

Beatriz Pose Vilarnovo
Santiago de Compostela, 2005

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1.-Las formas de liberación modificada.....	3
1.1.-Justificación e importancia en la terapéutica actual.....	3
1.2.-Alternativas tecnológicas	4
2.-Los comprimidos matriciales.....	6
2.1.-Ventajas y limitaciones de las matrices hidrofílicas.....	7
2.2.-Los éteres de celulosa.....	9
2.2.1.-La hidroxipropilmetilcelulosa	11
2.3.-Liberación de principios activos a partir de matrices hidrofílicas	14
2.3.1.-El proceso de difusión.....	18
2.3.2.-Factores que afectan a la liberación del fármaco a partir de matrices hidrofílicas	22
2.3.2.1.-Variables dependientes del proceso de elaboración	22
2.3.2.2.-Variables dependientes del fármaco y de los excipientes.....	23
2.3.2.3.-Otras variables.....	25
3.-Las ciclodextrinas	26
3.1.-Estructura de las ciclodextrinas	26
3.2.-Propiedades de las ciclodextrinas	31
3.3.-Complejos de inclusión con ciclodextrinas	33
3.3.1.-Procedimientos de preparación	37
3.3.2.-Caracterización	39
3.2.2.1.-Detección de la formación del complejo en disolución	39
3.2.2.2.-Detección de la formación del complejo en estado sólido	44
3.4.-Mejora de la eficiencia de la complejación.....	46
3.4.1.-Modificación de la estructura de las ciclodextrinas	46
3.4.2.-Efecto de la ionización de fármacos	47
3.4.3.-Adición de ácidos carboxílicos.....	48
3.4.4.-Adición de polímeros hidrosolubles	49
3.4.5.-Combinación de métodos.....	50
3.5.-Aplicaciones de las ciclodextrinas.....	50
4.-Utilización conjunta de ciclodextrinas y polímeros hidrofílicos en el desarrollo de formas de liberación modificada	55
II. BIBLIOGRAFÍA	59

III. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS.....	69
IV. CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN DE DICLOFENACO SÓDICO Y SULFAMETIZOL CON β- E HIDROXIPROPIL-β-CICLODEXTRINAS.....	75
1.- <i>Interaction of diclofenac sodium with β- and hydroxypropyl-β-cyclodextrin in solution. S.T.P. Pharma Sci. 9: 231-236, 1999.</i>	<i>77</i>
2.- <i>Improvement of water solubility of sulfamethizole through its complexation with β- and hydroxypropyl-β-cyclodextrin. Characterization of the interaction in solution and in solid state. Eur. J. Pharm. Sci. 13: 325-331, 2001.</i>	<i>85</i>
V. COMPORTAMIENTO DE LOS COMPLEJOS DE INCLUSIÓN DE DICLOFENACO SÓDICO Y SULFAMETIZOL CON β- E HIDROXIPROPIL-β-CICLODEXTRINAS EN PRESENCIA DEL POLÍMERO HIDROXIPROPILMETILCELULOSA: SISTEMAS MULTICOMPONENTE.....	95
1.- <i>Sulphamethizole-cyclodextrin-hydroxypropylmethyl cellulose multicomponent complexes. J. Therm. Anal. Cal. 68: 657-667, 2002.</i>	<i>97</i>
2.- <i>Effect of hydroxypropylmethylcellulose on the complexation of diclofenac with cyclodextrins. J. Therm. Anal. Cal. 73: 661-670, 2003.</i>	<i>111</i>
VI. FORMULACIÓN DE DICLOFENACO SÓDICO Y DE SULFAMETIZOL CON β- E HIDROXIPROPIL-β-CICLODEXTRINAS EN COMPRIMIDOS MATRICIALES DE HPMC.....	123
1.- <i>Modulating drug release with cyclodextrins in hydroxypropylmethylcellulose gels and tablets. J. Control. Release 94, 351-363, 2004.</i>	<i>125</i>
VII. CONCLUSIONES.....	139

I. INTRODUCCIÓN

1. LAS FORMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA

1.1. Justificación e importancia en la terapéutica actual

Con frecuencia la efectividad de los fármacos que se administran en formas convencionales, es decir, aquéllas que simplemente actúan como soporte mecánico y ceden el principio activo de manera inmediata, se ve limitada por su capacidad para atravesar las barreras fisiológicas, por sus propiedades físico-químicas o por su toxicidad. En muchos casos, el desarrollo de sistemas de liberación modificada permite solventar estas limitaciones y, en consecuencia, mejorar el efecto terapéutico (*Bibby y col., 2000*).

Dentro de las formas de liberación modificada se suelen distinguir dos tipos:

- *Formas de liberación prolongada*, que proporcionan un control de la velocidad de liberación.
- *Formas de liberación retardada*, que modulan el momento en el que se inicia la liberación y el rango durante el que se prolonga.

En general, con las formas de liberación modificada se consigue una menor fluctuación en los niveles plasmáticos de fármaco, y con ello, un efecto terapéutico continuo y prolongado, lo que conduce a un control más rápido de la enfermedad. Además, las pautas posológicas son más fáciles de seguir por el paciente, lo que resulta muy importante para mejorar el cumplimiento terapéutico en tratamientos crónicos. Además, la incidencia y la intensidad de efectos secundarios (siempre que no se produzca una liberación brusca de la dosis) es menor debido a que se administran cantidades más reducidas de principio activo durante el tratamiento y a que se reducen las oscilaciones en los niveles plasmáticos.

Por tanto, uno de los objetivos primordiales de la Tecnología Farmacéutica actual es el desarrollo de formas de liberación modificada de

los fármacos, que optimicen la respuesta terapéutica y minimicen los efectos secundarios.

1.2. Alternativas tecnológicas

Los dispositivos de los que se dispone en la actualidad para conseguir una cesión gradual del principio activo se pueden clasificar, desde el punto de vista de su estructura, en los grupos que se describen a continuación.

1.2.1. Formas monolíticas

1.2.1.1. Sistemas reservorio

Están constituidos por una membrana polimérica que rodea un reservorio de fármaco, siendo el mecanismo principal de cesión del principio activo la difusión a través del polímero (Fig.-1). Los factores que influyen en la velocidad de cesión son el área y el espesor de la membrana, el coeficiente de difusión y el gradiente de concentración.

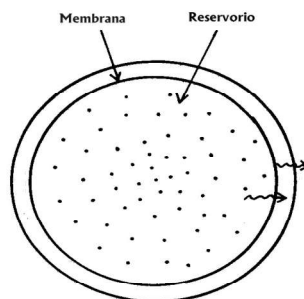


Figura 1 .- Esquema de un sistema reservorio.

1.2.1.2. Sistemas matriciales

El principio activo se encuentra disperso en una red polimérica. La cesión se produce por dos mecanismos simultáneos: la disolución del principio activo, su difusión a través de la matriz y, en el caso de las

matrices hidrofílicas, la erosión y desgaste de la capa de gel que se va formando con la hidratación del polímero.

1.2.1.3. Sistemas osmóticos

El principio activo está rodeado por una membrana semipermeable dotada de un orificio a través del cual se produce el bombeo del fármaco al exterior, como consecuencia de la diferencia de presión osmótica. La velocidad de cesión se puede modular variando el espesor de la membrana o el tamaño del orificio.

1.2.2. Sistemas multiparticulares

Se trata de partículas recubiertas o gránulos de disolución lentos que son posteriormente incluidos en cápsulas gelatinosas rígidas o en comprimidos. Las variables que regulan el proceso son la solubilidad y proporción de polímero y el espesor de la cubierta.

2. LOS COMPRIMIDOS MATRICIALES

Se han llevado a cabo notables esfuerzos para diseñar y desarrollar formas de dosificación de liberación modificada con las que se pueda conseguir que la velocidad de liberación de fármaco se retrase y se ajuste a un perfil adecuado a las características de diferentes fármacos. Las formas monolíticas matriciales representan una aproximación interesante tanto por la simplicidad de su tecnología, como por lo reducido de su costo.

Bajo la denominación de los comprimidos matriciales o tipo matriz se incluyen los siguientes sistemas:

- *Matrices inertes o plásticas*, que no se degradan ni modifican tras la administración; la liberación del fármaco se produce por difusión del mismo a través del polímero.
- *Matrices hidrofílicas*, el polímero al entrar en contacto con un medio líquido se hidrata formando una capa de gel; la liberación del fármaco se produce por difusión del principio activo a su través.
- *Matrices lipídicas*, la matriz se biodegrada a la vez que se libera el fármaco; el mecanismo de liberación podría entenderse como una combinación del propio proceso de biodegradación y la difusión a través del polímero.

Los comprimidos tipo matriz hidrofílica son sistemas en los que el control de la liberación de principio activo se consigue gracias a la barrera de gel que se forma, tras la hidratación del polímero, cuando se expone la forma sólida al medio acuoso. Con ello se persigue obtener un perfil de cesión modificada.

El desarrollo de estos sistemas se ha visto facilitado por la existencia en el mercado de una gran cantidad de polímeros que cuentan con la aprobación de las autoridades sanitarias para su uso en formas

orales. Los polímeros utilizados en la formulación de matrices hidrofílicas pueden encuadrarse en tres grandes grupos:

- Polímeros naturales o semisintéticos no celulósicos: agar-agar, alginatos, gomas, quitosan, escleroglucano, etc.
- Polímeros derivados del ácido acrílico, comercializados bajo el nombre de Carbopol®.
- Derivados de celulosa, se trata de derivados semisintéticos de la celulosa; los más utilizados son los no iónicos, que han encontrado una gran aplicación en el campo de los sistemas matriciales hidrofílicos (*Alderman, 1984; Vázquez y col., 1992; Sung y col., 1996*). Entre ellos la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) ocupa un lugar destacado.

Además, la formulación de comprimidos matriciales puede requerir la adición de excipientes, adicionados ya sea con el fin de aumentar el tamaño del comprimido o de modificar la velocidad de liberación (*Varma y col., 2004*).

2.1. VENTAJAS Y LIMITACIONES DE LAS MATRICES HIDROFÍLICAS

Las matrices hidrofílicas representan hoy día una alternativa tecnológica y flexible y muy utilizada en el desarrollo de formas orales de liberación sostenida. A continuación se comentan las principales ventajas que ofrece su empleo:

- 1) Requieren la utilización de proporciones bajas de excipientes, lo que permite la incorporación de elevadas cantidades de principio activo (*Ranga Rao y Padmalatha Devi, 1988*).
- 2) Su administración no implica riesgos de liberación brusca de una parte importante de la dosis (*Lucisano y col., 1989*).

- 3) Para su producción industrial se pueden aplicar los procedimientos habituales de elaboración de comprimidos, como la compresión directa cuya tecnología es relativamente sencilla. Con ello se pueden prevenir interacciones fármaco-excipiente y la degradación del principio activo que se pudieran producir durante el proceso de granulación.
- 4) Las matrices hidrofílicas son bioerosionables, con lo que se evitan los problemas que puedan derivarse de la acumulación en el tracto gastrointestinal de los comprimidos agotados, que caracterizan a las matrices inertes.
- 5) Ofrecen la posibilidad de conseguir un amplio rango de perfiles de liberación mediante un adecuado control del proceso de elaboración.

Entre las razones que pueden desaconsejar la formulación de un medicamento en una forma oral de liberación modificada, como las matrices hidrofílicas, se cuentan las siguientes:

- 1) Cuando las dosis requeridas de principio activo son elevadas, la formulación en este tipo de sistemas no es viable debido al incremento de volumen que supone para la forma farmacéutica.
- 2) Los principios activos con solubilidad muy alta o muy baja son malos candidatos para su formulación en matrices hidrofílicas. Cuando la solubilidad es muy baja, la escasa cantidad de fármaco disuelto condiciona la biodisponibilidad, y por tanto, no tiene sentido retrasar más la velocidad de liberación. Por otra parte, si la solubilidad es muy alta, es difícil conseguir un perfil de cesión adecuado.
- 3) Cuando el principio activo tiene una semivida de eliminación muy larga o muy corta, se complica su formulación en este tipo de sistemas porque, en el primer caso, se incrementa el riesgo de

toxicidad o, en el segundo, se ve comprometida la biodisponibilidad.

- 4) Si la metabolización presistémica del fármaco es importante o su absorción está limitada a una zona determinada del aparato digestivo, su formulación en formas de liberación modificada también plantea dificultades.
- 5) El desarrollo de formas de liberación modificada con principios activos con un índice terapéutico bajo resulta complejo.
- 6) No resulta fácil, tampoco, formular en este tipo de sistemas principios activos con solubilidad fuertemente dependiente del pH, por la dificultad que supone conseguir perfiles de liberación independientes de las condiciones del medio.

2.2. LOS ÉTERES DE CELULOSA

El interés de los derivados de celulosa en Tecnología Farmacéutica se debe, entre otras razones, fundamentalmente a su utilidad para el desarrollo de formas de liberación modificada de administración oral, a las que los principios activos se pueden incorporar tanto disueltos como en fase sólida (*Addicks y col., 1990*).

Los polímeros están disponibles en el mercado en forma de polvos o granulados, con diferente tamaño de partícula. Se caracterizan por ser térmicamente estables y muy resistentes a la acción de los microorganismos. Su estabilidad frente a los sistemas enzimáticos es también elevada, sobre todo en variedades con un alto grado de sustitución, y esto les permite mantener su estructura inalterada durante prolongados períodos de tiempo y atravesar el tracto gastrointestinal sin sufrir transformaciones.

Entre las propiedades que han hecho de los éteres de celulosa los candidatos idóneos para la formulación de matrices hidrofílicas cabe destacar las siguientes:

- a) Son directamente compresibles.
- b) Permiten la incorporación de una relativamente alta proporción de principio activo.
- c) Se hidratan fácilmente a temperatura corporal.
- d) Pequeños cambios en el proceso de fabricación no afectan de una manera significativa a la cesión del fármaco.

La adecuada selección de la variedad de polímero es fundamental para alcanzar el éxito en la formulación de una matriz hidrofílica debido a que poseen propiedades gelificantes diferentes. La relación entre la viscosidad de los geles a que dan lugar los diferentes polímeros y la velocidad de cesión de los principios activos desde las matrices ha sido estudiada por numerosos autores (*Ranga Rao y col., 1990; Wan y col., 1991; Pérez Marcos y col., 1994; Tahara y col., 1995; Gao y col., 1996; Sung y col., 1996; Samani y col., 2003*). Para conseguir un adecuado ajuste de la velocidad de cesión se pueden utilizar mezclas de polímeros. Por ejemplo, se han propuesto mezclas de éteres de celulosa no iónicos con efectividades viscosizantes diferentes y mezclas de variedades iónicas y no iónicas con el fin de conseguir perfiles de liberación de orden cero (*Ranga Rao y col., 1990; Vázquez y col., 1992*). También se ha estudiado el empleo de mezclas de éteres de celulosa con polímeros de otra naturaleza (*Bonferoni y col., 1993*).

La gelificación de la matriz está condicionada por el proceso de captación de agua por la forma sólida. Cuando se incrementa la proporción de polímero, la consistencia del gel aumenta (*Wan y col., 1993*). Por lo tanto, la proporción de polímero es la variable que afecta de manera más importante a la cesión del principio activo a partir de las matrices. Su incidencia, directamente deducible de la ecuación de

Higuchi (*Higuchi, 1963*) en el caso de fármacos hidrosolubles, se justifica cuando la solubilidad es baja a través de sus efectos sobre la consistencia del gel (*Gómez Amoza y col., 1991; Pérez Marcos y col., 1991*).

El carácter hidrofílico de los éteres de celulosa está fuertemente condicionado por la naturaleza de sus sustituyentes y por su grado de sustitución molar. El **grado de sustitución** (DS), que representa el n mero medio de sustituyentes unidos a los grupos hidroxilo de cada unidad de glucosa anhidra, es un parámetro de gran interés para la identificación de las distintas variables. También pueden formarse cadenas laterales al producirse sustituciones adicionales sobre los grupos hidroxialquilo. El parámetro **sustitución molar** (MS) es un índice del n mero medio de moléculas de reactivo alquilante que se han incorporado por cada unidad de glucosa anhidra. La relación entre ambos parámetros, MS y DS, proporciona información sobre la longitud media de las cadenas laterales.

2.2.1. LA HIDROXIPROPILMETILCELULOSA

La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) es un excipiente de gran uso por su versatilidad para la formulación de comprimidos tipo matriz. Muchos autores han estudiado la HPMC como agente capaz de controlar la cesión en formas orales empleando una sola variedad del polímero o combinaciones de distintas variedades o incluso, mezclas con otros polímeros químicamente diferentes o con otros excipientes (*Mitchell y col., 1993^a, 1993^b; Pérez Marcos y col., 1994; Bonferoni y col., 1995; Sung y col., 1996; Gao y col., 1996; Tros de Ilarduya y col., 1997; Eyjolfsson, 1999*).

La HPMC está disponible desde los años 60 en diferentes variedades con distintos pesos moleculares y grados de sustitución (Tabla 1).

Variedad	Viscosidad
Methocel E-tipo 2910	3-4000 cps
Methocel F-tipo 2906	50-4000 cps
Methocel K-tipo 2208	3-100000 cps

Tabla 1.- Nombres registrados y rango de viscosidades (viscosímetro rotacional) de las hidroxipropilmetilcelulosas más empleadas.

Dentro de cada variedad de HPMC existen dos grupos que se diferencian en función de su peso molecular (PM):

- HPMC de alto PM (MH): variedades K30 y K50.
- HPMC de bajo PM (ML): variedades K4 y K15.

Densidad aparente (g/cm³)	Densidad real (g/cm³)	Temperatura de oscurecimiento (°C)	Temperatura de carbonización (°C)	Temperatura de ablandamiento (°C)
0.25-0.70	1.39	190-200	225-230	-

Tabla 2.- Algunas propiedades de la hidroxipropilmetilcelulosa (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2003)

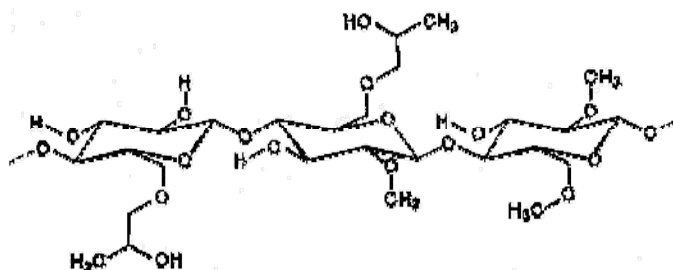


Figura 2.- Estructura química de la hidroxipropilmetilcelulosa.

Cuando la HPMC (Fig.-2) entra en contacto con el agua, interacciones polímero-agua reemplazan las interacciones polímero-polímero. Las moléculas poliméricas adoptan una configuración más o menos extendida dependiendo de su grado de viscosidad, aumentando también su volumen hidrodinámico. Las HPMCs de alto grado de viscosidad están formadas por macromoléculas de gran tamaño y producen mucílago de alta viscosidad (*Wan y col., 1991*).

La hidratación de la HPMC se ve afectada de forma muy significativa por la temperatura (*Lapidus y Lordi, 1968; Sarkar, 1979*). A medida que la temperatura del gel se incrementa, el polímero pierde su agua de hidratación, lo que ocasiona un descenso de la viscosidad relativa. El efecto de la temperatura sobre la viscosidad de las dispersiones acuosas de los éteres de celulosa es consecuencia de las interacciones que se producen, en disolución, entre las macromoléculas y el agua (*Mitchell y col., 1993^a, 1993^b*). A medida que el polímero pierde agua de hidratación tienen lugar interacciones polímero-polímero, primariamente causadas por los sustituyentes metoxi -de naturaleza hidrofóbica- originando un marcado incremento en la viscosidad relativa. Es lo que se conoce como **punto gelificación térmica**. Otro fenómeno que se observa en los geles de HPMC cuando aumenta la temperatura, es la precipitación de las macromoléculas, lo que se puede poner de manifiesto por medidas de transmisión de luz (*Sarkar, 1979*). Las temperaturas a las que la transmisión de luz de una dispersión de polímero en agua alcanza el 97.5 y el 50 % se conocen como **temperatura de precipitación incipiente** y “**cloud point**”, respectivamente.

La distribución de las moléculas de agua en la cadena celulósica condiciona de forma importante las propiedades fisico-químicas del polímero y de las formas de dosificación de las que entra a formar parte. La estabilidad química y las propiedades de flujo y de compactación

dependen en gran medida de su contenido en humedad (*Malamataris y col., 1994*).

2.3. LIBERACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO A PARTIR DE MATRICES HIDROFÍLICAS

La liberación de un fármaco a partir de una matriz hidrofílica depende, en gran medida de su solubilidad. Así, moléculas muy solubles se liberarán siguiendo una cinética de raíz cuadrada justificada por el aumento de las zonas de difusión del principio activo con el tiempo.

Cuando el comprimido matricial entra en contacto con el medio de disolución, el principio activo que se encuentra en superficie se disuelve y se produce una rápida y brusca liberación de una pequeña parte de la dosis dando lugar a lo que se conoce como efecto “burst” (Fig.- 3).

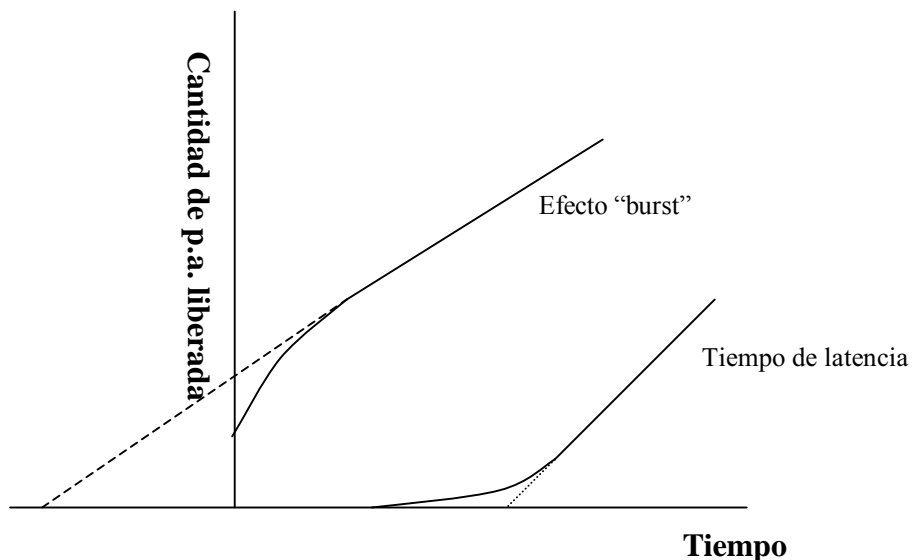


Figura 3 .- Representación esquemática del efecto “burst”.

Progresivamente, el comprimido va perdiendo su forma y adquiriendo una estructura más o menos biconvexa. A medida que en la superficie de los comprimidos el principio activo y los excipientes se van disolviendo, se forman numerosos poros de gran tamaño por donde penetra agua hacia el interior del sistema, que permanece en las fases iniciales relativamente seco y sin poros (*Bain y col, 1991*).

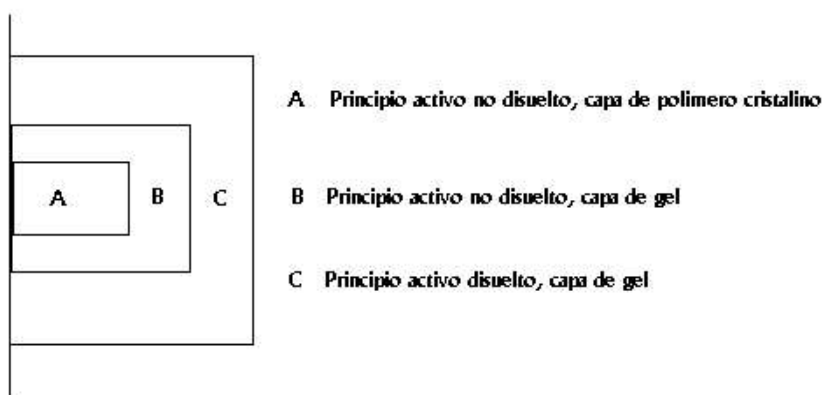


Figura 4.- Representación esquemática de los frentes de erosión (C), difusión o disolución (B) e hinchamiento (A) (Colombo y col., 1995).

La penetración del agua en la matriz a través de los poros provoca un proceso de relajación del polímero que se manifiesta por la gelificación e hinchamiento del sistema matricial. Se pueden distinguir tres frentes o capas (Fig.-4):

- a. Un frente de hinchamiento, situado en la interfase polímero seco-gel; desde este frente avanzará progresivamente el proceso de hidratación del polímero.
- b. Un frente de difusión, que marca el límite entre la zona de principio activo no disuelto y la capa de gel en la que se encuentra disuelto.

- c. Un frente de erosión, que se sitúa en la interfase gel-medio de disolución y a partir del cual las cadenas de polímero se individualizan produciéndose la disolución del sistema matricial.

A medida que las moléculas de agua van penetrando en los intersticios de la red polimérica, las moléculas de agua atrapadas en el polímero provocan la hidratación del mismo, se empieza a formar el gel y el sistema aumenta de tamaño debido a que las cadenas poliméricas empiezan a desdoblarse y a solvatar; es decir, se produce un aumento del volumen hidrodinámico de las macromoléculas del sistema (*Wan y col., 1991*). Las interacciones polímero-agua se van haciendo más intensas que las interacciones polímero-polímero. Se trata, fundamentalmente, de enlaces de hidrógeno. Las fuerzas de atracción que mantienen los segmentos de polímero unidos se van reduciendo.

Una vez alcanzada la fase estacionaria, continúa la penetración del medio hacia el interior del comprimido produciéndose, al mismo tiempo, la solubilización del polímero. En este momento la distancia entre los frentes de difusión y de erosión se estabiliza. Esta distancia depende de la solubilidad del principio activo y de la velocidad con la que se desplazan los frentes de difusión y erosión. Por último, el frente de agua alcanza la zona central del comprimido y la concentración del principio activo en el medio que ha penetrado en la matriz se hace menor que el coeficiente de solubilidad. A partir de este momento, la velocidad decae de forma progresiva.

La cesión del fármaco a partir de este tipo de sistemas se produce básicamente gracias a dos mecanismos:

1. Erosión de las capas externas de gel.
2. Disolución del principio activo en el medio y difusión a través de la barrera de gel que se forma como consecuencia de la hidratación de los componentes hidrofílicos.

Teniendo en cuenta la naturaleza del principio activo y la capacidad de gelificación del polímero hidrofílico, se puede explicar el predominio de uno u otro mecanismo de liberación. Si se trata de fármacos poco solubles y de geles poco consistentes, la cesión se producirá casi exclusivamente por erosión superficial siguiendo una cinética de orden cero. Si el principio activo es muy hidrosoluble, el mecanismo mayoritariamente responsable de la liberación será la difusión (*Malamataris y Ganderton, 1991*).

Es tal la complejidad de los procesos implicados en el proceso de liberación y tantos los factores que pueden influir sobre las principales variables, que hasta la fecha no se han desarrollado modelos adecuados que permitan describirlo de manera completa. Se dispone de aproximaciones matemáticas condicionadas por el grado de adaptación de los sistemas a los supuestos establecidos como punto de partida para el desarrollo del modelo. Para desarrollarlos se han tomado únicamente en consideración los mecanismos mayoritariamente responsables del control de la liberación.

Higuchi (1963) estudió la liberación de fármacos hidrosolubles incorporados a sistemas matriciales heterogéneos a través de superficies planas. La aproximación es válida si el proceso de liberación se produce sólo por difusión.

Korsmeyer y col. (1983) propusieron la utilización de la siguiente expresión exponencial para el estudio de la liberación del principio activo a partir de matrices poliméricas:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^n$$

En esta expresión M_t / M_∞ es la fracción liberada de principio activo, t es el tiempo, k es una constante que incorpora las características estructurales y geométricas del sistema de liberación y n es el exponente indicativo del mecanismo de cesión.

Cuando n se aproxima a 0.5 se habla de una difusión de tipo fickiano, mientras que si se aproxima a 1, la cinética de orden cero es la que caracteriza el proceso de cesión del principio activo. La combinación de la difusión del principio activo a través de los poros tortuosos, causando de este modo un incremento en el volumen de los poros y la erosión de la superficie de la matriz dando lugar a un acortamiento en las longitudes de los caminos de difusión, podría explicar un cambio en el modo de transporte, y por tanto, de los valores de n .

En general, se acepta que los datos comprendidos dentro del rango $M_t / M_\infty = 0.05-0.70$ son lineales, y por lo tanto, aceptables para la determinación del exponente n por regresión lineal.

En los modelos comentados no se tienen en cuenta que con anterioridad a la formación de la capa de gel, se produce una liberación inmediata de una pequeña fracción de la dosis y que es necesario que transcurra un cierto período de tiempo antes de alcanzarse el estado estacionario. Este factor es poco relevante dentro del proceso global de cesión debido a su reducida magnitud (*Mitchell y col., 1990*). Sin embargo, *Ford y col. (1991)* incorporaron este tiempo de latencia (t_0) a la siguiente expresión:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot (t - t_0)^n$$

2.3.1. EL PROCESO DE DIFUSIÓN

Con el fin de desarrollar y optimizar las formulaciones de liberación modificada es de fundamental importancia el estudio del proceso de difusión. En los comprimidos matriciales el proceso de

difusión del principio activo al medio de disolución va a ser determinante en el proceso global de cesión del fármaco.

Se puede definir **difusión** como el proceso por el que una sustancia es transportada de una zona a otra de un sistema como resultado de movimientos moleculares aleatorios. Siempre que en el sistema exista un gradiente de concentración, se producirá una transferencia neta de moléculas desde las zonas de concentración más alta a las de más baja.

La primera ley de Fick de la difusión establece que la transferencia de la sustancia que difunde por unidad de área de una sección es proporcional al gradiente de concentración medido normal a la sección:

$$J = D \left(\frac{\partial C}{\partial x} \right)$$

donde J es la transferencia por unidad de área de superficie (flujo), C es la concentración de la sustancia que difunde, x es el espacio medido normal a la sección y D es el coeficiente de difusión. El signo negativo indica que el flujo se produce en la dirección de la concentración menor. En materiales complejos, D depende mucho de la concentración.

La segunda ley de Fick reduce el número de variables a una. Cuando la difusión es unidireccional, es decir, el gradiente de concentración se mantiene a lo largo del eje x, la ecuación adquiere la siguiente forma:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2}$$

Los experimentos más comunes dirigidos a medir la difusión emplean una membrana que separa dos compartimentos. Si m es la masa que pasa por unidad de área a través de la membrana, dm / dt representa el flujo estable que se alcanza a tiempos largos:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{DC_0K}{h}$$

donde C_0 es la concentración constante del fármaco en la solución donante, K es el coeficiente de partición del soluto entre la membrana y la solución de baño y h el espesor de la membrana.

La determinación del coeficiente de difusión de un fármaco a través de un gel permitirá la predecir su velocidad de cesión. Con el fin de determinar los coeficientes de difusión de un determinado principio activo a partir de un sistema matricial, se pueden realizar ensayos en células de difusión horizontales en las que el compartimento en el que se sit a la formulación se separa del compartimento receptor por una membrana sintética o natural (Fig.-5).

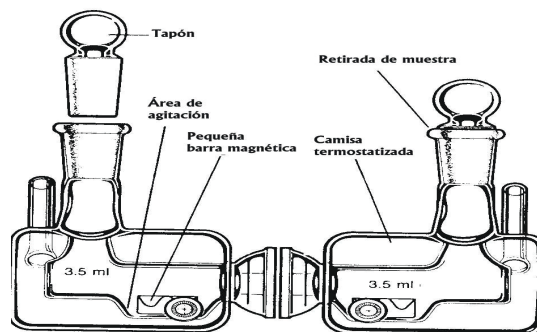


Figura 5.- Representación esquemática de las células de Franz-Chien empleadas en la determinación de coeficientes de difusión.

Considerando constante la velocidad de transferencia en todas las secciones de la membrana, los coeficientes de difusión se pueden calcular a partir de la siguiente expresión:

$$J = D \cdot \frac{C_0 - C}{h}$$

donde J es la velocidad de transferencia de sustancia por unidad de área, D el coeficiente de difusión de la sustancia difusora, C_0 la concentración en una de las células, C la concentración en el compartimento receptor y

h el espesor de la membrana. Si se parte de que una de las concentraciones iniciales es cero, la cantidad total de sustancia (M_t) que pasa a un tiempo t vendrá dada por (*Parks y col., 1997*):

$$M_t = \left(D \frac{C_0}{h} \right) \cdot \left(\frac{t - h^2}{6} \cdot D \right)$$

Representando la cantidad de sustancia difundida en función del tiempo, la pendiente de dicha recta permite determinar el valor del coeficiente de difusión.

También se ha utilizado la resonancia magnética nuclear (RMN) para la determinación de coeficientes de difusión en complejos multicomponentes. Esta técnica permite obtener datos sobre el mecanismo de difusión, su cinética y la estructura del gel formado (*Gao y Fagerness, 1995*).

La viscosidad aparente de este tipo de sistemas (estimada por viscosimetría capilar) ha sido utilizada ampliamente como indicador de la resistencia del gel a la difusión. Por lo general, se observa una relación exponencial inversa entre la velocidad de cesión del principio activo y la viscosidad del gel que se forma por hidratación de los polímeros hidrofílicos que se emplean como excipiente base. Sin embargo, varios estudios (*Smidt y col., 1991; Suh y Jun, 1996*) han confirmado que los efectos de las moléculas poliméricas sobre las propiedades de flujo macroscópico del sistema (es decir, movimiento macroscópico) no están necesariamente correlacionadas con los efectos sobre la difusión (es decir, movimiento a escala microscópica). Esto ha llevado a que, en ocasiones, la propiedad conocida como **microviscosidad** (medida de viscosidad a escala microscópica) se considere mejor indicador de la velocidad de difusión del principio activo en estos geles (*Smidt y Crommelin, 1991; Álvarez Lorenzo y col., 1999*).

En soluciones poliméricas la microviscosidad es el factor que afecta en mayor medida al valor de los coeficientes de difusión (*Smidt y col., 1991; Gebre Mariam y col., 1989*). Entre los factores que determinan la microviscosidad se encuentran los responsables de los efectos de obstrucción y las interacciones moleculares entre el polímero y la sustancia que difunde (*Smidt y col., 1991*). Por tanto, el coeficiente de difusión de pequeños solutos en una solución polimérica puede ser modulado por la presencia de grandes macromoléculas, es lo que se conoce como obstrucción, y está relacionado con el volumen, la forma y el tamaño de las moléculas poliméricas presentes (*Farnig y Nelson, 1973*). El tamaño del soluto y las interacciones polímero-soluto, especialmente si son especies cargadas, son dos factores muy importantes en la difusión del principio activo (*Peppas y Wright, 1998*).

2.3.2. FACTORES QUE AFECTAN A LA LIBERACIÓN DEL FÁRMACO A PARTIR DE MATRICES HIDROFÍLICAS

El estudio de los factores que afectan a la liberación del fármaco a partir del sistema matricial aporta una valiosísima información sobre las posibilidades de intervenir en el proceso de cesión y, así, poder modular la velocidad de liberación del principio activo. Se trata de estudiar los factores clave que podrían afectar al perfil de disolución y considerar sus efectos potenciales a la hora de establecer una formulación.

En términos generales, se puede distinguir entre variables dependientes del proceso de elaboración y variables dependientes del principio activo o de otros componentes de la formulación.

2.3.2.1. Variables dependientes del proceso de elaboración

Se dispone de abundante bibliografía sobre la dependencia de las propiedades de las matrices respecto de las variables del proceso de

elaboración. Se ha estudiado en profundidad, por ejemplo, la influencia de la fuerza de compresión (*Pérez Marcos y col., 1991*), el procedimiento de granulación (*Dahl y col., 1990*), el tiempo de mezclado, el líquido de humectación y la velocidad de mezclado (*Timmings y col., 1992*).

Ford y col. (1987) sostienen que la fuerza de compresión no es relevante y que el tamaño de partícula sólo tiene influencia en el caso de moléculas insolubles. En el caso de principios activos poco solubles, la fuerza de compresión sí afecta de manera notable a la velocidad de cesión (*Gómez Amoza y col., 1991; Pérez Marcos y col., 1991*), hecho que se ha explicado sobre la base de que el mecanismo de erosión es el que, mayoritariamente, controla la liberación en este tipo de sistemas. La independencia de la porosidad de la matriz hidratada respecto de la porosidad inicial justificaría, a través del modelo de Higuchi, su irrelevancia práctica cuando se trata de principios activos hidrosolubles.

También se ha comprobado que el tamaño de partícula del principio activo tiene influencia en el proceso de cesión. Un incremento de este factor puede provocar que el fenómeno de la erosión adquiera más relevancia, en este caso el mecanismo de liberación se aproximaría a una cinética de orden cero (*Tros de Ilarduya y col., 1997*).

2.3.2.2. Variables dependientes del fármaco y de los excipientes

En general, cuando el principio activo presenta una baja hidrosolubilidad, la variabilidad en la liberación del fármaco es mayor. Por otra parte, según *Ford y col. (1985)*, el factor que más condiciona la cesión es la relación fármaco/polímero. A medida que la cantidad de polímero se incrementa, la proporción de fármaco liberado se reduce progresivamente.

La liberación del fármaco incorporado en una matriz hidrofílica va a estar fuertemente condicionada por la concentración de polímero y el grado de viscosidad del mismo (*Wan y col., 1993*).

La formulación de los comprimidos matriciales puede requerir la adición de excipientes y esto podría alterar el tamaño del comprimido o reemplazar una porción de polímero modificando la velocidad de liberación del principio activo. *Lapidus y Lordi (1968)* han confirmado que la sustitución de HPMC por un diluyente, soluble o insoluble, incrementa la velocidad de disolución. Sólo elevadas proporciones de diluyente provocan diferencias significativas entre excipientes solubles e insolubles (*Hogan, 1989*). A la misma conclusión han llegado *Rouffiac y col. (1987)*, confirmando que los diluyentes, solubles o insolubles, en proporciones altas dan lugar a considerables incrementos de la velocidad de liberación de principios activos hidrosolubles. La velocidad de penetración del medio en la matriz puede ser modificada por cambios en su volumen interespacial. Elevadas proporciones de materiales como la lactosa “aclaran” rápidamente el sistema matricial.

Por otra parte, la viscosidad de la HPMC, que está relacionada con su peso molecular, tiene una fuerte influencia en la velocidad de erosión del comprimido matriz. El uso de HPMC de baja viscosidad es aconsejable para fármacos de baja hidrosolubilidad ya que, en estos casos, la velocidad de erosión del comprimido matriz es el factor principal que controla la cesión del principio activo. Al aumentar la viscosidad se obtiene una liberación más lenta del fármaco, se forma una capa de gel más resistente y viscosa, ofreciendo una barrera mayor a la difusión y un desgaste por rozamiento más lento del comprimido, lo que habría que tener en cuenta en formulaciones de principios activos insolubles. El efecto “burst” más pronunciado se observa con esta variedad de HPMC y en comprimidos elaborados por compresión directa (*Railkar y col., 1991; Duddu y col., 1993*). Merece la pena reseñar que

no se observa efecto “burst” en las matrices a las que se han incorporado ciclodextrinas (*Giunchedi y col., 1994*).

La velocidad de erosión del comprimido y la cesión del principio activo se puede ajustar también mediante el empleo de HPMC de viscosidad adecuada o combinando polímeros de distintos grados de viscosidad (*Vázquez y col., 1992; Samani y col., 2003*).

2.3.2.3. Otras variables

Ming Than y col. (1992) estudiaron el efecto del pH sobre la liberación de fármacos a partir de sistemas matriciales, concluyendo que la liberación de principios activos ionizables, como el diclofenaco sódico, depende del medio de disolución.

La liberación depende de la concentración de sal en el medio, de modo que tanto la velocidad relativa como el mecanismo de liberación se van a ver afectados.

Desde el momento en que el proceso que controla la liberación del fármaco está condicionado por la difusión, es obvio que la liberación será más lenta cuanto más viscoso sea el medio.

En las formas de liberación modificada elaboradas con éteres de celulosa, la difusión del fármaco a través de la capa de gel que se forma tras el contacto de la forma sólida con el medio de disolución, suele ser la etapa limitante del proceso de liberación (*Vázquez y col., 1992*). La velocidad de difusión va a estar condicionada por los efectos restrictivos del polímero sobre la movilidad de las moléculas de fármaco, ya sea por una reducción en el volumen libre o por un incremento de la viscosidad del microentorno (*Álvarez Lorenzo y col., 1999*).

3. LAS CICLODEXTRINAS

Las ciclodextrinas (CDs) fueron aisladas por primera vez en 1891 por Villiers (*Villiers, 1891*). Desde entonces su estudio ha demostrado que su capacidad para formar complejos de inclusión ha sido un hallazgo notable tanto para la Tecnología Farmacéutica como para otras aplicaciones industriales (*Duchene y col, 1987*). En el campo de la terapéutica, las CDs han sido utilizadas como excipientes en formas farmacéuticas de administración parenteral, oral, nasal, dermal y rectal (*Zhang y Rees, 1999*). Hasta 1970 sólo se podían producir en cantidades pequeñas y su coste era muy elevado, pero los recientes avances en Biotecnología han permitido abaratar su producción y obtener CDs con un alto grado de pureza y en grandes cantidades, lo que ha facilitado la generalización de su uso.

3.1. ESTRUCTURA DE LAS CICLODEXTRINAS

Las CDs son oligosacáridos cíclicos constituidos por anillos de glucosa unidos mediante enlaces $\alpha(1-4)$. Las unidades de glucosa que conforman los anillos ciclodextrínicos se encuentran en configuración silla (*Rao y Foster, 1963; Cassu y col., 1968*) dando lugar a una estructura troncocónica (*Bender y col., 1978*) en la que los distintos grupos tienen una disposición estructural determinada: por una parte, los grupos hidroxilo secundarios, situados en los átomos C2 y C3, se encuentran en la parte más ancha de la cavidad y a su vez, los hidroxilos primarios, correspondientes a los átomos C6, se hallan en la parte más estrecha de la estructura (*Uekama y Otagiri, 1987*). Esta conformación hace que los átomos de hidrógeno H1, H2 y H4 (átomos de C1, C2 y C4) se dirijan hacia el exterior y los H3 y H5 se orienten hacia el interior de la cavidad (Fig.-6). Esta particular ordenación determina que el exterior sea altamente hidrofílico y el interior presente un carácter apolar

(Brewster y col., 1989). La estructura se encuentra, en algunas CDs, estabilizada por puentes de hidrógeno que se establecen entre los hidroxilos secundarios de los residuos de glucosa contiguos (Uekama, 1986).

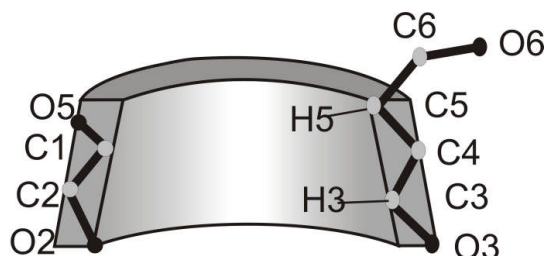


Figura 6.- Disposición de los átomos de H y de C en la estructura ciclodextrínica.

La libre rotación de los grupos hidroxílicos primarios es la causa de que el diámetro de la cavidad troncocónica sea mayor en el lado donde se sitúan los hidroxilos secundarios, puesto que sus cadenas rígidas impiden la rotación (Bekers y col., 1991) (Fig.-7).

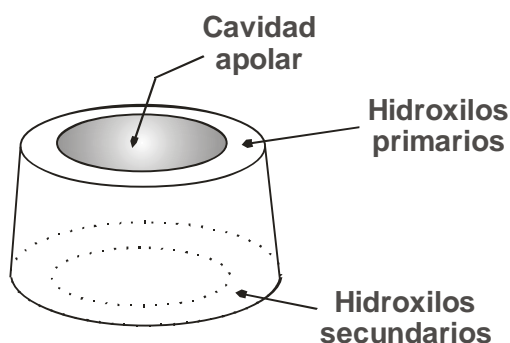


Figura 7.- Localización de los grupos hidroxilo en la estructura de las ciclodextrinas.

Los productos primarios obtenidos de la ruptura de las uniones glucosídicas de la cadena de almidón sufren una reacción intramolecular

que da origen a las CDs, es lo que se conoce como la ciclación enzimática del almidón.

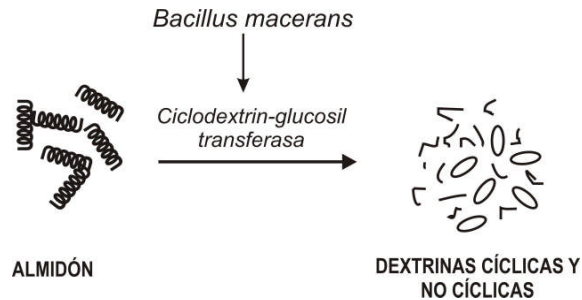


Figura 8.- Obtención de dextrinas y ciclodextrinas a partir del almidón.

El número de unidades de glucosa conduce a diferencias leves en la estructura conformacional y en la flexibilidad del anillo ciclodextrínico, que dan lugar a diferencias en la exposición de los grupos hidroxilo al medio acuoso y en último término, a diferencias en sus propiedades físicas tales como la solubilidad acuosa.

Se conoce como CDs naturales a las obtenidas directamente del almidón por acción de distintos tipos de enzimas ciclodextrin glucosil transferasas. Son la α -ciclodextrina (ciclohexaamilosa) formada por 6 unidades de glucosa, la β -ciclodextrina (cicloheptaamilosa) formada por 7 unidades de glucosa y la γ -ciclodextrina (ciclooctaamilosa) formada por 8 anillos glucosídicos. La existencia de CDs de menos de cinco unidades no es posible debido a impedimentos estéricos (Sundararajan y Rao, 1970). Las CDs con más de 8 unidades son de difícil aislamiento (Connors, 1997), presentan una capacidad de complejación baja, de ahí su reducido interés farmacéutico (Loftsson y Brewster, 1997).

El número de unidades de glucosa determina el diámetro interno y su volumen, es decir, el tamaño de la cavidad que alojará a la molécula

huésped. De esta manera, la α -ciclodextrina puede complejar a moléculas pequeñas o cadenas laterales de tipo alifático, la β -ciclodextrina compuestos aromáticos o de tipo heterocíclico y la γ -ciclodextrina moléculas más grandes o macrociclos como los esteroides.

Ciclodextrinas	N mero de unidades de glucosa	Diámetro de la cavidad ()	Volumen de la cavidad ()	PM	Solubilidad acuosa (mg/mL) a 25°C
α	6	4.7-5.3	174	972	14.5
β	7	6.0-6.5	262	1135	1.85
γ	8	7.5-8.3	427	1297	23.3

Tabla 3.- Propiedades de las ciclodextrinas naturales.

La β -ciclodextrina (BCD) (Fig.-9) es la CD más utilizada en aplicaciones farmacéuticas; de hecho, más de la mitad de las formulaciones farmacéuticas con CDs disponibles en el mercado contienen BCD (Loftsson, 1999). No obstante, su baja solubilidad acuosa (Loftsson y Brewster, 1996), debido a la formación de enlaces de hidrógeno entre los hidroxilos de C2 y C3 (Loftsson y col., 1998) y su toxicidad cuando se administra por vías distintas a la oral son las razones que limitan su uso.

Las CDs químicamente modificadas (como las hidroxipropiladas o sulfobutiladas) son igualmente seguras para el uso tópico u oral pero son más convenientes, en su mayoría, para el uso parenteral debido a su mayor solubilidad en agua y a su reducida toxicidad. Se han sintetizado derivados de la BCD mediante la sustitución de alguno de los grupos hidroxilo de la molécula. En algunos casos la sustitución es estequiométrica, con lo que se conoce la composición de forma exacta,

pero en otros casos, la sustitución se produce al azar, en cuyo caso se caracterizan mediante el grado de sustitución.

Se define **grado de sustitución (DS)** como el n mero medio de hidroxilos sustituidos por unidad de glucosa del anillo ciclodextrínico. Este valor representa un promedio de los obtenidos por determinaciones analíticas y teóricamente puede oscilar entre 0 y 3. Y se define **grado de sustitución molar medio (MS)** como el n mero medio de moles de sustituyente por mol de glucosa. Este n mero puede ser mayor que 3 por cada unidad de glucosa en las CDs sustituidas, ya que se pueden producir sustituciones en los propios sustituyentes; por ejemplo, en el caso de la HPBCD, los grupos hidroxilo de los sustituyentes hidroxipropilo pueden generar cadenas laterales poliméricas al reaccionar con el óxido propileno utilizado en la síntesis. Cuando no existen grupos reactivos adicionales, DS y MS coinciden; de hecho, la relación MS/DS es un índice del grado de polimerización de las cadenas laterales. Sin embargo, en la literatura también se ha definido grado de sustitución como el n mero medio de sustituyentes por molécula de CD. Para evitar posibles confusiones, *Blanchard y Proniuk (1999)* introducen un nuevo término, **grado de sustitución total (TDS)**, que representa el n mero medio de grupos sustituidos por molécula de CD. Así, para la HPBCD este parámetro puede variar entre 0 (BCD) y más de 21.

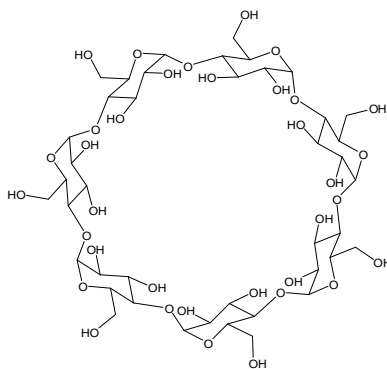


Figura 9.- Estructura química de la β -ciclodextrina.

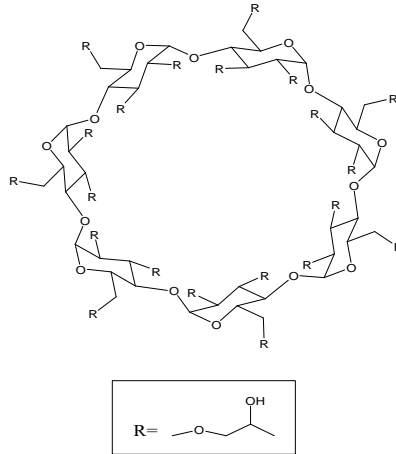


Figura 10.- Estructura química de la hidroxipropil- β -ciclodextrina.

La obtención de derivados a partir de la BCD implica la obtención de mezclas isoméricas de CDs polisustituidas (*Loftsson y Brewster, 1996*). Esta heterogénea composición parece ser uno de los factores que justifican una mejora en la seguridad (*Thompson, 1997*). Entre los derivados de la BCD comercializados en la actualidad, destaca la hidroxipropil- β -ciclodextrina (HPBCD) (Fig.-10) que tiene una elevada solubilidad acuosa (solubilidad acuosa superior a 60%), seguridad tras su administración parenteral y eficacia de complejación (*Thompson, 1997*). Entre otros derivados de la BCD que han sido estudiados y utilizados para complejar diversos fármacos en los últimos años se encuentran la metil- β -ciclodextrina (MBCD), la sulfobutiléter- β -ciclodextrina (SBEB CD) y la maltosil- β -ciclodextrina (G₂BCD).

3.2. PROPIEDADES DE LAS CICLODEXTRINAS

Las CDs han sido reconocidas como un nuevo grupo de excipientes muy útil dentro del campo farmacéutico gracias a su capacidad para actuar como “envases moleculares”. Es, sin duda, esta propiedad, consecuencia de su estructura química, la que da a estas

moléculas un potencial único dentro del marco de la formulación farmacéutica. Además, desde hace muchos años sus monografías se recogen en las principales farmacopeas.

En estado sólido, las CDs pueden presentar dos tipos de estructura cristalina: en entramado y en canal. En el primer caso, las cavidades se encuentran bloqueadas en ambas caras por las moléculas adyacentes originando cavidades aisladas. Si los cristales son tipo canal, las moléculas huésped se sitúan en el interior de los canales que se forman al apilarse unas sobre otras las moléculas ciclodextrínicas (*Fromming y Szejtli, 1994*).

No tienen un punto de fusión definido pero empiezan a descomponerse por encima de los 200°C. Estos valores tan altos reflejan su elevada estabilidad. Son tan estables como el almidón o la sacarosa, pueden permanecer almacenadas durante años sin sufrir deterioro.

Se trata de sustancias no higroscópicas, aunque en ocasiones pueden formar hidratos estables. Son muy estables en soluciones alcalinas ($\text{pH} < 14$) y relativamente estables en soluciones ácidas ($\text{pH} > 3$). Carecen de naturaleza reductora debido a que el grupo hidroxilo reductor (C1) forma parte del enlace $\alpha(1-4)$. La viscosidad de sus soluciones acuosas no difiere significativamente de la del agua y en estado sólido presentan buenas propiedades de flujo.

De las tres CDs naturales, ACD, BCD y GCD, el valor más bajo de solubilidad lo presenta la BCD debido al establecimiento de puentes de hidrógeno inter e intramoleculares que dan lugar a la formación de agregados moleculares en solución. La formación de ciertos derivados como consecuencia de la ruptura de esos enlaces mejora sensiblemente su solubilidad.

Las CDs presentan buenas características de biocompatibilidad, propiedad muy importante en una formulación farmacéutica, ya que se

trata de moléculas que van a estar en contacto directo con tejidos del cuerpo humano. Diversos estudios de toxicidad han demostrado que las CDs administradas por vía oral o tópica son prácticamente atóxicas, dada su limitada absorción (su naturaleza hidrófila y su elevado tamaño dificultan la absorción gastrointestinal y su paso a través de membranas hidrófilas) (Hirayama y Uekama, 1999). Desde el punto de vista de la seguridad y toxicidad, las CDs naturales pueden utilizarse vía oral, bucal, nasal y oftálmica y en supositorios. Sin embargo, la BCD, la ACD y un número significativo de derivados alquilados presentan nefrotoxicidad y actividad hemolítica tras una administración parenteral (Irie y Uekama, 1997; Stella y Rajewski, 1997).

3.3. COMPLEJOS DE INCLUSIÓN CON CICLODEXTRINAS

La propiedad más importante de estas moléculas es su capacidad para incluir en su interior diferentes moléculas. Las moléculas susceptibles de formar estos complejos de inclusión deben adaptarse total o parcialmente al interior de la cavidad troncocónica (Fig.-11).

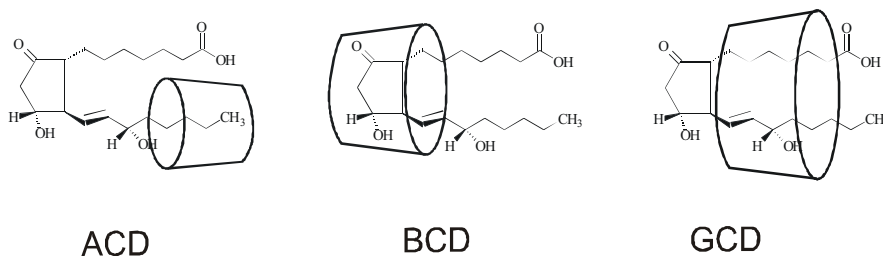


Figura 11 .- Complejación de la PGE1 con las tres ciclodextrinas naturales.

La formación de un complejo de inclusión supone una verdadera encapsulación molecular del principio activo. Las CDs se comportan como cápsulas vacías de tamaño molecular que alojan en su cavidad interna una molécula o parte de ella dando lugar a lo que se conoce como complejo de inclusión.

La capacidad de las CDs para formar complejos de inclusión depende de dos factores fundamentalmente, del componente estérico (tamaño relativo CD/molécula huésped) y de las interacciones termodinámicas entre los componentes del sistema (CD-molécula huésped-solvente).

La complejación implica interacciones múltiples entre el principio activo, la CD y el solvente (Fig.-12). Existe una dislocación de moléculas de agua que salen de la cavidad apolar de las moléculas de CD. Además se produce una reducción de las interacciones repulsivas entre el principio activo y el medio acuoso, y en contraposición aumentan las interacciones hidrofóbicas al insertarse la molécula huésped en la cavidad apolar de la CD.

Se trata de complejos no covalentes que pueden tener propiedades físicas, químicas y biológicas muy diferentes a las propias de la CD o a las de la molécula huésped. Esta complejación se puede buscar con el fin de aumentar la solubilidad y velocidad de disolución, disminuir la volatilidad, disminuir la irritación local o incrementar la estabilidad de algunos fármacos.

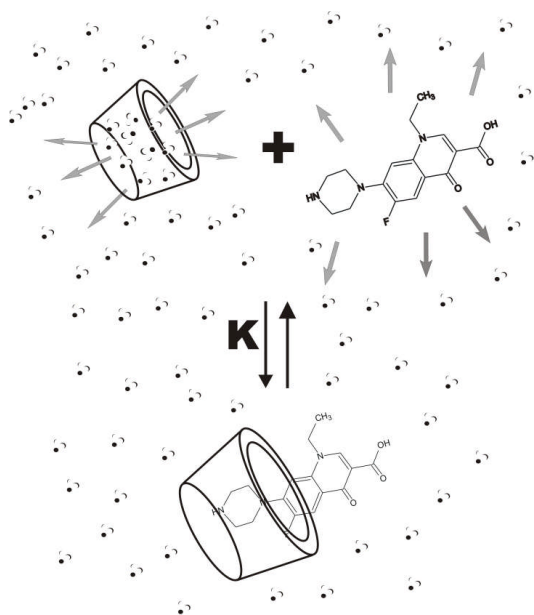


Figura 12.- Representación esquemática de la formación de un complejo de inclusión en un medio acuoso.

Los complejos de inclusión pueden formarse tanto en estado sólido como en solución, en ambas fases las CDs mantienen su estructura troncocónica. Se puede producir una pequeña deformación, aunque, en general, no se modifica significativamente la estructura de la molécula hospedadora. Se trata de un proceso dinámico en el que no intervienen fuerzas ni de tipo iónico ni de tipo covalente. Las fuerzas implicadas son debidas a interacciones hidrofóbicas y a fuerzas de Van der Waals. Factores geométricos (moléculas demasiado pequeñas se deslizarían por el interior de la cavidad) más que químicos son decisivos a la hora de determinar qué tipo de molécula puede penetrar en la cavidad de la CD (*Bekers y col., 1991*). Sin embargo, factores como el pH (grupos funcionales de la molécula huésped pueden estar ionizados o no en función del pH), la temperatura o la presencia de un cosolvente pueden alterar la capacidad de la CD para formar el complejo de inclusión y por lo tanto, la cinética de la complejación puede variar (*Johnson y col., 1994*).

En solución acuosa los complejos se encuentran en continuo proceso de asociación-disociación (Fig.-12), se trata de un equilibrio dinámico entre los complejos formados y las moléculas libres existentes en disolución (*Loftsson y Brewster, 1996*) regido por la constante de estabilidad, K (*Thompson, 1997*).

En solución acuosa los complejos fármaco-CD están continuamente formándose y disociándose en intervalos de tiempo del rango de milisegundos o inferiores. Los fármacos son liberados de sus CDs de una forma rápida y cuantitativa, especialmente después de una administración parenteral (*Stella, 1999*). Además está claro que las CDs no parecen alterar la farmacocinética intrínseca de las moléculas que complejan.

A la liberación del fármaco a partir del complejo contribuyen varios procesos. Por una parte, la simple dilución del complejo puede ser suficiente para la cesión del principio activo, sobre todo en aquellos casos de complejos de baja estabilidad (K igual o menor de 10^4 M^{-1}) (*Stella, 1999; Loftsson y Masson, 2001*). Una vez en el organismo la sustitución competitiva del fármaco incluido por materiales exógenos o endógenos (como sales biliares o lípidos de la piel) o la unión del fármaco a componentes de los tejidos o del plasma (proteínas) son otros procesos que contribuyen a la liberación. La entrada del fármaco lipófilo en el interior de los tejidos, que no es accesible a los complejos y a las CDs, también favorece el sentido del equilibrio hacia la disociación. También se deben considerar las contribuciones debidas a la eliminación de las CDs y a los ajustes de pH y temperatura (*Stella, 1999*).

El proceso de complejación es exotérmico, por lo que un aumento de la temperatura podría llevar a un debilitamiento de la estabilidad incrementándose así la fracción libre. Ningún incremento en la temperatura provoca un debilitamiento del complejo y sí un incremento en la fracción libre de sustrato. La mayoría de los complejos

fármaco-CD son preparados y almacenados a temperatura ambiente y teniendo en cuenta que la temperatura corporal es de 37°C, esa simple diferencia de temperatura es un factor que juega a favor de la disociación del complejo aunque específicamente para cada complejo haya que tener en cuenta el valor de su entalpía (*Stella, 1999*).

En el caso de moléculas ionizables también va a tener una gran influencia el pH pero, en principio, la formación del complejo no se ve favorecida por la ionización.

La contribución relativa de cada uno de estos procesos va a depender de la vía de administración, de las propiedades fisico-químicas y concentración del fármaco y de la CD, de la constante de estabilidad del complejo y de la concentración eventual del agente competitivo (*Stella, 1999*). Por ejemplo, en el caso de la administración oftálmica la dilución es mínima.

3.3.1. Procedimientos de preparación de complejos de inclusión con ciclodextrinas

Se han descrito un gran número de métodos de preparación de complejos de inclusión. La selección del método de preparación más adecuado se hace teniendo en cuenta las características fisico-químicas del principio activo y su posterior aplicación, teniendo en cuenta el medio en el que se obtiene el complejo. También hay que considerar a qué escala se está produciendo, ya que algunos métodos utilizados a nivel de laboratorio no son viables a nivel industrial y viceversa.

El principio básico que permite obtener complejos de inclusión en solución es la adición de un exceso de principio activo a una solución acuosa de principio activo. La obtención de complejos en estado sólido se realiza por eliminación del disolvente de las soluciones principio

activo-CD mediante técnicas de evaporación, sublimación o liofilización.

Entre los procedimientos más utilizados destacan:

- **Coprecipitación:** se basa en la precipitación del complejo a partir de una solución acuosa. Su aplicación se limita a principios activos que forman complejos de inclusión con solubilidad baja. A nivel industrial se hace muy difícil su utilización por la enorme cantidad de disolvente necesaria para solubilizar el principio activo y el elevado gasto de energía que supone la agitación de la solución.
- **Liofilización:** consiste en la preparación de una solución acuosa de CD y principio activo en cantidades estequiométricas que se somete a un proceso de liofilización. Las muestras liofilizadas suelen tener baja cristalinidad. Se trata de un método que puede ser adaptado para la obtención industrial con un elevado rendimiento.
- **Malaxado:** consiste en mezclar el principio activo y la CD en proporciones estequiométricas en un mortero y añadir la misma cantidad en peso de una mezcla hidroalcohólica. La mezcla obtenida es amasada hasta la completa evaporación de la fase líquida dando lugar a una masa espesa, que posteriormente se deseca con el fin de conseguir la total eliminación del solvente. Aunque se trata de un procedimiento simple y barato y el rendimiento de obtención es muy elevado, el rendimiento de encapsulación suele ser bajo.
- **Atomización:** se trata de un proceso similar al de liofilización en el que la solución acuosa de la CD y la molécula huésped es atomizada en un equipamiento adecuado que provoca la evaporación instantánea del solvente.

- **Molienda:** consiste en que cantidades estequiométricas de principio activo y de CD, previamente tamizadas, se mezclan y posteriormente se pulverizan en un molinillo vibracional o de rodillos. Presenta el inconveniente de que no todas las moléculas dan lugar a la formación de complejos por este procedimiento.

3.3.2. Caracterización de los complejos de inclusión con ciclo-dextrinas

Como paso previo a cualquier estudio sobre complejos de inclusión con CDs es fundamental poder evidenciar su formación. Las técnicas de detección de la complejación se basan en la determinación de variaciones en determinadas propiedades físicas y químicas del principio activo que se producen cuando éste interacciona con la CD y forma el complejo. Son técnicas que proporcionan una gran cantidad de información sobre la inclusión, resultando de primordial utilidad a la hora de seleccionar el método y la CD más adecuados para la obtención del complejo.

3.3.2.1. Detección de la formación del complejo en disolución

a) Diagramas de solubilidad

Se construyen a partir de los cambios que se producen en la solubilidad de una molécula en presencia de cantidades crecientes de sustancia complejante (las CDs). Las posibles situaciones que pueden obtenerse se recogen en la figura 13.-

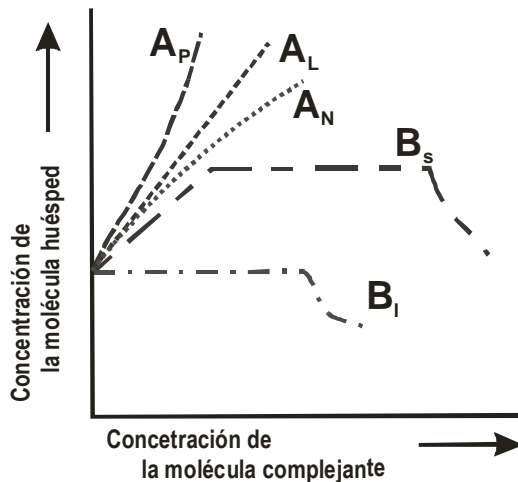


Figura 13.- Diagramas de solubilidad de fases según Higuchi y Connors (1965).

La solubilidad de la molécula huésped aumenta a medida que se incrementa la cantidad de CD en el medio como consecuencia de la formación del complejo de inclusión, dando lugar a los siguientes tipos de diagramas:

Diagramas tipo A: se forma complejo cualquiera que sea la concentración de agente complejante; dentro de los diagramas tipo A se pueden distinguir:

- tipo A_L : caracterizados por un incremento lineal de la solubilidad, son los que reflejan la formación de compuestos solubles de composición constante.
- tipo A_P : caracterizados por una desviación positiva de la linealidad a concentraciones altas de CDs, propios de complejos de mayor orden molecular.
- tipo A_N : caracterizados por una desviación negativa, correspondientes a interacciones complejas soluto-soluto y solvente-soluto.

Diagramas tipo B: cuando el complejo es de solubilidad limitada, con lo que precipita en la solución y es posible separarlo por filtración; dentro de los diagramas tipo B se distinguen dos tipos:

- tipo B_S: se diferencian tres tramos, primero un aumento lineal de la solubilidad, a continuación una meseta y luego una zona descendente.
- tipo B_I: cuando el complejo formado es prácticamente insoluble.

A partir del tramo recto inicial de estos diagramas se puede conocer la constante de estabilidad del complejo asumiendo una relación estequiométrica 1:1, cuando la pendiente del diagrama es menor que 1, mediante la ecuación:

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

donde P es la pendiente de ese tramo recto inicial y S₀ la solubilidad del principio activo.

b) Resonancia magnética nuclear

La resonancia magnética nuclear (RMN) representa una técnica muy valiosa en el estudio de los complejos de inclusión con CDs en disolución porque además de permitir evidenciar su formación, permite establecer la parte de la molécula incluida en la cavidad, su constante de estabilidad y su estequiometría (*Djedaini y Perly, 1990*).

Para este tipo de estudios, el disolvente que suele emplearse es agua deuterada. Otros disolventes pueden provocar la ruptura del complejo. El problema surge cuando el complejo o el principio activo presentan baja solubilidad en agua deuterada.

Las señales debidas a los átomos H₃ y H₅, situados en el interior de la cavidad de la CD, muestran desplazamiento hacia campos más altos si hay formación del complejo. A su vez, los protones de la parte incluida de la molécula o próximos a esa parte incluida se verán

fuertemente apantallados y sus señales sufrirán una variación hacia campos bajos del espectro (*Cabral Marques y col., 1990*).

Lu y col. (2000) llegan a establecer una relación entre el grado de penetración de la molécula huésped en la cavidad hidrófoba y la proporción entre las variaciones de los desplazamientos químicos de los protones H3 y H5 de la BCD.

El análisis de los efectos “overhauser” nucleares intermoleculares ayuda a obtener una representación más minuciosa de la geometría de los complejos en solución (*Lucarini y col., 2000*) gracias a la espectroscopia bidimensional de efecto “overhauser” nuclear ROESY (*Ma y col., 2000*). Esta técnica permite el estudio de la dinámica y las distancias inter e intramoleculares medias entre los diferentes protones (*Djedaini y Perly, 1991*).

Mediante RMN-C¹³ se pueden detectar también las interacciones entre el principio activo y la CD (*Bettinetti y col., 1991*), con la ventaja de que se puede aplicar a soluciones acuosas y a sólidos.

La **técnica de la variación continua de Job** permite establecer la estequiometría de los complejos formados (*Job, 1928*). El proceso de inclusión de una determinada molécula en la cavidad de una CD se puede expresar mediante el siguiente equilibrio:



donde M, CD y M-CD son respectivamente el principio activo, la CD y el complejo de inclusión. La constante de estabilidad será:

$$K = \frac{[M - CD]}{[M]^m \cdot [CD]^n}$$

donde [M] y [CD] son las concentraciones del principio activo y de la CD y [M-CD] la concentración del complejo formado. La ecuación se puede replantear en función de las concentraciones totales de cada especie:

$$[M]_{\text{total}} = [M] + m [M-CD]$$

$$[\text{CD}]_{\text{total}} = [\text{CD}] + n [\text{M-CD}]$$

La aplicación del método de variación continua de Job propone la preparación de diferentes muestras de tal forma que la concentración total de ambas especies se mantenga constante variando la fracción molar, r , entre 0 y 1. En la práctica esto se consigue mezclando volúmenes adecuados de soluciones equimolares de M y CD.

La estequiometría se obtiene del máximo de la curva resultante de la variación del desplazamiento químico de los protones de la molécula por su concentración respectiva frente a r .

En el caso de formación competitiva de complejos con diferentes estequiometrías o de dímeros de moléculas huésped, la aplicación del método de Job da lugar a curvas diferentes para los protones de la CD y del fármaco (*Djedaini y Perly, 1991*).

c) Modelización molecular

Con la ayuda de un programa informático de modelización molecular, se busca la optimización de las estructuras de los complejos de inclusión, teniendo en cuenta datos obtenidos de otras técnicas que permiten saber cuál es la forma más probable de inclusión del principio activo en la cavidad de la CD.

Esta técnica nos permite la visualización del complejo formado, estudiar las interacciones inter e intramoleculares, las modificaciones en las conformaciones y la estequiometría (*Ganza González y col., 1994; Echezarreta y col., 2002; Perdomo y col., 2002*).

Es una herramienta útil en estudios preliminares de formulación de un principio activo como complejo de inclusión porque permite obtener una imagen de la disposición más probable de una determinada molécula en el interior de la CD.

d) Microcalorimetría

Los cambios que se producen en las propiedades termodinámicas, como consecuencia de la formación del complejo de inclusión, es posible medirlos por calorimetría. Una determinación indirecta de la entalpía y de la entropía se puede llevar a cabo mediante el estudio de las constantes de estabilidad del complejo a distintas temperaturas (*Otero Espinar y col., 1992*).

e) Cromatografía líquida de alta resolución

La incorporación de las CDs a la fase móvil en un proceso de separación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa disminuye proporcionalmente el tiempo de retención de las moléculas que forman complejos de inclusión (*Uekama y col., 1977*). A partir de las diferencias que se producen en los valores de los tiempos de retención al ir variando la concentración de CD, es posible el cálculo de la constante de formación del complejo.

3.3.2.2. Detección de la formación del complejo en estado sólido

a) Calorimetría diferencial de barrido

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) aporta datos acerca de la velocidad con que una muestra absorbe o libera calor a una temperatura programada. El análisis térmico de diferentes sistemas binarios sólidos (principio activo, CD, mezcla física principio activo-CD, complejo de inclusión principio activo-CD) permite evidenciar la complejación, ya que cuando la molécula huésped es encapsulada en la cavidad de la CD, los puntos de fusión, ebullición y/o sublimación sufren desplazamientos a temperaturas diferentes (*Cabral Marques y col., 1990*).

b) Difracción de rayos X

Cuando hay formación de complejo los difractogramas difieren significativamente de los obtenidos individualmente para fármaco y CD (*Green y col., 1991*). Se produce una disminución del tamaño efectivo de cristalinidad.

Generalmente se recurre a la difracción de rayos X del polvo, es decir, del complejo de inclusión pulverizado, ya que en ocasiones es imposible la obtención del monocristal del complejo.

c) Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier

La utilización de esta técnica permite evidenciar la formación de los complejos de inclusión y además proporciona información sobre los grupos funcionales del fármaco o de la CD implicados directamente en el proceso de complejación en estado sólido. No obstante, en muchos casos las bandas de absorción correspondientes al principio activo y a la CD en la región del infrarrojo se superponen, lo que dificulta su utilización en estos casos.

d) Microscopía electrónica de barrido

Permite evaluar la morfología y el tamaño de partícula de los complejos obtenidos. Este tipo de estudios se suele completar con información obtenida por termomicroscopía. Las características morfológicas de los complejos son distintas de las que presentan la CD y el fármaco respectivamente.

3.4. MEJORA DE LA EFICIENCIA DE LA COMPLEJACIÓN CON CICLODEXTRINAS

El empleo de las CDs permite mejorar propiedades físico-químicas -solubilidad, estabilidad- de diferentes fármacos. Sin embargo, en algunos casos, los resultados obtenidos por simple complejación no son siempre tan satisfactorios como se requiere. Además, razones económicas, toxicológicas o de volumen de la forma de dosificación, pueden limitar la cantidad de CD a utilizar. Es por ello que se han desarrollado varias aproximaciones para aumentar la capacidad solubilizante de las CDs.

3.4.1. Modificación de la estructura de las ciclodextrinas

Se han preparado muchos derivados químicos de las CDs mediante sustitución química de alguno de los enlaces de hidrógeno que forman los grupos hidroxilo. Muchos de estos derivados mejoran algunas de las propiedades de las CDs naturales como la solubilidad o la toxicidad parenteral (*Szejtli, 1998*). No obstante, muchos no han encontrado aplicación en la práctica por requerir procesos sintéticos muy complejos.

Entre los derivados más utilizados se pueden citar:

- Metil- β -ciclodextrinas, como la dimetil- β -ciclodextrina (DMBCD) o la trimetil- β -ciclodextrina (TMBCD).
- Hidroxipropil- β -ciclodextrinas (HPBCD).
- Otros: CDs sulfatadas, poliméricas, ramificadas, etc. Entre ellas destaca la sulfobutil-éter- β -ciclodextrina (SBEBCD).

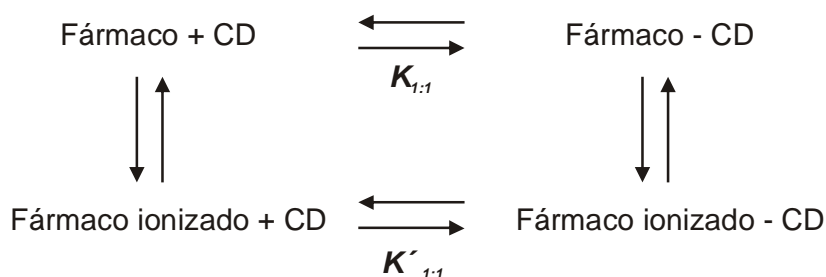
La modificación química de las CDs ofrece otras posibilidades como por ejemplo la carboximetil- β -ciclodextrina, que por la formación de complejos de inclusión permite retrasar la liberación del fármaco a

pH ácido y aumentarla a pH más básico, lo que resulta muy interesante para aquellos fármacos que se absorben mayoritariamente en el intestino (*Rajewski y Stella, 1996*).

3.4.2. Efecto de la ionización del fármaco. Ajuste de pH

Entre las técnicas disponibles para aumentar la solubilidad acuosa de fármacos ácidos, la formación de sales es una alternativa que permite incrementar la solubilidad. Sin embargo, en muchos casos las sales son poco solubles.

Aunque los principios activos no ionizados forman generalmente complejos más estables que sus formas iónicas, la solubilidad total aumenta.



$$K_{1:1} > K'_{1:1}$$

En muchos de los estudios se ha demostrado que la complejación y la formación de sales conjuntamente permiten aumentar la solubilidad en comparación con los complejos binarios simples, incluso a valores de pH cercanos al pKa del fármaco o menor. En algunos casos, este resultado se refleja en una mayor biodisponibilidad, consecuencia de un incremento en la velocidad y en la extensión de la absorción. En otros la simple formación de la sal favorece sólo la preparación de la forma farmacéutica sin representar una ventaja significativa en términos de absorción (*Redenti y col., 2001*).

Loftsson y Brewster (1996) sostienen que un ajuste adecuado de pH permite mejorar la capacidad solubilizadora de las CDs.

3.4.3. Adición de ácidos carboxílicos

La adición de determinados ácidos de bajo peso molecular (acético, málico, cítrico o tartárico) al medio acuoso puede aumentar la solubilización de fármacos de carácter básico optimizando la eficacia de la complejación. Estos ácidos dan lugar a soluciones supersaturadas que permanecen estables durante días.

La capacidad de incrementar la solubilidad de la BCD mediante altas concentraciones de hidroxiacidos, en concreto ácido cítrico, ha sido estudiada por diferentes grupos investigadores (*Fenyvesi y col., 1999*). Se ha concluido que los hidroxiacidos tienen capacidad de modificar el sistema de enlaces de hidrógeno formado entre los hidroxilos secundarios de las CDs y afectar a las interacciones con las moléculas de agua (*Redenti y col., 2000*). Algunos resultados negativos y observaciones teóricas han llevado a concluir que son necesarios algunos requerimientos para explotar las propiedades de estos sistemas multicomponentes. La solubilidad del principio activo debe ser baja (menor de 0.1 mg/mL) y la formación de la sal con hidroxiacidos debe incrementar ese valor. Debe existir un relativo ajuste entre la parte de la molécula complejada y la CD ($K \geq 10^3 \text{ M}^{-1}$).

A partir de datos de RMN se ha concluido que el efecto sinérgico de hidroxiacidos y CDs no se debe a la acomodación simultánea de hidroxiacidos en la cavidad de la CD, como se observó en otros sistemas terciarios (*Schuette y col., 1993*). La solubilidad de los correspondientes complejos es mucho más elevada que la esperada por incrementar la solubilidad total del fármaco a través de sólo un ajuste apropiado del pH (*Redenti y col., 2000*).

3.4.4. Adición de polímeros hidrosolubles

Varios autores han demostrado que la utilización de un polímero hidrosoluble con las CDs mejora apreciablemente la eficacia de disolución y que las constantes de estabilidad de los complejos fármaco-CD ven incrementado su valor (*Loftsson y Brewster, 1996*). Sin embargo, todavía no se conocen en profundidad las interacciones que se producen entre el polímero y la CD. Cambios en los valores de viscosidad de soluciones acuosas de éteres de celulosa cuando se adiciona CD confirman la formación de asociaciones moleculares que son de tipo “extremo-extremo”(proceso de dimerización) en el caso de la HPMC (*Hladon y Cwiertnia, 1994*). Los grupos funcionales del polímero parecen participar en el desplazamiento de las moléculas de agua que se encuentran en el interior de la cavidad de la CD interaccionando con grupos químicos del borde del anillo. El proceso de autoclavado o sonicación parece mejorar las interacciones (*Ganzerli y col., 1996*). Loftsson afirma que el polímero participa directamente en la complejación (*Loftsson, 1998*). La interacción que se produce da lugar a la formación de agregados fármaco-CD-polímero observándose un comportamiento similar al que ocurre con un sistema micelar (*Cappello y col., 2001*). La entropía y la entalpía se hacen más negativas (*Loftsson y col., 1994*) además de aumentar el valor de la constante de estabilidad del complejo. En estos sistemas ternarios el incremento en la velocidad de disolución se debe a un mayor desorden de la estructura del sistema, es decir, a una activación mecánica que es optimizada por la presencia conjunta del polímero y la CD. Así, por ejemplo, la influencia de la polivinilpirrolidona en la complejación del naproxeno con la HPBCD se ha puesto de manifiesto con interacciones mecánica y/o térmicamente inducidas más fuertes en los sistemas ternarios en los que llega a producirse una pérdida total de la cristalinidad del naproxeno (*Mura y col., 2001*).

La mejora en la eficacia de la complejación resulta de gran utilidad práctica porque permite reducir la cantidad de CD necesaria para formular un determinado fármaco en una forma sólida oral. En ocasiones, la dosis terapéutica es elevada y la cantidad de CD necesaria (el peso molecular de las CDs oscila entre 1200 y 1500) hace imposible formular el fármaco para una administración oral.

3.4.5. Combinación de métodos

Se puede conseguir un efecto sinérgico si se combinan dos o más métodos de los anteriormente comentados. Por ejemplo la adición simultánea de ácidos y polímeros hidrosolubles (*Ribeiro y col., 2005*).

3.5. APLICACIONES DE LAS CICLODEXTRINAS

La importancia de las CDs en Tecnología Farmacéutica se atribuye fundamentalmente a su capacidad para formar complejos de inclusión con numerosas moléculas con el fin de mejorar ciertas propiedades físico-químicas y biofarmacéuticas.

En la actualidad, muchas moléculas formuladas con CDs se encuentran en fase de estudios clínicos con resultados muy prometedores.

En la tabla 4 se recogen algunas formulaciones presentes en el mercado en las que se incluyen CDs.

CD/FÁRMACO	Forma administración	Nombre comercial y país de comercialización
ACD		
PG1 Alprostadil	IV	Prostanding , Prostavasin , Eles (Europa, Japón, EEUU)
BCD		
Piroxicam	Oral, rectal	Brexin , Cycladol , Brexidol (Europa)
PGE2	Bucal	Prostarmon (Japón)
Benexate	Oral	Ulgut , Lonmiel (Japón)
Iodine	Tópica	Mena-Gargle (Japón)
Dexametasona	Dérmica	Glymesason (Japón)
Nitroglicerina	Bucal	Nitropen (Japón)
Nimesulide	Oral	Nimedex , Mesulid Fast (Europa)
cido tiaprofénico	Oral	Surgamyl (Europa)
Omeprazol	Oral	Ombeta (Europa)
Cefalosporina ME1207	Oral	Meiact (Japón)
HPBCD		
Itraconazol	Oral, IV	Sporanox (Europa, EEUU)
Cisaprida	Rectal	Prepulsid (Europa)
Mitomicina	IV	Mitozytrex (EEUU)
SBE7-BCD		
iprasidona	IM	eldox , Geodon (Europa, EEUU)
Voriconazol	IV	Vfend (Europa, EEUU)

Tabla 4.- Listado de algunos productos farmacéuticos comercializados con ciclodextrinas.

- **Incremento de la solubilidad y velocidad de disolución.**

En muchas ocasiones la simple mezcla física de los componentes mejora apreciablemente la solubilidad y la velocidad de disolución, aunque en general la magnitud es mayor con la formación del complejo (*Esclusa Díaz y col., 1996*).

El sistema de clasificación biofarmacéutico de fármacos desarrollado por la FDA establece cuatro grupos de sustancias basados fundamentalmente en la capacidad para atravesar las membranas biológicas y en su solubilidad acuosa entre otros parámetros:

CLASE I	CLASE II	CLASE III	CLASE IV
Alta solubilidad	Baja solubilidad	Alta solubilidad	Baja solubilidad
Alta permeabilidad	Alta permeabilidad	Baja permeabilidad	Baja permeabilidad

Tabla 5 .- Clasificación biofarmacéutica de principios activos según FDA.

Las CDs pueden formar complejos de inclusión con fármacos de naturaleza lipofílica insolubles en agua consiguiendo aumentar su hidrosolubilidad sin cambiar la capacidad intrínseca que poseen para atravesar las membranas biológicas. De esta manera, al incluir las CDs en las formulaciones farmacéuticas es posible desplazar moléculas desde la clase II e incluso IV a clase I. Sin embargo, no es adecuado el uso de CDs con moléculas de clase III y pueden reducir la biodisponibilidad de moléculas de clase I (*Loftsson y col., 2002*).

- **Incremento de la biodisponibilidad**

En muchos casos una biodisponibilidad limitada es consecuencia de una baja solubilidad (el complejo formado oculta los grupos funcionales hidrofóbicos mientras que los grupos hidrofílicos permanecen expuestos al ambiente acuoso), otras veces se consigue mejorar la biodisponibilidad mejorando la permeabilidad a través de membranas o por la modificación en el lugar de liberación o también alterando el tiempo de liberación del principio activo (*Soliman y col, 1997; Stella y Rajewski, 1997; Castillo y col., 1999*).

- **Incremento de la estabilidad térmica, resistencia a la oxidación, estabilidad en disolución, protección frente a la luz**

La complejación con CDs protege al fármaco frente a agresiones externas, lo que es especialmente importante en el caso de moléculas

lábiles (*Loftsson y col., 1991*). Generalmente, la fusión, evaporación, sublimación o descomposición del principio activo no aparecen hasta que se produce la descomposición de la CD.

Cuando una molécula o parte de ella es obligada a permanecer dentro de la cavidad de la CD, se encuentra resguardada de la luz, el oxígeno o el agua, que difícilmente difunden al interior de la cavidad para reaccionar y degradar dicha molécula.

- **Reducción de efectos secundarios**

Las CDs permiten atenuar la irritación local (*Lin y col., 1994*), lo que es de especial importancia en grupos terapéuticos como son los AINEs (*Otero Espinar y col., 1991*). Se reduce la concentración local del componente libre por debajo de niveles que dejan de ser irritantes. Con la formación del complejo, el contacto con los componentes biológicos es menor, se consigue así una disminución de la toxicidad.

- **Formulaciones de liberación modificada**

Las CDs hidrófilas son tiles para formulaciones donde interese una cesión inmediata del principio activo, mientras que las CDs hidrófobas permiten una liberación prolongada, y con CDs de carácter iónico se puede conseguir una liberación retardada (*Okimoto y col., 1998*).

- **Enmascaramiento de sabores desagradables**

Es una propiedad interesante para fármacos que presentan características organolépticas desagradables que pueden llevar al incumplimiento del tratamiento si la administración es oral. De esta forma, es posible ocultar frente a los receptores sensoriales los grupos

funcionales específicos que causan el gusto o los olores desagradables (*Funasaki y col., 1999*).

- **Promoción de la absorción**

Las CDs pueden actuar como promotores de la absorción (*Másson y col., 1999*) al incrementar la biodisponibilidad del fármaco en la superficie de la membrana biológica (*Sigurdardóttir y Loftsson, 1995; Loftsson y col., 1998*). Así, han sido usadas con éxito en formas dérmicas tipo solución, en sistemas de administración nasal y en varias formulaciones oftálmicas.

- **Otras aplicaciones:** separaciones analíticas como la separación cromatográfica de fármacos quirales, protección de los ingredientes activos en perfumes, seguridad de sustancias explosivas, etc.

4. UTILIZACIÓN CONJUNTA DE CICLODEXTRINAS Y POLÍMEROS HIDROSOLUBLES EN EL DESARROLLO DE FORMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA

La combinación de la complejación con CDs con el empleo de polímeros hidrofílicos es un recurso potencialmente útil para conseguir un adecuado control de la liberación.

En ocasiones, la formulación de determinados fármacos en sistemas de liberación modificada no alcanza el éxito esperado debido a la limitada solubilidad del principio activo. La incorporación a complejos con CDs podría modificar el comportamiento de disolución de estos fármacos (*Giunchedi y col., 1994*).

De este modo, la cesión del fármaco a partir de matrices hidrofílicas podría ser modulada por la incorporación de un tercer componente capaz de complejar el fármaco. La difusividad efectiva del fármaco estará relacionada con el tipo y la cantidad de agente complejante. Además, la constante de estabilidad y la proporción fármaco/complejante jugarán un papel muy importante (*Quaglia y col., 2001*). La consecuente disminución de la difusividad que se produce en estos casos estaría relacionada con el tipo y la concentración del complejante.

A la hora de llevar a cabo este tipo de formulaciones, debe valorarse la posibilidad de incorporar la CD directamente (mezcla física) o proceder a una previa complejación del fármaco (*Koester y col., 2004*).

Rao y col. (2001) han observado que incorporando directamente la CD a la formulación (mezcla física) se consigue mejorar la velocidad de cesión del principio activo a partir de una matriz hidrofílica, ya que el complejo de inclusión se forma *in situ*. La incorporación de la CD conduce a un incremento de la velocidad de disolución en la capa de gel que se forma tras la hidratación del polímero. De esta forma, se consigue mejorar la cesión de fármacos poco solubles a partir de sistemas

matriciales manteniendo las propiedades de control de la liberación y mediante un proceso sencillo y de bajo coste. *Pina y Veiga (2000)* también han demostrado cómo una simple mezcla del fármaco con CDs hidrofílicas antes de la compactación permite aumentar considerablemente la velocidad de disolución de principios activos poco solubles a partir de comprimidos tipo matriz.

Se ha visto que en los perfiles de liberación del fármaco obtenidos a partir de matrices hidrofílicas formuladas con CDs la velocidad de cesión es mayor, no se observa efecto “burst” y la cinética de liberación que caracteriza el proceso se aproxima a un orden cero (*Giunchedi y col., 1994*).

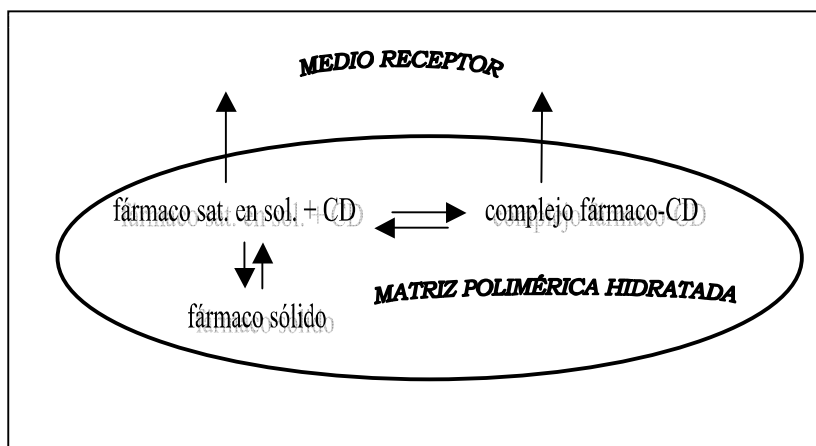


Figura 14.- Modelo del mecanismo de liberación del fármaco a partir de una matriz polimérica (Bibby y col., 2000)

La incorporación de fármacos poco solubles como complejos de inclusión con CDs puede modificar el proceso alterando el volumen hidrodinámico o las interacciones fármaco-polímero.

Las CDs pueden potenciar la cesión del fármaco a partir de sistemas poliméricos al incrementar la concentración de las especies que pueden difundir dentro de la matriz. La liberación del fármaco será el resultado de la difusión del principio activo y del complejo principio

activo-CD (asumiendo que la difusión del complejo sea posible) (Fig.-14). Aunque la difusividad del complejo será más baja, debido a que el peso molecular del complejo es mayor, la cesión total del fármaco se incrementa al sumarse la velocidad de difusión del fármaco libre y la velocidad de difusión del fármaco complejado. Esto podría explicar los resultados obtenidos por diversos autores que observaron cómo en presencia de CDs la velocidad de liberación del fármaco era mayor (*Samy y Safwat, 1994; Guo y Cooklock, 1995*). Sin embargo, si el principio activo está en una concentración por debajo de la saturación, la adición de CDs reduciría la concentración de fármaco libre y por tanto, la velocidad de difusión.

Además, las CDs también actúan como promotoras de la erosión de la matriz, como agentes debilitantes, creando canales y poros en la red polimérica. Varios grupos investigadores han incorporado CDs a sistemas poliméricos y han observado cómo la cesión del fármaco es mejorada por mecanismos de disolución-erosión (*Giunchedi y col., 1994; Song y col., 1997; Villar López y col., 1999*). Las CDs actúan como agentes hidratantes, promotores de la hidratación del sistema polimérico, acelerando la velocidad de cesión del principio activo.

Sin embargo, si lo que se persigue es retardar la liberación del fármaco, la formación del complejo debe “atrapar” al fármaco dentro de la matriz. Este efecto se podría conseguir mediante la complejación con CDs de baja hidrosolubilidad, que reducirían la concentración total de especies difusibles (*Bibby y col., 2000*).

No obstante, si la difusión del complejo o de la CD no es posible (la complejación implica un incremento del peso molecular), se observará un descenso en la difusividad del fármaco.

Las CDs también pueden emplearse como agentes reticulantes, reduciendo el tamaño de malla polimérica y por tanto, la liberación del fármaco (*Paradossi y col., 1997*).

Por lo tanto, la incorporación de CDs a sistemas matriciales puede dar lugar a variaciones en la liberación del fármaco por varios mecanismos. El resultado obtenido será consecuencia de todos los efectos parciales que producen. Por una parte, las CDs contribuirán a potenciar la cesión del principio activo al influir sobre los siguientes factores:

- incremento de la solubilidad acuosa
- erosión de la matriz
- concentración de especies difusibles

Y en sentido contrario, habrá una tendencia a retardar la liberación del fármaco debido a:

- aumento del peso molecular (consecuencia de la formación de complejos)
- disminución de la concentración de especies con elevada capacidad de difusión por formación de complejos poco solubles o complejos en los que la CD está unida covalentemente al polímero
- reducción del tamaño de malla polimérica (se dificulta la difusión).

II. BIBLIOGRAFÍA

- Addicks W.J., Weiner N.D., Curl R.L., Flynn G.L. *Topical Drug Delivery Formulations*, 42. Eds. Marcel Dekker, Inc., New York, 1990.
- Alderman D.A. *Int. J. Pharm. Tech. Prod. Mfr.*, 5, 1, 1984.
- Ivarez Lorenzo C., Gómez Amoza J.L., Martínez Pacheco R., Souto C., Concheiro A. *Int. J. Pharm.*, 180, 91, 1999.
- Bekers O., Uijtendaal E.V., Beijnen J.H., Bult A., Underberg W.J.M. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 17, 1503, 1991.
- Bettinetti G., Melani F., Mura D., Monnanni R., Giordano F. *J. Pharm. Sci.*, 80, 1162, 1991.
- Bibby D.C., Davies N.M., Tucker I.G. *Int. J. Pharm.*, 197, 1, 2000.
- Blanchard J., Proniuk S. *Pharm. Res.*, 16, 1796, 1999.
- Bonferoni M.C., Rossi S., Tamayo M., Pedraz J.L., Domínguez Gil A., Caramella C. *J. Controlled Rel.*, 26, 119, 1993.
- Bonferoni M.C., Rossi S., Ferrari F., Bertoni M., Sinistri R., Caramella C. *Eur. J. Pharm.*, 41, 242, 1995.
- Brewster M.E., Simpkins J.W., Hora M.S., Ster W.C., Bodor N. *J. Parenter. Sci. Technol.*, 43, 231, 1989.
- Cabral Marques H.M., Hadgraft J., Kellaway I.W., Pugh W.J. *Int. J. Pharm.*, 63, 267, 1990.
- Cappello B., Carmignani C., Iervolino M., La Rotonda M.I., Saettone M.F. *Int. J. Pharm.*, 213, 75, 2001.
- Castillo J.A., Palomo Canales J., García J.J., Lastres J.L., Bolas F., Torrado J.J. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 25, 1241, 1999.
- Cassu B., Gallo G.C., Reggiani M., Vigevani, A. *Tetrahedron*, 24, 803, 1968.
- Colombo P., Bettini R., Massimo G., Catellani P.L., Santi P., Peppas N.A. *J. Pharm. Sci.*, 84, 991, 1995.
- Connors, K. *Chem. Rev.* 97, 1325, 1997.
- Dahl T.C., Ling T., Yee J., Bormeth A. *J. Pharm. Sci.*, 79, 389, 1990.

- Djedane F., Perly B. Nuclear magnetic resonance of cyclodextrins derivatives and inclusion compounds. En: *New trends in cyclodextrins and derivatives*. Duch ne D., Ed. de Santé, Paris, 215, 1991.
- Duch ne, D., Glomot, F., Vaution, C. *Cyclodextrins and their industrial uses*. Ed. de Santé, Paris, 213, 1987.
- Duddu S.P., Vakilynejad M., Jamali F., Grant D.J.W. *Pharm. Res.*, 10, 1648, 1993.
- Echezarreta López M.M., Perdomo López I., Estrada E., Vila Jato J.L., Torres Labandeira J.J. *J. Pharm. Sci.*, 91, 1536, 2002.
- Esclusa Díaz M.T., Guimaraens Méndez M., Pérez Marcos M.B., Vila Jato J.L., Torres Labandeira J.J. *Int. J. Pharm.*, 143, 203, 1996.
- Eyjolfsson R. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 25, 667, 1999.
- Farg K.F., Nelson K.G. *J. Pharm. Sci.*, 62, 1435, 1993.
- Fenyvesi E., Vikmon M., Szemán J., Redenti E., Delcanale M., Ventura P., Szejtli J.J. *Incl. Phenom.*, 33, 339, 1999.
- Ford J.L., Rubinstein M.H., Hogan J.E. *Int. J. Pharm.*, 24, 327, 1985a.
- Ford J.L., Rubinstein M.H., Hogan J.E. *Int. J. Pharm.*, 24, 339, 1985b.
- Ford J.L., Rubinstein M.H., Mc Caul F., Hogan J.E., Edgar P.J. *Int. J. Pharm.*, 40, 223, 1987.
- Ford J.L., Mitchell K., Rowe P., Armstrong D.J., Nc. Elliot P., Rostron C., Hogan J.E. *Int. J. Pharm.*, 71, 95, 1991.
- Fr mming K.H., Szejtli J. En: *Cyclodextrins in pharmacy*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1994.
- Funasaki N., Kawaguchi R., Hada S., Neya S. *J. Pharm. Sci.*, 88, 759, 1999.
- Ganza González A., Vila Jato J.L., Anguiano Igea S., Otero Espinar F., Blanco Méndez J. *Int. J. Pharm.*, 106, 179, 1994.
- Ganzerli G., Santvliet L., Verschuren E., Ludwig A. *Pharmazie*, 5, 357, 1996.

- Gao P., Fagerness P.E. *Pharm. Res.*, 12, 1995.
- Gao P, Skoug J.W., Nixon P.R., Robert Ju T., Stemm N.L., Sung K. *J. Pharm. Sci.*, 85, 732, 1996.
- Gebre Mariam T., Armstrong N.A., Brain K.R., James K.C. *J. Pharm. Pharmacol.*, 41, 524, 1989.
- Giunchedi P., Maggi L., La Manna A., Conte U. *J. Pharm. Pharmacol.*, 46, 476, 1994.
- Gómez Amoza J.L., Hernández B., Landín M., Pérez Marcos B., Souto C., Concheiro A., Martínez Pacheco R. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 37, 142, 1991.
- Green A.R., Miller E.S., Guillorrry J.K. *J. Pharm. Sci.*, 80, 186, 1991.
- Guo J.H., Cooklock K.M. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 21, 2013, 1995.
- Higuchi T. *J. Pharm. Sci.*, 52, 1145, 1963.
- Higuchi T., Connors K.A. *Adv. Anal. Chem. Instr.*, 4, 117, 1965.
- Hirayama F., Uekama K. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 36, 125, 1999.
- Hladon T., Cwiertnia B. *Pharmazie*, 49, 497, 1994.
- Hogan J.E. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 15, 975, 1989.
- Iervolino M., Cappello B., Raghavan S.L., Hadgraft, J. *Int. J. Pharm.*, 212, 131, 2001.
- Irie T., Uekama K. *J. Pharm. Sci.*, 86, 147, 1997.
- Job P. *Am. Chim. Phys.*, 9, 113, 1928.
- Johnson M.D., Hoesterey B.L., Anderson B.D. *J. Pharm. Sci.*, 83, 1142, 1994.
- Koester L.S., Bertuol J.B., Groch K.R., Xavier C.R., Moellerke R., Mayorga P., Dalla Costa T., Bassani V.L. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 22, 201, 2004.
- Korsmeyer R.W., Gurny R., Doelker E., Buri P., Peppas N.A. *Int. J. Pharm.*, 15, 25, 1983.

- Lapidus H., Lordi N.G. *J. Pharm. Sci.*, 57, 1292, 1968.
- Lin S. ., Wouessidjwe D., Poelman M.C., Duch ne D. *Int. J. Pharm.*, 106, 63, 1994.
- Loftsson T., Fridriksdóttir H., Sigurdadóttir A., Ueda H. *Int. J. Pharm.*, 10, 169, 1994.
- Loftsson T., Brewster M.E. *J. Pharm. Sci.*, 85, 1017, 1996.
- Loftsson T., Brewster M.E. *Pharm. Tech. Eur.*, 9, 26, 1997.
- Loftsson T. *Pharmazie*, 53, 733, 1998.
- Loftsson T., Fridriksdóttir H. *Int. J. Pharm.*, 163, 115, 1998.
- Loftsson T., Másson M., Sigurdsson H., Magn sson P., Goffic F. *Pharmazie*, 53, 137, 1998.
- Loftsson T. *Pharm. Tech. Eur.*, 11, 20, 1999.
- Loftsson T., Másson M., Sigurjónsdóttir F. *S.T.P. Pharm. Sci.*, 9, 237, 1999.
- Loftsson T., Másson M. *Int. J. Pharm.*, 225, 15, 2001.
- Loftsson T. *J. Incl. Phenom. Macro. Chem.*, 44, 63, 2002.
- Lu C., Hu C., Yu Y., Meng . *Chem. Pharm. Bull.*, 48, 56, 2000.
- Lucarini M., Mezzina E., Pedulli G.F. *Eur. J. Org. Chem.*, 3927, 2000.
- Lucisano L.J., Breech J.A., Angel L.A., Franz R.M. *Pharm. Technol.*, 1, 34, 1989.
- Ma D. ., Rajewski R.A., Velde D.V., Stella V.J. *J. Pharm. Sci.*, 89, 2, 2000.
- Malamataris S., Ganderton D. *Int. J. Pharm.*, 70, 69, 1991.
- Malamataris S., Karidas T., Goidas P. *Int. J. Pharm.*, 103, 205, 1994.
- Másson M., Loftsson T., Másson G., Stefánsson E. *J. Control. Release*, 59, 107, 1999.

- Ming Than S., Huei Lan C., Chin Cheng K., Cheng Hsiung L., Sokoloski T.D. *Int. J. Pharm.*, 85, 57, 1992.
- Mitchell K., Sogo T., Ford J.L., Armstrong D.J., Nc. Elliot P., Rostron C., Hogan J.E. *J. Pharm. Pharmacol.*, 42, 127P, 1990.
- Mitchell K., Ford J.L., Armstrong D.J., Elliot P.N.C., Rostron C., Hogan J.E. *Int. J. Pharm.*, 100, 143, 1993a.
- Mitchell K., Ford J.L., Armstrong D.J., Elliot P.N.C., Hogan J.E., Rostron C. *Int. J. Pharm.*, 100, 165, 1993b.
- Mura P., Faucci M.T., Bettinetti G.P. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 13, 187, 2001.
- Nokhdodchi A., Ford L.J., Rowe H.P., Rubinstein H.M. *J. Pharm. Sci.*, 86, 608, 1997.
- Okimoto K., Miyake M., Ohnishi N., Rajewski R.A., Stella V.J., Irie T., Uekama K. *Pharm. Res.*, 15, 1562, 1998.
- Otero Espinar F.J., Anguiano Igea S., Vila Jato J.L., Blanco Méndez J. *Int. J. Pharm.*, 70, 35, 1991.
- Otero Espinar F.J., Anguiano Igea S., García González N., Vila Jato J.L., Blanco Méndez J. *Int. J. Pharm.*, 79, 149, 1992.
- Padmalatha Devi, K.; Ranga Rao, K.V.; Baveja, S.K.; Fathi, M.; Roth, M. *Pharm. Res.*, 6, 313, 1989.
- Paradossi G., Cavalieri F., Crescenzi V. *Carbohydr. Res.*, 300, 77, 1997.
- Parks J.M., Cleek R.L., Bunge A.L. *J. Pharm. Sci.*, 86, 187, 1997.
- Peppas N.A., Wright S.L. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 46, 15, 1998.
- Perdomo López I., Rodríguez Pérez A.I., Yzquierdo Peiró J.M., White A., Estrada E., Villa T., Torres Labandeira J.J. *J. Pharm. Sci.*, 91, 2408, 2002.
- Pérez Marcos B., Iglesias R., Gómez Amoza J.L., Martínez Pacheco R., Souto C., Concheiro A. *Int. J. Pharm.*, 67, 113, 1991.
- Pérez Marcos B., Ford J.L., Amstrong D.J., Elliot P.Nc., Rostron C., Hogan J.E. *Int. J. Pharm.*, 111, 251, 1994.
- Pina M.E., Veiga F. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26, 1125, 2000.

- uaglia F., Varricchio G., Miro A., La Rotonda M.I., Larobina D., Mensitieri G. *J. Control. Release*, 71, 329, 2001.
- Railkar A., Phupradit N.H., Shah N.H., eng F.W., Patel M.H., Infeld M.H., Malick W. *Pharm. Res.*, 8, S-192, 1991.
- Rajewski R.A., Stella V.J. *J. Pharm. Sci.*, 85, 1142, 1996.
- Ranga Rao K.V., Padmalatha Devi K. *Int. J. Pharm.*, 48, 1, 1988.
- Ranga Rao K.V., Padmalatha Devi K., Buri P. *J. Control. Release*, 12, 133, 1990.
- Rao V., Foster J.F. *J. Phys. Chem.*, 67, 951, 1963.
- Rao V.M., Haslam J.L., Stella V.J. *J. Pharm. Sci.*, 90, 807, 2001.
- Redenti E., Szente L., Szejtli J. *J. Pharm. Sci.*, 89, 1, 2000.
- Redenti E., Szente L., Szejtli J. *J. Pharm. Sci.*, 90, 979, 2001.
- Ribeiro L., Carvalho R.A., Ferreira D.C., Veiga F.J. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 24, 1, 2005.
- Rouffiac R., Magbi A., Rodríguez F., Benkaddour N., Bonnet L. *J. Pharm. Belg.*, 5, 42, 1987.
- Rowe R.C., Sheskey P.J., Weller P.J. Hydroxypropylcellulose. En: *Handbook of pharmaceutical excipients*. Pharmaceutical Press, Londres, 289, 2003.
- Samani S.M., Montaseri H., Kazemi A. *Eur. J. Pharm.*, 55, 351, 2003.
- Samy E.M., Safwat S.M. *S.T.P. Pharma. Sci.*, 4, 458, 1994.
- Sarkar, N. *J. Appl. Polym. Sci.*, 24, 1073, 1979.
- Schuette J.M., Ndou T.T., Muñoz de la Peña A., Mukandan S., Warner I.M. *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 292, 1993.
- Sigurdardóttir A.M., Loftsson T. *Int. J. Pharm.*, 126, 73, 1995.
- Smidt J.H., Crommelin D.J.A. *Int. J. Pharm.*, 77, 261, 1991.
- Smidt J.H., Offringa, J.C.A., Crommelin, D.J.A. *Int. J. Pharm.*, 77, 255, 1991.

- Soliman O.A.E., Kimura K., Hirayama F., Uekama K., El-Sabbah H.M., El-Gawad A.E.H., Hashim F.M. *Int. J. Pharm.*, 149, 73, 1997.
- Song C.X., Labhasetwar V., Levy R.J. *J. Control. Release*, 45, 177, 1997.
- Stella V.J., Rajewski R.A. *Pharm. Res.*, 14, 556, 1997.
- Stella V.J. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 36, 125, 1999.
- Suh H., Jun H.W. *Int. J. Pharm.*, 129, 13, 1996.
- Sundararajan P., Rao V.S. *Carbohydr. Res.*, 13, 351, 1970.
- Sung K.C., Nixon P.R., Skoug J.W., Robert Ju T., Gao P., Topp E.M., Patel M.V. *Int. J. Pharm.*, 142, 53, 1996.
- Szejtli, J. *Chem. Rev.*, 98, 1743, 1998.
- Tahara K., Yamamoto K., Nishihata T. *J. Control. Release*, 35, 59, 1995.
- Thompson D.O. *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.*, 14, 1, 1997.
- Timmins P., Delargy A.M., Minchom C., Howar J.R. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 38, 113, 1992.
- Tros de Ilarduya M.C., Martin C., Goñi M., Martínez Ohárriz M.C. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 23, 393, 1997.
- Uekama K., Hirayama F., Ikeda K., Inaba K. *J. Pharm. Sci.*, 66, 706, 1977.
- Uekama K. *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.*, 3, 1, 1986.
- Uekama K., Otagiri M. *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.*, 3, 1, 1987.
- Varma M.V.S., Kaushal A.M., Garg A., Garg S. *Am. J. Drug Deliv.*, 2, 43, 2004.
- Vázquez M.J., Pérez Marcos B., Gómez Amoza J.L., Martínez Pacheco R., Souto C., Concheiro A. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 18, 1355, 1992.
- Villar López M.E., Nieto Reyes L., Anguiano Igea S., Otero Espinar F.J., Blanco Méndez J. *Int. J. Pharm.*, 179, 229, 1999.

Villiers A. *Compt. Rend. Acad. Sci.*, 112, 536, 1891.

Wan L.S.C., Heng P.W.S., Wong L.F. *Int. J. Pharm.*, 73, 111, 1991.

Wan L.S.C., Heng P.W.S., Wong L.F. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 19, 1201, 1993.

hang M. ., Rees D.C. *Exp. Opin. Ther. Patents*, 9, 1697, 1999.

III. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

La complejidad de las pautas de administración constituye, con frecuencia, un importante inconveniente de la terapéutica oral y origina incumplimientos y fallos en los tratamientos. Este aspecto tiene una gran trascendencia, sobre todo en enfermedades crónicas. Con el fin de lograr regímenes posológicos más cómodos, la Tecnología Farmacéutica se ha centrado en el desarrollo de formas de dosificación de liberación modificada. Como consecuencia de ello, en la actualidad las formas de liberación modificada representan un porcentaje elevado en el total de las especialidades farmacéuticas disponibles.

Las ventajas terapéuticas de las formas de liberación modificada, frente a las formas de dosificación convencionales, son numerosas. Entre ellas cabe destacar el mejor cumplimiento del tratamiento por parte del paciente, motivado por una disminución en la frecuencia de las dosis. Además, la capacidad que poseen para mantener niveles plasmáticos dentro del rango terapéutico durante períodos de tiempo razonables, lleva asociada una indiscutible mejora en la eficacia de los tratamientos.

Para obtener formulaciones adecuadas se requiere el empleo de excipientes que permitan optimizar, bien retardando o bien acelerando, el proceso de cesión del principio activo.

Numerosos estudios avalan la importancia de los polímeros hidrofílicos como moduladores del proceso de cesión del fármaco y el uso de las ciclodextrinas como agentes complejantes de fármacos está ampliamente documentado desde hace décadas. Más recientemente se ha demostrado que el efecto solubilizador de las ciclodextrinas se incrementa en presencia de un polímero hidrosoluble.

En este trabajo se ha pretendido conjugar el potencial de las ciclodextrinas, como promotoras de la solubilidad de fármacos, con la capacidad de los polímeros hidrofílicos para controlar la cesión del

principio activo, cuando éste se incorpora a comprimidos tipo matriz. Previamente se ha estudiado el efecto del polímero seleccionado, la hidroxipropilmetilcelulosa, sobre la eficacia de complejación de las ciclodextrinas, así como los complejos de inclusión de los fármacos con β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina.

La hidroxipropilmetilcelulosa es un derivado celulósico hidrofílico muy usado para la preparación de formas orales de liberación modificada. En su presencia se produce una mejora apreciable de la capacidad solubilizadora de las ciclodextrinas, lo que representa una importante ventaja dado que permite reducir la cantidad de ciclodextrina necesaria para solubilizar un determinado fármaco.

Tomando como base los comentarios anteriores, el presente estudio se ha planteado con el objetivo de elaborar de comprimidos matriciales, de hidroxipropilmetilcelulosa y ciclodextrinas, de dos fármacos de características físico-químicas distintas; el sulfametizol y el diclofenaco sódico, no iónico y poco soluble el primero, e iónico e hidrosoluble el segundo. Se ha analizado el efecto de la complejación sobre la solubilidad de ambos fármacos, así como la influencia de las interacciones ciclodextrina-polímero hidrofílico sobre la característica de cesión del principio activo a partir de comprimidos matriz.

El estudio se ha llevado a cabo en las siguientes etapas:

1. Preparación y caracterización de los complejos de inclusión de ambos fármacos con ciclodextrinas.
2. Análisis de la influencia de la β - e hidroxipropil- β -ciclodextrinas en la solubilidad de los principios activos elegidos.
3. Análisis de los efectos de la hidroxipropilmetilcelulosa en el proceso de complejación.
4. Estudio de la influencia de las ciclodextrinas sobre la cesión de ambos principios activos a partir de geles y comprimidos matriz de hidroxipropilmetilcelulosa. El uso de ciclodextrinas podría ser

una herramienta útil para modular la liberación de los fármacos a partir de comprimidos matriciales. La influencia de estos aditivos podría estar relacionada con el tamaño molecular del fármaco y con la hidrofilia de la ciclodextrina.

***IV. CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE
INCLUSIÓN DE DICLOFENACO SÓDICO Y
SULFAMETIZOL CON β - E HIDROXIPROPIL- β -
CICLODEXTRINAS***

1.-*Interaction of diclofenac sodium with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrin in solution.* S.T.P. Pharma Sci. 9: 231-236, 1999.

Interaction of diclofenac sodium with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrin in solution

B. Pose-Vilarnovo, L. Santana-Penín, M. Echezarreta-López, M.B. Pérez-Marcos, J.L. Vila-Jato and J.J. Torres-Labandeira*

Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Santiago de Compostela, 15706 Santiago de Compostela, Spain

*Correspondence

The formation of inclusion compounds of diclofenac sodium with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrins was studied in solution by phase solubility techniques and by $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy. Phase solubility diagrams revealed the formation of a 1/1 complex with both cyclodextrin derivatives in simulated gastric juice pH 1.2, with a similar stability constant, i.e. 100.6 M^{-1} for β -cyclodextrin and 115.8 M^{-1} for hydroxypropyl- β -cyclodextrin. The continuous variation method was utilized to elucidate the stoichiometry, determine the formation of complex with 1/1 and 1/2 drug/cyclodextrin ratio in deuterated water. Solid inclusion complexes were obtained by freeze-drying. X-ray diffractometry and differential scanning calorimetry showed differences between the complexes and their corresponding physical mixture and individual components. The solubility of diclofenac sodium increased significantly in the presence of cyclodextrins. Enhancement was better from the β -cyclodextrin systems.

La formation de complexes d'inclusion entre la β - et l'hydroxypropyle- β -cyclodextrine a été étudiée en solution par la méthode du diagramme de solubilité de phases et par spectroscopie RMN du proton. Les diagrammes de solubilité de phases révèlent la formation d'un complexe 1/1 avec les deux cyclodextrines en milieu gastrique artificiel de pH 1,2, avec des constantes de stabilité très semblables: $100,6\text{ M}^{-1}$ pour la β -cyclodextrine et $115,8\text{ M}^{-1}$ pour l'hydroxypropyl- β -cyclodextrine. La méthode par variation continue, utilisée pour élucider la stoechiométrie du complexe, a permis de mettre en évidence la formation d'un complexe 1/1 et 1/2 entre le principe actif et la cyclodextrine dans l'eau deutérée. Des complexes d'inclusion solides ont été obtenus par lyophilisation. La diffractométrie de rayons X et l'analyse enthalpique différentielle ont révélé des différences entre les complexes et les mélanges physiques correspondants ainsi que les composés pris séparément. La solubilité du diclofénac de sodium est significativement augmentée en présence de cyclodextrine. L'augmentation de solubilité est la plus forte pour les systèmes à base de β -cyclodextrine.

Keywords: Diclofenac sodium — β -cyclodextrin — Hydroxypropyl- β -cyclodextrin — Nuclear magnetic resonance — X-ray diffractometry — Differential scanning calorimetry — Dissolution properties.

Mots clefs: Diclofénac de sodium — β -cyclodextrine — Hydroxypropyl- β -cyclodextrine — Résonance magnétique nucléaire — Diffractométrie de rayons X — Analyse enthalpique différentielle — Dissolution.

Diclofenac sodium is a widely used non-steroidal anti-inflammatory and analgesic drug. It has limited water solubility, especially in gastric juice (about $15\text{ }\mu\text{g/ml}$), and it is unstable in aqueous solution. This limited solubility in an acidic medium engenders problems in its oral bioavailability and it is a drawback in terms of its formulation in controlled release devices.

Cyclodextrins form inclusion complexes with a variety of guest drugs, increasing their solubility and dissolution rate [1, 2], bioavailability [3, 4] and stability [5, 6]. The ability of diclofenac sodium to form inclusion complexes with same cyclodextrin derivatives has been studied. The complexation was found to improve the solubility [7-10], stability [8] and *in vitro* corneal permeability [11] of the drug.

The aim of this study was to improve the solubility of diclofenac sodium in artificial gastric juice pH 1.2 by its complexation with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. The molecular association between diclofenac sodium and both cyclodextrins and the stoichiometry of the complex formed were examined by $^1\text{H-NMR}$ studies. Freeze-drying was employed for the preparation of diclofenac sodium/cyclodextrin solid inclusion compounds. X-ray diffractometry

and differential scanning calorimetry were used to characterize the systems prepared. The influence of complexation on drug dissolution behaviour was also analysed.

I. EXPERIMENTAL

1. Materials

Diclofenac sodium (2-[(2,6-dichlophenyl) amino] benzeneacetic acid monosodium salt) was purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, United States), β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin were generously supplied by Roquette-Laisa España (Spain) and Janssen Pharmaceutical (Belgium), respectively. All other reagents were of analytical grade.

2. Phase solubility diagrams

Solubility diagrams were obtained according to Higuchi and Connors [12] in gastric juice of pH 1.2. The apparent stability constant of the diclofenac/ β -cyclodextrin and diclofenac/hydroxypropyl- β -cyclodextrin complexes, assuming 1/1 stoichiometry, were calculated from the slope of the initial straight portion of the solubility diagram.

3. $^1\text{H-NMR}$

Nuclear magnetic resonance spectra were recorded on a Bruker WN 300 spectrometer (Bruker Anal.) at 25°C. Samples were dissolved in deuterated water. The internal reference was a peak due to small amounts of DHO and H₂O present as impurities (assigned a value of $\delta = 4.6$ ppm).

4. Preparation of physical mixtures

The physical mixtures of an appropriate amount of diclofenac/ β -cyclodextrin and diclofenac/hydroxypropyl- β -cyclodextrin in the 1/1 molar ratios were obtained by pulverizing and subsequent mixing in a Turbula T2C mixer (5 min at 30 r/min).

5. Preparation of the inclusion complexes

The solid inclusion complexes of diclofenac with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (1/1 mol/mol) were prepared using the freeze-drying method. Both components were dissolved in 0.2 N aqueous ammonium hydroxide. The solution was filtered (0.45 μm) and frozen by immersion in liquid nitrogen. Freeze-drying was completed in 48 h in a Lyph-lock 6 apparatus (Labconco).

6. Characterization of the solid state inclusion complexes

6.1 Thermal analysis

Differential scanning calorimetry was performed on a Shimadzu DSC-50 system with a DSC equipped with a computerized data station TA-5 WS/PC. General conditions: scanning rate 10°C/min⁻¹, scanning temperature range 50 to 250°C.

6.2 X-ray

X-ray powder diffraction patterns were recorded on a Philips X-ray diffractometer (PW-1710 BASED) using Cu-K α radiation.

7. Dissolution studies

In vitro dissolution studies of pure drug, physical mixtures and the inclusion complexes were carried out by placing the corresponding amount of product in a hard-shell colourless gelatin capsule in simulated gastric fluid (USP XXIII). The capsule was placed in a stainless steel cylinder to avoid its flotation. Powdered samples containing 50 mg of diclofenac or its equivalent in complexed or physically mixed form in the gelatin capsule were placed in 900 ml of the dissolution medium in a beaker at 37°C for 180 min and shaken at 500 r/min. At predetermined time intervals, samples were taken for spectrophotometric determination of diclofenac concentration ($\lambda = 276$ nm, $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 283.85$) following filtration. All samples were analysed in triplicate. Dissolution efficiencies after 180 min (DE_{180}) were calculated according to Khan [13]. The effects of drug formulation on dissolution efficiency at each pH were investigated by one-way analysis of variance with the Student-Newman-Keuls test for multiple comparisons.

II. RESULTS AND DISCUSSION

1. Phase solubility diagrams

Complex formation of diclofenac with β -cyclodextrin and

hydroxypropyl- β -cyclodextrin were studied by a solubility method. Figure 1 shows the equilibrium phase solubility diagrams obtained for the diclofenac/ β -cyclodextrin and diclofenac/hydroxypropyl- β -cyclodextrin in artificial gastric juice without enzymes (USP 23). Both diagrams can be classified as the A_L type according to Higuchi and Connors [12]. This indicates that, within the cyclodextrin concentration range tested, a soluble complex is formed. On the other hand, because both straight lines have a slope less than unity, it was assumed that the increase in solubility was due to the formation of a 1/1 mol/mol complex. The apparent stability constant, K, was calculated according to equation 1:

$$K = \text{Slope}/S_0(1 - \text{slope}) \quad \text{Eq. 1}$$

where S_0 is the solubility of diclofenac in the absence of cyclodextrins. The obtained values were 100.6 M⁻¹ for β -cyclodextrin and 115.8 M⁻¹ for hydroxypropyl- β -cyclodextrin, which indicates a similar interaction between the drug and both cyclodextrin derivatives in the conditions used in the study.

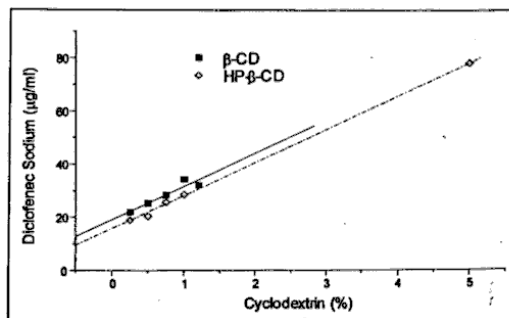


Figure 1 - Solubility diagrams. Plot of diclofenac concentration versus cyclodextrin concentration.

2. $^1\text{H-NMR}$ studies

The spectrum for diclofenac, diclofenac/ β -cyclodextrin and diclofenac/hydroxypropyl- β -cyclodextrin in a 1/1 molar ratio are shown in figure 2. The assignments for the different protons were made based on chemical shifts [14]. Information about the interaction of diclofenac with cyclodextrins from nuclear magnetic resonance (NMR) is primarily inferred from the changes in chemical shifts and line shape. Under the present conditions, only the shifts of the signals were observed. No new peaks are present in the spectra of diclofenac/cyclodextrin mixtures. This observation implies that complexation is a dynamic process, the included drug is in a fast exchange (relative to the nuclear magnetic resonance timescale) between the free and bound states [15].

The insertion of a guest molecule into the cyclodextrin cavity is clearly reflected by changes in $^1\text{H-NMR}$ chemical shift values [16]. The effects of β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin at different concentrations on the $^1\text{H-NMR}$ spectrum of diclofenac are shown in figures 3 and 4, respectively. Only protons H3' and H5' shifted significantly downfield with increasing cyclodextrin concentrations. Chemical shifts are

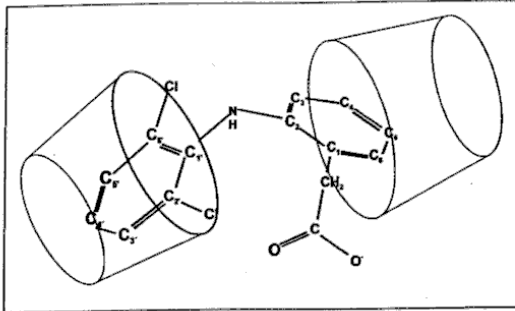


Figure 5 - Structure of diclofenac β -cyclodextrin inclusion complexes in aqueous solution concluded from $^1\text{H-NMR}$ studies.

as a function of r leads to the Job plots presented in figures 6 and 7 for β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin, respectively.

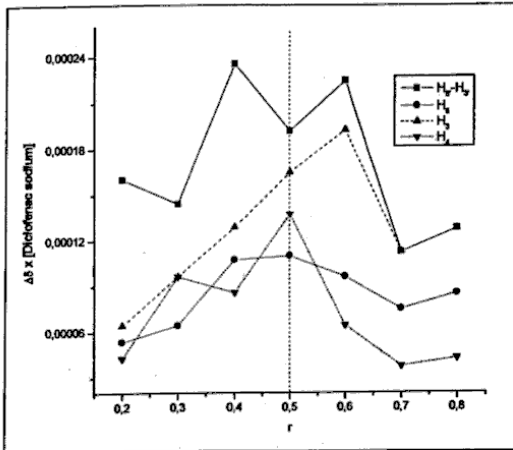


Figure 6 - Continuous variation plot for protons of diclofenac in the presence of different relative concentration of β -cyclodextrin.

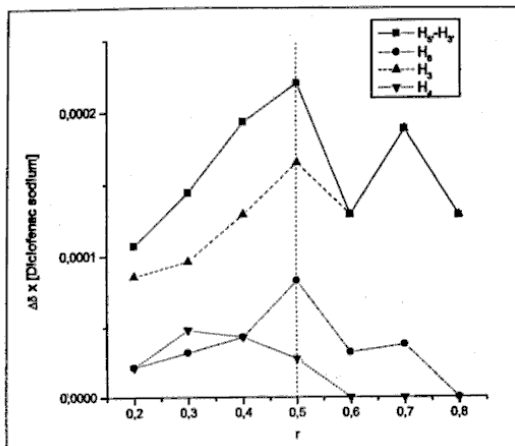


Figure 7 - Continuous variation plot for protons of Diclofenac in the presence of different relative concentration of hydroxypropyl- β -cyclodextrin.

The protons used in the analysis were H3, H3'-H5', H6 and H4. The Job plots indicate that complex stoichiometry is predominantly 1/1; however, slight skewing of the curves for some of the protons to the left of $r = 0.5$ suggests the presence of 1/2 complexes (r 0.4 to 0.5). Similar results were described by other authors in diclofenac/ β -cyclodextrin inclusion complex [19].

3. Preparation and characterization of solid inclusion complexes

Solid inclusion complexes diclofenac/cyclodextrin molar ratio of 1/1 were prepared by the freeze-drying method.

Figure 8 shows the powder X-ray diffraction pattern of the complexes prepared in comparison with that of a physical mixture at the same molar ratio. The diffraction patterns of the physical mixtures were found to be simple superposition of those of the drug and cyclodextrins, while the complex was apparently different. The inclusion complexes are markedly less crystalline than either the physical mixture or the individual components, corresponding to a new solid phase. This is more evident in the hydroxypropyl- β -cyclodextrin system, because of the amorphous characteristics of the hydroxypropyl derivative.

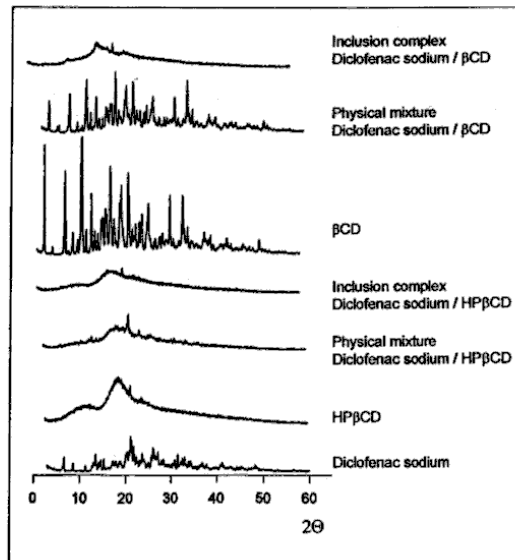


Figure 8 - X-ray diffractograms corresponding to the indicated products.

Figure 9 illustrates the differential scanning calorimetry thermograms of the preparations. The drug does not have any significant peak in the temperature range analysed because the melting and decomposition point is 283 to 285°C. The peaks corresponding to the evaporation of water appeared in the range of 50 to 150°C. Those peaks decrease and even disappear in the case of inclusion complexes [20].

These results indicate that inclusion of the drug within the cyclodextrin cavity can be achieved by a freeze-drying process.

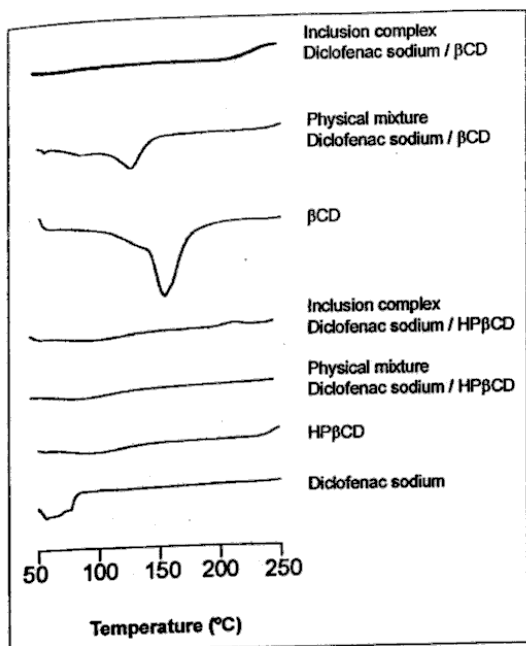


Figure 9 - Differential scanning calorimetry curves corresponding to the indicated products.

4. Effects of complexation on the dissolution behaviour of the drug

Figures 10 and 11 show the dissolution profiles of diclofenac, physical mixture and inclusion complexes in artificial gastric juice.

One-way analysis of variance indicates that the factor

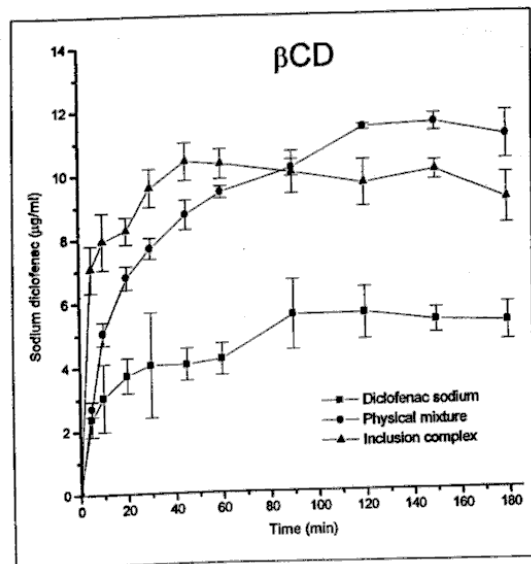


Figure 10 - Dissolution profiles of diclofenac and its β -cyclodextrin systems in artificial gastric juice without enzymes.

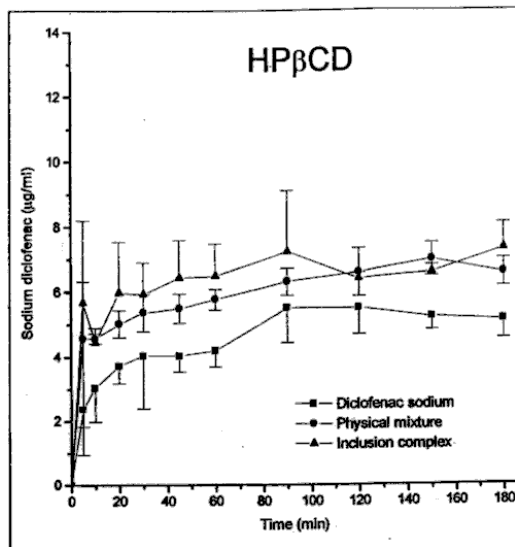


Figure 11 - Dissolution profiles of diclofenac and its hydroxypropyl- β -cyclodextrin systems in artificial gastric juice without enzymes.

formulation has a significant effect on 0 to 180 min dissolution efficiency ($F_{4,10} = 81.9, \alpha < 0.01$). The Student-Newman-Keuls test for pairwise multiple comparison grouped the preparations in the following order (from lowest to highest DE_{180}):

diclofenac < PM-HP β CD < FD-HP β CD < PM-BCD < FD-BCD

where PM-HP β CD: physical mixture diclofenac/hydroxypropyl- β -cyclodextrin; PM-BCD: physical mixture diclofenac/ β -cyclodextrin; FD-HP β CD: freeze-dried diclofenac/hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex; FD-BCD: freeze-dried diclofenac/ β -cyclodextrin complex

Therefore, the presence of cyclodextrin in the system increases the dissolution properties of the drug. This effect is higher with β -cyclodextrin despite the fact that the stability constant calculated from the solubility diagram is slightly smaller for the natural cyclodextrin. However, similar results were found with a physical mixture and the inclusion complex.

In conclusion, it can be stated that diclofenac can form inclusion complexes with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Solubility and NMR study evidence that the stoichiometry of those complexes in solution is 1/1 mol/mol. Solid inclusion complexes were prepared by a freeze-drying method. Differential scanning calorimetry and X-ray diffraction showed the interaction of both cyclodextrins with diclofenac and confirm the formation of a new specie. The presence of cyclodextrins, either as a physical mixture or an inclusion complex, improves the dissolution of diclofenac in artificial gastric juice. This effect has been found higher when the systems were prepared with β -cyclodextrin.

REFERENCES

1. TRAPANI G., LOPEDOTA A., FRANCO M. LATROFA A. and

- LISO G. - Effect of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on the aqueous solubility of the anesthetic agent propofol (2,6-diisopropylpheno)-. *Int. J. Pharm.*, **139**, 215-218, 1996.
2. ESCLUSA-DIAZ T., GUIMARAENS-MENDEZ M., PEREZ-MARCOS M.B., VILA-JATO J.L. and TORRES-LABANDEIRA J.J. - Characterization and *in vitro* dissolution behaviour of ketoconazole/ β and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion compounds. - *Int. J. Pharm.*, **143**, 203-210, 1996.
 3. MERKUS F.W., SCHIPPER N.G. and VERHOEF J.C. - The influence of absorption enhancers on intranasal insulin absorption in normal and diabetic subjects. - *J. Controlled Rel.*, **41**, 69-75, 1996.
 4. SOLIMAN O. A., KIMURA K., HIRAYAMA F., UEKAMA K., EL-SABBAGH H.M., ABD EL-GAWAD A.E.H. and HASHIM F.M. - Amorphous spironolactone-hydroxypropylated cyclodextrin complexes with superior dissolution and oral bioavailability. - *Int. J. Pharm.*, **149**, 73-83, 1997.
 5. BREWSTER M.E., ANDERSON W.R., MEINSMAD., MORENO D., WELL A. I., PABLO L., ESTES K.S., DERENDORF H., BODOR N., SAWCHUK R.; CHEUNG B. and POP E. - Intravenous and oral pharmacokinetic evaluation of a 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin-based formulation of carbamazepine in the dog: comparison with commercially available tablets and suspensions. - *J. Pharm. Sci.*, **86**, 335-339, 1997.
 6. GORECKA B.A., SANZGIRI Y.D., BINDRA D.S. and STELLA V.J. - Effect of SBE4-CD, a sulfobutyl ether β -cyclodextrin, on the stability of O-benzylguanine (NSC) in aqueous solutions. - *Int. J. Pharm.*, **125**, 55-61, 1995.
 7. IKEDA K., UEKAMA K. and OTAGIRI M. - Inclusion complexes of β -cyclodextrin with antiinflammatory drugs fenamates in aqueous solution. - *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 201-208, 1975.
 8. BACKENFELDT., MÜLLER B.W. and KOLTERK. - Interaction of NSA with cyclodextrins and hydroxypropyl cyclodextrin derivatives. - *Int. J. Pharm.*, **74**, 85-93, 1991.
 9. ORIENTI I., FINI A., BERTASI V. and ZECCHI V. - Inclusion complexes between non steroidal antiinflammatory drugs and β -cyclodextrin. - *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **37**, 110-112, 1991.
 10. PIEL G., EVRARD B., VAN HEES T., FERNANDEZ DEL POZO C. and DELATTRE L. - Development of a sustained release dosage form containing a diclofenac-cyclodextrin inclusion complex. - *Proc. 9th Int. Symp. on Cyclodextrins*, Santiago de Compostela, 31 May to 3 June 1998.
 11. REER O., BOCK T.K. and MÜLLER B.W. - *In vitro* corneal permeability of diclofenac sodium in formulations containing cyclodextrins compared to the commercial product voltaren ophtha. - *J. Pharm. Sci.*, **83**, 1345-1349, 1994.
 12. HIGUCHI T. and CONNORS K.A. - Phase solubility techniques. - *Adv. Anal. Chem. Instr.*, **4**, 117-212, 1965.
 13. KHAN K.A. - The concept of dissolution efficiency. - *J. Pharm. Pharmacol.*, **27**, 48-49, 1975.
 14. UEDA H., HIGASHIYAMA K., and NAGAI T. - Nuclear magnetic resonance study of the binding of tolbutamide and chlorpropamide to bovine serum albumin. - *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 1016-1021, 1980.
 15. ADEYEYE C.M. and LI P.H. - Diclofenac sodium. - In: *Analytical Profiles of Drugs Substances*, Vol. 19, K. Florey Ed., Academic Press Inc., New York, 1990, pp. 123-144.
 16. DJEDAÏNI F., LIN S.Z., PERLY B. and WOUESSIDJEWE D. - High-field nuclear magnetic resonance techniques for the investigation of a β -cyclodextrin/indomethacin inclusion complex. - *J. Pharm. Sci.*, **79**, 643-646, 1990.
 17. SALLMANN A. - Chemical aspects of diclofenac. - In: *Proc. Int. Symp. Chronic Forms of Phylarthritis*, F.J. Wagenhaeuser Ed., Baltimore, 1976, pp. 296-304.
 18. JOB P. - Recherches sur la formation de complexes minéraux en solution et sur leur stabilité. - *Ann. Chim.*, **10**, 113-203, 1928.
 19. WHITTAKER D.V., PENKLER L.J., GLINTENKAMP L.A., BOSCH VAN OUDTSHOORN and WESSELS P.L. - Diclofenac- β -cyclodextrin inclusion in solution proton magnetic resonance and molecular modelling studies. - In: *Proc. 8th Int. Symp. on Cyclodextrins*, J. Szejtli and L. Szenté Eds., Kluwer Academic Publishers, 1996, pp. 377-380.
 20. SHING U.V., AITAL K.S. and UDUPA N. - Inclusion complexes of plumbagin with β -cyclodextrin as evidenced by spectral data and molecular modelling. - *Pharmazie*, **53**, 208-210, 1998.

ACKNOWLEDGMENTS

Special thanks to Roquette-Laisa España (Spain) Janssen Pharmaceutica for the hydroxypropyl- β -cyclodextrin and β -cyclodextrin used in this study. This work was supported by a research grant from Xunta de Galicia XUGAA20320B986.

MANUSCRIPT

Received 10 November 1998, accepted for publication 11 December 1999.

2.- *Improvement of water solubility of sulfamethizole through its complexation with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Characterization of the interaction in solution and in solid state. Eur. J. Pharm. Sci. 13: 325-331, 2001.*

Improvement of water solubility of sulfamethizole through its complexation with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrin Characterization of the interaction in solution and in solid state

Beatriz Pose-Vilarnovo^a, Iliana Perdomo-López^a, Magdalena Echezarreta-López^a,
Patricia Schroth-Pardo^a, Ernesto Estrada^b, Juan J. Torres-Labandeira^{a,*}

^aDepartamento de Farmacia e Tecnoloxía Farmacéutica, Fac. de Farmacia, Univ. de Santiago de Compostela, Campus Sur, E-15782 Santiago de Compostela, Spain

^bDepartamento de Química Orgánica, Fac. de Farmacia, Univ. de Santiago de Compostela, Campus Sur, E-15782 Santiago de Compostela, Spain

Received 13 November 2000; received in revised form 6 March 2001; accepted 7 March 2001

Abstract

The aim of this study was to increase the solubility of sulfamethizole in water by complexing it with β -cyclodextrin (BCD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPBCD). The interaction of sulfamethizole with the cyclodextrins was evaluated by the solubility, ¹H NMR spectrometry and molecular modelling. The stability constants calculated from the phase solubility method increase in order HPBCD < BCD. From the NMR studies could be concluded that the sulfamethizole:cyclodextrin mole ratio was 1:1 (mol/mol) in the BCD complex and 2:3 (mol/mol) in the HPBCD complex. In both cases the sulfamethizole moiety included in the cyclodextrin was the thiadiazole group. MM2 calculations, either in vacuum or in the presence of a solvent, support this structure. Solid inclusion complexes of sulfamethizole with BCD and HPBCD were obtained by freeze drying 1:1 (mol/mol) solutions in aqueous ammonium hydroxide. Host–guest interactions were studied in the solid state by powder X-ray diffractometry and differential scanning calorimetry. The dissolution rates of sulfamethizole increased by the complexation with BCD or HPBCD. © 2001 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Sulfamethizole; β -Cyclodextrin; Hydroxypropyl- β -cyclodextrin; NMR; Molecular modelling; Dissolution

1. Introduction

Sulfamethizole is a short-lived sulphonamide used in the treatment of urinary tract infections alone or in combination with other antibiotics. Its main target pathogen is *Escherichia coli*. It acts by taking the place of a folic acid precursor required for bacterial reproduction. The feasibility of sustained release sulfamethizole formulations with more convenient administration schedules is complicated by the low solubility of the drug in water (1 part in 2000 parts of water) (BIAM, 1999; Martindale, 1999).

In this work, we investigated whether this difficulty could be overcome by inclusion-complexation of sulfamethizole with cyclodextrin, a technique that is becoming increasingly popular for improving the solubility of poorly soluble drugs (Stella and Rajewski, 1997; Veiga et

al., 1998; Lutka, 2000), for increasing bioavailability (Soliman et al., 1997; Miyake et al., 1999; Siefert et al., 1999) or stability (Lu et al., 2000), or for reducing side effects (Otero-Espinar et al., 1991). Specifically, the interaction between sulfamethizole and β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrin have been studied in solution and in solid state. We prepared and characterized solid inclusion complexes of sulfamethizole with β -cyclodextrin (BCD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPBCD) by freeze-drying, comparing in particular their drug dissolution characteristics with those of the uncomplexed drug.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Sulfamethizole (4-amino-*N*-[5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl]-benzenesulphonamide) was supplied by Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). β -Cyclodextrin

*Corresponding author. Tel.: +34-981-563-100; fax: +34-981-547-148.

E-mail address: ffjuant@usc.es (J.J. Torres-Labandeira).

(BCD) was donated by Roquette-Laisa (Barcelona, Spain), and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPBCD; degree of substitution 2.7) by Janssen Pharmaceutica N.V. (Beerse, Belgium).

2.2. Solubility studies

Solubility diagrams were obtained according to Higuchi and Connors (1965). Excess amounts of sulfamethizole were added to water containing various concentrations of cyclodextrins and the suspensions were shaken at 37°C. After equilibrium was reached (about 7 days), drug concentration was analyzed spectroscopically (Shimadzu UV-240-Graphicord) at 264 nm ($E_{1\%,1\text{ cm}}=577.31$). The apparent stability constant of the complex, K , assuming that a 1:1 complex is initially formed, was calculated from the initial straight-line portion of the solubility diagrams. All samples were prepared in duplicate.

2.3. ^1H NMR studies

^1H NMR spectra in 0.2 N solutions of NaOD in deuterated water were obtained at 25°C with a Bruker WM 300 apparatus operating at 300 MHz, using as internal reference the peak at $\delta=4.6$ ppm due to DHO and H_2O impurities. To determine the stoichiometry of the complexes by the continuous variation method (Job, 1928), 9.7×10^{-3} M solutions of BCD and sulfamethizole or 8.5×10^{-3} M solutions of HPBCD and sulfamethizole in the deuterated NaOD solution, were mixed in various proportions while keeping the total concentration fixed, and the changes in the most sensitive NMR signal were noted.

2.4. Molecular modelling

Using fixed geometries for β -cyclodextrin and sulfamethizole taken from the Cambridge Structural Database, the optimal geometries of BCD–sulfamethizole complexes in vacuo and in the presence of water molecules were calculated using MM2 force field as implemented in HyperChem (Release 3.0 for Windows). The presence of water was simulated by placing the solute molecules in a $16\times 12\times 16$ Å water box with a minimum distance of 2.0 Å between solute and solvent molecules, which means that 35 water molecules were included in the model.

2.5. Preparation of inclusion complexes

Equal mole amounts of sulfamethizole and cyclodextrin were dissolved in 5% (w/v) aqueous ammonium hydroxide, the solutions were frozen by immersion in liquid nitrogen, and the frozen solutions were lyophilized in a Labconco Lyph-lock 6 apparatus.

2.6. Preparation of physical mixtures

Sulfamethizole and cyclodextrin were passed through 0.5-mm meshes and equal mole amounts were mixed in a Turbula T2C mixer for 10 min.

2.7. Powder X-ray diffractometry

Diffractograms of the solid inclusion complexes were obtained with a Philips PW 1710 BASED diffractometer using Cu K_α radiation and 2θ scans at a scan rate of $2^\circ/\text{min}$.

2.8. Differential scanning calorimetry

Differential scanning calorimetry (DSC) was performed with a Shimadzu DSC-50 apparatus equipped with a TA-5 WS/PC thermal analyzer. Thermograms were run between 50 and 250°C at a scan rate of $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

2.9. Dissolution studies

The dissolution behaviour of the complexes at 37°C were compared with that of pure sulfamethizole and of physical sulfamethizole–cyclodextrin mixtures using transparent gelatin capsules containing quantities of formulation equivalent to 50 mg of sulfamethizole. Tests were carried out in a USP23 Method II apparatus (Turu-Grau) using 900 ml of distilled water and a stirring speed of 50 r.p.m.; the capsules were enclosed in stainless steel baskets to prevent floating. All experiment were made in triplicate. At pre-specified times, 5-ml samples were extracted and filtered, and the concentration of sulfamethizole was determined spectrophotometrically at 264 nm. The resulting dissolution curves were characterized by the corresponding 60-min dissolution efficiency (Khan, 1975). The statistical significance of differences among formulations was estimated by one-way analysis of variance and the Student–Newman–Keuls test.

3. Results and discussion

3.1. Solubility studies

Fig. 1 shows the phase solubility diagrams of sulfamethizole with the cyclodextrins used, BCD and HPBCD, at 37°C. The solubility of the drug increased linearly as a function of the CD concentration, a feature of the A_L -type complex, showing that water-soluble complexes exit in solution. These results show, in the experimental conditions used, the formation of a 1:1 (mol/mol) inclusion complex with both cyclodextrins because the slope of the diagrams is lower than one (Higuchi and Connors, 1965). The apparent 1:1 stability constant (K), calculated from the initial straight-line part of the solubility curves

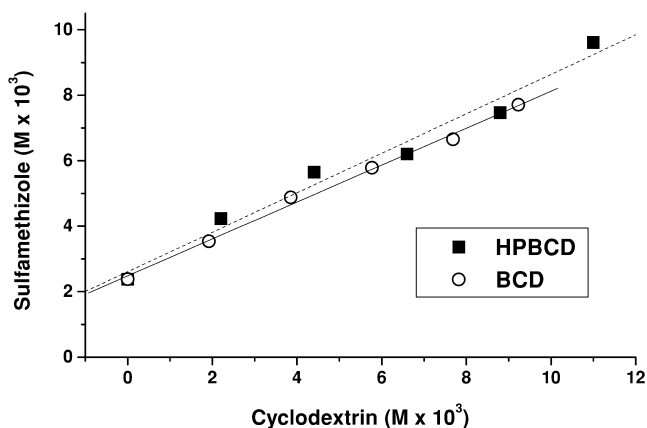


Fig. 1. Phase solubility diagrams for sulfamethizole with increasing concentrations of BCD and HPBCD.

were 651.85 M^{-1} for BCD and 563.95 M^{-1} for HPBCD, which indicates a similar interaction between the drug and both cyclodextrin derivatives in the conditions used in the study.

3.2. ^1H NMR studies

The inclusion of a guest molecule in a cyclodextrin ring shifts the NMR signals of included guest protons down-

field and those of affected host protons upfield, thereby throwing light on the interactions, position and orientation of the guest molecule (Ueda and Nagai, 1981; Cabral Marques et al., 1990; Djedaïni et al., 1990; Torres-Labandeira et al., 1993). The spectra run in this work have no signals that are not present in the components, showing that under the working conditions complexation–decomplexation is a dynamic process with the same time scale as NMR (Djedaïni et al., 1990).

An increase of the concentration of cyclodextrin caused downfield shifts in the methyl proton signals and upfield shifts in those of the benzene protons adjacent to the sulphonamide group, but hardly affected those of the benzene protons adjacent to the amino group (Fig. 2). The deshielding of the methyl group is interpreted as a consequence of its inclusion in the cyclodextrin, and the shielding of the protons adjacent to the sulphonamide group as due to the formation of hydrogen bonds with the hydroxyl groups at the edge of the cyclodextrin cavity (C6–OH). It is concluded that the part of the sulfamethizole molecule that is included in the cyclodextrin is the thiadiazole moiety.

Increasing BCD concentration caused upfield shifts in the NMR signals of the cyclodextrin protons inside the cavity (H3 and H5/H6), especially for H5/H6 (Fig. 3 and Table 1). This suggests that the molecule of sulfamethizole

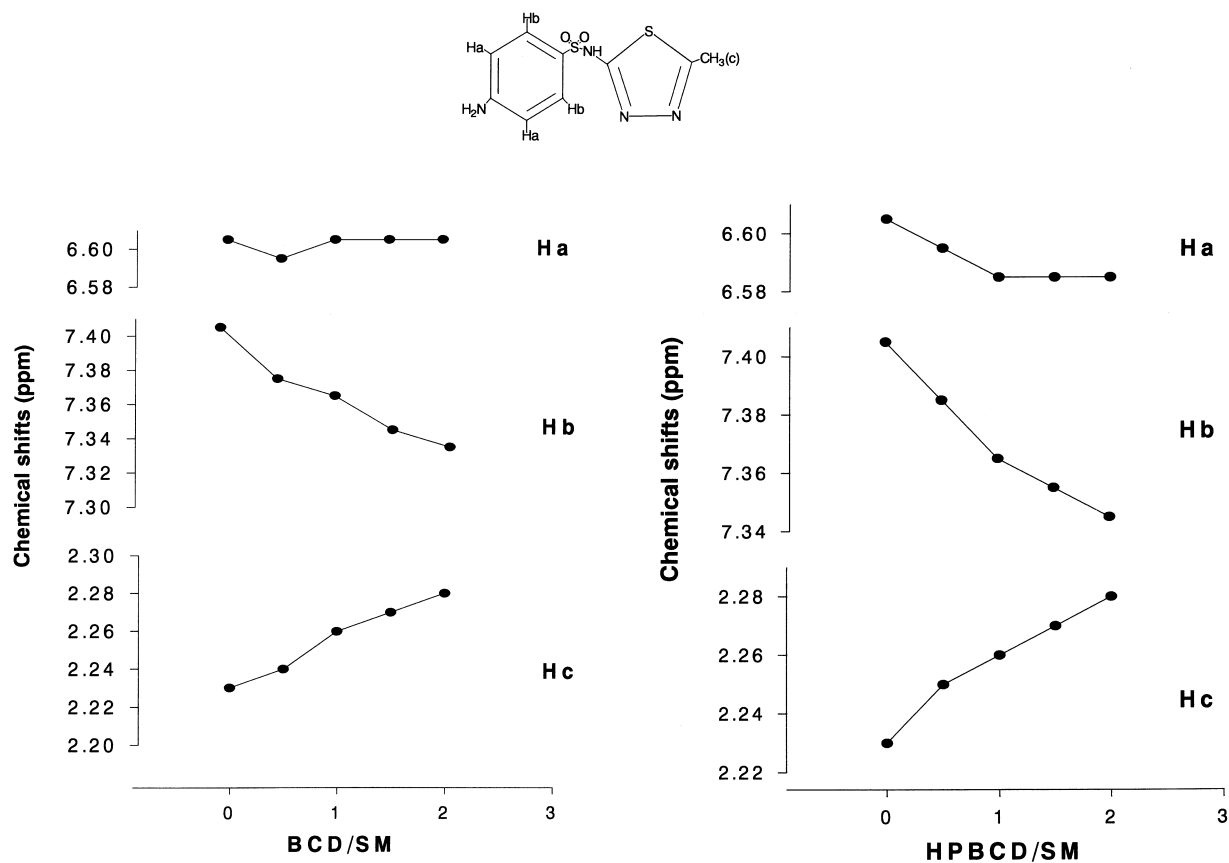


Fig. 2. Chemical shifts of sulfamethizole protons plotted against cyclodextrin:sulfamethizole mole ratio.

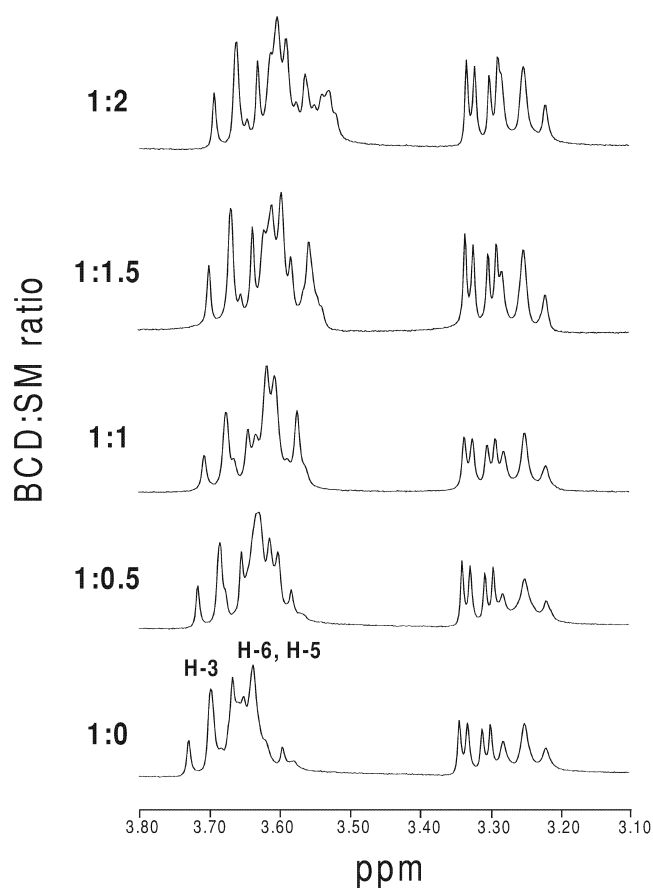


Fig. 3. Partial ^1H NMR spectra of mixtures of sulfamethizole and BCD in different mole ratios.

enters the narrow end of the cyclodextrin. No such analysis was possible for HPBCD because it is a mixture of different structures.

To determine the stoichiometry of the complexes by Job's continuous variation method (Job, 1928), equimolar cyclodextrin and sulfamethizole solutions were mixed in various proportions while keeping the total molar concentration fixed, and changes in the chemical shift of the sulfamethizole H_c (methyl) protons were recorded. For BCD, the resulting plot of $[\text{sulfamethizole}] \times \Delta\delta(H_c)$ against r , the mole fraction of sulfamethizole, (Fig. 4) shows a maximal peak at $r=0.5$, indicating the formation

Table 1

Changes in the chemical shifts of BCD protons in the presence of increasing quantities of sulfamethizole

BCD:SM	Changes ($\Delta\delta$) in chemical shifts (ppm)	
	H3	H6, H5
1:0.5	0.0125	0.0221
1:1.0	0.0220	0.0366
1:1.5	0.0395	0.0461
1:2.0	0.0462	0.0738

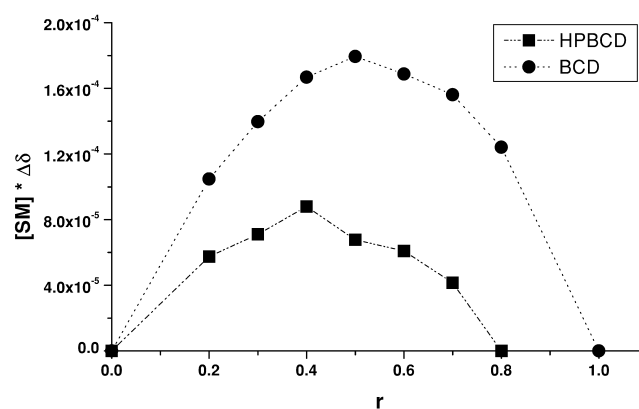


Fig. 4. Job plots of H_c protons for mixtures of sulfamethizole with BCD or HPBCD. r =Mole fraction of sulfamethizole.

of 1:1 complexes; the corresponding plot for HPBCD peaked at $r=0.4$, indicating 2:3 sulfamethizole–HPBCD complexes. A 2:3 stoichiometry has previously been reported for inclusion complexes of various steroids with γ -cyclodextrin (Uekama et al., 1982).

3.3. Molecular modelling

Molecular modelling has become an interesting tool to know the host–guest interactions in cyclodextrin technology (Amato et al., 1992a,b; Ganza González et al., 1994; Díaz et al., 1998; Lipkowitz et al., 1998). In this work, molecular modelling was performed to throw further light on the structure of the BCD complexes (no such study is possible for the HPBCD complexes because HPBCD is a mixture of different structures). Table 2 lists the energies of the conformers detected (the conformer labels indicate the sulfamethizole group first entering the cyclodextrin cavity and which of the cyclodextrin orifices it enters). Regardless of the presence of water, in the conformer of lowest energy (Fig. 5) the thiadiazole group was included in the cyclodextrin by entering its narrow end, in agreement with the conclusions of the NMR study. This result contrasts with our previous findings for the salbutamol–BCD complex where the presence of water molecules changes the orientation of the host molecule compared to in vacuo calculations (Estrada et al., 2000).

Table 2

Energies, in the presence and absence of water, of the four possible conformations of sulfamethizole–BCD complexes, as calculated by MM2

Conformer	MM2 (kcal/mol)	MM2 with water (kcal/mol)
Methyl in broad end	102.469	59.333
Methyl in narrow end	101.057	47.645
Amino in broad end	102.187	64.719
Amino in narrow end	103.656	67.882

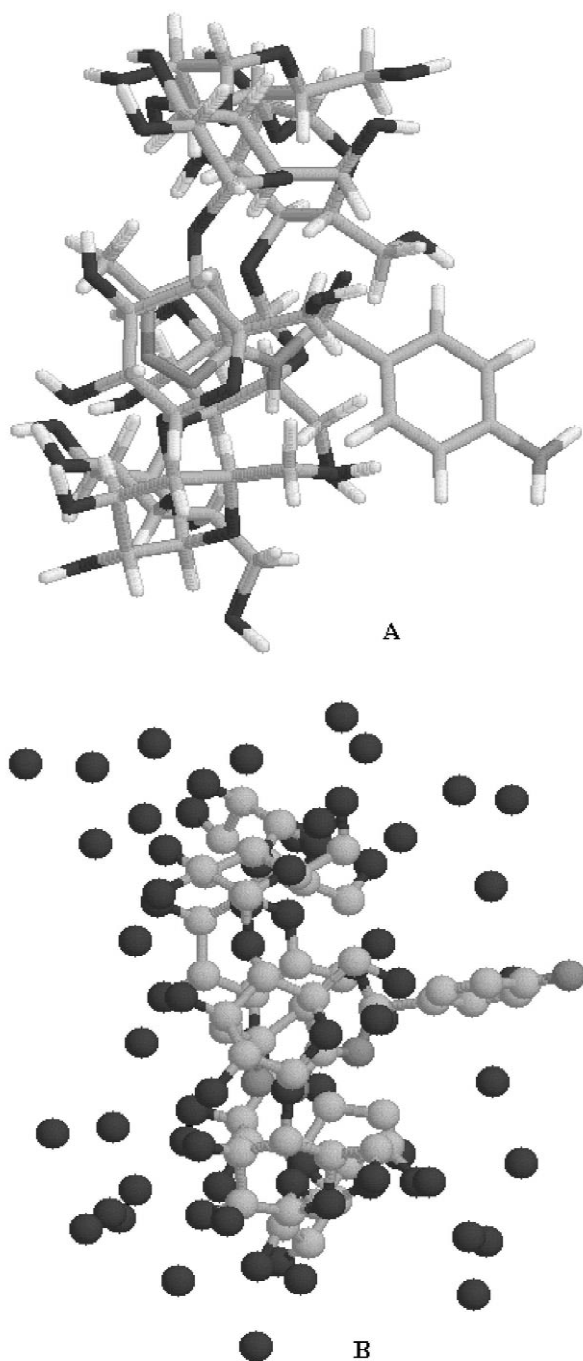


Fig. 5. Least energy structures of SM-BCD in vacuo (A) and in the presence of water (B).

3.4. Preparation and characterization of the solid inclusion complexes

Freeze-drying is a common pharmaceutical technique that has proved to be useful for preparing cyclodextrin inclusion complexes of other drugs (Kurozumi et al., 1975). Solid inclusion complexes were prepared in a 1:1 (mol/mol) drug:cyclodextrin ratio as found in the phase solubility diagrams for both CD derivatives. A good

solubilization of sulfamethizole occurs upon the addition of ammonium hydroxide. This additive is used in the preparation of crystalline cyclodextrin complexes. In this work, the endothermic DSC peak at 210°C which is characteristic of sulfamethizole is present in the thermograms of the physical sulfamethizole–cyclodextrin mixtures but not in those of the inclusion complexes (Fig. 6), which confirms the formation of true inclusion complexes. Similarly to HPBCD, the X-ray diffractograms of the complexes consisted fundamentally of a single very broad band, whereas those of physical mixtures of the same compositions corresponded to superimposition of the diffractograms of the individual components (Fig. 7).

3.5. Dissolution of sulfamethizole

Fig. 8 shows the dissolution profiles of sulfamethizole and of its 1:1 physical mixtures as well as its inclusion complexes with BCD and HPBCD, together with the corresponding mean values of the 60-min dissolution efficiency (DE_{60}) (Khan, 1975). The analysis of variance showed that there are significant differences among the formulations ($F_{4,10}=35$, $\alpha<0.05$), which in order of increasing DE_{60} were ranked by the Student–Newman–Keuls test as follows: SM=SM+BCD<SM+HPBCD<SM–BCD complex=SM–HPBCD complex where SM indicates sulfamethizole and the plus sign a physical mixture. The solubility of sulfamethizole was therefore significantly improved by complexation with the cyclo-

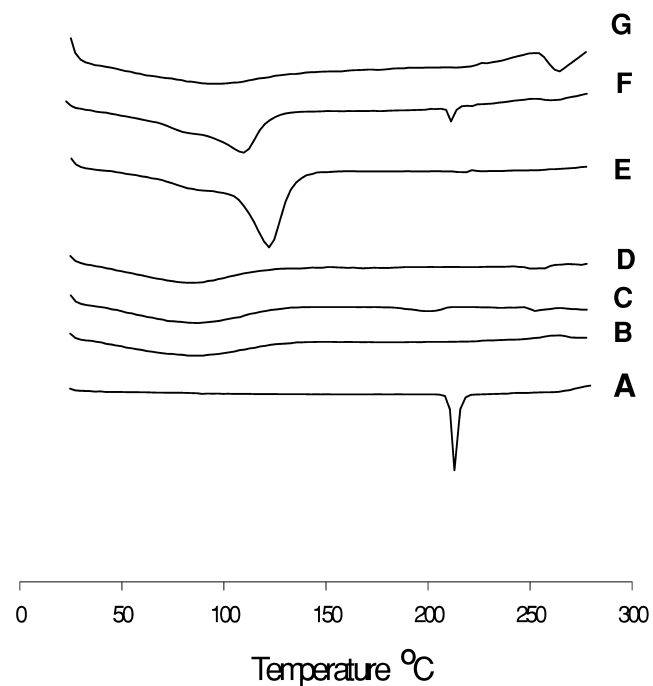


Fig. 6. DSC thermograms of (A) sulfamethizole (SM), (B) HPBCD, (C) SM+HPBCD (physical mixture), (D) lyophilized SM–HPBCD, (E) BCD, (F) SM+BCD (physical mixture), and (G) lyophilized SM–BCD.

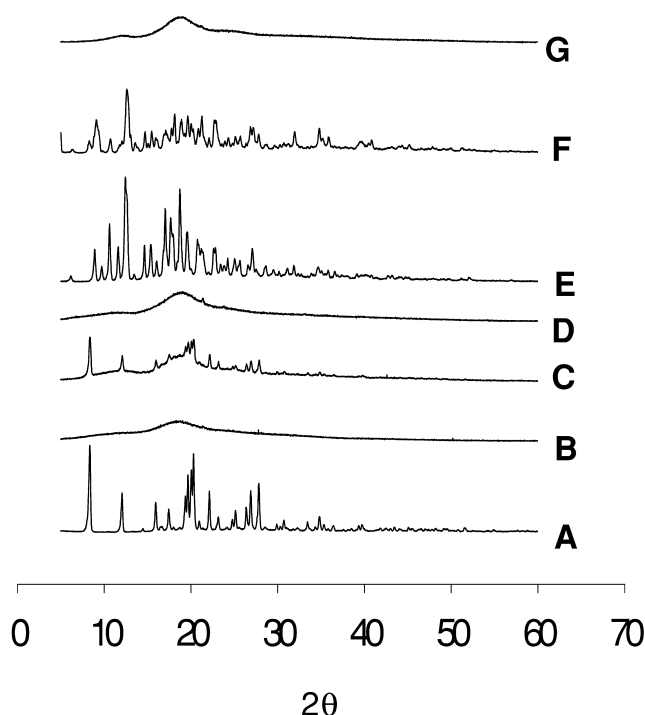


Fig. 7. X-ray diffractograms of (A) sulfamethizole (SM), (B) HPBCD, (C) SM+HPBCD (physical mixture), (D) lyophilized SM-HPBCD, (E) BCD, (F) SM+BCD (physical mixture), and (G) lyophilized SM-BCD.

dextrins, which did not differ significantly from each other in this respect.

In conclusion, lyophilization of solutions of sulfamethizole with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin in aqueous ammonium hydroxide solution produces solid-state sulfamethizole-cyclodextrin inclusion complexes, as shown by powder X-ray diffractometry and differential scanning calorimetry. NMR studies show their stoichiometry to be 1:1 for the sulfamethizole-BCD complex and 2:3 for the sulfamethizole-HPBCD complex,

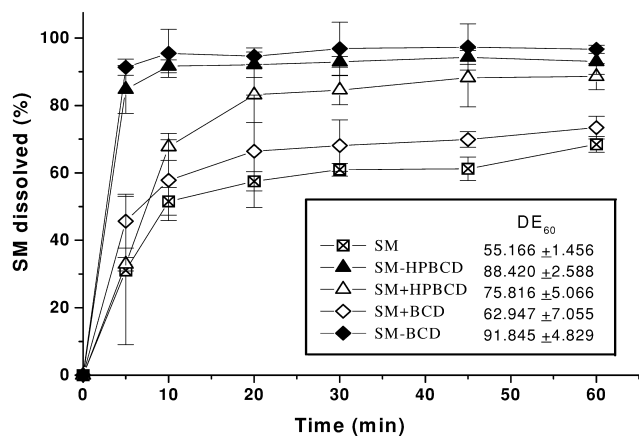


Fig. 8. Dissolution profiles of sulfamethizole (SM) and of its 1:1 physical mixtures (SM+BCD, SM+HPBCD) and its inclusion complexes (SM-BCD, SM-HPBCD) with BCD and HPBCD, together with the corresponding mean values of the 60-min dissolution efficiency (DE_{60}).

and that in both cases it is the sulfamethizole thiazole moiety that is included in the cyclodextrin. Complexation significantly facilitates the dissolution of the drug, without there being any significant differences between the two cyclodextrins in this respect.

Acknowledgements

This work was funded by the Xunta de Galicia under project PGIDT99-PXI20305B. Iliana Perdomo-López thanks the Cultural Extension Programme and University Community Services of the University of Santiago de Compostela for given her a grant for foreign researchers. Ernesto Estrada thanks the Ministerio de Educación y Cultura for a contract as foreign young researcher in Spain. The authors thank Roquette-Laisa España and Janssen Pharmaceutica for their generous donation of BCD and HPBCD, respectively.

References

- Amato, M.E., Djedaini, F., Pappalardo, G.C., Perly, B., Scarlata, G., 1992a. Molecular modeling of β -cyclodextrin complexes with nontropic drugs. *J. Pharm. Sci.* 81, 1157–1161.
- Amato, M.E., Djedaini, F., Perly, B., Scarlata, G., 1992b. High field NMR techniques and molecular modelling study of the inclusion complexes of the nontropic drug tenilsetam (CAS-997) in cyclodextrins. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 2*, 2065–2069.
- BIAM (Banque de Données Automatisée sur les Médicaments) [online]. Sulfamethizole. Updated 18 June 1999. Available from <http://www2.biam2.org/accueil.html>.
- Cabral Marques, H., Hadgraft, J., Kellaway, I.W., Pugh, W.J., 1990. Studies of cyclodextrin inclusion complexes. Part 2. Molecular modeling and proton NMR evidence for the salbutamol- β -cyclodextrin complex. *Int. J. Pharm.* 63, 267–274.
- Djedaini, F., Zhao Lim, S., Perly, B., Wonesidjewe, D., 1990. High-field nuclear magnetic resonance techniques for the investigation of a β -cyclodextrin-indomethacin inclusion complex. *J. Pharm. Sci.* 79, 643–646.
- Díaz, D., Escobar, C.M., Bernard, M.J., Gracia, J., 1998. Binding molecular mechanism and thermodynamics of cyclodextrin inclusion complexes with ketoprofen in aqueous medium. *Pharm. Dev. Tech.* 3, 307–313.
- Estrada, E., Perdomo-López, I., Torres-Labandeira, J.J., 2000. Molecular modelling (MM2 and PM3) and experimental (NMR and thermal analysis) studies on the inclusion complex of salbutamol and β -cyclodextrin. *J. Org. Chem.* 65, 8510–8517.
- Ganza González, A., Vila Jato, J.L., Anguiano Igea, S., Otero Espinar, F., Blanco Méndez, J., 1994. Proton nuclear magnetic resonance study of the inclusion complex of naproxen with β -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.* 106, 179–185.
- Higuchi, T., Connors, K.A., 1965. Phase solubility techniques. *Adv. Anal. Chem. Instr.* 4, 117–212.
- Job, P., 1928. Recherches sur la formation de complexes minéraux en solution et sur leur stabilité. *Am. Chim. Phys.* 9, 113–203.
- Khan, K.A., 1975. The concept of dissolution efficiency. *J. Pharm. Pharmacol.* 27, 48–49.
- Kurozumi, M., Nambu, N., Nagai, T., 1975. Inclusion compounds of non steroidal anti-inflammatory and other slightly water soluble drugs with

- α - and β -cyclodextrins in powdered form. *Chem. Pharm. Bull.* 23, 3062–3068.
- Lipkowitz, K.B., 1998. Applications of computational chemistry to the study of cyclodextrins. *Chem. Rev.* 98, 1829–1873.
- Lu, C.S., Hu, C.J., Yu, Y., Meng, Q.J., 2000. The inclusion compounds of β -cyclodextrin with 4-substituted benzoic acid and benzaldehyde drugs studied by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chem. Pharm. Bull.* 48, 56–59.
- Lutka, A., 2000. Effect of cyclodextrin complexation on aqueous solubility and photostability of phenothiazine. *Die Pharmazie* 55, 120–123.
- Martindale, 1999. In: *The Complete Drug Reference*, 32nd Edition. Pharmaceutical Press, London, p. 254.
- Miyake, K., Arima, H., Irie, T., Hirayama, F., Uekama, K., 1999. Enhanced absorption of cyclosporin A by complexation with dimethyl- β -cyclodextrin in bile duct-cannulated and -noncannulated rats. *Biol. Pharm. Bull.* 22, 66–72.
- Otero Espinar, F.J., Anguiano Igea, S., Blanco Méndez, J., Vila Jato, J.L., 1991. Reduction in the ulcerogenicity of naproxen by complexation with β -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.* 70, 35–41.
- Siefert, B., Pleyer, U., Muller, M., Hartmann, C., Keipert, X., 1999. Influence of cyclodextrins on the in vitro corneal permeability and in vivo ocular distribution of thalidomide. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 15, 429–438.
- Soliman, O.A., Kimura, K., Hirayama, F., Uekama, K., Elsabbagh, H.M., Abd El Gawad, A.E.H., Hashim, F.M., 1997. Amorphous spironolactone-hydroxypropylated cyclodextrin complexes with superior dissolution and oral bioavailability. *Int. J. Pharm.* 149, 73–83.
- Stella, V., Rajewski, R.A., 1997. Cyclodextrins: their future in drug formulation and delivery. *Pharm. Res.* 14, 556–567.
- Torres-Labandeira, J.J., Echezarreta-López, M., Santana-Peñín, L., Vila-Jato, J.L., 1993. Glibornuride- β -cyclodextrin inclusion complexes: preparation, structural characterization and in vitro dissolution behaviour. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 39, 255–259.
- Ueda, H., Nagai, T., 1981. Solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy and Raman spectroscopy of the inclusion compounds of tolbutamide with β -cyclodextrins. *Chem. Pharm. Bull.* 29, 2710–2714.
- Uekama, K., Fujinaga, T., Hirayama, F., Otagiri, M., Yamasaki, M., 1982. Inclusion complexations of steroid hormones with cyclodextrins in water and in the solid-phase. *Int. J. Pharm.* 10, 1–15.
- Veiga, M.D., Díaz, P.J., Ahsan, F., 1998. Interactions of griseofulvin with cyclodextrins in solid binary systems. *J. Pharm. Sci.* 87, 891–900.

***V.COMPORTAMIENTO DE LOS COMPLEJOS DE
INCLUSIÓN DE DICLOFENACO SÓDICO Y
SULFAMETIZOL CON β - E HIDROXIPROPIL- β -
CICLODEXTRINAS EN PRESENCIA DEL POLÍMERO
HIDROXIPROPILMETILCELULOSA:
SISTEMAS MULTICOMPONENTE***

3.-*Sulphamethizole-cyclodextrin-hydroxypropylmethylcellulose multicomponent complexes*. J. Therm. Anal. Cal. 68: 657-667, 2002.

SULPHAMETHIZOLE-CYCLODEXTRIN-HYDROXY PROPYLMETHYL CELLULOSE MULTICOMPONENT COMPLEXES

*B. Pose-Vilarnovo, C. Rodríguez-Tenreiro Sánchez, M. B. Pérez-Marcos and J. J. Torres-Labandeira**

Dept. de Farmacia e Tecnoloxía Farmacéutica, Fac. de Farmacia, Univ. de Santiago de Compostela, Campus Sur, E-15706 Santiago de Compostela, Spain

Abstract

The effect of cyclodextrin complexation of sulphamethizole (SM) was studied. Two systems were prepared with two cyclodextrin derivatives, β -cyclodextrin (BCD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPBCD): binary complexes and multicomponent systems (cyclodextrins and a hydroxypropylmethyl cellulose K4M). Inclusion complexes were prepared by freeze-drying and characterized by thermal analysis (DSC) and X-ray diffractometry. The presence of the polymer in the solution increases the effect of cyclodextrins – specially BCD – on the solubility of SM. In solid state, binary inclusion complexes enhance the dissolution behaviour of SM but, from the multicomponent complexes, the polymer controls the release of the drug.

Keywords: β -cyclodextrin, cyclodextrin inclusion complexes, DSC, hydroxypropyl- β -cyclodextrin, hydroxypropylmethyl cellulose, stability constant, X-ray diffractometry

Introduction

Cyclodextrins (CDs) are water-soluble, hydrophobic torus-shaped cyclic oligosaccharides with a hydrophilic outer surface and a hydrophobic central cavity. In aqueous solutions CDs are capable of forming inclusion complexes with many drugs. Because of these properties CDs can be used to improve some physicochemical properties of drug molecules such as stability or aqueous solubility [1–3].

For a variety of reasons including costs, production capabilities and toxicology, CDs can be incorporated into drug formulations in a limited amount, and therefore, it is important to develop methods that allow a reduction in the amount of CDs necessary in a particular pharmaceutical formulation [4]. Among these procedures, the use of water-soluble polymers has been extensively studied to enhance the complexing abilities of the CDs. In fact, it has been proven that various pharmaceutical polymers, such as cellulose derivatives, have a significant effect on the drug-CD complex formation because, as surfactants, they increase the solubilizing power of CDs. The in-

* Author for correspondence: Phone: +34 981 563 100. Fax: +34 981 547 148. E-mail: ffjuant@usc.es

teraction polymer-CD results in physical-chemical changes of the systems formed, and the solubility of the drug increases [5–7]. We have used a hydrophilic polymer, hydroxypropylmethyl cellulose (K4M) which is a well established pharmaceutical excipient, extensively used in controlled drug delivery systems. K4M has been previously reported useful in the improvement of CD complexation [8–10], but most of the studies carried out to analyse the effect of hydrophilic polymers on the complex formation with cyclodextrins were made in solution, not in solid state. Several papers have been published concerning the improvement of the solubility and bioavailability of drugs through the formation of binary and multicomponent complexes with cyclodextrins [11, 12]. Acid molecules – hydrochloric, citric or tartaric acids – were included in these multicomponent systems but not polymer molecules.

Sulphamethizole (SM) was used as a model drug. It is a short-acting sulphonamide used in the treatment of infections of the urinary tract, sometimes in combination with other antibacterial agents. It is very slightly soluble in water and this could be a drawback to formulate it in controlled release dosage forms. Its formulation as an inclusion complex either with β -cyclodextrin (BCD) or hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPBCD) has showed a significant increase in its aqueous solubility [13].

The aim of this study was to prepare solid multicomponent systems containing cyclodextrins (BCD and HPBCD) and hydroxypropylmethyl cellulose (K4M) to be included in solid dosage forms. These systems were prepared by freeze-drying and characterized by differential scanning calorimetry and X-ray diffractometry. Drug dissolution characteristics from binary and multicomponent complexes were compared with these of the uncomplexed drug.

Experimental

Materials

Sulphamethizole was purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). BCD and HPBCD were a gift from Laisa-Roquette (Barcelona, Spain) and Janssen Pharmaceutische (Belgium), respectively. Hydroxypropylmethyl cellulose K4M (Methocel[®]) was obtained from The Dow Chemical Company (Michigan, USA). All other reagents were of analytical reagent grades.

Solubility studies

Solubility diagrams were obtained according to Higuchi and Connors methodology [14]. Excess amounts of sulphamethizole were added to water containing various concentrations of cyclodextrins. The suspensions were shaken at 37°C for seven days.

To establish the effect of the polymer on the solubility diagrams, K4M was added (0.1% w/v). The suspensions were autoclaved at 120°C for 20 min and equilibrated for at least 3 days at room temperature, according to Loftsson *et al.* [15].

The stability constants $K_{1:1}$ were calculated using the following relationship:

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

where S_0 represents the solubility of sulphamethizole in water without cyclodextrins. Drug concentration was analysed spectroscopically (Shimadzu UV-240-Graphicord) at 264 nm ($E_{1\%,1\text{ cm}}=577.31$).

Preparation of the physical mixtures

Sulphamethizole, cyclodextrins and hydroxypropylmethyl cellulose were passed through 0.5 mm meshes, and 1:1 SM/CD ratio with 0.1 g of K4M (equal amount that is present in the inclusion complexes) were mixed in a Turbula T2C mixer for 10 min.

Preparation of the inclusion complexes

Equimolar amounts of sulphamethizole and cyclodextrins – BCD and HPBCD – were dissolved in 5% (w/v) aqueous ammonium hydroxide. K4M was added to obtain a final concentration of 0.1% (w/v), and the solution was left to stand for 24 h at 4°C. The dispersions were frozen by immersion in liquid nitrogen, and lyophilized in a Labconco Lyph-lock 6 apparatus.

Thermal analysis

Differential scanning calorimetry (DSC) was performed on a Shimadzu DSC-50 system with a DSC equipped with a computerized data station TA-5 WS/PC. General conditions: scanning rate 10°C min⁻¹, scanning temperature range 25–250°C.

X-ray

X-ray powder diffraction patterns were recorded on a Philips X-ray diffractometer (PW 1710 BASED) using CuK_α radiation. In the diffractograms the relative intensity of reflexion peaks were recorded as a function of diffraction angles 2θ°.

Dissolution studies

The dissolution behaviour of the complexes at 37°C was compared with that of pure sulphamethizole and of physical sulphamethizole-cyclodextrin mixtures using hard shell colorless gelatin capsules containing quantities of formulation equivalent to 50 mg of sulphamethizole. Capsules were placed in a stainless steel box to avoid their flotation. Tests were carried out in a USP24 Method II apparatus (Turu-Grau) using 900 mL of distilled water and a stirring speed of 50 r.p.m. All experiments were made in triplicate. At pre-specified times, 5 mL samples were extracted and filtered, and the concentration of sulphamethizole was determined spectrophotometrically at 264 nm. The resulting dissolution curves were characterized by the corresponding 0–60 min dissolution efficiency [16]. The statistical significance of differences among formula-

tions was estimated by one-way analysis of variance (one-way Anova) and the Scheffé test for multiple comparisons using SPSS for Windows (v. 10.1.3).

Results and discussion

Phase-solubility diagrams

The effect of K4M on the solubilising effect of BCD and HPBCD is shown in Table 1. Solubilities of the drug in aqueous CD solutions (S_{co}) were much higher than in water (S_0), but the introduction of small amounts of K4M to the solution medium improved the solubility even further. Thus, to obtain a significant increase of the solubility (up to 39% with BCD and 6% with HPBCD), the solutions have to be heated to 120°C for 20 min (autoclaving).

Table 1 Effect of the addition of 0.1% (w/v) K4M to aqueous 1%(w/v) HPBCD and BCD solutions on solubilization of sulphamethizole

	S_p	S_p^*	S_{co}	S_{cp}	S_{cp}^*	S_{cp}/S_{co}	S_{cp}^*/S_{co}
BCD	2.337	3.271	7.472	6.649	10.430	0.89	1.40
HPBCD	2.337	2.854	7.125	5.938	7.578	0.83	1.06

S_0 : solubility of SM in aqueous solution (2.386 mM)

S_p : solubility in aqueous 0.1% (w/v) solution of the K4M (mM)

S_p^* : solubility in aqueous 0.1% (w/v) solution of the K4M with autoclaving process (mM)

S_{co} : solubility in aqueous 1% (w/v) CD solution (mM)

S_{cp} : solubility in aqueous solution containing both 0.1% (w/v) K4M and 1% (w/v) CD (mM)

S_{cp}^* : solubility in aqueous solution containing both 0.1% (w/v) K4M and 1% (w/v) CD with autoclaving process (mM)

Figures 1 and 2 show the phase solubility diagrams of SM in aqueous BCD and HPBCD solutions in the presence or absence of K4M. In all cases, the solubility of the drug increases linearly as a function of the CD concentration, A_L -type according to Higuchi and Connors classification. The slope of the diagrams is lower than 1, and therefore, the complex is responsible for the increase in drug solubility has a 1:1 mol:mol stoichiometry [14]. K4M enhanced significantly the solubilizing effect of CDs but did not affect the type of the phase-solubility diagram.

The apparent stability constants of SM-BCD and SM-HPBCD with and without K4M were calculated from the slopes of the phase-solubility diagrams assuming a 1:1 stoichiometry (Table 2). The stability constants of the inclusion complexes show an enhancement in the presence of K4M in the case of SM-BCD complex. This effect was not found for HPBCD systems, in fact, the effect of K4M was negligible. Similar results were found by Veiga [17] with HPBCD and HPMC, in disagreement with these obtained by other authors where the solubilization enhancement is more than simple, it is synergistic [10].

The concentration of SM dissolved was higher when an autoclaving process was carried out. During this autoclaving process, the rise in temperature caused a satura-

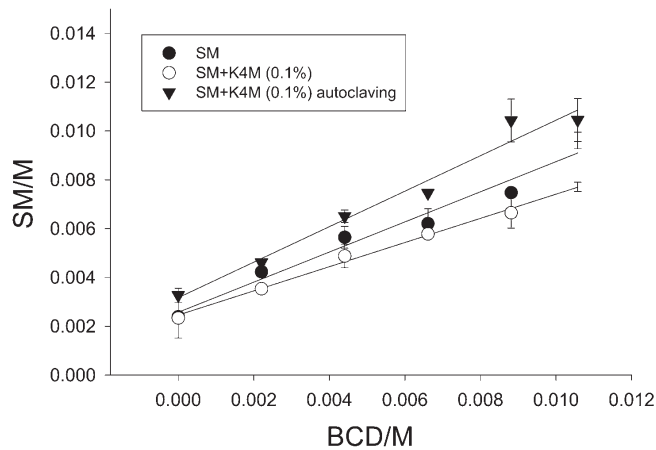


Fig. 1 Phase-solubility diagrams of SM in aqueous BCD solutions containing 0 and 0.1% K4M at 37°C

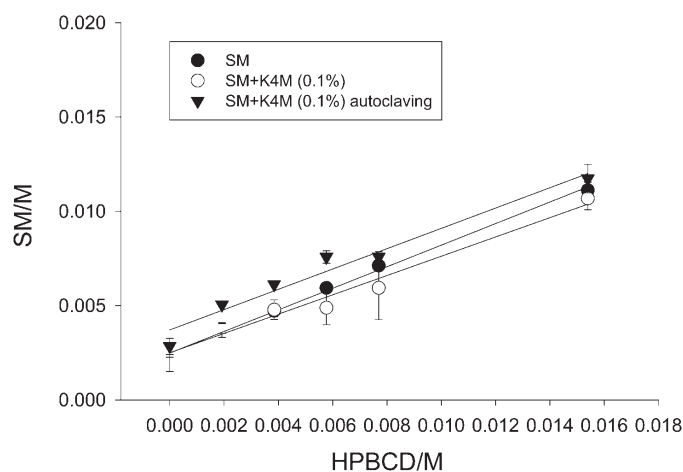


Fig. 2 Phase-solubility diagrams of SM in aqueous HPBCD solutions containing 0 and 0.1% K4M at 37°C

tion and an increase in the solubility of the drug, which could probably lead to improved interactions between SM and the CD molecules. The improved solubilization after autoclaving could be due to the various electrostatic forces involved and a facilitated fitting of the guest molecule into the cavity. For SM-HPBCD complex the increase of temperature after autoclaving could explain the lower value of the stability constant because it may well produce an overall exothermic reaction between the drug and CD [5].

Table 2 Stability constants ($K_{1:1}$) of SM complexes with HPBCD and BCD

	BCD	HPBCD
Without K4M	651.85 M ⁻¹ ($r^2=0.9684$)	563.95 M ⁻¹ ($r^2=0.9969$)
With K4M	419.93 M ⁻¹ ($r^2=0.9948$)	448.72 M ⁻¹ ($r^2=0.9715$)
With K4M and autoclaving	815.51 M ⁻¹ ($r^2=0.9721$)	409.12 M ⁻¹ ($r^2=0.9626$)

Preparation and characterization of solid inclusion complexes.

Solid inclusion complexes were obtained by freeze-drying which is a common pharmaceutical technique useful for preparing cyclodextrin inclusion complexes [18]. The drug:cyclodextrin ratio used was 1:1 mol:mol as found in the phase solubility diagrams for both CD derivatives and K4M was 0.1% w/v common polymer concentration [9, 15].

Differential scanning calorimetry and X-ray diffractometry were used to characterize the systems prepared.

DSC is a widely used analytical technique in the characterization of multi-component solid systems to analyze possible changes during heating. In the case of CDs, DSC can provide a lot of information on drug/CD interactions in the solid state. Polymers can form complexes with CDs with physicochemical properties distinct from these of individual cyclodextrin molecules [19]. Figure 3 shows the DSC curves of the physical mixtures of SM and BCD as well as these of the solid binary and multicomponent complexes prepared by the freeze-dried method. BCD shows an endothermic peak from 90 to 140°C, which may be attributed to the evaporation of the adsorbed water [20]. The endothermic peak due to fusion of the drug appears at 210°C. In the freeze-dried complexes,

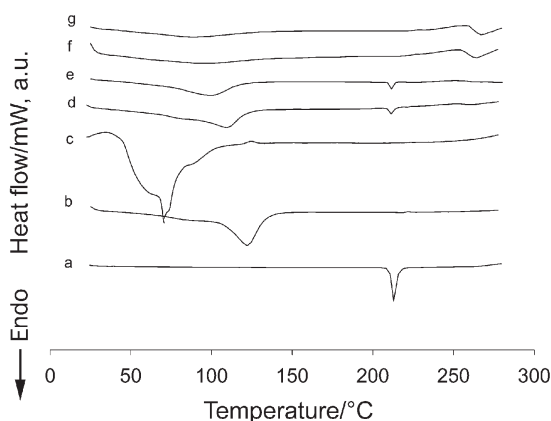


Fig. 3 DSC curves of different SM-BCD systems: a – SM, b – BCD, c – K4M, d – physical mixture SM+BCD, e – physical mixture SM+BCD/K4M, f – SM-BCD freeze-dried complex and g – SM-BCD/K4M freeze-dried complex

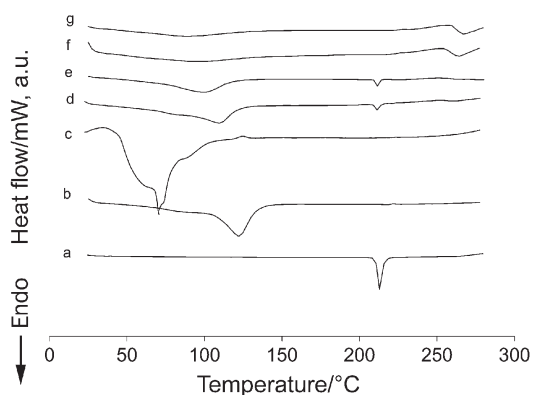


Fig. 4 DSC curves of different SM-HPBCD systems: a – SM, b – HPBCD, c – K4M, d – physical mixture SM+HPBCD, e – physical mixture SM+HPBCD/K4M, f – SM-HPBCD freeze-dried complex and g – SM-HPBCD/K4M freeze-dried complex

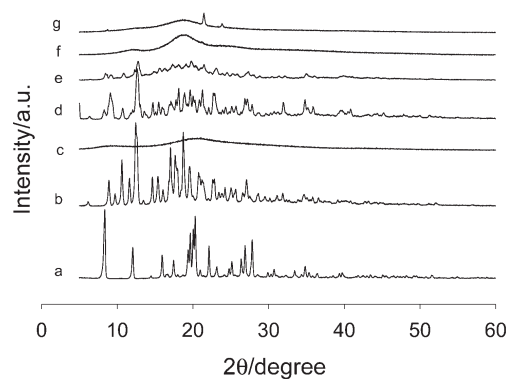


Fig. 5 X-ray diffraction patterns of different SM-BCD systems: a – SM, b – BCD, c – K4M, d – physical mixture SM+BCD, e – physical mixture SM+BCD/K4M, f – SM-BCD freeze-dried complex and g – SM-BCD/K4M freeze-dried complex

the plots show the absence of the characteristic endothermic melting peak, as compared to the physical mixtures in which this peak is clearly visible. The disappearance of the endothermic peaks of the drug is attributed to the amorphous state and the inclusion complexation of the drug inside the cavity [18].

The results of the HPBCD systems were similar to these of BCD, the peak or the drug fusion at 210°C disappeared in the binary and multicomponent complexes.

Powder X-ray diffractometry is a useful technique for the detection of CD complexation in powder or microcrystalline states. The diffraction pattern of the complex is supposed to be clearly distinct from the superposition of each component if a true complex exists.

The X-ray diffraction spectra of SM-BCD binary and multicomponent complexes in comparison with the physical mixture are shown in Fig. 5. The diffraction

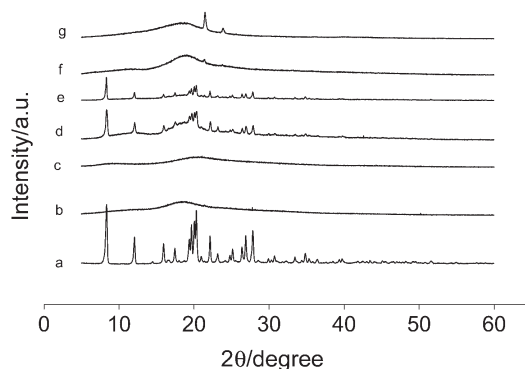


Fig. 6 X-ray diffraction patterns of different SM-HPBCD systems: a – SM, b – HPBCD, c – K4M, d – physical mixture SM+HPBCD, e – physical mixture SM+HPBCD/K4M, f – SM-HPBCD freeze-dried complex and g – SM-HPBCD/K4M freeze-dried complex

patterns of the physical mixtures correspond to the superimposed diffractograms of SM and BCD, while these of the freeze-dried complexes show fewer and less intense peaks. This indicates that all freeze-dried compounds are markedly less crystalline than the physical mixtures or the pure components.

Similarly to BCD, the X-ray diffractograms of HPBCD complexes consisted fundamentally of a single very broad band, whereas these of physical mixtures of the same compositions corresponded to superimposition of the individual components diffractograms (Fig. 6).

X-ray and DSC studies indicate the formation of amorphous binary and multi-component complexes by freeze-drying between the cyclodextrins and the drug.

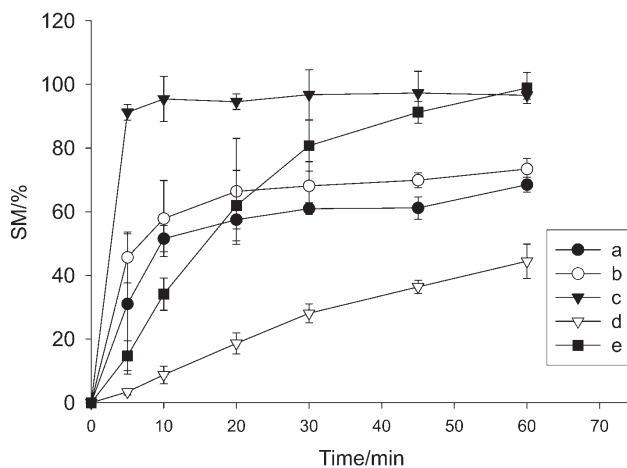


Fig. 7 Dissolution profiles of SM and different SM-BCD systems: a – SM, b – physical mixture SM+BCD, c – SM-BCD freeze-dried complex, d – physical mixture SM+BCD/K4M and e – SM-BCD/K4M freeze-dried complex

Effect of complexation on the dissolution of sulphamethizole

Figures 7 and 8 illustrate the dissolution profiles obtained with pure drug, physical mixtures and the inclusion complexes in water. In both cases, the liberation of the drug is delayed from the multicomponent system, showing the typical profile of a sustained release formulation. In fact, in spite of the stability constant of BCD being higher when the polymer is present, for the multicomponent system prepared with K4M, the dissolution rate of the drug is lower. This effect is also clear for HPBCD multicomponent complex. It seems that when the complex makes contact with the dissolution medium, K4M swells and controls the release of the drug [21].

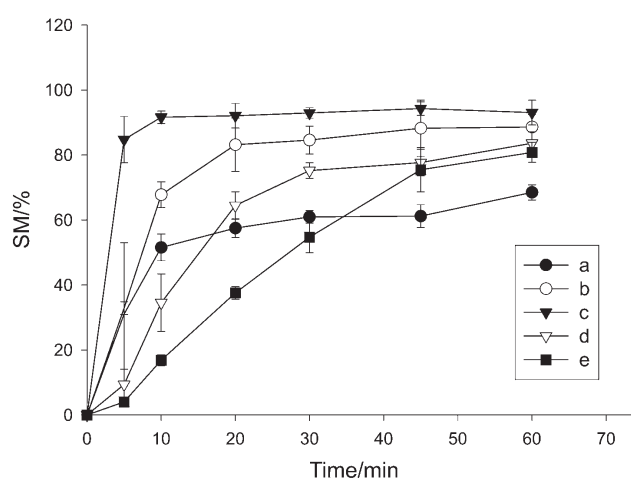


Fig. 8 Dissolution profiles of SM and different SM-HPBCD systems: a – SM, b – physical mixture SM+HPBCD, c – SM-HPBCD freeze-dried complex, d – physical mixture SM+HPBCD/K4M and e – SM-HPBCD/K4M freeze-dried complex

One-way Anova of the dissolution efficiency 0–60 min revealed significant differences between the formulations (BCD: $F_{4,10}=74.09$, $\alpha<0.05$; HPBCD: $F_{4,10}=81.12$, $\alpha<0.05$). The Sheffé test grouped the formulations as follows:

BCD:

SM+BCD/K4M SM SM+BCD SM-BCD/K4M SM-BCD

HPBCD:

SM-HPBCD/K4M SM SM+HPBCD/K4M SM+HPBCD SM-HPBCD

where SM+CD are the binary physical mixtures, SM-CD the binary complexes, SM+CD/K4M the multicomponent physical mixtures and SM-CD/K4M are the binary physical mixtures.

These results confirm that K4M controls the release of the drug, and in fact, the physical mixtures and inclusion complexes show, in both cases, the better dissolution profiles.

Conclusions

Our results show that K4M could enhance the complexation of SM with cyclodextrins in solution. This effect on SM solubility is only evident if an autoclaving process is included to promote the interaction between the cyclodextrin and the polymer. Solid multicomponent inclusion complexes with BCD or HPBCD and K4M can be obtained by freeze-drying and their formation has been proven using DSC and X-ray diffraction techniques. Additionally, the polymer allows to control the drug dissolution rate extending the process.

* * *

This work was funded by the Xunta de Galicia under project PGIDT99-PXI20305B. The authors thank Roquette-Laisa España and Janssen Pharmaceutiche for generous donation of BCD and HPBCD, respectively.

References

- 1 T. Loftsson and M. Brewster, *J. Pharm. Sci.*, 85 (1996) 1017.
- 2 T. Irie and K. Uekama, *J. Pharm. Sci.*, 86 (1997) 147.
- 3 B. Cappello, C. Carmignani, M. Iervolino, M. Immacolata La Rotonda and M. Fabrizio Saettone, *Int. J. Pharm.*, 213 (2001) 75.
- 4 T. Loftsson, M. Másson and J. F. Sigurjónsdóttir, *S T P Pharma Sci.*, 9 (1999) 237.
- 5 G. Ganzerli, L. van Santvliet, E. Verschuren and A. Ludwig, *Pharmazie*, 51 (1996) 357.
- 6 T. Hladoň and B. Cwiertnia, *Pharmazie*, 49 (1994) 497.
- 7 M. Másson and T. Loftsson, *Polysaccharide applications. Cosmetics and Pharmaceutics*, American Chemical Society, Washington 1999, p. 24.
- 8 A. M. Sigurdardóttir and T. Loftsson, *Int. J. Pharm.*, 126 (1995) 73.
- 9 T. Loftsson, T. K. Gudmundsdóttir and H. Fridriksdóttir, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 22 (1996) 401.
- 10 J. Savolainen, K. Järvinen, H. Taipale, P. Jarho, T. Loftsson and T. Järvinen, *Pharm. Res.*, 15 (1998) 1696.
- 11 M. T. Esclusa-Díaz, M. Gayo-Otero, M. B. Pérez-Marcos, J. L. Vila-Jato and J. J. Torres-Labandeira, *Int. J. Pharm.*, 142 (1996) 183.
- 12 A. Gerloczy, J. Szeman, K. Csabai, I. Kolbe, L. Jicsinszky, D. Acerbi, P. Ventura, E. Redenti and J. Szejtli, *Proc. of the 8th International Symposium on Cyclodextrins*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 1996, p. 515.
- 13 B. Pose-Vilarnovo, I. Perdomo-López, M. Echezarreta-López, P. Schroth-Pardo, E. Estrada and J. J. Torres-Labandeira, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 13 (2000) 325.
- 14 T. Higuchi and K. A. Connors, *Adv. Anal. Chem. Instr.*, 4 (1965) 117.
- 15 T. Loftsson, H. Fridriksdóttir, S. Thórisdóttir and E. Stefánsson, *Int. J. Pharm.*, 104 (1994) 181.
- 16 K. A. Khan, *J. Pharm. Pharmacol.*, 27 (1975) 48.

- 17 F. Veiga, Program and Abstracts of the 9th International Symposium on Cyclodextrins, 1999, p. 3-P-3.
- 18 M. Kurozumi, N. Nambu and T. Nagai, Chem. Pharm. Bull., 23 (1975) 3062.
- 19 T. Loftsson, Pharmazie, 53 (1998) 733.
- 20 E. M. Sammy and S. M. Safwat, STP Pharma Sci., 4 (1994) 458.
- 21 M. J. Vázquez, B. Pérez-Marcos, J. L. Gómez-Amoza, R. Martínez-Pacheco, C. Souto and A. Concheiro, Drug Dev. Ind. Pharm., 18 (1992) 1355.

4.-*Effect of hydroxypropylmethylcellulose on the complexation of diclofenac with cyclodextrins. J. Thermal. Anal. Cal. 73: 661-670, 2003.*

EFFECT OF HYDROXYPROPYLMETHYL CELLULOSE ON THE COMPLEXATION OF DICLOFENAC WITH CYCLODEXTRINS

*B. Pose-Vilarnovo, C. Rodríguez-Tenreiro Sánchez, N. Diéguez Moure, J. L. Vila-Jato and J. J. Torres-Labandeira**

Departamento de Farmacia e Tecnoloxía Farmacutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Sur, 15782 Santiago de Compostela, Spain

Abstract

The effect of a hydrophilic polymer, hydroxypropylmethyl cellulose K4M, on the complexation of diclofenac sodium with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrins has been studied. Multicomponent systems were prepared with the drug, both cyclodextrin and the polymer. Phase solubility diagrams revealed the positive effect of the polymer on the complexation of the drug but this effect was found after autoclaving the solutions. Solid inclusion complexes were prepared by freeze-drying and characterized by thermal analysis (DSC) and X-ray diffractometry. In solid state, binary inclusion complexes enhance the dissolution behaviour of diclofenac but, from the β -cyclodextrin multicomponent complex, the polymer controls the release of the drug. In the case of hydroxypropyl- β -cyclodextrin multicomponent system, the solubility of the drugs increases significantly compared with the binary complex.

Keywords: β -cyclodextrin, cyclodextrin inclusion complexes, differential scanning calorimetry, dissolution, hydroxypropyl- β -cyclodextrin, hydroxypropylmethyl cellulose, sodium diclofenac, stability constant, X-ray diffractometry

Introduction

Aqueous solubility becomes, for many drugs, the main drawback for its formulation either in a liquid dosage form or in a controlled release one. Multiple technological alternatives have been used to overcome this problem – inclusion in colloidal systems such as liposomes, preparation of salts, etc. Among all of them, cyclodextrin complexation has seemed to be the most promising one. Cyclodextrins (CDs) are cyclic α -(1,4)-linked oligomers of *D*-glucopyranose, which have been previously used in drug development to increase the water solubility of lipophilic compounds [1]. For several reasons, including toxicology, dosage and cost, the amount of cyclodextrins used in most of the formulations must be limited. Therefore, it is important to develop strategies to increase the effectiveness of cyclodextrin complexation that could be reflected in a reduction in the amount of CD necessary in a particular drug formulation.

* Author for correspondence: E-mail: ffjuant@usc.es

With this aim the use of water-soluble polymers [2], the preparation of drug/CD/hydroxy acid multicomponent systems [3] or the formation of CD complexes of salts of acidic drugs have been described [4]. The use of polymers has been extensively used in the recent years but the exact nature of the polymer: CD interaction is not known yet [5]. Among these polymers, hydroxypropylmethyl cellulose K4M is one of the most frequently used for this purpose [6]. This cellulose derivative is a hydrophilic polymer which is well established like pharmaceutical excipient and it has been extensively used in controlled drug delivery systems.

The interaction polymer CD has been tested in solution but solid complex has not been prepared. In a previous work [7] we analyzed the effect of HPMC CD interaction on the solubility of sulphamethizole a slightly water soluble and non ionic drug. Our results showed that, for this particular drug, the polymer increases the solubilizing effect of the CD but, when the solid complex was prepared, the solubility of the drug decreases compared with the binary complex drug CD. In this particular case, the polymer allows to control the drug dissolution rate.

The aim of this study was to analyze the effect of hydroxypropylmethyl cellulose (K4M) on the complexation of diclofenac with two cyclodextrins, β -cyclodextrin (BCD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPBCD). Diclofenac, has been selected as a model ionic drug which is widely used as nonsteroidal anti-inflammatory and analgesic. Its solubility in water is low, specially in gastric juice (about $15 \mu\text{g mL}^{-1}$) and, it is unstable in aqueous solution [8]. This limited solubility in acidic medium seems to be a problem in its oral bioavailability and it is a drawback in its formulation in controlled release devices. This drug forms inclusion complexes with both cyclodextrins and the complexation increases its solubility [9–11].

Solid inclusion complexes containing diclofenac, cyclodextrins and HPMC were prepared by freeze-drying and characterized by differential scanning calorimetry and X-ray diffractometry. Drug dissolution characteristics from binary and multicomponent complexes were compared with those of the uncomplexed drug.

Experimental

Materials

Sodium diclofenac (2-[(2,6-dichlorophenyl) amino]benzeneacetic acid monosodium salt) was purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (D.S. 4.6) were a gift from Laisa-Roquette (Barcelona, Spain) and Janssen Pharmaceutiche (Belgium), respectively. Hydroxypropylmethyl cellulose K4M-Methocel[®] was purchased from The Dow Chemical Company (Michigan, USA). All other reagents were of analytical reagent grades.

Solubility studies

Solubility diagrams were obtained according to Higuchi and Connors methodology [12]. Excess amounts of diclofenac were added to artificial gastric juice (USP 24 Ed.)

containing various concentrations of cyclodextrins. The suspensions were shaken at 37 C for seven days.

To establish the effect of the polymer on the solubility diagrams, K4M was added (0.1 mass/vol%). The suspensions were autoclaved at 120 C for 20 min and equilibrated for at least 3 days at room temperature, according to Loftsson *et al.* [13].

The stability constants $K_{1:1}$ were calculated using the following relationship:

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

where S_0 represents the solubility of diclofenac in simulated gastric juice without cyclodextrins. Drug concentration was analysed spectroscopically (Shimadzu UV-240-Graphicord) at 276 nm ($E_{1\%,1\text{ cm}}=283.85$).

Preparation of the physical mixtures

Diclofenac, cyclodextrins and hydroxypropylmethyl cellulose were passed through 0.5 mm meshes and mixed in a Turbula T2C mixer for 10 min. Another sort of systems were prepared by adding K4M in the same concentration that in the inclusion complexes studied.

Preparation of the inclusion complexes

Equimolar amounts of diclofenac and cyclodextrins - BCD and HPBCD - were dissolved in 5% (mass/vol) aqueous ammonium hydroxide. K4M was added to obtain a final concentration of 0.1% (mass/vol), and the solution was let to stand for 24 h at 4 C to left the system swollen. The dispersions were frozen by immersion in liquid nitrogen, and lyophilized in a Labconco Lyph-lock 6 apparatus.

Thermal analysis

Differential scanning calorimetry (DSC) was performed on a Shimadzu DSC-50 system with a DSC equipped with a computerized data station TA-5 WS/PC. General conditions: scanning rate 10°C min⁻¹, scanning temperature range 25-250 C.

X-ray

X-ray powder diffraction patterns were recorded on a Philips X-ray diffractometer (PW 1710 BASED) using CuK_α radiation. In the diffractograms the relative intensity of reflexion peaks were recorded as a function of diffraction angles 2θ°.

Dissolution studies

The behaviour of diclofenac in dissolution was compared not only in the physical mixtures but also in the inclusion complexes, and all of them with the pure drug.

Hard shell colorless gelatin capsules were employed to carry out these studies. Each capsule was filled with the quantity of formulation that contained 50 mg of drug. Capsules were placed in a stainless steel box to avoid their flotation. Tests were carried out in a USP24 Method II apparatus (Turu-Grau) using 900 mL of artificial gastric juice and at 37 C with a stirring speed of 50 rpm all experiments were made in triplicate. Samples of 5 mL were taken at pre-defined times and once they were filtered the drug was determined spectrophotometrically at 276 nm.

The resulting dissolution curves were characterized by the corresponding 0-180 min dissolution efficiency [14]. The statistical significance of differences among formulations was estimated by one-way analysis of variance (one-way ANOVA) and the Scheffé test for multiple comparisons using SPSS for Windows (v. 10.1).

Results and discussion

Phase-solubility diagrams

The effect of K4M on the solubilising effect of BCD and HPBCD is shown in Table 1. Solubilities of the drug in aqueous CD solutions (S_{co}) were higher than in simulated gastric juice (S_0). The introduction of small amounts of K4M in the solution medium did not improve the solubility just as a physical mixture. To obtain a significant increase of the solubility, the solutions had to be heated to 120 C for 20 min (autoclaving).

Table 1 Effect of the addition of 0.1 mass/vol% K4M to 1 mass/vol% HPBCD and BCD solutions in artificial gastric juice on solubilization of diclofenac; S_0 solubility of diclofenac in artificial gastric juice (mM); S_p solubility in artificial juice 0.1 mass/vol% solution of the K4M with autoclaving process (mM); S_{co} solubility in artificial gastric juice 1 mass/vol% CD solution (mM); S_{cp} solubility in artificial gastric juice solution containing both 0.1 mass/vol% K4M and 1 mass/vol% CD (mM); S_{cp}^* solubility in artificial gastric juice solution containing both 0.1 mass/vol% K4M and 1 mass/vol% CD with autoclaving process (mM)

	S_p	S_p^*	S_{co}	S_{cp}	S_{cp}^*	S_{cp}/S_{co}	S_{cp}^*/S_{co}
BCD	0.0157	0.0597	0.0698	0.0583	0.1369	0.8360	1.5086
HPBCD	0.0157	0.0597	0.1146	0.0838	0.1046	0.7309	0.9126

$$S_0=0.01638$$

Phase solubility diagrams of diclofenac in aqueous BCD and HPBCD solutions in the presence or absence of K4M are shown in Figs 1 and 2. In all cases, the diagrams can be included in the A_L -type according to Higuchi and Connors classification. The slope of the diagrams is lower than 1, and therefore, the complex responsible of the increase in drug solubility has a 1:1 mol:mol stoichiometry [12] K4M enhanced significantly the solubilizing effect of CDs but did not affect the type of the phase-solubility diagram.

The apparent stability constants of diclofenac-BCD and diclofenac-HPBCD with and without K4M were calculated from the slopes of the phase-solubility dia-

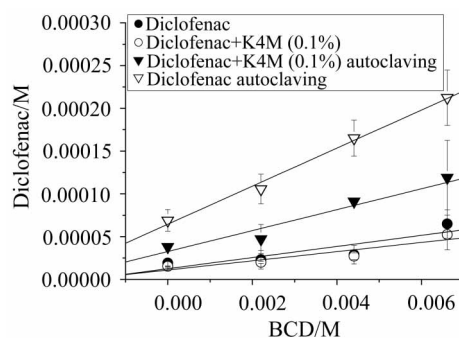


Fig. 1 Phase-solubility diagrams of diclofenac in artificial gastric juice BCD solutions containing different BCD solutions with 0 and 0.1% K4M at 37 C

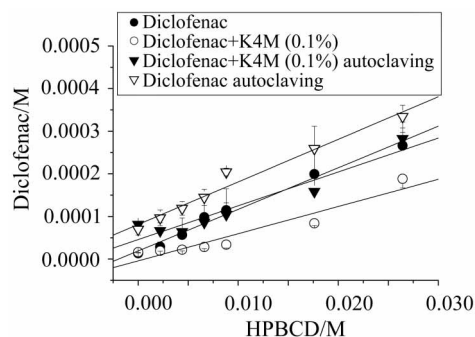


Fig. 2 Phase-solubility diagrams of diclofenac in artificial gastric juice HPBCD solutions containing different HPBCD solutions with 0 and 0.1% K4M at 37 C

grams assuming a 1:1 stoichiometry (Table 2). The stability constants of the inclusion complexes show, in both cases, an enhancement in the presence of K4M. The effect has been found higher after autoclaving which makes this process necessary to obtain a good interaction between the cyclodextrin and the polymer. During this autoclaving process, the rise in temperature caused a saturation and an increase in the solubility of the drug, this fact could probably lead to improve interactions between diclofenac, the CD molecules and the polymer. The improved solubilization after autoclaving could be due to the several electrostatic forces involved and a facilitated fitting of the guest molecule into the cavity. The fact of heating the CD systems also shows a posi-

Table 2 Stability constants ($K_{1:1}$) of diclofenac complexes with HPBCD and BCD

	BCD	HPBCD
Without K4M	100.60 M ⁻¹ ($r^2=0.9684$)	115.80 M ⁻¹ ($r^2=0.9969$)
With K4M	330.46 M ⁻¹ ($r^2=0.9255$)	392.03 M ⁻¹ ($r^2=0.9545$)
With K4M and autoclaving	777.17 M ⁻¹ ($r^2=0.9846$)	488.88 M ⁻¹ ($r^2=0.9540$)
Without K4M and autoclaving	1393.44 M ⁻¹ ($r^2=0.9963$)	630.11 M ⁻¹ ($r^2=0.9855$)

tive effect on diclofenac complexation. This methods has been extensively used to the preparation of solid inclusion complexes [15, 16].

Preparation and characterization of solid inclusion complexes

Freeze-drying was chosen as the method of preparation of solid inclusion complexes. It is a common technique that allows the preparation of cyclodextrin inclusion complexes with a high yield [17]. The complexes were prepared with a 1:1 drug:cyclodextrin molar ratio, according to the phase solubility diagrams for both CD. The polymer K4M was incorporated in a 0.1 mass/vol% ratio [6, 13]. The solid inclusion complexes were characterized using differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray diffractometry.

DSC can provide a lot of information on drug/CD interactions in the solid state. The presence of hydrophilic polymer in multicomponent complexes could show different physicochemical properties from the individual cyclodextrin molecules or binary systems [18–21]. Figure 3 shows the DSC curves of the physical mixtures of Diclofenac and BCD as well as these of the solid binary and multicomponent complexes prepared by the freeze-dried method. BCD shows an endothermic peak from 90 to 140 C, which may be attributed to the evaporation of the adsorbed water. The drug does not have any significant peak in the temperature range analyzed because the melting and decomposition point is 283–285 C (not shown). The peaks of the evaporation of water appeared in the temperature range of 50–150 C. A physical mixture prepared with freeze-dried diclofenac and freeze-dried cyclodextrin was analysed. The system shows a similar behaviour to the physical mixture prepared without freeze-drying the compounds. In the freeze-dried complexes, the plots show the absence of the characteristic endothermic melting peak, while in the physical mixtures in which this peak is clearly visible. The disappear-

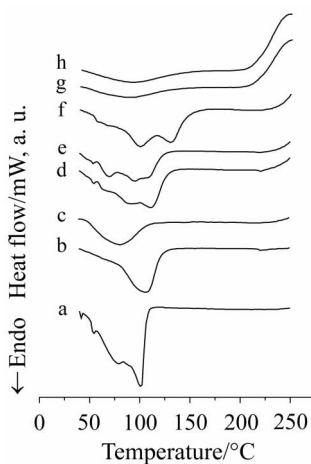


Fig. 3 DSC curves of different diclofenac-BCD systems: a diclofenac; b BCD; c K4M; d physical mixture diclofenac+BCD; e physical mixture diclofenac+BCD/K4M; f physical mixture freeze-dried diclofenac+freeze-dried BCD; g diclofenac-BCD freeze-dried complex and h diclofenac -BCD/K4M freeze-dried complex

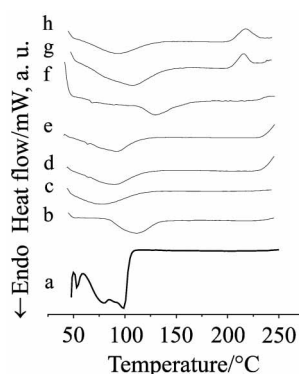


Fig. 4 DSC curves of different diclofenac-HPBCD systems: a diclofenac; b HPBCD; c K4M; d physical mixture diclofenac+HPBCD; e physical mixture diclofenac+HPBCD/K4M; f physical mixture freeze-dried diclofenac+freeze-dried HPBCD; g diclofenac-HPBCD freeze-dried complex and h diclofenac-HPBCD/K4M freeze-dried complex

ance of the endothermic peaks of the drug is attributed to the amorphous state and the inclusion complexation of the drug inside the cavity [18]. The results of the HPBCD systems were similar to these of BCD (Fig. 4).

Figure 5 shows the X-ray diffraction spectra of diclofenac-BCD binary and multi-component complexes in comparison with the physical mixture. The physical mixtures show diffraction patterns that correspond to the superimposed diffractograms of diclofenac and BCD, while the ones of the freeze-dried complexes show fewer and less intense peaks. All of this indicates that all freeze-dried compounds are markedly less crystalline than the physical mixtures or the pure components.

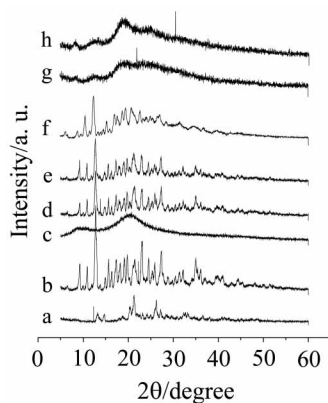


Fig. 5 X-ray diffraction patterns of different diclofenac-BCD systems: a diclofenac; b BCD; c K4M; d physical mixture diclofenac+BCD; e physical mixture diclofenac+BCD/K4M; f physical mixture freeze-dried diclofenac+freeze-dried BCD; g diclofenac-BCD freeze-dried complex and h diclofenac-BCD/K4M freeze-dried complex

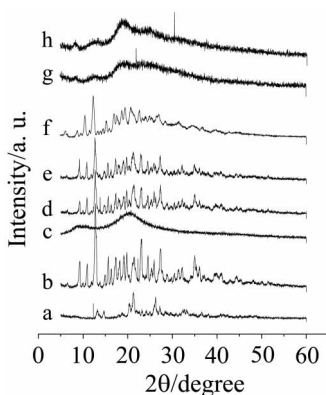


Fig. 6 X-ray diffraction patterns of different diclofenac-HPBCD systems: a DIC; b HPBCD; c K4M; d physical mixture diclofenac+HPBCD; e physical mixture diclofenac+HPBCD/K4M; f physical mixture freeze-dried diclofenac+freeze-dried HPBCD; g diclofenac-HPBCD freeze-dried complex and h diclofenac-HPBCD/K4M freeze-dried complex

In the same way of BCD, the X-ray diffractograms of HPBCD complexes consisted fundamentally of a single very broad band, whereas these of physical mixtures of the same compositions corresponded to superimposition of the individual components diffractograms (Fig. 6).

X-ray and DSC studies indicate the formation of amorphous binary and multi-component complexes by freeze-drying between the cyclodextrins and the drug.

Effect of complexation on the dissolution of diclofenac

The dissolution profiles corresponding to the pure drug, physical mixtures and the inclusion complexes (binary and multicomponent systems) in simulated gastric juice are shown in Figs 7 and 8.

One-way ANOVA of the dissolution efficiency 0-180 min revealed significant differences between the formulations (BCD: $F_{4,10}=88.45$, $\alpha<0.05$; HPBCD:

BCD:

diclofenac diclofenac-BCD/K4M diclofenac+BCD/K4M diclofenac-BCD diclofenac+BCD

HPBCD:

diclofenac diclofenac+HPBCD diclofenac-HPBCD diclofenac+HPBCD/K4M diclofenac-HPBCD/K4M

$F_{4,10}=96.49$, $\alpha<0.05$). The Sheffé test grouped the formulations as follows: where Diclofenac+CD are the binary physical mixtures, Diclofenac-CD the binary complexes, Diclofenac+CD/K4M the multicomponent physical mixtures and Diclofenac-CD/K4M are the multicomponent complexes.

The effect of the polymer in the complex depends on the cyclodextrin used. In the case of BCD, the liberation of the drug is delayed from the multicomponent system, showing the typical profile of a sustained release formulation. In fact, although

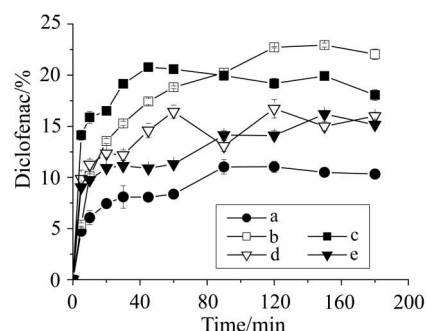


Fig. 7 Dissolution profiles of DIC and different DIC-BCD systems: a DIC; b physical mixture DIC+BCD; c DIC-BCD freeze-dried complex; d physical mixture DIC+BCD/K4M and e DIC-BCD/K4M freeze-dried complex

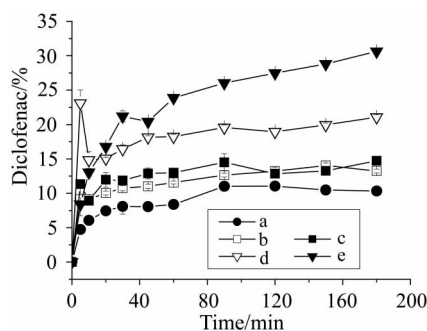


Fig. 8 Dissolution profiles of DIC and different DIC-HPBCD systems: a DIC; b physical mixture DIC+HPBCD; c DIC-HPBCD freeze-dried complex; d physical mixture DIC+HPBCD/K4M and e DIC-HPBCD/K4M freeze-dried complex

the stability constant of BCD is higher when the polymer is present, for the multicomponent system prepared with K4M, the dissolution rate of the drug is lower compared with the binary system. It seems when the complex makes contact with the dissolution medium, K4M swells and controls the release of the drug [22] and, therefore, the effect of the CD complexation disappears. A similar behaviour has been found with both CDs in the case of a non-ionic drug such as sulphamethizole [6]. Nevertheless, HPBCD multicomponent complex significantly increases the solubility of the drug compare to the binary complex.

Conclusions

Our results show that K4M could enhance the complexation of diclofenac with cyclodextrins in solution. This effect on diclofenac solubility is only evident if an autoclaving process is included to promote the interaction between the cyclodextrin and the polymer. Solid multicomponent inclusion complexes with BCD or HPBCD and K4M can be obtained by freeze-drying and their formation has been probed by

using DSC and X-ray diffraction techniques. The solid diclofenac-BCD multi-component systems do not improve the solubility effect of the cyclodextrin, in fact, the polymer allows to control the drug dissolution rate extending the process. Nevertheless, the polymer increases the solubilizing effect of HPBCD not only in solution but also from a solid system.

* * *

This work was funded by the Xunta de Galicia under project PGIDT01BIO20302PR. The authors thank Roquette-Laisa España and Janssen Pharmaceutische for generous donation of BCD and HPBCD, respectively.

References

- 1 T. Loftsson and M. E. Brewster, *J. Pharm. Sci.*, 85 (1996) 1017.
- 2 T. Loftsson, M. M. Ssson and J. F. Sigurjónsdóttir, *S. T. P. Pharma Sci.*, 9 (1999) 237.
- 3 E. Redenti, L. Szente and J. Szejtli, *J. Pharm. Sci.*, 89 (2000) 1.
- 4 E. Redenti, L. Szente and J. Szejtli, *J. Pharm. Sci.*, 90 (2001) 979.
- 5 M. Valero, I. P. rez-Revuelta and L. J. Rodríguez, *Int. J. Pharm.*, 253 (2003) 97.
- 6 J. Savolainen, K. Kärvinen, H. Taipale, P. Jarho, T. Loftsson and T. Järvinen, *Pharm. Res.*, 15 (1996) 1696.
- 7 B. Pose-Vilarnovo, C. Rodríguez-Tenreiro Sánchez, M. B. P rez-Marcos and J. J. Torres-Labandeira, *J. Therm. Anal. Cal.*, 68 (2002) 657.
- 8 C. M. Adeyeye and P. H. Li, Diclofenac sodium. In: K. Florey, Ed., *Analytical Profiles of Drugs Substances*, New York, Academic Press 1990, p. 123.
- 9 T. Backensfel, B. W. Müller and K. Kolter, *Int. J. Pharm.*, 74 (1991) 85.
- 10 J. A. Arancibia and G. M. Exandar, *Analyst*, 124 (1999) 1833.
- 11 B. Pose-Vilarnovo, L. Santana-Penín, M. Echezarreta-López, M. B. P rez-Marcos, J. L. Vila-Jato and J. J. Torres-Labandeira, *S. T. P. Pharma Sci.*, 9 (1999) 231.
- 12 T. Higuchi and K. A. Connors, *Adv. Anal. Chem. Instr.*, 4 (1965) 117.
- 13 T. Loftsson, H. Fridriksdóttir, S. Thórisdóttir and E. Stef nsson, *Int. J. Pharm.*, 104 (1994) 181.
- 14 K. A. Khan, *J. Pharm. Pharmacol.*, 27 (1975) 48.
- 15 Y. Nakai, K. Yamamoto, K. Terada and D. Watanabe, *Chem. Pharm. Bull.*, 38 (1990) 1345.
- 16 Y. Nakai, K. Yamamoto, Y. Toshio, E. Yanomochi and T. Hanawa, *Chem. Pharm. Bull.*, 35 (1987) 4609.
- 17 M. Kurozumi, N. Nambu and T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, 23 (1975) 3062.
- 18 N. Morin, A. Chilouet, J. Millet and J.-C. Rouland, *J. Therm. Anal. Cal.*, 62 (2000) 187.
- 19 T. Loftsson, T. K. Gudmundsdóttir and H. Fridriksdóttir, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 22 (1996) 401.
- 20 T. Loftsson, *Pharmazie*, 53 (1998) 733.
- 21 E. M. Sammy and S. M. Safwat, *S. T. P. Pharma Sci.*, 4 (1994) 458.
- 22 M. J. V zquez, B. P rez-Marcos, J. L. Gómez-Amoza, R. Martínez-Pacheco, C. Souto and A. Concheiro, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 18 (1992) 1355.

***VI. FORMULACIÓN DE DICLOFENACO SÓDICO Y DE
SULFAMETIZOL CON β - E HIDROXIPROPIL- β -
CICLODEXTRINAS EN COMPRIMIDOS MATRICIALES
DE HIDROXIPROPILMETILCELULOSA***

5.-Modulating drug release with cyclodextrins in hydroxypropylmethylcellulose gels and tablets. J. Control. Release 94, 351-363, 2004.



Modulating drug release with cyclodextrins in hydroxypropyl methylcellulose gels and tablets

Beatriz Pose-Vilarnovo, Carmen Rodríguez-Tenreiro,
José Fernando Rosa dos Santos, Juan Vázquez-Doval, Angel Concheiro,
Carmen Alvarez-Lorenzo, Juan J. Torres-Labandeira*

*Departamento de Farmacia e Tecnoloxía Farmacéutica, Facultade de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela,
Campus Sur, E-15782 Santiago de Compostela, Spain*

Received 1 July 2003; accepted 10 October 2003

Abstract

This paper reports on the effect of β -cyclodextrin (β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) on the diffusion and the release behavior of diclofenac sodium and sulphamethizole from HPMC K4M gels and matrix tablets. The gels were prepared with 0.5–2.0% polymer and different drug/CD mole ratios, and their viscosity, cloud point and drug diffusion coefficients were estimated. No differences in cloud point were observed. The viscosity of the gels strongly depended on HPMC proportions (from 0.7 to 100 mPa·s), which affected to a lesser extent the resistance to the diffusion of the drugs (D values from 60×10^{-6} to 5×10^{-6} cm²/s). The influence of CD on diffusion was particularly evident in gels prepared with polymer proportions above its entanglement concentration, 2.0% HPMC K4M. In these systems, while high drug/CD proportions enhanced the diffusivity preventing polymer/drug hydrophobic interactions, low drug/CD ratios hindered it. An excess of free CD, especially the bulky HP- β -CD, made the diffusion of the complexes in the relatively low mesh size 2% polymer network more difficult. In the case of tablets, CD plays an additional role as dissolution rate promoter. To evaluate to what extent the balance between the increase in dissolution rate and the decrease in diffusion rate induced by CD determines drug release, matrix tablets were prepared by direct compression of 100 mg drug and 400 mg polymer/CD/lactose blends, whose composition was chosen following a simplex centroid design. A higher CD/lactose ratio significantly increased the release rate of hydrophobic drugs (sulphamethizole), but decreased the release rate of hydrophilic drugs (diclofenac sodium), indicating the predominance of a different contribution depending on the hydrophilicity of the drug. Therefore, the use of CD derivatives may be particularly useful to modulate drug release from HPMC gels and matrix tablets; the influence of these additives being dependent on the nature of the drug and on the molecular size and hydrophilic character of the CD used.

© 2003 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Hydroxypropyl methylcellulose; Cyclodextrin; Diclofenac; Sulphamethizole; Hydrophilic matrices; Controlled release

1. Introduction

Preformed gels made of physically cross-linked polymers and matrix tablets, which form a gel layer when they come into contact with physiological

* Corresponding author. Tel.: +34-981-563-100; fax: +34-981-547-148.

E-mail address: ffjuant@usc.es (J.J. Torres-Labandeira).

fluids, have been shown very useful as controlled release devices. Compared to other approaches, their relative easiness of manufacturing is complemented by the large variety of non-expensive polymers useful to provide viscose gels or to show high gelling capacities when enter in contact with aqueous medium [1].

Significant research has been done to try to establish the variables that determine the release behaviour from gels and matrix tablets in order to find new ways of achieving the required release pattern. In particular, the use of mixtures of polymers, especially cellulose ethers, has been shown particularly useful to regulate drug diffusion in gels [2]. In tablet matrices, excipient mixtures may modify not only the diffusion rate, giving gel barriers of varying consistency [3], but also the mechanism of drug release [4,5]. Most of these effects have their origin on the fact that the interactions between the excipients modify the microenvironment through which the drug has to diffuse out the matrix; in particular, its viscosity and polarity [2,6].

It is known that the ability of cyclodextrins to form inclusion complexes by taking up a whole drug molecule or rather some non polar part of it into the hydrophobic cavity may considerably alter drug diffusion properties in polymeric systems [7–9]. However, apparently, contradictory effects have been reported. For example, in cross-linked polyethylenglycol gels, nicardipine release rate was strongly decreased when cyclodextrin proportion increased [10]. On the other hand, Rao et al. [11] have observed that the presence of cyclodextrins considerably enhances the dissolution of prednisolone from 25% hydroxypropylmethylcellulose matrices; the higher the cyclodextrin/prednisolone ratio, the faster was the release. In general, if the drug is loaded in a concentration above saturation, cyclodextrins can accelerate the release by enhancing the proportion of diffusible species. When drug proportion is below the solubility limit, complexation reduces the concentration of free drug molecules. In this case, the overall effect on the diffusivity of the drug is not as foreseeable as before since it will depend on the diffusivity of the free species and of the complex, which is, in general, lower than that of the free drug. Aside from steric reasons, the diffusivity of cyclodextrin complexes may be limited by their solubility and also affected

by the interactions with the polymeric components of the formulation [12]. Therefore, the use of CD derivatives of different solubility can provide different release rates [13]. If the complex cannot diffuse out of the matrix, a slow release of the drug would be achieved for complexes with high association constant.

To gain an insight into the factors that determine the role of cyclodextrins on drug diffusivity through preformed gels, and on the release rate from matrix tablets made of a commonly used hydrophilic polymer, HPMC K4M, we planned a study using two drugs with different water solubility and ionic charge, and two cyclodextrins differing in hydrophilicity and hydrodynamic size. Sulphamethizole (SUL) is a non-ionic drug practically insoluble (0.05 g/100 ml) [14] while diclofenac sodium (DIC) is an ionic drug ($pK_a=4$) quite soluble (0.90 g/100 ml) in water at neutral pH [15]. The ability of cyclodextrins to form inclusion complexes with these drugs has been previously analysed by phase solubility techniques and $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy. The halogenated aromatic ring of diclofenac and the benzene ring of sulphamethizol interact with the cavity of both β -cyclodextrin (β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD), preferentially forming 1/1 mol/mol complexes (stability constants: DIC- β -CD 100.6 M^{-1} ; DIC-HP- β -CD 115.2 M^{-1} ; SUL- β -CD 651.8 M^{-1} , SUL-HP- β -CD 563.9 M^{-1}) [16,17]. Cyclodextrin complexation considerably increases the solubility of these drugs in water.

The aim of this paper is to study how the characteristics of the drug and the cyclodextrin can condition the relative contribution of the different mechanisms involved in drug diffusion through the gels and the release from the matrix tablets, covering a wide range of HPMC proportions. The information obtained should also serve to establish criteria to adjust the composition of the formulations to the therapeutic requirements.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Sulphamethizole (SUL) and diclofenac sodium (DIC) were obtained from Sigma (USA), hydroxypropyl methylcellulose (Methocel[®] HPMC K4M)

from Dow Chemical (USA), β -CD (molecular weight 1135, solubility in water 1.85 g/100 ml) and β -CD (4.6 d.s, solubility in water >60 g/100 ml) from Roquete-Laisa (Spain) and Janssen Pharmaceutical (Belgium), respectively, lactose from Merck (Spain) and magnesium stearate from J. Escuder (Spain).

2.1.1. Gels preparation and characterization

Gels were prepared by adding, under stirring, given amounts of HPMC K4M to diclofenac (50 mg/100 ml) or sulphamethizole (10 mg/100 ml) aqueous solution, containing or not cyclodextrin (1:0, 1:0.5, 1:1 and 1:3 drug/CD mole ratio). The dispersions were stored at 4 °C for 24 h for a complete swelling of the polymer and homogenisation of the systems before characterization.

2.1.2. Apparent viscosity

Cinematic viscosity measurements were carried out, by sextuplicate, in Cannon-Fenske capillary viscometers at 37 °C.

2.1.3. Cloud point

Cloud point (i.e., the temperature at which the transmittance is half that at room temperature) was determined in 1.0% HPMC dispersions, without and with 1.0% drug, containing 0.25%, 0.50% or 1.0% of each cyclodextrin, by measuring the transmittance at 800 nm in a Shimadzu UV-240 (Japan) spectrophotometer, at increasing temperatures (5 °C steps until close to cloud point, then 0.2 °C steps) [18].

2.1.4. Diffusion studies

Drug diffusion profiles from the different systems were obtained by triplicate in horizontal diffusion cells (Afora, España), thermostatted at 37 °C and fitted with cellulose acetate filters (0.45 μ m pore size, Teknokroma, Spain) after storage at the same temperature for at least 1 h. The area available for diffusion was 0.7654 cm². The donor compartment contained 3 ml of gel, while the receptor compartment was filled with 3 ml deionized water. In both compartments, magnetic stirring (750 rpm) was applied. Samples of 0.5 ml were taken from the receptor medium at each predetermined sampling time, and immediately replaced with fresh medium. Diclofenac or sulphamethizole concentration in the receptor cell was determined by measurement of the absorbance at 276 nm

($E_{1\%,1\text{ cm}} = 283.85$) or 264 nm ($E_{1\%,1\text{ cm}} = 577.31$), respectively, in a Shimadzu UV-240 (Japan) spectrophotometer. Cyclodextrins did not interfere in the absorbance lecture.

Diffusion coefficients, D , were estimated using the equation [19]:

$$D = B \cdot l_m / C_1 \quad (1)$$

where B represents the slope of the release profile, l_m the thickness of the cellulose membrane and C_1 the initial concentration of drug in the gels.

2.2. Preparation and characterization of matrix tablets

Tablets containing 100 mg of diclofenac sodium or sulphamethizole were prepared, with 400 mg of polymer/cyclodextrin/lactose blends (Turbula T2C, Switzerland, 10 min) of different composition (Table 1), by direct compression in an instrumentalized Korsh Eko press (Germany) equipped with 12-mm flat punches, applying a compression force of 4.0–4.5 kN.

2.2.1. Dimensions

The dimensions of the tablets were measured by sextuplicate with a Mitutoyo (Japan) digital micrometer.

2.2.2. Friability

The friability of 10 tablets from each batch was determined using a Pharma Test (Germany) model PTF10E at 20 rpm for 15 min.

Table 1
Simplex centroid design used to prepare the tablet formulations

Formulation no.	x_1 (% HPMC)	x_2 (% CD)	x_3 (% Lac)
1	100	0	0
2	0	100	0
3	0	0	100
4	50	50	0
5	50	0	50
6	0	50	50
7	33.3	33.3	33.3
8	66.6	16.7	16.7
9	16.7	66.6	16.7
10	16.7	16.7	66.6

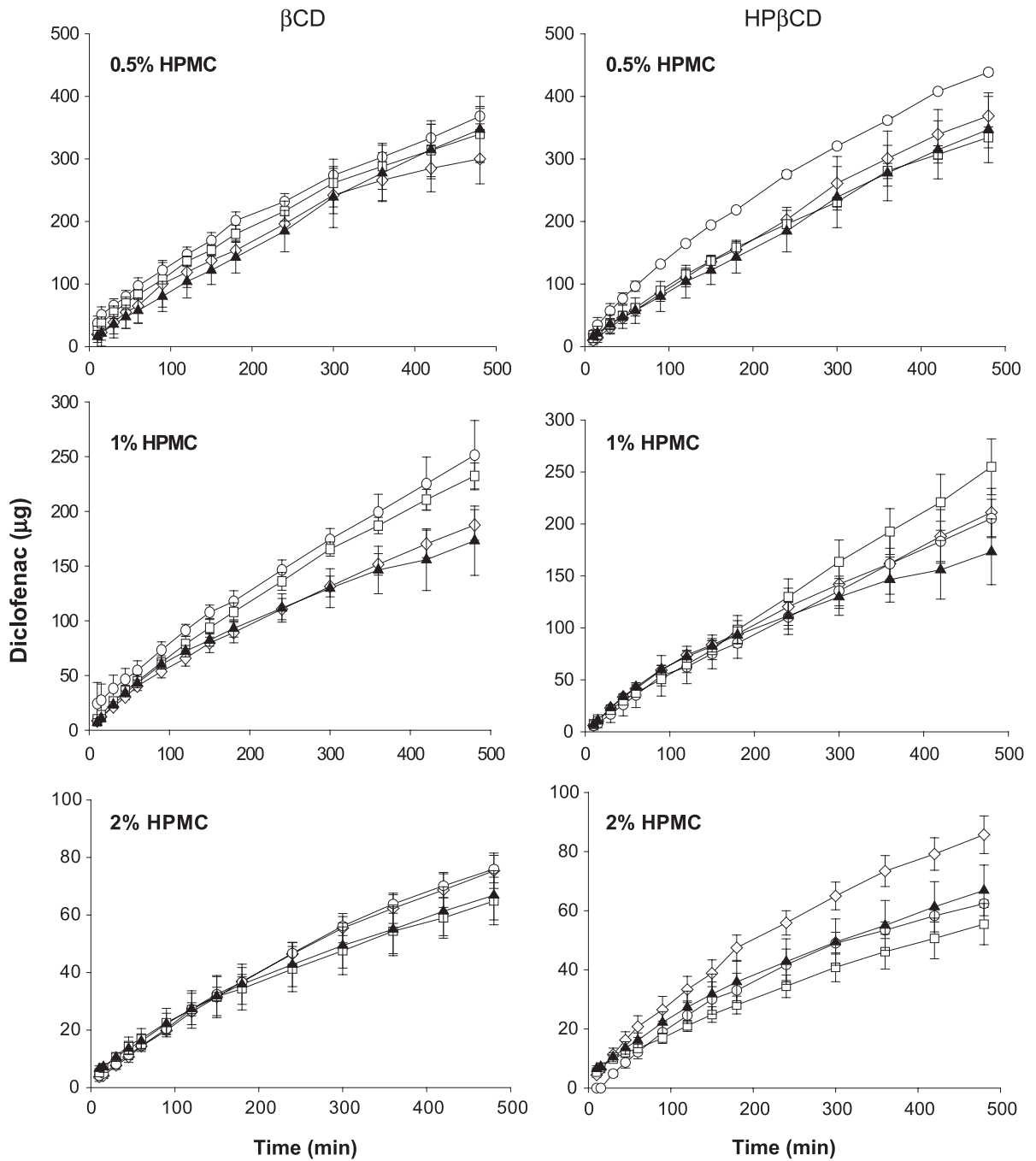


Fig 1. Diffusion profiles of diclofenac sodium from gels prepared with 0.5%, 1% and 2% of HPMC. Key: (\blacktriangle) drug; (\diamond) drug-CD 1:0.5; (\circ) drug-CD 1:1; (\square) drug-CD 1:3.

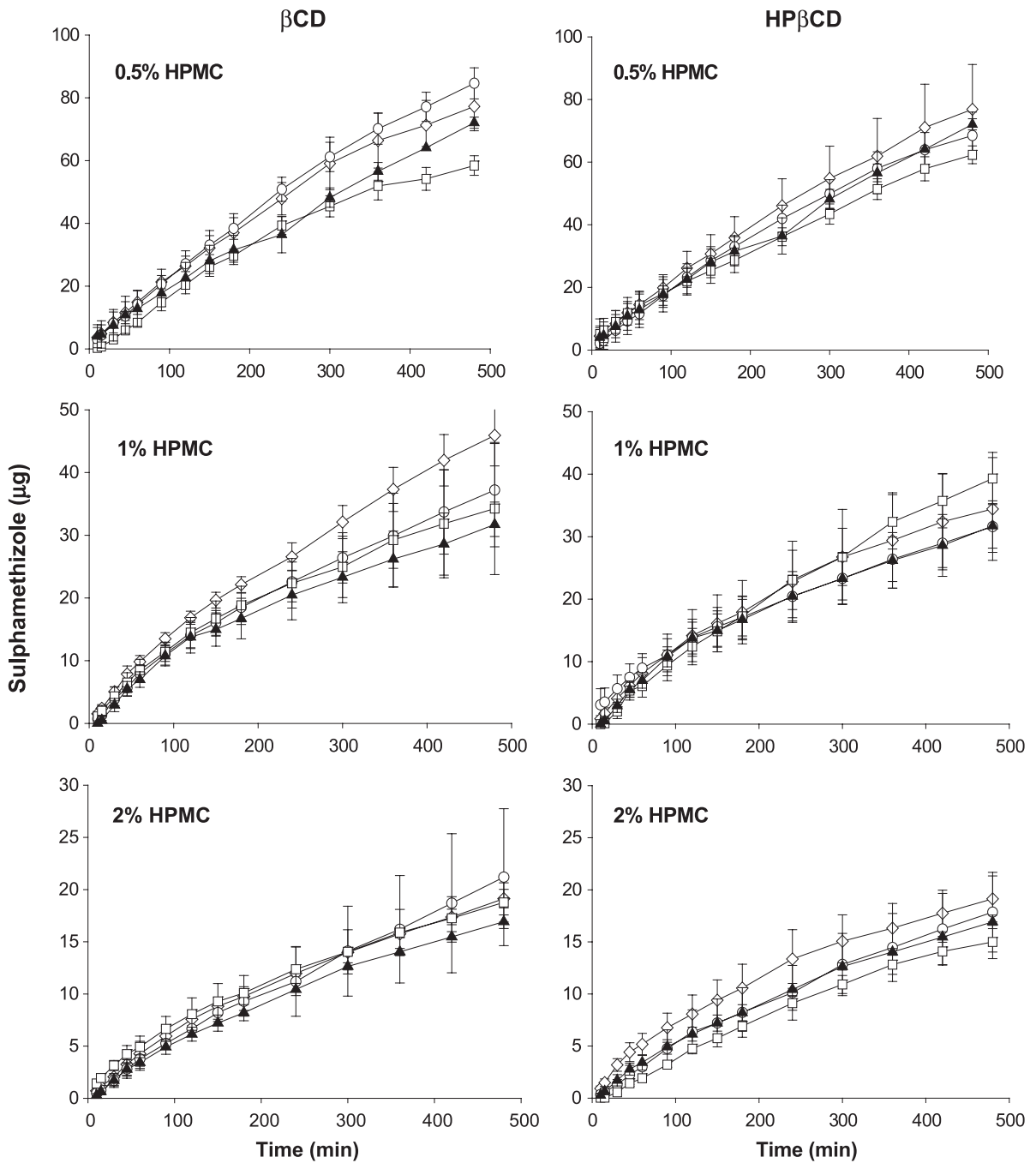


Fig 2. Diffusion profiles of sulphamethizole from gels prepared with 0.5%, 1% and 2% of HPMC. Key: (▲) drug; (◇) drug-CD 1:0.5; (○) drug-CD 1:1; (□) drug-CD 1:3.

2.2.3. Tensile strength

The tensile strength was calculated for each six tablets from the equation [20],

$$\text{Tensile strength} = 2CS/(\pi d \cdot e) \quad (2)$$

where CS is the crushing strength determined in an Erweka (Germany) TB-2A apparatus, d denotes the diameter of the tablet and e is its thickness (measured using a Mitutoyo digital micrometer).

2.2.4. Dissolution rate

Time-course of diclofenac and sulphamethizole release were determined at 37 °C in a Turu Grau (Spain) apparatus adapted to meet the specifications of the method II of USP 24 [21]. The tablets were introduced in small metallic baskets to avoid flotation and attachment to the vessel [22]. The dissolution medium was 900 ml of distilled water, stirred at 100 rpm. The concentration of the drug in 5 ml periodically taken samples was determined spectrophotometrically as described for the diffusion tests. The release profiles between 10% and 70% release were characterized by fitting the Higuchi equation [23]:

$$M_t/M_\infty = K_H \cdot t^{0.5} \quad (3)$$

where M_t corresponds to the amount of drug released in time t , M_∞ is the total amount of drug released after infinite time and K denotes a release rate constant.

2.3. Experimental design and statistical analysis

Gel composition followed a 4^2 factorial design in order to study the influence of HPMC proportion (0%, 0.5%, 1.0% and 2.0%) and the drug/CD mole ratio (1:0, 1:0.5, 1:1 and 1:3) on drug diffusion

coefficient. The composition of the tablet formulations was adjusted to a simplex centroid design for blends of three variables at six levels each one (Table 1) [24]. Each formulation is designed by its number mixture, followed by B (when X_2 was β -CD) or H (when X_2 was HP- β -CD), and the letters DIC or SUL depending if the formulation contains diclofenac or sulphamethizole.

To quantify the effect of the variables analysed on the K_H , a step-wise linear multiple regression ($\alpha < 0.05$) was used (Statgraphics® v.7.0). Applying this procedure, in the case of simplex centroid design, the parameters of the second-order canonical equations:

$$y = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 \quad (4)$$

and the reduced cubic-order canonical equations were obtained:

$$y = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 \quad (5)$$

where the variables x_1 , x_2 and x_3 represent the percentage of HPMC, cyclodextrin and lactose in the mixture, respectively, and the coefficients β_1 , β_2 and β_3 equal to the values of the response property in question for the pure HPMC, cyclodextrin or lactose tablet [24]. To decide whether to use the second-order canonical model or the cubic model, we calculated the Akaike Information Criterion (AIC) [25]:

$$\text{AIC} = N \ln \text{RSS} + 2p \quad (6)$$

where N is the total number of data points, RSS the residual sum of squares and p the number of parameters

Table 2

Diffusion coefficient ($\times 10^6$) and viscosity of diclofenac in HPMC gels; mean value (standard deviation), $n=3$

	0% HPMC		0.5% HPMC		1% HPMC		2% HPMC	
	D ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)	η (mPa s)	D ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)	η (mPa s)	D ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)	η (mPa s)	D ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)	η (mPa s)
DIC	64.8 (6.9)	0.70 (0.00)	31.6 (4.3)	12.8 (0.4)	14.8 (1.0)	78.3 (1.2)	6.1 (1.0)	973 (24)
DIC/ β -CD 1/0.5	63.4 (0.4)	0.74 (0.00)	30.8 (6.4)	9.9 (0.0)	17.4 (1.4)	70.9 (0.9)	7.4 (0.8)	881 (16)
DIC/ β -CD 1/1	63.4 (1.3)	0.71 (0.00)	32.8 (2.0)	10.2 (0.2)	21.5 (1.0)	71.2 (2.2)	7.5 (0.2)	1020 (3)
DIC/ β -CD 1/3	67.4 (8.1)	0.71 (0.00)	31.8 (4.7)	11.8 (0.2)	21.8 (0.9)	77.4 (1.8)	5.9 (1.0)	1010 (21)
DIC/HP- β -CD 1/0.5	61.1 (6.2)	0.71 (0.00)	35.5 (4.8)	9.8 (0.0)	19.0 (3.6)	70.9 (1.7)	8.6 (0.5)	895 (58)
DIC/HP- β -CD 1/1	61.6 (4.8)	0.71 (0.00)	43.3 (1.4)	10.8 (0.1)	18.7 (1.4)	81.9 (0.6)	6.9 (0.4)	1080 (6)
DIC/HP- β -CD 1/3	65.8 (4.4)	0.71 (0.00)	31.7 (0.4)	12.7 (0.1)	22.3 (2.9)	72.1 (2.0)	5.0 (0.8)	1160 (7)

fitted. In each case, the model selected was that which gave the lowest AIC value. The data for the contour plots were generated using MATLAB 6.5 (The Math-Works, Natick, MA).

3. Results and discussion

3.1. Gels

The presence of drug and cyclodextrin did not significantly modify the cloud point of 1% HPMC K4M dispersions, which was around 72.1 ± 0.3 °C in all gels. Changes in this parameter are related to a competition of additives with the polymer for water and with changes in conformation of its chains, which may affect the diffusion processes [26]. The data obtained indicate that the hydrophilicity and water “structure” around the cellulose ether did not experiment significant changes in the systems analysed. Additionally, since the concentrations of diclofenac sodium and sulphamethizole in the gels were lower than their solubility coefficient in water, the effect of drug complex formation with cyclodextrin should be mainly on the diffusivity through the HPMC network.

The amount of diclofenac (Fig. 1) or sulphamethizole (Fig. 2) diffused on a given time strongly decreased as the proportion of HPMC increased. This effect becomes especially evident when calculating the diffusion coefficients corresponding to each gel (Tables 2 and 3); an exponential decay as a function of HPMC concentration is observed [27]. It is also interesting to note that in the absence of HPMC, all solutions had similar diffusion coefficients irrespectively of the nature of the drug and the cyclodextrin

and also of the proportion of cyclodextrin incorporated; significantly lower diffusion coefficients were only observed for sulphamethizole in the presence of the greatest HP- β -CD proportion. Increasing HPMC concentration, high drug/CD proportions tend to promote drug diffusion, while the opposite effect is observed for low drug/CD ratios. This may be explained in terms of the mesh size of the polymer network and the possible interactions between the components of the gel. HPMC concentrations selected cover a wide range of intermolecular association states. HPMC K4M intrinsic viscosity in water at 20 °C was previously estimated to be around 7.3 dl/g [2]. This means that its overlapping concentration is approximately 0.14 % and its entanglement concentration is slightly below 1% [28]. Therefore, it can be expected that the effect of the hydrodynamic size of the diffusant will be particularly evident in the lowest mesh size and the greatest tortuosity 2% HPMC systems. On the other hand, diclofenac sodium is an amphiphilic molecule that, although completely ionised under the experimental conditions in which the studies were carried out, can establish hydrophobic interactions with the less polar regions of cellulose chains [29]. The high hydrophobicity of sulphamethizole suggests a similar behavior. Therefore, their complexation with hydrophilic CD should prevent such interaction making the diffusion easier. This explains the fact that, in general, drug/CD 1:1 formulations in 0.5% and 1% HPMC gels, and drug/CD 1:0.5 in 2% HPMC gels, show the greatest diffusion coefficients. In contrast, an excess of CD may contribute to increase the tortuosity of the diffusional path of the drug/CD complexes, especially the bulky HP- β -CD in the dense 2% HPMC systems (Tables 2 and 3). The one-way ANOVA test indicated the existence

Table 3
Diffusion coefficient ($\times 10^6$) and viscosity of sulphamethizole in HPMC gels; mean value (standard deviation), $n=3$

	0% HPMC		0.5% HPMC		1% HPMC		2% HPMC	
	D ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)	η (mPa s)	D ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)	η (mPa s)	D ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)	η (mPa s)	D ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)	η (mPa s)
SUL	66.4 (5.2)	0.71 (0.00)	31.6 (1.1)	9.2 (0.0)	15.9 (2.9)	69.8 (1.9)	8.5 (0.1)	878 (13)
SUL/ β -CD 1/0.5	60.9 (5.2)	0.71 (0.00)	38.9 (4.6)	9.7 (0.3)	21.6 (2.5)	67.3 (1.3)	9.3 (0.3)	940 (11)
SUL/ β -CD 1/1	64.9 (6.4)	0.74 (0.00)	41.8 (3.9)	10.1 (0.1)	17.9 (3.5)	72.9 (0.4)	9.6 (3.5)	930 (19)
SUL/ β -CD 1/3	60.4 (7.2)	0.71 (0.00)	32.8 (2.4)	9.6 (0.0)	17.1 (3.5)	73.5 (2.2)	8.9 (1.4)	722 (4)
SUL/HP- β -CD 1/0.5	66.4 (1.6)	0.73 (0.00)	36.3 (6.4)	9.9 (0.1)	17.7 (4.7)	77.7 (0.9)	9.6 (1.6)	796 (15)
SUL/HP- β -CD 1/1	55.6 (4.4)	0.71 (0.00)	34.6 (3.7)	10.1 (0.1)	14.3 (1.8)	70.6 (0.2)	8.7 (1.9)	766 (23)
SUL/HP- β -CD 1/3	49.4 (5.2)	0.70 (0.00)	27.5 (1.2)	9.5 (0.0)	19.6 (2.9)	65.8 (0.6)	7.9 (0.6)	825 (10)

of statistically significant effect ($\alpha < 0.05$) of the proportion of CD on the drug diffusion coefficient, except to the SUL in 2% HPMC gels.

The presence of 2% HPMC K4M in the drug dispersions increased the viscosity 1400 times. On the other hand, the microviscosity which provides information about the resistance to the drug diffusion and estimated as [2]:

$$\eta = \eta_0 \frac{D_0}{D} \quad (7)$$

where η_0 is the viscosity of water, and D and D_0 represent the drug diffusion coefficients in the gel and in water, respectively, increased less than 10 times (Tables 2 and 3). Additionally, while the differences in apparent viscosity, or macroviscosity, for

a given percentage of HPMC are almost null, the changes that occur in the microenvironment through which the drug diffuses are, depending on the cyclodextrin proportion, very remarkable as shown by the different diffusion coefficients obtained. This highlights the limitations of using just macroviscosity to predict drug diffusion behavior through polymer dispersions [6].

3.2. Tablets

To prepare the matrix tablets a simplex centroid experimental design was followed (Table 1). Despite having a similar weight (0.500 ± 0.020 g), tablets differed in thickness (between 3.6 and 4.5 mm), friability and tensile strength. The formulations with greatest proportions of lactose (mixtures no. 3 (100%)

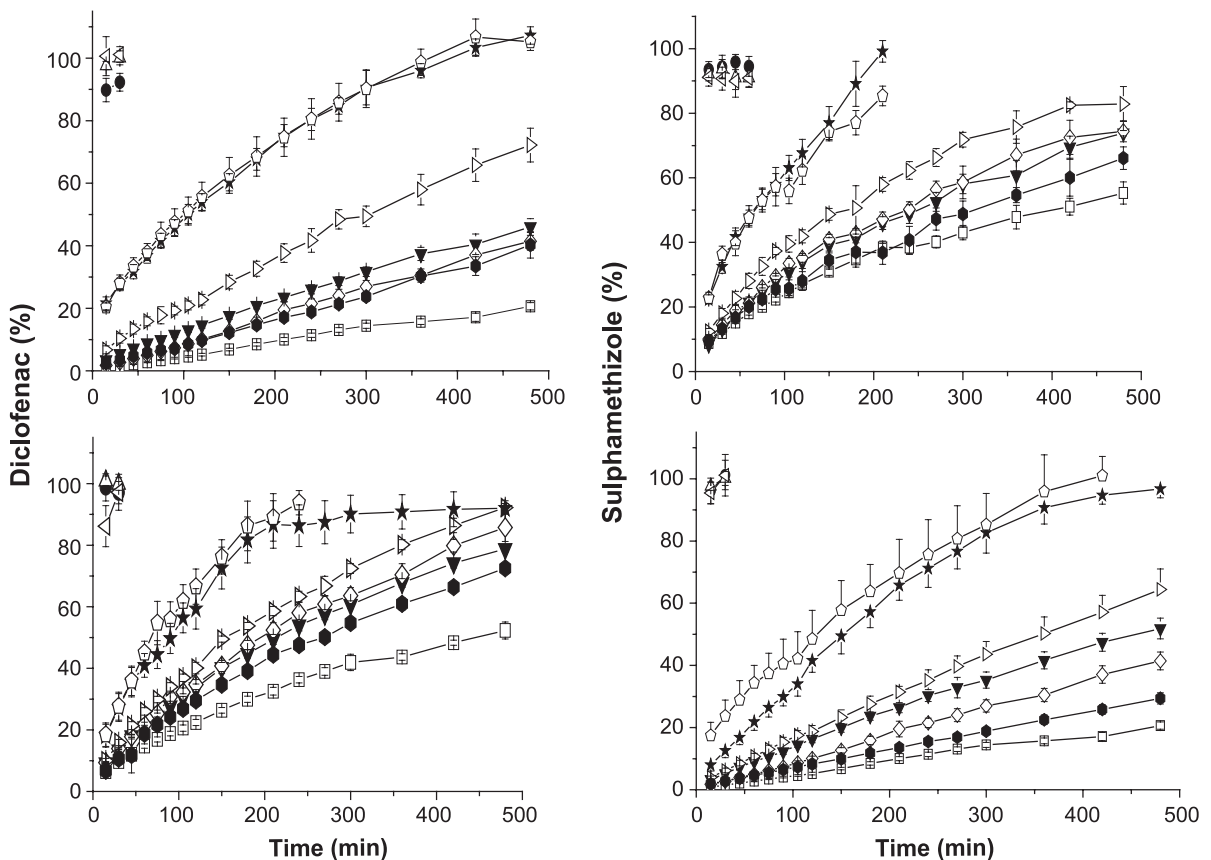


Fig 3. Dissolution profiles of the formulations prepared with diclofenac sodium or sulphamethizole and β -CD or HP- β -CD according to the experimental design (Table 1). Key: (\square) no. 1; (\bullet) no. 2; (\triangle) no. 3; (∇) no. 4; (\diamond) no. 5; (\triangleleft) no. 6; (\triangleright) no. 7; (\bullet) no. 8; (\star) no. 9; (\circ) no. 10.

Table 4

Drug release rate constant of the tablets elaborated with diclofenac sodium and HPMC/CD/lactose in the ratios shown in Table 1

Formulation	Experimental K_H (%·min ^{-0.5})	Predicted K_H (%·min ^{-0.5})	Formulation	Experimental K_H (%·min ^{-0.5})	Predicted K_H (%·min ^{-0.5})
1B-DIC	2.62 (0.18)	2.62	1H-DIC	2.63 (0.09)	2.75
2B-DIC	–	–	2H-DIC	–	–
3B-DIC	–	–	3H-DIC	–	–
4B-DIC	3.65 (0.15)	3.65	4H-DIC	4.04 (0.08)	4.15
5B-DIC	3.74 (0.23)	3.75	5H-DIC	4.36 (0.18)	4.48
6B-DIC	–	–	6H-DIC	–	–
7B-DIC	4.18 (0.14)	4.20	7H-DIC	4.71 (0.07)	5.06
8B-DIC	3.09 (0.11)	3.07	8H-DIC	3.76 (0.06)	3.29
9B-DIC	4.96 (0.23)	4.95	9H-DIC	6.58 (0.46)	6.46
10B-DIC	5.40 (0.15)	5.40	10H-DIC	7.09 (0.49)	6.97

The results of the statistical analysis are shown in Fig. 4.

and no. 10 (66.66%) showed the greatest friability and lowest tensile strength; this effect was particularly evident in the case of sulphamethizole tablets, which friability (up to 50%) was the only above the Pharmacopoeia limit [21]. Tablets prepared with no HPMC (nos. 2, 3 and 6) did not behave as matrix systems, rapidly disintegrating and releasing in the first 15 min all drug loaded (Fig. 3). In contrast, the tablets containing just HPMC as excipient showed the most sustained profile. Similar results were observed for the release of adinazolam mesylate from HPMC K4M/lactose tablets [5]. Lactose is a soluble excipient that facilitates the penetration of water inside the tablet and, therefore, widely used to enhance the release rate of sparingly soluble drugs. When the proportion of lactose or other hydrosoluble excipients is high, tablets disintegrate quickly. This effect has been reported for carbamazepine/ β -CD in HPMC K100LV matrices containing less than 15% of poly-

mer [30]. To the best of our knowledge, no study with ternary mixtures polymer/CD/lactose has been carried out yet.

Incorporation of cyclodextrins and lactose in different proportions provided a way of modulating drug release profiles, which were well fitted by the Higuchi equation [23] (correlation coefficients, $r^2 > 0.97$). The values of the rate constant obtained, summarized in Tables 4 and 5, were statistically different (one-way ANOVA test, $\alpha < 0.01$). The application of a multiple range test (Statgraphics® v.7.0) indicated that the formulations 4B-DIC and 5B-DIC have not statistically different release rates. In the case of sulphamethizole, release rates from formulations 9B-SUL and 10B-SUL, and from 5B-SUL and 8B-SUL, were not significantly different ($\alpha < 0.01$).

The plots of K_H versus the percentage of HPMC (Fig. 4) evidence the strong influence of this variable on drug release rate; the decrease in K_H being expo-

Table 5

Drug release rate constant of the tablets elaborated with sulphamethizole and HPMC/CD/lactose in the ratios shown in Table 1

Formulation	Experimental K_H (%·min ^{-0.5})	Predicted K_H (%·min ^{-0.5})	Formulation	Experimental K_H (%·min ^{-0.5})	Predicted K_H (%·min ^{-0.5})
1B-SUL	1.26 (0.07)	1.31	1H-SUL	1.26 (0.07)	1.26
2B-SUL	–	–	2H-SUL	–	–
3B-SUL	–	–	3H-SUL	–	–
4B-SUL	2.71 (0.18)	2.77	4H-SUL	3.07 (0.22)	3.07
5B-SUL	2.48 (0.19)	2.54	5H-SUL	2.59 (0.17)	2.58
6B-SUL	–	–	6H-SUL	–	–
7B-SUL	3.97 (0.39)	4.14	7H-SUL	3.77 (0.34)	3.76
8B-SUL	2.37 (0.21)	2.16	8H-SUL	1.73 (0.11)	1.44
9B-SUL	5.25 (0.10)	5.19	9H-SUL	6.18 (0.42)	6.18
10B-SUL	5.28 (0.42)	5.23	10H-SUL	5.06 (0.52)	5.07

The results of the statistical analysis are shown in Fig. 4.

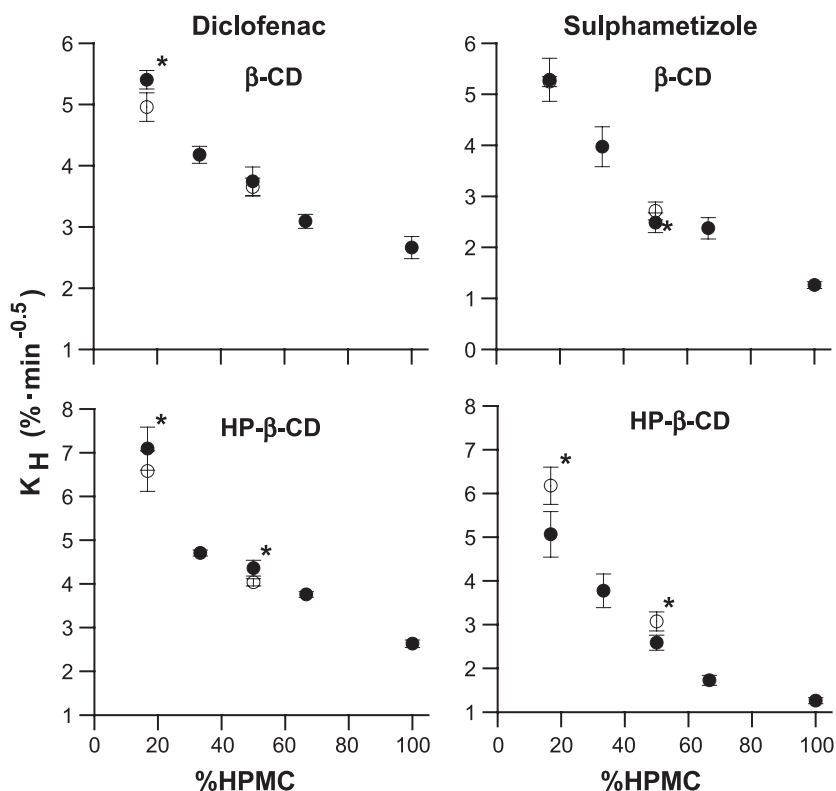


Fig. 4. Effect of hydroxypropylmethylcellulose proportion on drug release rate from matrix tablets; for the formulations prepared incorporating CD and lactose in a different proportion (polymer percentage of 16.66% and 50%), those with a greater CD/lactose ratio (open symbols) showed lower diclofenac sodium release rates but greater sulphamethizole release rates (*significant differences at α level of 0.01).

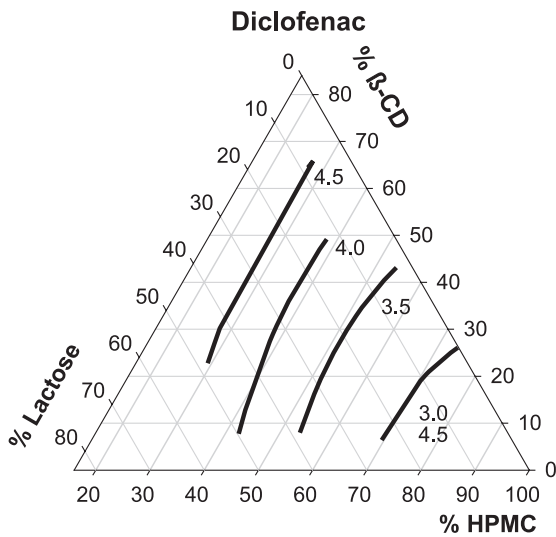
nentially as observed for the diffusion coefficients through the gels, and as can be predicted by the hydrodynamic model developed by Phillips and Clomenil [31]. Nevertheless, the plots also highlight the effect of the presence of cyclodextrins compared to lactose. Interestingly, opposite effects were observed for diclofenac and sulphamethizole. For the most hydrophilic diclofenac, a higher cyclodextrin/lactose ratio significantly decreased the release rate (Table 4; Fig. 4). The concentration of polymer in the hydrated layer surrounding a HPMC matrix has been estimated by Lindner and Lippold [32] to be around 6%. Therefore, in the case of the matrix tablets prepared with mixtures of HPMC and cyclodextrin, the decrease in diffusivity of the drug incorporated to cyclodextrin complexes through the hydrated polymer layer should be even more evident than in the 2% HPMC gels. In contrast, formulations containing sulphamethizole showed an increase in drug release

rate when the cyclodextrins are present in the matrix instead of lactose. Complexation with the cyclodextrins strongly increases sulphamethizole solubility in water [17], and, consequently, this enhances the release process. This effect was particularly important in the case of the most hydrophilic cyclodextrin, HP- β -CD. Rao et al. [11] also reported an increase in release rate of prednisolone from 25% HPMC K100M matrix tablets containing a highly water soluble cyclodextrin derivative, SBE- β -CD. Although the release tests are carried out using a volume of liquid much greater than the one needed to obtain a saturated solution of the drug, the release process initially involves the dissolution of the drug and, then, its diffusion through the gel layer of the hydrated tablet. During this process, cyclodextrins can act as solubilizing agents, promoting drug release, but also hinder the diffusion acting as obstacles in the diffusional path. The first effect will be dominant in the case of

hydrophobic drugs, and the second one in the case of hydrophilic drugs.

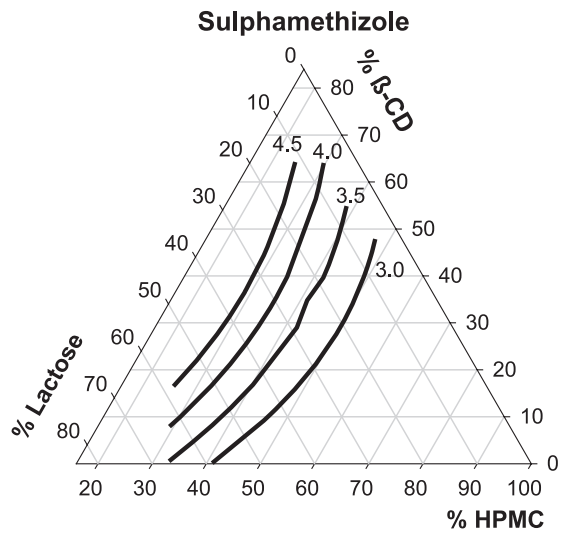
The second-order canonical equation derived from the simplex centroid design to which the formulation

composition was adjusted is shown in Fig. 5. To calculate their coefficients, we used the rate constants obtained without considering the release profiles of formulations without polymer (nos. 2, 3 and 6), i.e., a



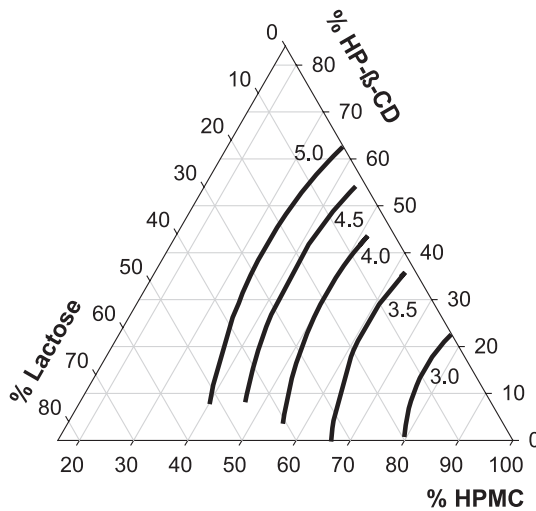
$$K_H = 0.026244 x_1 + 0.060143 x_2 + 0.072635 x_3 - 0.000265 x_1 x_2 - 0.000478 x_1 x_3 - 0.000249 x_2 x_3$$

$$r^2 = 0.9984 [F_{(6,36)} = 3790.01, \alpha < 0.01]$$



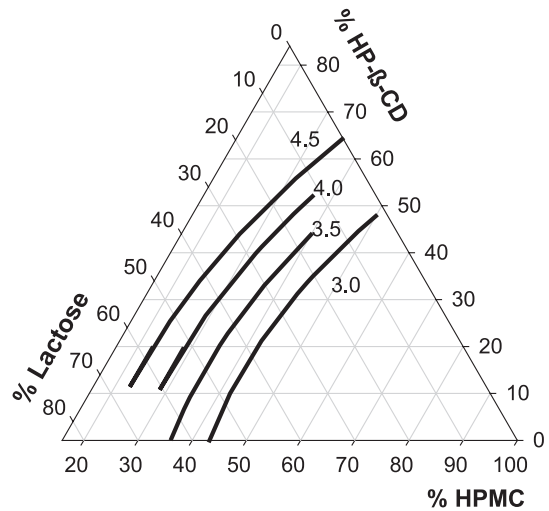
$$K_H = 0.013147 x_1 + 0.056953 x_2 + 0.060363 x_3 - 0.000295 x_1 x_2 - 0.000456 x_1 x_3 - 0.000564 x_2 x_3$$

$$r^2 = 0.9949 [F_{(6,36)} = 1173.07, \alpha < 0.01]$$



$$K_H = 0.27478 x_1 + 0.086698 x_2 + 0.098916 x_3 - 0.000622 x_1 x_2 - 0.000737 x_1 x_3 - 0.000475 x_2 x_3$$

$$r^2 = 0.9951 [F_{(6,36)} = 1215.44, \alpha < 0.01]$$



$$K_H = 0.012576 x_1 + 0.098457 x_2 + 0.069894 x_3 - 0.000993 x_1 x_2 - 0.000616 x_1 x_3 - 0.000431 x_2 x_3$$

$$r^2 = 0.9942 [F_{(6,36)} = 1025.77, \alpha < 0.01]$$

Fig. 5. Contour plots of the release rate constants (K_H) estimated using the second-order canonical equations obtained by fitting to the experimental values shown in Tables 4 and 5 (x_1 : % HPMC; x_2 : % CD; x_3 : % Lactose).

constrained model that do not take into account the formulations that have no acceptable mechanical properties and do not behave as matrices. The values predicted by the canonical equations fitted quite well the experimental values of K_H obtained for the formulations that contain, at least, 16.66% HPMC K4M, as can be seen in Tables 4 and 5 for values predicted with the second-order canonical equations. Since these equations had correlation coefficients, r^2 , and F values as good as the third-order canonical equations, and the test points of the model, which are the data corresponding to formulation no. 7, provided values similar to the experimental ones, the second-order canonical equations should be selected to avoid the use of unnecessary complex equations (Akaike Information Criterion) [25]. The values of the coefficients of x_2 and x_3 and the tendency shown in the contour plots clearly corroborate that, compared to lactose, cyclodextrins, especially HP- β -CD, delay the release of diclofenac and accelerate the release of sulphamethizol. The canonical equations are particularly useful to quantify the effect of the different variables and to predict to what extent the release profile can be modulated by choosing an adequate excipient mixture.

4. Conclusions

β -Cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin strongly determine the diffusivity through gels and the dissolution rate from the tablets of drugs with which they can form inclusion complexes. For given HPMC and drug proportions, low CD concentrations promote drug diffusion by decreasing drug interactions with the polymer, while the opposite effect is observed for high CD concentrations; the free cyclodextrins increasing the tortuosity of the diffusional path. In the case of the tablets, an additional factor, the solubilizing capacity of cyclodextrins, needs to be considered. This effect is particularly important for the more hydrophobic sulphamethizol; the release rate being greater for HPMC matrix tablets containing cyclodextrins. In contrast, the delay in the release profile of the hydrophilic diclofenac may be attributed to the hindering effect of free cyclodextrins on drug diffusivity. The simplex centroid design used to prepare the tablets allowed to obtain the second-

order canonical equations, which are particularly useful to predict the release behavior of tablets containing mixtures of HPMC, cyclodextrin and lactose.

Acknowledgements

This work was financed by the Xunta de Galicia, Spain (PGIDIT02BTF20302PR; PGIDIT02-BIO20302PR), and by the Ministerio de Ciencia y Tecnología, Spain (RYC 2001/8). The authors want to thank Prof. J.L. Gomez-Amoza for his assistance in generating the data for the contour plots, and Roquete-Laisa (Barcelona, Spain) and Janssen Pharmaceutical (Belgium) for providing samples of cyclodextrins, and to Dow Chemical for samples of HPMC.

References

- [1] M.J. Vázquez, B. Pérez-Marcos, J.L. Gomez-Amoza, R. Martínez-Pacheco, C. Souto, A. Concheiro, Influence of technological variables on release of drugs from hydrophilic matrices, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 18 (1992) 1355–1375.
- [2] C. Alvarez-Lorenzo, R. Duro, J.L. Gomez-Amoza, R. Martínez-Pacheco, C. Souto, A. Concheiro, Influence of polymer structure on the rheological behavior of hydroxypropylmethylcellulose-sodium carboxymethylcellulose dispersions, *Colloid polym. Sci.* 279 (2001) 1045–1057.
- [3] M.J. Vázquez, M. Casalderrey, R. Duro, J.L. Gomez-Amoza, R. Martínez-Pacheco, C. Souto, A. Concheiro, Atenolol release from hydrophilic matrix tablets with hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC) mixtures as gelling agent: effects of the viscosity of the HPMC mixture, *Eur. J. Pharm. Sci.* 4 (1996) 39–48.
- [4] K.V. Ranga Rao, K. Padmalatha Devi, P. Buri, Cellulose matrices for zero-order release of soluble drugs, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 14 (1988) 2299–2320.
- [5] K.C. Sung, P.R. Nixon, J.W. Skoug, T.R. Ju, P. Gau, E.M. Topp, M.V. Patel, Effect of formulation variables on drug and polymer release from HPMC-based matrix tablets, *Int. J. Pharm.* 142 (1996) 53–60.
- [6] C. Alvarez-Lorenzo, J.L. Gomez-Amoza, R. Martínez-Pacheco, C. Souto, A. Concheiro, Microviscosity of hydroxypropyl cellulose gels as a basis for prediction of drug diffusion rates, *Int. J. Pharm.* 180 (1999) 91–103.
- [7] T. Irie, K. Uekama, Pharmaceutical applications of cyclodextrins: III. Toxicological issues and safety evaluation, *J. Pharm. Sci.* 86 (1997) 147–162.
- [8] T. Loftsson, M.E. Brewster, Pharmaceutical applications of cyclodextrins: 1. Drug solubilization and stabilization, *J. Pharm. Sci.* 85 (1996) 1017–1025.
- [9] D.C. Bibby, N.M. Davies, I.G. Tucker, Mechanisms by which

- cyclodextrins modify drug release from polymeric drug delivery systems, *Int. J. Pharm.* 197 (2000) 1–11.
- [10] F. Quaglia, G. Varricchio, A. Miro, M.I. La Rotonda, D. Mensitieri, G. Mensitieri, Cyclodextrins as modulators of drug release from PEG-based hydrogels: the nicardipine/ β -cyclodextrin system, *Acta Technol. Legis Medicam.* 12 (2001) 215–224.
- [11] V.M. Rao, J.L. Haslam, V.J. Stella, Controlled and complete release of a model poorly water-soluble drug, prednisolone, from hydroxypropyl methylcellulose matrix tablets using (SBE)(7 m)- β -cyclodextrin as a solubilizing agent, *J. Pharm. Sci.* 90 (2001) 807–816.
- [12] R.A. Hladon, B. Cwiertnia, Physical and chemical interactions between cellulose ethers and β -cyclodextrins, *Pharmazie* 49 (1994) 497–500.
- [13] Y. Ikeda, K. Kimura, F. Hirayama, H. Arima, K. Uekama, Controlled release of a water-soluble drug, captopril, by a combination of hydrophilic and hydrophobic cyclodextrin derivatives, *J. Control. Release* 66 (2000) 271–280.
- [14] The Merck Index, Merck, Whitehouse Station, NJ, 2001, pp. 1589.
- [15] C.M. Adeyeye, P.K. Li, in: K. Florey (Ed.), *Analytical Profiles of Drugs Substances*, Academic Press, New York, 1990, pp. 123–144.
- [16] B. Pose-Vilarnovo, L. Santana-Peñín, M. Echezarreta-López, M.B. Pérez-Marcos, J.L. Vila-Jato, J.J. Torres-Labandeira, Interaction of diclofenac sodium with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrins in solution, *STP Pharma Sci.* 9 (1999) 231–236.
- [17] B. Pose-Vilarnovo, M. Echezarreta-López, P. Schroth-Pardo, E. Estrada, J.J. Torres-Labandeira, Improvement of water solubility of sulfamethizole through its complexation with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Characterization of the interaction in solution and in solid state, *Eur. J. Pharm. Sci.* 13 (2001) 325–331.
- [18] U. Holzgrabe, I. Wawer, B. Diehl, J.L. Ford, D.J. Armstrong, P.N.C. Elliot, C. Rostron, J.E. Hogan, The influence of additives on the cloud point, disintegration and dissolution of hydroxypropyl methyl cellulose gels and matrix tablets, *Int. J. Pharm.* 66 (1990) 233–242.
- [19] J.M. Parks, R.L. Cleek, A.L. Bunge, Chemical release from topical formulations across synthetic membranes: infinite dose, *J. Pharm. Sci.* 86 (1997) 187–192.
- [20] M.P. Summers, R.P. Enever, J.E. Carless, Influence of crystal form on tensile strength of compacts of pharmaceutical materials, *J. Pharm. Sci.* 66 (1977) 1172–1175.
- [21] The United States Pharmacopeial Convention, United States Pharmacopeia 24 Ed-National Formulary 19, Rockville MD, The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD, 2000.
- [22] Perez-Marcos, R. Martinez-Pacheco, J.L. Gomez-Amoza, C. Concheiro, A. Concheiro, R.C. Rowe, Interlot variability of carbomer 934, *Int. J. Pharm.* 100 (1993) 207–212.
- [23] W.I. Higuchi, Analysis of data on the medicament release from ointments, *J. Pharm. Sci.* 51 (1962) 802–804.
- [24] G.A. Lewis, D. Mathieu, R. Phan-Tan-Luu, *Pharmaceutical Experimental Design*, Marcel Dekker, New York, 1999.
- [25] H. Akaike, Information theory and an extension of the maximum likelihood principle, in: B.N. Petrov, F. Csaki (Eds.), *Proceedings of the 2nd International Symposium on Information Theory*, Akademiai Kiado, Budapest, 1973, pp. 267–281.
- [26] K. Mitchell, J.L. Ford, D.J. Armstrong, P.N.C. Elliott, C. Hogan, J.E. Hogan, The influence of additives on the cloud point, disintegration and dissolution of hydroxypropylmethyl cellulose gels and matrix tablets, *Int. J. Pharm.* 66 (1990) 233–242.
- [27] G.D.J. Phillies, Hydrodynamic scaling of viscosity and viscoelasticity of polymer solutions, including chain architecture and solvent quality effects, *Macromolecules* 28 (1995) 8198–8208.
- [28] E.R. Morris, A.N. Cutler, S.B. Ross-Murphy, D.A. Rees, Concentration and shear rate dependence of viscosity in random coil polysaccharide solutions, *Carbohydr. Polym.* 1 (1981) 5–21.
- [29] R. Rodríguez, C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, Cationic cellulose hydrogels: kinetics of the cross-linking process and characterization as pH/ion-sensitive drug delivery systems, *J. Control. Release* 86 (2003) 253–265.
- [30] L.S. Koester, C.R. Xavier, P. Mayorga, V.L. Bassani, Influence of β -cyclodextrin complexation on carbamazepine release from hydroxypropyl methylcellulose matrix tablets, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 55 (2003) 85–91.
- [31] J. Phillies, D. Clomenil, Probe diffusion in polymer solutions under Q and good conditions, *Macromolecules* 26 (1993) 167–170.
- [32] W.D. Lindner, B.C. Lippold, Drug release from hydrocolloid embeddings with high or low susceptibility to hydrodynamic stress, *Pharm. Res.* 12 (1995) 1781–1785.

VII. CONCLUSIONES

Se ha estudiado la liberación de dos fármacos, uno de hidrosolubilidad moderada -diclofenaco sódico- y otro de hidrosolubilidad baja -sulfametizol-, a partir de matrices hidrofílicas de hidroxipropilmetilcelulosa formuladas incorporando al sistema, como agentes solubilizantes, β -ciclodextrina o hidroxipropil- β -ciclodextrina.

1. En lo que se refiere a los sistemas fármaco-ciclodextrina, se ha demostrado la formación de verdaderos complejos de inclusión, tanto en disolución como en estado sólido y se han puesto de manifiesto incrementos sensibles en la hidrosolubilidad de los fármacos.

1.1 Los resultados obtenidos en los estudios llevados a cabo con diclofenaco han permitido concluir que:

1.1.1 La intensidad de las interacciones del fármaco con las dos ciclodextrinas es similar.

1.1.2 La estequiometría de los complejos es, predominantemente 1:1, aunque también se detecta la presencia de complejos 1:2 en el caso de la β -ciclodextrina. En los complejos 1:1 la parte de la molécula que se incluye en la ciclodextrina es el grupo 2,6-diclorofenil, mientras que en los complejos 1:2 se incluyen en la cavidad los dos grupos aromáticos del diclofenaco.

1.1.3 Las dos ciclodextrinas producen un incremento de la solubilidad, siendo el efecto de la β -ciclodextrina más marcado.

- 1.2. Los resultados obtenidos en los estudios llevados a cabo con sulfametizol han permitido concluir que:
 - 1.2.1 La intensidad de las interacciones del fármaco con las dos ciclodextrinas es similar.
 - 1.2.2 La estequiometría de los complejos es 1:1 en el caso de la β -ciclodextrina y 2:3 en el caso de la hidroxipropil- β -ciclodextrina. La parte de la molécula incluida en la cavidad es el grupo tiadiazólico.
 - 1.2.3 Los efectos de la complejación con las dos ciclodextrinas sobre la solubilidad del fármaco son similares.

2. Los estudios llevados a cabo con geles y matrices de hidroxipropil metilcelulosa y ciclodextrinas permitieron concluir que:
 - 2.1. La hidroxipropilmetilcelulosa promueve la formación de los complejos de inclusión de los dos fármacos con ambas ciclodextrinas cuando se somete el sistema a un proceso de autoclavado previo a la liofilización.
 - 2.2. En los sistemas principio activo-ciclodextrina-hidroxipropilmetil celulosa, el derivado celulósico controla la liberación del fármaco, sin que se manifieste el efecto de la ciclodextrina sobre su solubilidad del fármaco. Excepcionalmente, en el caso de la hidroxipropil- β -ciclodextrina y el diclofenaco se hace evidente el efecto sinérgico de la ciclodextrina y el polímero.
 - 2.3. Las ciclodextrinas condicionan de forma muy marcada la difusividad de los fármacos en los geles y su velocidad de disolución en comprimidos matriciales. Cuando la ciclodextrina está presente en proporciones bajas, la difusión se facilita como consecuencia de la reducción de las interacciones fármaco-polímero, mientras que a concentraciones altas se dificulta al

obstaculizarse los canales a través de los que difunde el fármaco. Las ecuaciones canónicas de segundo orden derivadas del diseño *simplex centroide* al que se ha ajustado la composición de las formulaciones, han permitido cuantificar los efectos de las proporciones de polímero y ciclodextrina, y abren la posibilidad de optimizar los perfiles de cesión.