huéspedes polares gracias a la formación de puentes de hidrógeno con los -OH de los hidroxilos primarios.

Son múltiples las aplicaciones que el empleo de ciclodextrinas ha encontrado en la industria. La mayoría de ellas van encaminadas hacia la mejora de las



características del producto terminado así como al incremento de la estabilidad de los compuestos lábiles. Estas mejoras se consiguen gracias al proceso de inclusión, que puede considerarse como una auténtica encapsulación a nivel molecular del compuesto huésped, protegiéndolo del entorno en que se encuentra.

## APLICACIONES FARMACÉUTICAS

Tanto en la industria cosmética como en la farmacéutica, la formación de complejos con ciclodextrinas tiene como finalidad la de lograr la mejora de las características del producto terminado (solubilidad, estabilidad), así como la de facilitar la absorción y liberación de principios farmacológicamente activos.

Numerosas sustancias son inestables y sensibles a la acción del oxígeno y la incorporación de ciclodextrinas puede incrementar su estabilidad. Sin embargo, ciertos compuestos volátiles como los aceites esenciales, gracias a la formación del complejo con ciclodextrinas, aumentan su resistencia al calor, reduciéndose las pérdidas por volatilización (11, 12). La resistencia a la oxidación de la vitamina D se ve notablemente incrementada gracias a la formación de un complejo con  $\beta$ -CD (13). El complejo vitamina K<sub>3</sub>/ $\beta$ -CD es mucho más estable frente a la luz en solución ácida o neutra que la propia vitamina K<sub>3</sub> (14). Este incremento en la estabilidad se ha observado para la aspirina (15), el nitracepam (16), algunos antiinflamatorios (17), el metronidazol (18) y ciertos antibióticos (19). En la Tabla 1 se muestran las características de algunos complejos de inclusión de diversos fármacos con ciclodextrinas.

La formulación de compuestos farmacológicamente activos utilizando ciclodextrinas como vehículos, tiene como consecuencia la mayor hidrosolubilidad de ciertos antiinflamatorios, el fenobarbital (20) o la benzotiazida (21), lo que

Tabla 1.—Constantes de estabilidad (K) y estequiometría E (CD/fármaco) de los complejos de inclusión entre distintos fármacos y ciclodextrinas.

FÁRMACO	$\alpha$ -CD		$\beta$ -CD		$\gamma$ -CD	
	K	E	K	E	K	E
prostaglandina E1	1430		1700		530	(2/1)
prostaglandina E2	560		1270			
prostaglandina F <sub>2</sub>	250		1240		480	(1/1)
progesterona	150		13300	(2/1)	24000	(3/2)
testosterona	130		7540	(3/2)	16500	(2/1)
digoxina	180		11200		12200	(4/1)
digitoxina	290		17000		63600	(4/1)

incrementa de forma muy significativa la biodisponibilidad de estos principios activos. Las prostaglandinas son insolubles e inestables en agua; sin embargo, la formación de complejos de inclusión con  $\alpha$ - y  $\beta$ -CD conlleva un efecto estabilizador de estos compuestos, a la vez que una mayor resistencia a la degradación de los mismos en solución (22). Algunas ciclodextrinas modificadas (metilciclodextrinas) han demostrado ser útiles en la solubilización de distintas vitaminas liposolubles (A, D, E y K) (23) así como de derivados del ácido retinoico (24). En la Figura 3 se pueden ver los distintos tipos de complejos de la prostaglandina  $F_2$  con diferentes ciclodextrinas.

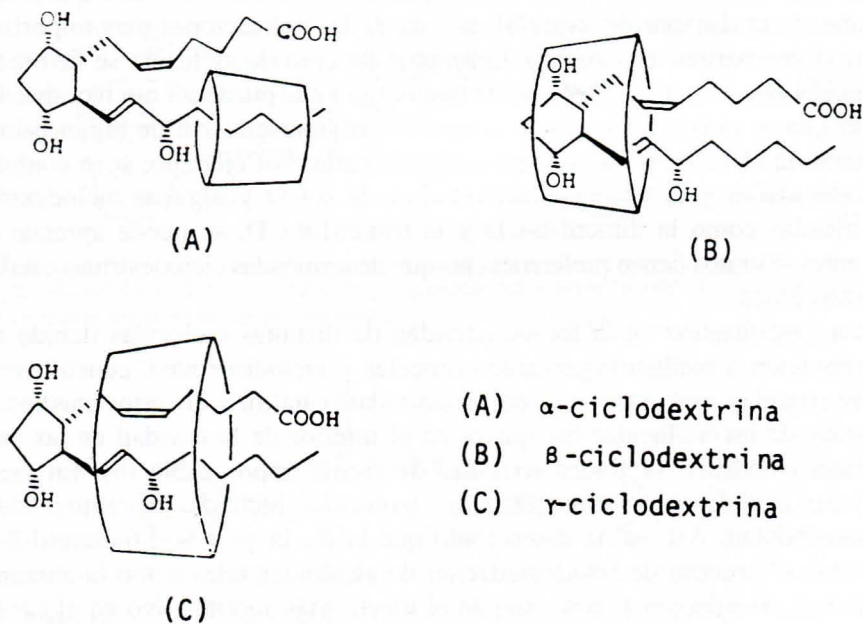


Fig. 3.—Esquema de los distintos complejos prostaglandina  $F_2$ /CD en solución acuosa.

Dadas las peculiares características de las ciclodextrinas y el importante papel que juegan en la mejora de las propiedades farmacotécnicas de numerosos principios activos, permitiendo la absorción de la forma libre de dichos principios a través de la mucosa intestinal, su estudio es de indudable interés, por lo que se han dedicado numerosas revisiones bibliográficas a este tema (25, 26, 27).

## APLICACIONES EN CATÁLISIS QUÍMICA

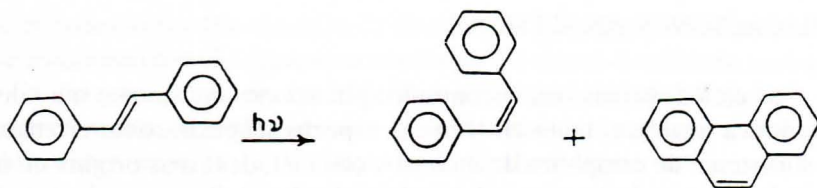
Las ciclodextrinas aceleran numerosas reacciones (oxidaciones, descarboxilaciones, eliminaciones...) (28). La catálisis por ciclodextrinas tiene lugar a



través de la formación de un complejo de inclusión con las moléculas implicadas en la reacción. Las reacciones catalizadas por ciclodextrinas muestran características cinéticas semejantes a las reacciones enzimáticas, entre las que se encuentran: saturación, catálisis, estereoespecificidad, formación de un complejo sustrato/catalizador e inhibición competitiva.

La inclusión de un determinado sustrato, así como la aproximación física de los distintos compuestos implicados en la reacción, gracias a la formación de complejos de inclusión, es una de las razones por las que las ciclodextrinas se consideran "sistemas biomiméticos" de forma semejante a los enzimas. El incremento en la velocidad de reacción para determinados sustratos que presentan una cierta disposición espacial, es una de las aplicaciones más importantes de las ciclodextrinas en catálisis. Gracias al proceso de inclusión se favorece la formación selectiva de algún producto mayoritario que puede ser estereoespecífico, por lo que se puede favorecer la formación enantioselectiva de algún isómero mediante la elección de la ciclodextrina adecuada. Por ejemplo, si se comparan las velocidades y la enantioselectividad de la  $\beta$ -CD y algunas ciclodextrinas modificadas como la dimetil- $\beta$ -CD y la trimetil- $\beta$ -CD, se puede apreciar que diferentes sustratos tienen preferencia porque determinadas ciclodextrinas catalicen sus reacciones.

La modificación en la fotorreactividad de distintas moléculas debido a su incorporación a medios organizados (micelas y ciclodextrinas), constituye una de las parcelas más atractivas de la actividad catalítica de estos medios. La inclusión de las moléculas huéspedes en el interior de la cavidad de las ciclodextrinas, modifica su fotorreactividad de forma imprevisible (6). En ciertos casos las ciclodextrinas protegen a las moléculas incluidas disminuyendo su fotosensibilidad. Así, se ha demostrado que la  $\beta$ -, la  $\gamma$ - y la 2,6-dimetil- $\beta$ -CD dificultan el proceso de fotodegradación de alcaloides tales como la emetina y la cefalina en solución acuosa, siendo el efecto más significativo en el caso de la dimetil- $\beta$ -CD (29). Sin embargo en otros casos, las ciclodextrinas catalizan ciertas reacciones fotoquímicas tales como procesos de dimerización e isomerización, gracias a la inclusión de moléculas huéspedes fotosensibles, como ocurre en el caso del *cis-trans* estilbena (Figura 4), los ésteres del ácido cinámico (Figura 5) (30) y la isomerización *cis-trans* del azobenceno (31). Tanto la  $\beta$ - como la  $\gamma$ -CD aceleran la fotodimerización del 2-antracenosulfonato. Sin embargo, mientras que en solución acuosa o en presencia de  $\gamma$ -CD se obtienen 4 isómeros con rendimientos cuánticos semejantes, en el caso de la  $\beta$ -CD sólo se obtiene uno de los isómeros, lo que indica que la cavidad de la  $\beta$ -CD fuerza la obtención de una configuración específica.



Benceno :	5%	91%	4%
$\beta$ -Ciclodextrina:	78%	22%	0%

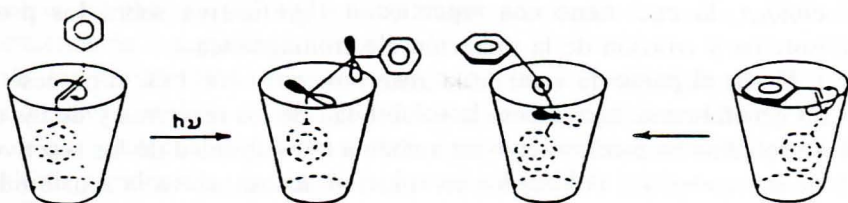
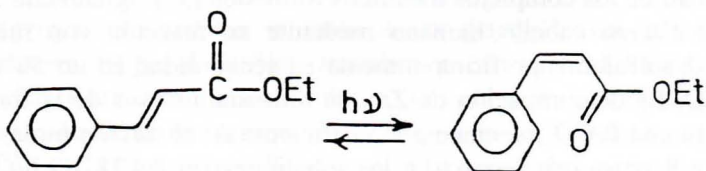


Fig. 4.—Reacción de fotoisomerización y ciclación del *trans*-estilbeno. Esquema del modo de isomerización en el seno de ciclodextrinas.



Benceno	50%	50%
$\beta$ -Ciclodextrina	49%	51%

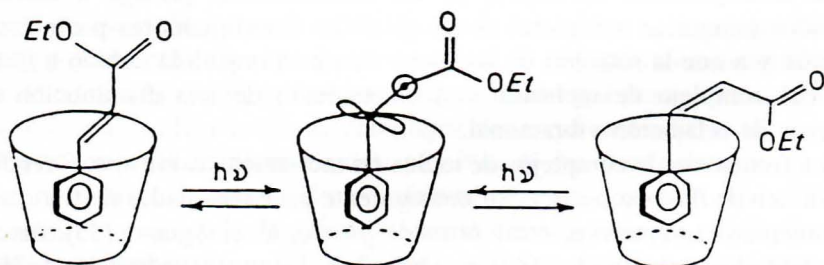


Fig. 5.—Reacción de fotoisomerización del cinamato de etilo. Esquema del modo de isomerización en el seno de ciclodextrinas.

## APLICACIONES ANALÍTICAS

Las ciclodextrinas han encontrado aplicaciones en campos muy diversos de la química analítica, tanto en técnicas espectroscópicas como cromatográficas. La formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas origina un incremento en la selectividad y sensibilidad del método analítico.

La cavidad de las ciclodextrinas posee una alta densidad electrónica, ya que los pares no enlazantes de los oxígenos glicosídicos se orientan hacia el interior de la cavidad, lo que le confiere un carácter de base de Lewis. La elevada densidad electrónica puede contribuir a desplazar los electrones de las moléculas incluidas, lo cual tiene una repercusión significativa sobre los procesos de absorción y emisión de la radiación electromagnética.

Desde el punto de vista de la *absorciometría UV-VIS*, el proceso de inclusión generalmente incrementa la solubilidad de los reactivos y de los compuestos problema en medios acuosos, aumenta la estabilidad de los reactivos lábiles y de sus complejos coloreados en solución acuosa, eleva la sensibilidad de las reacciones coloreadas y mejora la estabilidad de las reacciones coloreadas a través de la especificidad impuesta por la formación del complejo.

La formación de un complejo con  $\beta$ -CD con colorantes básicos tales como verde malaquita, cristal violeta o rodamina B, incrementa la sensibilidad y la estabilidad de los complejos metálicos formados (32). Igualmente, la determinación de Cu en cabello humano mediante su reacción con mesotetrakis (4-metoxi-3-sulfofenil) porfirina aumenta su sensibilidad en un 50% en presencia de  $\alpha$ -CD. La determinación de Zn con ditizona a través de la formación de un complejo con  $\beta$ -CD incrementa el coeficiente de absorción molar en aproximadamente 8 veces con respecto a las soluciones sin  $\beta$ -CD. La  $\beta$ -CD incrementa la sensibilidad, en la determinación de paladio con 1,2-diamino antraquinona.

Las *técnicas de luminiscencia*, en sus vertientes fluorimetría y fosforimetría han alcanzado un rápido desarrollo en análisis de rutina. Sin embargo, muchos compuestos luminescen muy débilmente en solución acuosa y la adición de ciclodextrinas conlleva una notable mejora en los procesos de emisión, debido a que la disposición estructural de las ciclodextrinas protege a los estados excitados (singulete o triplete) de los posibles amortiguadores presentes en la solución y a que la rotación de las moléculas está impedida debido a la formación del complejo de inclusión con el resultado de una disminución de los procesos de relajación vibracional.

La formación de complejos de inclusión incrementa asimismo el rendimiento cuántico de fluorescencia y por consiguiente las intensidades de fluorescencia de numerosos compuestos, entre otros de pireno, alucinógenos (33), narcóticos (34), bifenilos policlorados (35) o ANS (36), incrementándose las señales de fluorescencia en aproximadamente diez veces.

La sensibilidad para ciertas reacciones analíticas, aumenta gracias a la



adición de ciclodextrinas. Por ejemplo, la emisión de glutation y otros derivados tiólicos que reaccionan con el 7-fluorobenceno-2-oxa-1,3-diazol-4-sulfonato amónico, así como la determinación de aminoácidos por reacción con el cloruro de dansilo, se incrementa aproximadamente en ocho veces con respecto a la alcanzada en soluciones acuosas (37). También se ha demostrado la mejora de la sensibilidad en la determinación analítica de escandio con quinizarina (1,4-dihidroxiantraquinona) a través de la formación de un complejo con  $\beta$ -CD (38).

Las ciclodextrinas incrementan asimismo la intensidad de emisión de las reacciones quimioluminiscentes. Esta mejora puede atribuirse a distintos factores, entre los que se encuentran un aumento de la velocidad de la reacción y una mayor eficacia del proceso de excitación y protección de las especies emisoras de los fenómenos de "quenching".

Una de las aplicaciones más relevantes de las ciclodextrinas es la de permitir la observación de la fosforescencia a temperatura ambiente (RTP). Ello es debido a que protegen el estado triplete excitado de las moléculas de los amortiguadores presentes en la solución y en el caso de la fosforescencia, del "quenching" del oxígeno molecular. Consecuentemente, se puede detectar la fosforescencia del naftaleno, bromonaftaleno, acenafteno, fenantreno, pireno y criseno entre otros (39). También se ha descrito la emisión de fosforescencia a temperatura ambiente (RTP) para ciertos heterociclos como quinolina e isoquinolina (40).

Las ciclodextrinas se utilizan también en la detección luminiscente de compuestos volátiles. El papel de filtro tratado con ciclodextrinas es capaz de capturar de forma eficaz compuestos volátiles tales como 1- y 2-naftol, permitiendo la observación de la fosforescencia de los mismos. Asimismo, las mezclas  $\beta$ -CD/NaCl (30:70) originan señales muy intensas de los compuestos que se van a determinar, sin necesidad de utilizar como recurso el efecto de átomo pesado para mejorar el proceso de fosforescencia. Esta metodología permite la determinación de ácido *p*-aminobenzoico y fenantreno (41). La mezclas de  $\alpha$ -CD/NaCl, se han utilizado en la detección mediante RTP, de distintos compuestos adsorbidos en estas matrices sólidas entre otros 4-fenilfenol o fenantreno (42).

En la revisión de Li y Purdy (32), se recogen las aplicaciones de las ciclodextrinas en otras técnicas instrumentales. A continuación comentaremos algunas de ellas. Las ciclodextrinas se utilizan como reactivos quirales en RMN. En muchos casos, la formación de complejos de inclusión modifica las características quirales y los desplazamientos químicos de dos enantiómeros. La diferencia en los desplazamientos químicos de dos diastereoisómeros puede utilizarse para la determinación de la pureza isomérica de las muestras. El estudio por  $^{19}\text{F}$ -RMN de los complejos formados con diastereoisómeros de aminoácidos fluorados y  $\alpha$ -CD muestra que los desplazamientos químicos de los derivados formados con isómeros R aparecen a campos más altos que los correspondientes isómeros S.

La formación de complejos de inclusión puede modificar de forma muy significativa las *características redox* de las moléculas incluidas. En un estudio electroquímico sobre diversos derivados de *p*-hidroxibenzoatos se observa que la presencia de  $\beta$ -CD implica un descenso en la altura del pico a la vez que un desplazamiento hacia potenciales más negativos en el valor del potencial de semionda. Nagase y col. (43) han desarrollado sensores voltamétricos capaces de responder a compuestos aniónicos, entre los que se encuentran los isómeros de posición de *m*-isofталato, *p*-tereftalato y *o*-ftalato.

Las ciclodextrinas incrementan la selectividad de las *separaciones cromatográficas* debido a que el proceso de partición es más selectivo que el que se produce entre el eluyente y la fase estacionaria por sí sola. Se ha descrito la separación de fenoles, naftoles y derivados de ácido benzoico, adicionando  $\alpha$ -CD a la fase móvil. La  $\beta$ -CD es una de las más utilizadas por el tamaño de su cavidad; sin embargo tiene como inconveniente su baja solubilidad en  $H_2O$ . Algunos polímeros más hidrosolubles de  $\beta$ -CD se han utilizado para mejorar las separaciones de barbitúricos, derivados de trifenilmetano, derivados de nitroestireno y diversos aminoácidos y alcaloides por TLC (32).

En HPLC, la aplicación de las ciclodextrinas ha alcanzado un éxito espectacular. Su incorporación a la fase móvil permite mejorar las separaciones, dado que son solubles en agua y proporcionan una complejación reversible y selectiva. Además son estables y no muestran absorción en la región UV-VIS del espectro electromagnético. Estas características hacen que por regla general las ciclodextrinas se utilicen en procesos de separación en fase inversa, logrando la separación de isómeros, diastereoisómeros y enantiómeros (44). La elevada resolución que se obtiene se debe a las diferencias en las constantes de estabilidad de los complejos en la fase móvil y a la diferente adsorción de estos complejos sobre la fase estacionaria (32). Por ello las ciclodextrinas se han empleado con buenos resultados en la separación de compuestos quirales, entre otros barbitúricos y mefenitoina, fenilalanina (45),  $\alpha$ -pireno, pseudoefedrina (46), *o*-, *m*-, *p*-nitroanilina (47), trimeprazina, esteroides, ácidos biliares y sus correspondientes derivados fluorescentes y aminoácidos dansilados (48), entre otros ejemplos.

Las ciclodextrinas se pueden encontrar también incorporadas como soportes a las fases estacionarias, por ejemplo, resinas que contienen ciclodextrinas como, por ejemplo, la CD-poliuretano o las de CD-polivinil alcohol, que se han utilizado en la separación de aminoácidos y alcaloides (49, 50, 51). Posteriormente se han desarrollado fases estacionarias de ciclodextrinas enlazadas a sílice (52) que proporcionan una muy buena resolución en la separación de isómeros (Figura 6). Dadas las buenas características de estas fases estacionarias, es previsible que en los próximos años se incremente y diversifique el empleo de este tipo de columnas si se reduce el costo actual de las mismas.



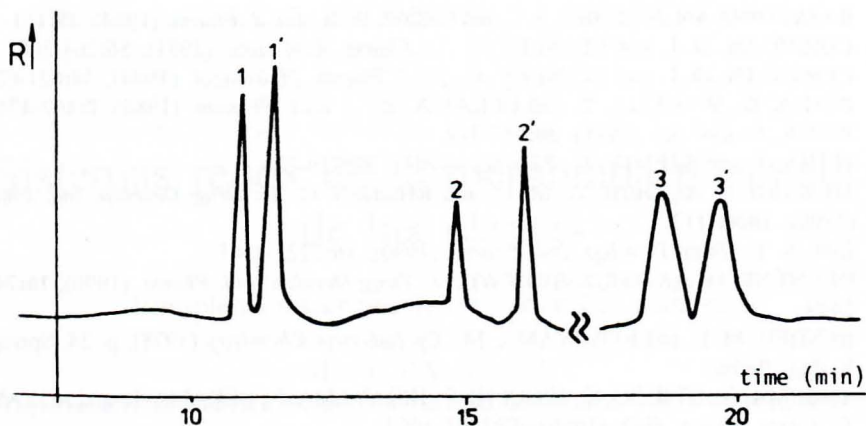


Fig. 6.—Separación cromatográfica de los enantiómeros de distintos metalocenos en una columna de  $\beta$ -CD. 1 y 1': ( $\pm$ ) S-(1-ferrocenil etil) tioetanol. 2 y 2': ( $\pm$ ) 1-ferrocenil-1-metóxietano. 3 y 3': ( $\pm$ ) 1-rutenocenil etanol.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) SCHARDINGER, F.: *Z. Unters. Nahr. Genussm.* (1903), **6**:865-880.
- (2) SCHARDINGER, F.: *Wien. Klin. Wochenschr.* (1904), **17**:207-209.
- (3) FREUDENBERG, K. and CRAMER, F.: *Chem. Ber.* (1950), **83**:296-304.
- (4) BORCHERT, W.: *Heidelberg Beitr. Mineral.* (1952), **3**:124-130.
- (5) FRENCH, D.: *Adv. Carbohydr. Chem.* (1957), **12**:189-260.
- (6) SAENGER, W.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* (1980), **19**:344-362.
- (7) SICARD, P. J. and SANIEZ, M. H.: "Biosynthesis of Cycloglycosyltransferase and Obtention of Its Enzymatic Reaction Products", en Duchêne, D. (Ed.): "*Cyclodextrins and their industrial uses*" (1987), p. 75, Editions de Santé, Paris.
- (8) CRAMER, F.: *Chem. Ber.* (1951), **84**:855-859.
- (9) DIETRICH, H. V. and CRAMER, F.: *Chem. Ber.* (1954), **87**:806-817.
- (10) SAENGER, W.: *Angew. Chem.* (1980), **19**:344-362.
- (11) SZEJTLI, J., SZENTE, L. and BANKY-ELÖD, E.: *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* (1979), **101**:27-46.
- (12) SZENTE, L., APÓSTOL, I. and SZEJTLI, J.: *Pharmazie* (1985), **39**:697-699.
- (13) SZEJTLI, J., BOLLA-PUTSZTAI, E., SZABO, P. and FERENCZY, T.: *Pharmazie* (1980), **35**:779-787.
- (14) SZEJTLI, J., BOLLA-PUTSZTAI, E. and KAJATAR, M.: *Pharmazie* (1982), **37**:725-728.
- (15) NAKAI, Y., YAMAMOTO, K., TERADA, K. and AKIMOTO, K.: *Chem. Pharm. Bull.* (1984), **32**:685-691.
- (16) MØLLGAARD ANDERSEN, F. and BUNDGAARD, H.: *Arch. Pharm. Chem. Sci. Ed.* (1982), **10**:80-87.
- (17) HAMADA, Y., NAMBU, N. and NAGAI, T.: *Chem. Pharm. Bull.* (1975), **23**:1205-1211.
- (18) MØLLGAARD ANDERSEN, F. and BUNDGAARD, H.: *Int. J. Pharm.* (1984), **19**:189-197.