



Universidad de Navarra

Facultad de Ciencias

*SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS DE
CICLODEXTRINA. APLICACIÓN A LA LIBERACIÓN DE
FÁRMACOS*

RUBÉN MACHÍN LEDESMA



Universidad de Navarra
Facultad de Ciencias

*SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS DE CICLODEXTRINA.
APLICACIÓN A LA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS*

Memoria presentada por D. Rubén Machín Ledesma para aspirar al grado de Doctor por la Universidad de Navarra

El presente trabajo ha sido realizado bajo mi dirección en el Departamento de Química y Edafología y autorizo su presentación ante el Tribunal que lo ha de juzgar.

Pamplona, ... de de 20....

Dr. José Ramón Isasi Alica

Dra. Itziar Vélaz Rivas

**A la memoria de
mis abuelos**

AGRADECIMIENTOS

Han sido varios años de, afortunadamente, muchas más alegrías que penas. Ahora que tocan a su fin, me vienen a la cabeza cantidad de personas que, de una manera u otra, también han ayudado a la realización de este trabajo, y a las que me gustaría dedicar unas palabras.

En primer lugar, quisiera agradecer al Departamento de Química y Edafología de la Universidad de Navarra por darme la posibilidad de realizar este trabajo y formar parte de su equipo durante todos estos años. También quiero agradecer al Departamento de Industria y Tecnología, Comercio y Trabajo, y al Departamento de Educación del Gobierno de Navarra, la ayuda económica recibida para la realización de esta tesis.

A mis directores, el Dr. José Ramón Isasi Allica y la Dra. Itziar Vélaz Rivas, por confiar en mí y darme una gran libertad a la hora de realizar este trabajo, lo cual ha contribuido en mi formación y sé que agradeceré en el futuro. También quisiera acordarme, especialmente, del resto de profesores que componen la sección de Química-Física del Departamento: las Dras. Cristina Martínez-Ohárriz, Arantza Zornoza y Carmen Martín, el Dr. Gustavo González y el profesor D. Miguel Sánchez. A todos ellos, gracias por sus consejos, apoyo, y confianza depositada en mí para colaborar en la docencia de sus diferentes asignaturas.

A mis compañeros de laboratorio durante todos estos años: Eneko, Rafa, Marcos, David, Gorka y José María, gracias por vuestra atención y disposición a ayudar en todo lo posible. Un placer haber compartido estos últimos meses con vosotros. Y los que ya no están: Iosu, Mikel N., Mikel L., Raquel, Laura, Takeo, Guillermo, Íñigo... Me gustaría acordarme también de los diferentes alumnos internos o de intercambio con los que he coincidido estos años, especialmente Ana García, Patricia y Tiphaine.

Del resto del Departamento, quisiera agradecer en primer lugar a Blanca y Marisa, por su disponibilidad y atención constantes. A las compañeras del área de Ingeniería Química: Bárbara, Estefanía, Maitane y Nekane, así como su director el Dr. Javier Peñas, por tantos ratos compartidos, tanto de investigación como de conversación. A Cris Sola, gracias por todo lo que nos has enseñado y confiado en nosotros en este tiempo. A Raúl, gracias por contar con nosotros para todo y ser siempre tan atento. Al resto de compañeros y excompañeros, con los que desgraciadamente no tuve oportunidad de coincidir tanto: Irene, Laura Miqueo, David, Esther, María, Janire, Delia, Nekane Martín, Xavi, Asun, Ester, Ana, Carolina, Adrián, Josemi, Marta, Cristina, Melissa, Sheila...

Al Dr. José Ignacio Álvarez Galindo y a Cristina Luzuriaga, por la realización de las medidas de porosimetría de intrusión de mercurio, así como por el asesoramiento en el análisis de los resultados. Al Dr. Enrique Baquero, del Departamento de Zoología y Ecología de la Universidad de Navarra, por dedicarnos su tiempo y experiencia en la realización de las fotos de SEM. Al Dr. Carlos Cesteros, del Departamento de Química Física de la Universidad del País Vasco, por realizar las pruebas mecánicas de los polímeros. A la Dra. Marta Fuentes, de TIMAC-AGRO, y a Carmen Elizalde, del Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica de la Universidad de Navarra, por realizar el análisis elemental de los polímeros sintetizados.

Después de más de 20 años como alumno en diferentes centros, he tenido la suerte de encontrarme con grandes docentes, de los cuales quisiera agradecer especialmente a los que más han influido en las diferentes decisiones que he tomado: Juanma Martínez, Jesús M^a Caminos y Roberto Romano, del desaparecido Colegio San Agustín, Chema Esparza, del IES Plaza la Cruz, y Juan José Irigoyen y José Ramón Isasi, de la Universidad de Navarra. Ya que a mí también me ha tocado, en menor medida, colaborar en docencia estos años, quisiera recordar también a los alumnos en cuya formación he participado durante estos cursos: espero que hayáis aprendido de mí al menos tanto como yo de vosotros.

Por último, me gustaría acordarme de los diferentes amigos que me han acompañado de una manera u otra durante estos años: Igor, Carlos, Alberto, Armando, Andoni, David, Alus, Zara, Miguel, Edu, Aser y Nieves. ¡Gracias a todos!

Me gustaría agradecer especialmente a mi familia su paciencia, apoyo e interés durante la realización de este trabajo. A Estefanía, por haber estado ahí todos estos años, tanto dentro como fuera del laboratorio, dándome siempre fuerzas, alegría y ánimo para continuar. Esta tesis es fruto del trabajo y mérito de ambos. A mis padres, Belén y Carlos, y a mi hermano Javi, por permitirme, con su esfuerzo y apoyo durante tantos años, llegar hasta aquí. Nunca lo hubiera conseguido sin vosotros. Aunque se que lo digo poco, ¡gracias! Agradecer también a mis tíos y primos, especialmente a mi tía Fabi y familia, por su constante interés y apoyo.

Me gustaría dedicar todo el esfuerzo de esta tesis y agradecer muy especialmente a mis abuelos, Martín, Lorenza, Francisco y Javiera. Ha sido su esfuerzo y ejemplo durante años lo que me permite estar hoy escribiendo estas líneas. A mi abuela Javiera, en especial, por haber sido todo un ejemplo y la mejor persona que he conocido. Si he conseguido llegar hasta aquí, es especialmente por ti. Orgulloso de haber sido tu nieto. Muchas gracias a todos, de corazón.

*“A veces sentimos que lo que hacemos
es solo una gota en el mar, pero el mar
sería menos si le faltara una gota”
(Madre Teresa de Calcuta)*

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1. CICLODEXTRINAS	3
1.1 Introducción	3
1.2 Estructura y propiedades	3
1.3 Seguridad de las ciclodextrinas	6
1.4 Complejos de inclusión	8
1.5 Polímeros de ciclodextrina	8
1.6 Aplicaciones de las ciclodextrinas y sus polímeros	13
2. LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS	15
2.1 Introducción	15
2.2 Sistemas monolíticos o matrices	17
2.3 Modelos matemáticos	20
3. HIDROGELES	26
3.1 Definición	26
3.2 Principales características de los hidrogeles y su caracterización	26
3.3 Hidrogeles en la liberación controlada de fármacos	30
4. SUSTANCIAS MODELO	32
4.1 Introducción	32
4.2 Naproxeno	32
4.3 Nabumetona	33
4.4 Naftifina y terbinafina	34
4.5 Otras sustancias modelo	35
5. BIBLIOGRAFÍA	37
II. OBJETIVOS	49
III. RESULTADOS	53
CAPÍTULO 1: Swelling behaviour and porous structure of poly(β -cyclodextrin) gels	55

Abstract	57
1. Introduction	59
2. Materials and methods	60
2.1 <i>Materials</i>	60
2.2 <i>Polymer synthesis</i>	60
2.3 <i>Assays in xerogels</i>	61
2.4 <i>Assays in hydrogels</i>	62
3. Results and discussion	63
3.1 <i>Assays in xerogels</i>	63
3.2 <i>Assays in hydrogels</i>	69
4. Concluding remarks	71
References	72
CAPÍTULO 2: Sorption of phenols from single and mixed cyclodextrin polymers	75
Abstract	77
1. Introduction	79
2. Materials and methods	81
2.1 <i>Materials</i>	81
2.2 <i>Polymer synthesis</i>	81
2.3 <i>Sorption studies</i>	81
2.4 <i>Study of the surface area</i>	82
3. Results and discussion	83
3.1 <i>Sorption of nitrophenols and determination of the surface area (SA) of the polymers</i>	83
3.2 <i>Sorption isotherms of fenol, 1-naphthol and diflunisal</i>	86
4. Concluding remarks	88
References	89

CAPÍTULO 3: β-cyclodextrin hydrogels as potential drug delivery systems	91
Abstract	93
1. Introduction	95
2. Materials and methods	97
2.1 <i>Materials</i>	97
2.2 <i>Synthesis and characterization of the cyclodextrin polymers</i>	97
2.3 <i>Drug loading</i>	99
2.4 <i>Interactions between naproxen and βCDP</i>	99
2.5 <i>Drug release kinetics</i>	99
3. Results and discussion	101
3.1 <i>Synthesis and characterization of the cyclodextrin polymers</i>	101
3.2 <i>Drug loading</i>	101
3.3 <i>Interactions between naproxen and βCDP</i>	103
3.4 <i>Controlled release kinetics</i>	106
4. Concluding remarks	110
References	111
CAPÍTULO 4: Mechanism of drug release from hydrogel matrices containing single and mixed natural cyclodextrins	115
Abstract	117
1. Introduction	119
2. Materials and methods	122
2.1 <i>Materials</i>	122
2.2 <i>Synthesis and characterization of the polymers</i>	122
2.3 <i>Drug loading</i>	124
2.4 <i>Controlled release kinetics</i>	124
2.5 <i>Mathematical modelling</i>	125

3. Results and discussion	127
<i>3.1 Characterization and swelling kinetics of the cyclodextrin polymers</i>	127
<i>3.2 Drug loading</i>	129
<i>3.3 Controlled release kinetics</i>	130
4. Concluding remarks	135
References	136
IV. DISCUSIÓN GENERAL	141
V. CONCLUSIONES	159
VI. ANEXOS	163

I. INTRODUCCIÓN

1. CICLODEXTRINAS

1.1 INTRODUCCIÓN

Los antecedentes históricos se remontan a 1891, cuando Villiers (**Villiers**, 1891) obtuvo, de la fermentación bacteriana del almidón, una sustancia cristalina desconocida, a la que denominó “celulosina”. Años después, en 1903, Schardinger (**Schardinger**, 1903) aisló dos compuestos cristalinos a partir de la digestión bacteriana del almidón, que parecían ser idénticos a las “celulosinas” de Villiers. Schardinger identificó el género bacteriano responsable de la producción de estos compuestos (*Bacillus macerans*), así como la enzima implicada, la ciclodextrina-glucosiltransferasa, y denominó a estas moléculas “dextrinas”, que después fueron también conocidas como “dextrinas de Schardinger” (**Szejtli**, 2004).

La estructura química de las ciclodextrinas (CDs) no se conoció hasta finales de los años 30 (**Freudenberg & Meyer-Delius**, 1938). Freudenberg y sus colaboradores, basándose en trabajos previos, describieron estas moléculas como macrociclos constituidos por residuos de glucosa unidos por enlaces glicosídicos $\alpha(1\rightarrow4)$. Este descubrimiento dio lugar a un notable aumento en las investigaciones sobre estas moléculas, que se vieron reflejadas en la primera patente sobre usos y aplicaciones de las ciclodextrinas (**Freudenberg et al.**, 1953), y en los trabajos de producción enzimática y caracterización fisicoquímica de las ciclodextrinas como componentes puros (**Cramer**, 1954; **French**, 1957).

A pesar de estos estudios, los altos costes de producción y la posible toxicidad de las ciclodextrinas (posteriormente atribuida a restos de disolventes orgánicos), ralentizaron el uso e investigación sobre estas moléculas durante dos décadas. Ha sido a partir de los años 70 y hasta la actualidad cuando el conocimiento de la baja toxicidad de las ciclodextrinas, junto con el abaratamiento de los procesos de producción, han permitido el crecimiento exponencial en el número de publicaciones científicas sobre ciclodextrinas (**Loftsson & Duchêne**, 2007).

1.2 ESTRUCTURA Y PROPIEDADES

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos formados por seis (α CD), siete (β CD) u ocho (γ CD) unidades de D(+)-glucopiranosas unidas por enlaces glicosídicos $\alpha(1\rightarrow4)$ (**Duchêne**, 2011), que se obtienen por degradación enzimática del almidón (**Bender & Komiyama**, 1978; **Duchêne**, 1987). La enzima responsable de esta degradación (ciclodextrina-glucosiltransferasa) se puede obtener de las bacterias *Bacillus macerans* y

Bacillus circulans (Szejtli, 2004). La Figura 1 muestra la estructura química de las principales ciclodextrinas y en la Tabla 1 están recogidas sus propiedades fisicoquímicas más relevantes.

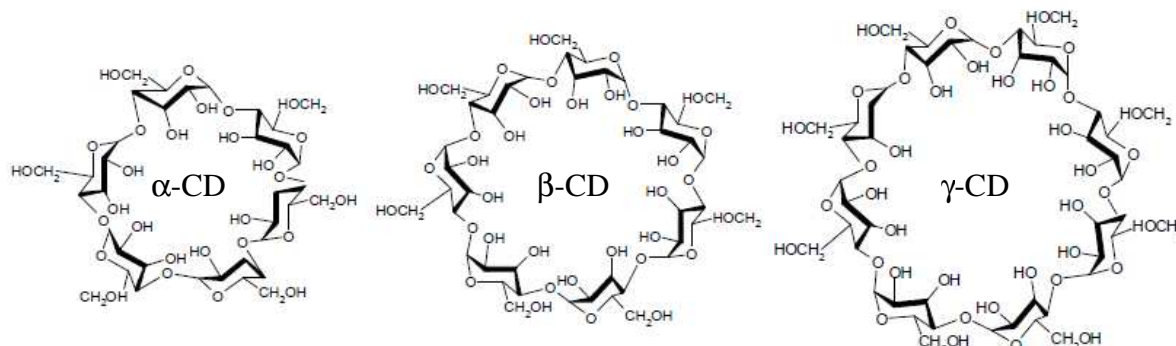


Figura 1 – Estructura química de α , β y γ CDs.

Tabla 1 – Propiedades fisicoquímicas y dimensiones moleculares de α , β y γ CDs (Gelb et al., 1980, 1982; Szejtli, 1988).

	α CD	β CD	γ CD
Nº unidades glucosa	6	7	8
Masa molar (g/mol)	972	1135	1297
Solubilidad en agua a 25°C (g/L)	145	18,5	232
Diámetro de la cavidad (Å)	5,0±0,3	6,3±0,3	7,9±0,4
Diámetro exterior (Å)	14,6±0,4	15,4±0,4	17,5±0,4
Altura (Å)	7,9±0,1	7,9±0,1	7,9±0,1
Volumen molecular de la cavidad (Å ³)	100	160	250
pK _a (H ₂ O, 25°C)	12,33	12,20	12,08

La solubilidad acuosa de las ciclodextrinas es mucho menor que la de los sacáridos no cíclicos similares. Esto es consecuencia de la fuerte unión de las moléculas de CD dentro de la red cristalina. Además, en la β CD, al tener un número impar de unidades de glucopiranosas, se forman seis enlaces de hidrógeno intramoleculares entre los grupos hidroxilo secundarios, evitando la formación de enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua circundantes, lo

cual deriva en una menor solubilidad en agua que α y γ CD (*Tabla 1*) (**Loftsson & Brewster**, 1996). Las CDs presentan una elevada estabilidad en medio alcalino, pero se hidrolizan en medio ácido fuerte, transformándose en oligosacáridos lineales (**Li & Purdy**, 1992).

Debido a la conformación en “silla” que presentan las moléculas de glucopiranososa que componen las ciclodextrinas, éstas tienen una estructura de cono truncado y hueco. La cavidad central está compuesta por las unidades de glucosa y los oxígenos de los enlaces glicosídicos, por lo que presenta carácter hidrófobo, mientras que la parte externa es hidrófila debido a la presencia de grupos hidroxilo (*Figura 2*). Debido al carácter hidrófobo de la cavidad, las ciclodextrinas pueden formar complejos de inclusión estables con moléculas (o grupos concretos de moléculas) apolares de tamaño adecuado (**Dodziuk**, 2006; **Szejtli**, 1998). Además, al presentar los bordes externos de las ciclodextrinas un carácter hidrófilo, los complejos de inclusión a menudo son solubles en agua. Esta propiedad hace que estas moléculas sean útiles para numerosas aplicaciones.

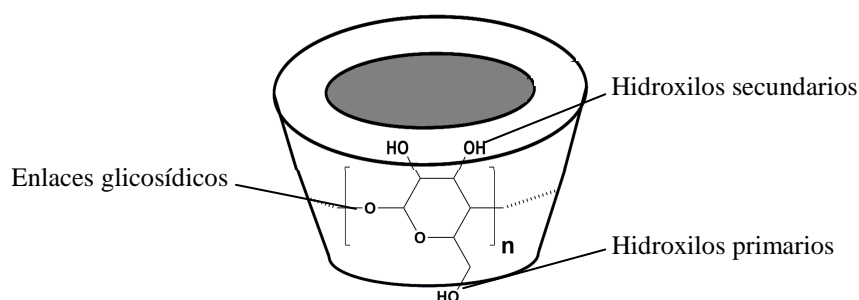


Figura 2 – Estructura esquemática de la geometría de una ciclodextrina.

También pueden obtenerse otras CDs de mayor tamaño, como son δ , ϵ , ζ , η y θ CD, formadas por 9, 10, 11, 12 y 13 residuos de glucopiranososa respectivamente (**Duchêne**, 2011; **French et al.**, 1965; **Larsen et al.**, 1998). Estas últimas se obtienen en menor proporción y sus propiedades complejantes no son significativas, al presentar una estructura cilíndrica distorsionada, con una cavidad interna menor que otras ciclodextrinas más pequeñas (debido a su tamaño, tienden a adoptar una conformación helicoidal). Existen, además de las naturales ya mencionadas, otras ciclodextrinas derivadas, también llamadas modificadas. Estas CDs, resultantes de la sustitución de grupos hidroxilo por otros grupos funcionales, presentan un notable incremento en su solubilidad, comparadas con las ciclodextrinas naturales (**Loftsson & Brewster**, 1996). Existen tres grupos importantes de CDs modificadas: metiladas, hidroxipropiladas (ambas neutras) o sulfobutiladas (cargadas negativamente).

Las ciclodextrinas modificadas también tienen la capacidad de incluir moléculas en su cavidad hidrófoba, pero con una afinidad diferente a la ciclodextrina natural de la que derivan. Además, debido a su mayor solubilidad, estas ciclodextrinas también pueden presentar un menor riesgo de toxicidad.

1.3 SEGURIDAD DE LAS CICLODEXTRINAS

En la actualidad, varios estudios de toxicidad han demostrado que las ciclodextrinas son prácticamente inocuas, y los posibles problemas que pueden ocasionar se conocen y su uso está regulado. Por ello, sólo en el campo farmacéutico, existen alrededor de treinta formulaciones que contienen ciclodextrinas y se comercializan en la actualidad (se muestran algunos ejemplos en la *Tabla 2*). El tipo de CD que contienen está relacionado con la vía de administración.

Por vía oral, las ciclodextrinas se consideran totalmente seguras, siempre por debajo de unos valores máximos de administración dependientes de la normativa de cada país o región (según **Arima** y col. (2011), Japón presenta una normativa menos restrictiva y un uso más normalizado de CDs en productos farmacéuticos o como aditivos alimentarios). Esto se debe a que las CDs apenas sufren hidrólisis y posterior absorción en el tracto gastrointestinal (**Duchêne & Wouessidjewe**, 1990; **Irie & Uekama**, 1997).

En lo que respecta a la administración por vía intravenosa, se ha observado que las ciclodextrinas pueden inducir cambios morfológicos en los eritrocitos, seguidos de hemólisis (**Macarak** et al., 1991). Esto se debe a la interacción de las CDs con componentes de las membranas celulares, como el colesterol, proteínas o fosfolípidos (**Szejtli** et al., 1986). La β CD presenta una mayor afinidad por los dos primeros, mientras que para los fosfolípidos, la interacción es mayor con α CD (**Arima** et al., 2011). En general, β CD es la ciclodextrina más problemática en esta vía de administración, seguida de α y por último γ CD, menos peligrosa debido principalmente a su alta solubilidad (**Moyano-Méndez** et al., 1994; **Ohtani** et al., 1989).

Las ciclodextrinas modificadas, por su mayor solubilidad, son más apropiadas y por tanto más empleadas en principios activos cuya vía de administración es parenteral o intravenosa, como se observa en la *Tabla 2*.

Tabla 2 – Productos farmacéuticos comercializados que contienen ciclodextrinas (Arima et al., 2011).

Ciclodextrina	Fármaco	Nombre comercial	Formulación	Compañía
α CD	Alprostadiil	Prostavastín	Inyectable	Ono (Japón) Schwarz (Europa)
	Limaprost	Opalmon	Comprimido	Ono (Japón)
β CD	Benexate HCl	Ulgut, Lonmiel	Cápsula	Teikoku (Japón) Shionogi (Japón)
	Cetirizina	Cetirizine	Comprimido masticable	Losan Pharma (Alemania)
	Iodina	Mena-Gargle	Solución	Kyushin (Japón)
	Omeprazol	Omebeta	Comprimido	Betafarm (EEUU)
γ CD	Minoxidil	Alopexy	Solución	Pierre Fabre (Francia)
	Morfina	Moraxen	Supositorio	Schwarz (Reino Unido)
<i>Hidroxipropil-βCD</i>	Indometacina	Indocid	Colirio	Chauvin (Europa)
	Mitomicina	MitoExtra, Mitozytrex	Inyectable	Novartis (Europa) SuperGen (EEUU)
<i>Hidroxipropil-γCD</i>	Diclofenac sódico	Voltaren ophta	Colirio	Novartis (Europa)
	Tc-99m Teoboroxima	CardioTec	Inyectable	Bracco (EEUU)
<i>Sulfobutil éter-βCD</i>	Maropitant	Cerenia	Inyectable	Pfizer Animal Health (EEUU)
	Voriconazol	Vfend	Inyectable	Pfizer (EEUU, Europa, Japón)
<i>Metil-βCD</i>	Cloranfenicol	Clorocil	Colirio	Oftalder (Europa)
	17 β -Estradiol	Aerodiol	Spray nasal	Servier (Europa)

1.4 COMPLEJOS DE INCLUSIÓN

Como se ha comentado anteriormente, a pesar de su alta solubilidad en agua, la cavidad interna de las ciclodextrinas es relativamente apolar, por lo que estos compuestos son capaces de formar complejos de inclusión con moléculas o regiones moleculares hidrófobas. Esta es la propiedad más importante de las ciclodextrinas, y en la que se basan todas sus aplicaciones. Como resultado de estas interacciones se obtienen estructuras del tipo “anfitrión (CD) – huésped (sustrato)”, en las que la molécula huésped queda encapsulada por la CD.

Los complejos de inclusión pueden presentar diversas estequiometrías, en función del tamaño de la ciclodextrina y de la estructura de la molécula huésped a incluir. La interacción CD – sustrato no implica la formación de ningún enlace covalente, por lo que la estabilidad del complejo dependerá de la fortaleza de las uniones no covalentes que se establecen entre la CD y el sustrato incluido (**Szejtli**, 1998). La afinidad de esta interacción puede definirse mediante las constantes de estabilidad de los complejos de inclusión que, en disolución, se pueden determinar mediante diferentes técnicas, como la espectroscopía de fluorescencia, los estudios de solubilidad o la potenciometría (**Rekharsky & Inoue**, 1998; **Singh et al.**, 2010).

La formación de complejos va a depender principalmente de factores estéricos y termodinámicos. Los factores estéricos implican la adecuación del tamaño de la molécula o parte de la molécula a incluir, al tamaño de la cavidad de la CD correspondiente. Los factores termodinámicos implican la existencia de un balance favorable de energía en el proceso de formación del complejo. Las CDs en disolución acuosa tienen su cavidad ocupada por moléculas de agua, pero cuando se incorporan al medio moléculas huésped de carácter hidrófobo, el agua es desplazada de la cavidad. Este proceso de sustitución aporta una contribución entrópica favorable a la inclusión (**González-Gaitano et al.**, 2000, 2002).

Los complejos de inclusión permiten mejorar propiedades de la molécula huésped como la solubilidad o la estabilidad ante procesos degradativos entre otros, sin necesidad de modificar químicamente esta molécula.

1.5 POLÍMEROS DE CICLODEXTRINA

Las ciclodextrinas presentan ciertas limitaciones para su utilización. El hecho de ser moléculas pequeñas y bastante solubles puede presentar un problema para su uso en algunas de sus aplicaciones potenciales (como puede ser la eliminación de residuos de aguas contaminadas). Por ello, la eficacia y aplicabilidad de las ciclodextrinas puede incrementarse

si se incorporan dentro de una estructura polimérica (p.e. una red tridimensional insoluble), en la que sigan siendo accesibles para la complejación (**Cesteros** et al., 2006, 2007; **García-Zubiri** et al., 2007; **Renard** et al., 1997; **Vélaz** et al., 2007). Además, esta complejación puede ser modulada debido a la funcionalidad adicional de la macroestructura del polímero. Es decir, además de la inclusión de la molécula huésped en la cavidad de la CD, puede darse la sorción de esta en la red de polímero (**García-Zubiri** et al., 2007; **Gazpio** et al., 2008). Esto hace interesante este tipo de polímeros para la retención y liberación controlada, tanto de fármacos como de otras sustancias (insecticidas, bactericidas o perfumes).

En general, nos referimos a polímero de ciclodextrina cuando la macromolécula contiene dos o más unidades de CD covalentemente enlazadas. La polimerización viene dada por la reacción de los grupos hidroxilo de las CDs con un agente entrecruzante. Según el procedimiento que se utilice para obtener el polímero, este puede presentar una estructura muy diferente, de la siguiente manera (**Szejtli & Osa**, 1996):

- Si las CDs se unen como sustituyentes a la cadena principal de un polímero preexistente, generalmente vinílico, se obtiene lo que se denominan “polímeros lineales” (**Chen** et al., 2000; **Crini** et al., 1999, 2002; **Szejtli** et al., 1981).
- Si se produce un entrecruzamiento de las CDs mediante policondensación, usando agentes bi o polifuncionales (**Seader & Henley**, 1998), se obtienen “polímeros entrecruzados”. Los entrecruzantes más utilizados son, entre otros, los epóxidos y los diisocianatos. De acuerdo con el grado de entrecruzamiento y con el peso molecular que presente el polímero final, éste puede ser soluble o insoluble en cualquier disolvente.
- Otra alternativa consiste en la inmovilización química o física de las CDs sobre un soporte, como puede ser un óxido inorgánico refractario, como la alúmina. Normalmente tanto las CDs como los soportes deben ser modificados previamente antes del enlace (**Phan** et al., 2002). Esta técnica da lugar a materiales con capacidad de formar complejos de inclusión. En el caso de que la inmovilización sea física, se habla de “polímeros que contienen CDs”.

Por último, también pueden obtenerse lo que se denomina “polímeros físicos”, ya que su síntesis no implica la formación de enlaces químicos entre moléculas. Un ejemplo de estas estructuras son los polirrotaxanos, donde varios anillos de CD se fijan alrededor de una cadena de polímero, como “perlas” en un collar (**Larrañeta**, 2012).

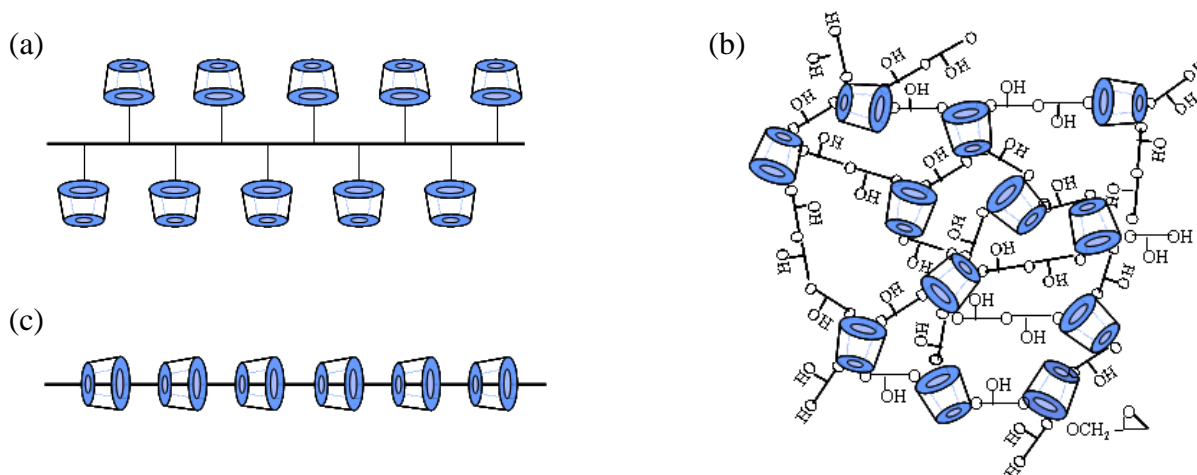


Figura 3 – Representación esquemática de los tipos de polímeros de ciclodextrina más característicos: (a) lineales; (b) entrecruzados; (c) polímero físico con estructura tipo collar.

Los polímeros más utilizados y en los que se centra esta tesis son los polímeros entrecruzados (Figura 3b). Uno de los entrecruzantes más utilizados es el agente bifuncional epiclorhidrina (EP). Esta molécula contiene un grupo epóxido y un halógeno, que pueden reaccionar con los grupos hidroxilo de las CDs, obteniéndose éteres. La EP es más reactiva que otros epóxidos similares debido al efecto inductivo del cloro. La reacción de la EP se da con los grupos hidroxilo de la ciclodextrina, según los siguientes pasos (Figura 4; Renard et al., 1997):

- Los grupos hidroxilo de la ciclodextrina pueden reaccionar con un grupo reactivo del agente bifuncional (reacción 1).
- La cadena lateral obtenida puede, además, reaccionar de dos maneras diferentes: el anillo de epóxido puede reaccionar con otro grupo hidroxilo de una segunda molécula de CD (reacción 2), resultando en un puente glicerilo que conecta dos cavidades de CD, o bien el anillo de epóxido puede ser hidrolizado (reacción 3). En este último caso, el resultado final es una molécula de CD con un resto de glicerol, que puede dar lugar a una cadena más larga.
- Por otra parte, la epiclorhidrina tiene la capacidad de reaccionar consigo misma (reacción 4) para formar homopolímeros de epiclorhidrina de diferentes tamaños, que también actúan como entrecruzantes. En consecuencia, los puentes de glicerilo y las colas de glicerol pueden tener diferentes longitudes, obteniéndose un polímero final amorfo, con cadenas de longitudes muy diferentes.

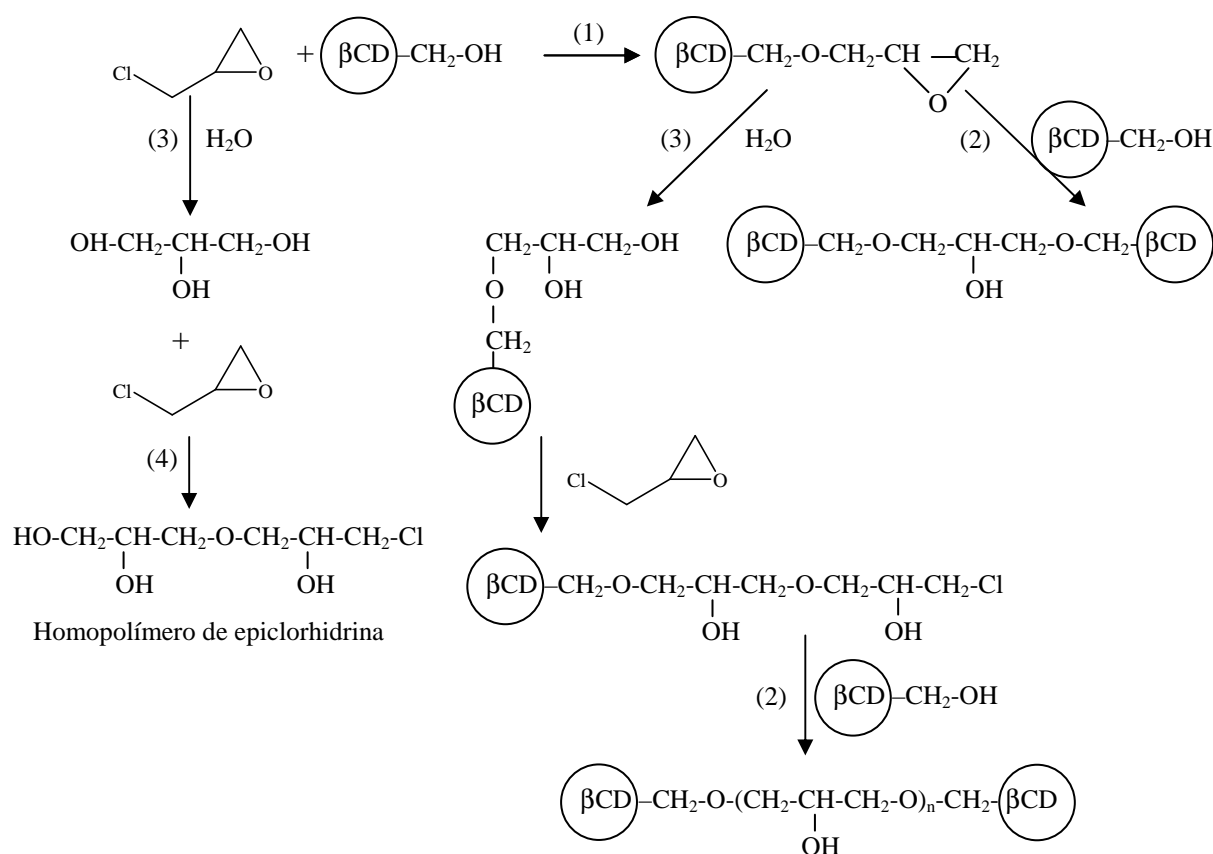
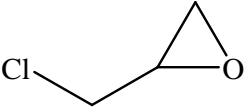
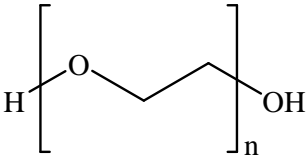
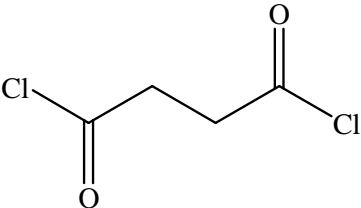
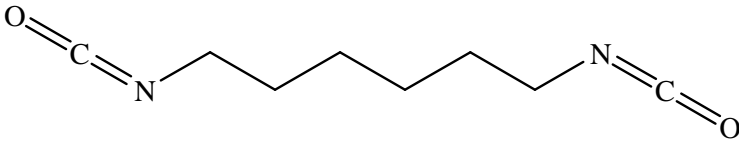
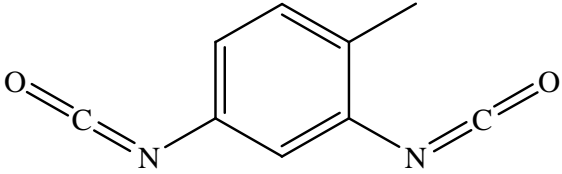
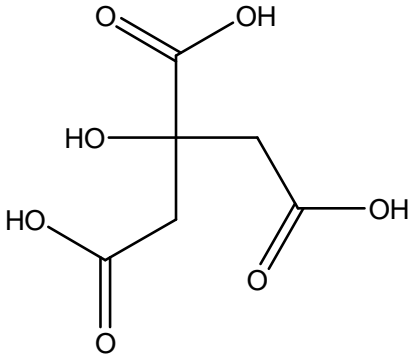


Figura 4 – Esquema de las reacciones de la policondensación de βCD con EP.

Anteriormente se ha discutido acerca de la seguridad de las ciclodextrinas y su posible uso en las industrias alimentaria y farmacéutica (*sección 1.3*). En el caso de estos polímeros, aunque la epiclorhidrina presenta un carácter tóxico, tanto sus residuos como los de la ciclodextrina se encuentran entrecruzados dentro de la red polimérica, por lo que es improbable encontrar residuos de EP libre (**Crini & Peindy**, 2006), y son potencialmente seguros para una posible administración oral. Por el contrario, el carácter insoluble de estos polímeros los hace inviables para la administración intravenosa.

Además de la epiclorhidrina, en los últimos años se han empleado otros agentes entrecruzantes para la obtención de diferentes polímeros insolubles de ciclodextrina, como son el polietilenglicol (**Cesteros et al.**, 2006, 2007) o los diisocianatos de tolueno y de hexametileno (**García-Zubiri et al.**, 2007). Los agentes entrecruzantes más utilizados se muestran en la *Tabla 3*. Por otro lado, también es posible la síntesis de polímeros solubles de ciclodextrina de alto peso molecular empleando epiclorhidrina como entrecruzante, deteniendo la reacción antes de que se produzca la gelificación (**Renard et al.**, 1997).

Tabla 3 – Algunos de los agentes entrecruzantes químicos utilizados en síntesis de polímeros de ciclodextrina.

Nombre	Masa molar (g/mol)	Estructura química
Epiclorhidrina	92,53	
Polietilenglicol	variable	
Dicloruro de ácido succínico	154,98	
1,6-diisocianato de hexametileno	168,20	
2,4-diisocianato de tolueno	174,16	
Ácido cítrico	192,13	

Por último, otros polímeros de ciclodextrina que se han estudiado ampliamente en los últimos años son las redes interpenetradas de polímeros (*IPN*, *Interpenetrating Polymer Networks*). En las *IPNs*, dos estructuras reticulares de diferente naturaleza se entrecruzan entre sí (sin formación de enlaces químicos entre ellas), generando un material cuyas propiedades pueden depender sinérgicamente de la proporción de componentes poliméricos, con una menor separación de fases que la simple mezcla física (**Valero et al.**, 2005). Existen diferentes tipos de *IPNs*: secuenciales, simultáneos (*SIN*), látex, gradiente, termoplásticos y semi-*IPNs* (**Utracki**, 2002).

Estas *IPNs* pueden ser de gran interés si se desean retener o liberar dos sustancias de diferente naturaleza (mediante la sorción selectiva de cada una de ellas en una red polimérica diferente), o para el diseño de polímeros inteligentes (polímeros que sufren cambios en sus propiedades como respuesta a ligeros cambios en su entorno, como temperatura, pH, luz, campo eléctrico o magnético...).

1.6 APLICACIONES DE LAS CICLODEXTRINAS Y SUS POLÍMEROS

Ciclodextrinas en alimentos

α , β y γ CD se encuentran dentro de las sustancias “Generally Recognized As Safe” (GRAS), de la Food and Drug Administration (FDA), y su uso como aditivo alimentario está permitido siempre por debajo de unos niveles máximos (**FDA**, 2000, 2001, 2004). Por eso, es frecuente su empleo como aditivos en bebidas, sopas instantáneas, cereales, gelatinas, chicles, etc.; se han utilizado muy especialmente en comidas envasadas y alimentos precocinados, para evitar la pérdida de aromas volátiles, y para la eliminación de colesterol en productos bajos en grasa como leche, mantequilla, etc. (**Szejtli**, 1998, 2004). Además, se están estudiando otros usos potenciales, como su empleo en la recuperación de sustancias dietéticas, como el tirosol, que se pierden durante los procesos de elaboración de alimentos (**García-Padial et al.**, 2012).

Ciclodextrinas en el campo de la química

Las ciclodextrinas se emplean en las áreas de cromatografía y catálisis (**Duchêne**, 1987; **Schneiderman & Stalcup**, 2000). En química analítica, se utilizan CDs y derivados para preparar columnas capilares en separaciones cromatográficas de enantiómeros debido a sus propiedades quirales. En cuanto a la catálisis, la inclusión de ciertas moléculas en la cavidad

de la CD puede favorecer ciertas reacciones, debido a la implicación de los grupos hidroxilo de las CDs en la reacción.

Ciclodextrinas y medio ambiente

Las ciclodextrinas y sus polímeros también tienen utilidad en el área medioambiental; en concreto, diversos polímeros de CDs se han empleado para la eliminación de pesticidas (**Liu et al.**, 2011) y compuestos aromáticos del agua (**Crini**, 2003; **Romo et al.**, 2004, 2008; **Sancey et al.**, 2011; **Sevillano et al.**, 2008, 2012; **Yu et al.**, 2003).

Ciclodextrinas en la industria farmacéutica

La aplicación más interesante de las ciclodextrinas en relación con este trabajo se da en el campo farmacéutico. Uno de los objetivos de nuestro grupo de trabajo en los últimos años ha sido el estudio de las interacciones de las ciclodextrinas (**Maddens et al.**, 2011; **Uzqueda et al.**, 2006, 2009, 2010; **Vélaz et al.**, 1997) y de los polímeros de ciclodextrina (**Fernández et al.**, 2011; **Gazpio et al.**, 2008; **Machín et al.**, 2012; **Uzqueda et al.**, 2011) con sustancias de interés farmacéutico.

Las ciclodextrinas y sus derivados se emplean como excipientes en formulaciones farmacéuticas con el fin de mejorar la solubilidad del principio activo (**Loftsson & Masson**, 2004; **Loftsson et al.**, 2003, 2005; **Mura et al.**, 2002). Además, en muchos casos, la formación del complejo de inclusión confiere mayor estabilidad a la molécula (**Duchêne & Wouessidjewe**, 1990).

En relación con el uso de las CDs en el desarrollo de sistemas de liberación controlada, en los últimos años se han realizado numerosos estudios sobre la posible incorporación de ciclodextrinas a sistemas matriciales, ya sean CDs naturales o modificadas (**Rasheed et al.**, 2008; **Panichpakdee & Supaphol**, 2011), polímeros de CD (**Machín et al.**, 2012; **Namazi & Kanani**, 2009; **Rodríguez-Tenreiro et al.**, 2007a; **Zhang et al.**, 2011; **Zugasti et al.**, 2009), redes interpenetradas (**Moya-Ortega et al.**, 2010; **Rodríguez-Tenreiro et al.**, 2007b) o polímeros físicos (**Larrañeta**, 2012; **Li & Loh**, 2008).

Además, la liberación controlada no sólo es útil en la industria farmacéutica, ya que este tipo de polímeros pueden emplearse también en la preparación de otros productos industriales, como pueden ser fragancias o pesticidas (**Peppas & Ende**, 1997; **Szejtli**, 1988, 1997).

2. LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS

2.1 INTRODUCCIÓN

Los fármacos se distribuyen en el organismo según sus propiedades fisicoquímicas, tales como la solubilidad y el coeficiente de partición, y pueden alcanzar concentraciones fuera del intervalo terapéutico, siendo inactivos o, por el contrario, dando lugar a efectos no deseados o nocivos (Sáez et al., 2003). Por ello, desde hace más de cuatro décadas, se han venido desarrollando lo que se denominan formas de dosificación para una liberación controlada, que tratan de mantener estable una concentración terapéutica del fármaco en el organismo.

Estos sistemas han ido adquiriendo cada vez más popularidad en comparación con otras formas de dosificación. Una de las primeras formas de liberación controlada de administración oral que se desarrolló fue la cápsula Spansule, que se introdujo en la década de los 50 (Blythe, 1958). Este tipo de formulación consiste en partículas granulares o “micropastillas” que contienen el principio activo, y que además están vehiculizadas en cápsulas de estearato de glicerilo y cera, consiguiendo un mejor control de la liberación y una biodisponibilidad máxima. En la misma década, Chaudhry y Saunders (1956) plantearon el uso de resinas de intercambio iónico para el diseño de formas farmacéuticas de liberación controlada para la administración oral. Desde entonces, se han desarrollado numerosas formas de administración que proporcionan una liberación controlada para diversas vías de administración.

Estos sistemas de liberación controlada ofrecen numerosas ventajas frente a las formas de dosificación convencionales. Las formas convencionales, que aún predominan en la formulación farmacéutica, no son capaces de regular la cantidad liberada de fármaco y presentan una liberación inmediata o rápida, por lo que se requiere una administración frecuente para mantener el nivel terapéutico. Como resultado, la concentración de fármaco en sangre y tejidos fluctúa bastante (Figura 5), lo cual puede provocar, por un lado, concentraciones puntualmente elevadas que produzcan efectos tóxicos, y, por el otro, una rápida caída por debajo del nivel mínimo terapéutico con el paso del tiempo. En las formas convencionales, la duración de la eficacia terapéutica queda condicionada por la frecuencia de administración, la vida media del fármaco y por la tasa de liberación de este desde la forma de dosificación.

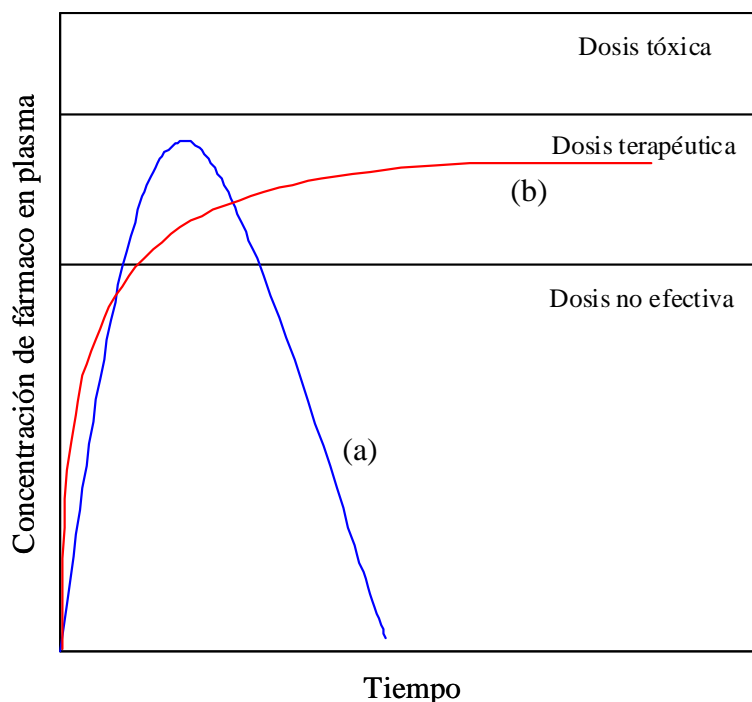


Figura 5 – Concentración hipotética en plasma tras la liberación desde: una forma farmacéutica convencional (a); una forma farmacéutica para liberación controlada (b).

Por su parte, los sistemas de liberación controlada no sólo son capaces de reducir estas fluctuaciones y mantener la dosis de principio activo dentro de niveles terapéuticos, sino que también es posible reducir la frecuencia de administración. Esto se traduce a menudo en una mayor eficacia farmacológica, un menor gasto de principio activo, y una reducción de la toxicidad y otros posibles efectos secundarios derivados de las altas concentraciones puntuales provocadas por el consumo repetido del fármaco. Además, principios activos con tiempos de vida media cortos, pueden protegerse de la degradación al ser administrados desde este tipo de sistemas (**Katime** et al., 2004).

Por otro lado, estos sistemas presentan también algunas desventajas y limitaciones, como pueden ser el retraso en el inicio de la liberación, una menor precisión en el ajuste de la dosis, una liberación no completa de la cantidad contenida en el sistema, una dependencia de la vía de administración, y un mayor coste de producción y de aprobación para su uso, hasta tener una completa certeza sobre la seguridad del sistema diseñado (**Kim**, 2000). Estos problemas pueden mejorar con el desarrollo de nuevos sistemas que se adapten al tipo de fármaco y a la vía de administración.

Los sistemas de liberación controlada pueden clasificarse de acuerdo a su mecanismo de liberación y a su preparación de la siguiente manera (**Bajpai** et al., 2008; **Kim**, 2000; **Siepmann & Siepmann**, 2008):

A. Sistemas físicos:

- Sistemas controlados por difusión:

* Sistemas monolíticos (matrices)

Fármaco disuelto

Fármaco disperso

Sistema poroso

Hidrogeles

* Sistemas de membrana (reservorios)

Actividad constante

Actividad no constante

- Resinas de intercambio iónico

- Sistemas controlados osmóticamente

- Otros sistemas físicos

B. Sistemas químicos:

- Sistemas bioerosionables o biodegradables

- Sistemas con cadenas pendientes

C. Sistemas biológicos:

- Terapia génica

2.2 SISTEMAS MONOLÍTICOS O MATRICES

Un sistema matricial o matriz se define como un soporte que regula la liberación de un fármaco de acuerdo a la superficie de contacto con el medio. Las matrices pueden presentar diversas formas y tamaños, pero siempre con una geometría controlada.

La liberación controlada depende de los materiales que componen la matriz, normalmente polímeros naturales, sintéticos o semi-sintéticos (**Melia**, 1991). Algunos ejemplos de polímeros empleados en el desarrollo de sistemas de liberación controlada se muestran en la *Tabla 4* (**Kim**, 2000; **Langer**, 1989).

Tabla 4 – Principales polímeros empleados en sistemas de liberación controlada.

Tipo de polímero	Polímero	Función	
<i>Naturales</i>	Gelatina	Aglutinante, coacervación	
	Ácido algínico	Encapsulación	
	Goma xantano, goma arábiga	Matriz, aglutinante	
	Quitosano	Matriz, membrana	
<i>Semi-sintéticos</i>	Metilcelulosa	Aglutinante, recubrimiento	
	Etilcelulosa	Matriz, recubrimiento	
	Hidroxietilcelulosa	Aglutinante, recubrimiento	
	Hidroxipropilcelulosa	Aglutinante, recubrimiento	
	Hidroxietilmetilcelulosa	Aglutinante, recubrimiento	
	Hidroxipropilmetilcelulosa	Matriz, recubrimiento	
	Carboximetilcelulosa sódica	Aglutinante, desintegrante	
	Acetato de celulosa	Membrana	
	Acetato butirato de celulosa	Membrana	
	Acetato propionato de celulosa	Membrana	
	Acetatoftalato de celulosa	Recubrimiento entérico	
	Ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa	Recubrimiento entérico	
	<i>Sintéticos</i>	Resinas de intercambio iónico (ácido metacrílico, poliestireno sulfonado...)	Matriz
		Ácido poliacrílico	Matriz, bioadhesivo
Poli(metilmetacrilato/metacrilamida)		Recubrimiento entérico	
Poli(metilmetacrilato/dietilaminooctilmetacrilato)		Matriz, membrana	
Poli(metilmetacrilato/etilacrilato)		Membrana	
Poliftalato de vinilacetato		Recubrimiento entérico	
Polivinilalcohol		Matriz	
Polivinilpirrolidona		Aglutinante	
Ácido poliláctico		Biodegradable	
Ácido poliglicólico		Biodegradable	
Ácido poliláctico/glicólico		Biodegradable	
Polióxido de etileno		Matriz, aglutinante	
Polidimetilsilicona		Matriz, membrana	
Polihidroxietil metacrilato		Matriz, membrana	
Poliétilen-vinil acetato		Matriz, membrana	
Poliétilen-vinil alcohol		Matriz, membrana	
Polibutadieno		Adhesivo, matriz	
Polianhídrido	Bioerosionable		
Poliortoéster	Biodegradable		
Ácido poliglutámico	Biodegradable		

En función de las propiedades y proporción de los polímeros utilizados en el diseño de la matriz, es posible controlar el mecanismo predominante en la liberación (**Khan & Zhu, 1999; Zugasti et al., 2009**). En menor medida, la velocidad de liberación depende también de factores del medio de disolución, como son el pH y la temperatura, y por ello dependerá de los fluidos del organismo (**Katime et al., 2004; Sáez et al., 2003**).

Los sistemas monolíticos son los sistemas más simples y menos costosos para controlar la administración de fármacos. Los procesos de fabricación de estos sistemas no presentan, por lo general, mucha mayor complejidad que los de las formas de dosificación convencionales, y son altamente reproducibles. Además, las matrices dan una liberación inicial mayor que otros sistemas de liberación controlada (como los sistemas de membrana), a la vez que pueden mantener una velocidad de liberación casi constante. La *Figura 6* muestra de manera esquemática los principales sistemas físicos de liberación controlados por difusión (extraído de **Siepmann & Siepmann, 2008**).

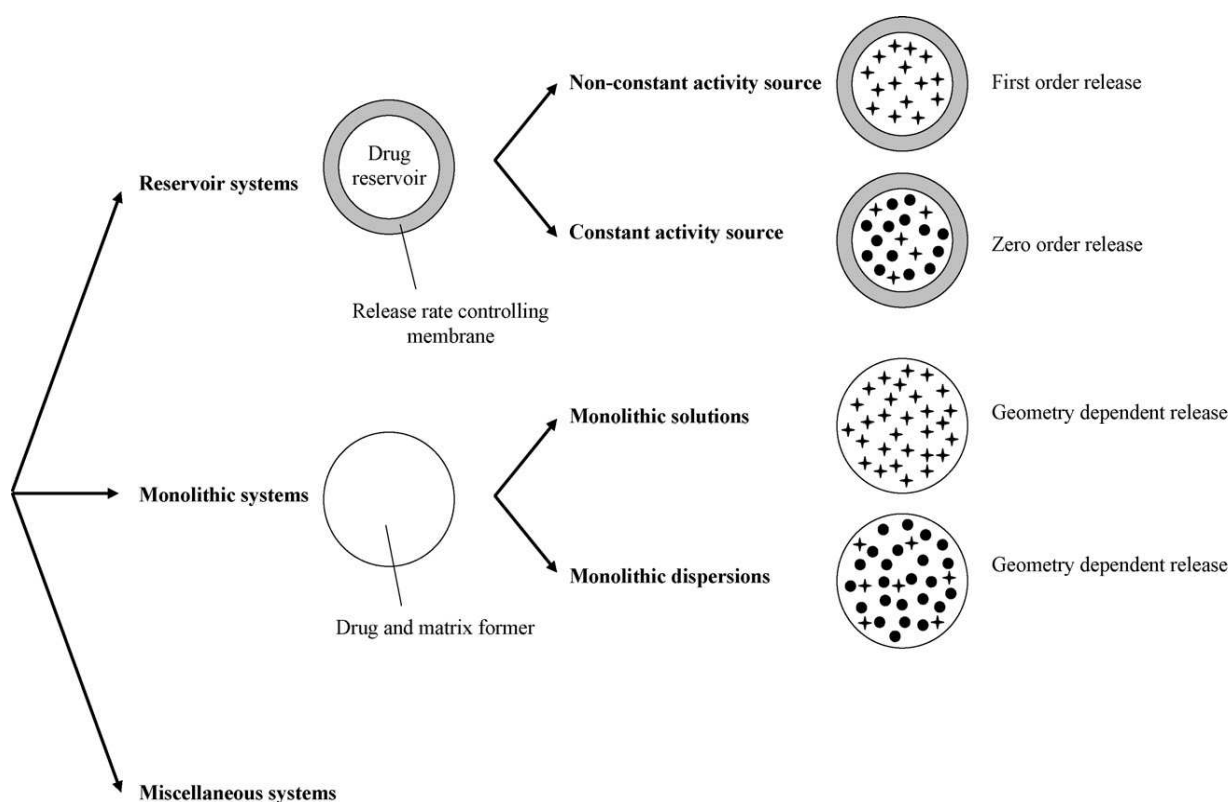


Figura 6 – Clasificación de los principales sistemas de liberación controlados por difusión (las cruces representan al fármaco disuelto y los círculos, partículas sólidas de fármaco).

En este tipo de sistemas, el fármaco se disuelve o dispersa uniformemente. Un dispositivo monolítico de disolución contiene la solución de principio activo dentro del polímero, mientras que un sistema de dispersión contiene fármaco sólido disperso en la matriz (**Bajpai et al.**, 2008). Un tipo particular de estos sistemas lo forman los hidrogeles: polímeros capaces de hincharse y aumentar su volumen mediante la absorción de agua.

2.3 MODELOS MATEMÁTICOS

Los modelos matemáticos desarrollados hasta el momento desempeñan un papel muy importante en la liberación controlada de fármacos, ya que permiten determinar los principales parámetros y los mecanismos que sigue la liberación de la molécula desde la matriz. Esta información es útil para caracterizar y comparar diferentes perfiles de liberación, y puede facilitar el diseño de nuevas matrices poliméricas como vehículos para inmovilizar, encapsular y liberar progresivamente un fármaco. Existen varios modelos para representar los perfiles de liberación, que relacionan la cantidad de fármaco liberado en función del tiempo transcurrido.

En base a la información obtenida al ajustar un perfil de liberación a un modelo matemático, es posible dilucidar cuál es el mecanismo (o combinación de mecanismos) predominante en la cinética de liberación de un fármaco, y establecer correlaciones con la estructura del polímero empleado. En este trabajo se han empleado los siguientes modelos de análisis dependiente e independiente.

2.3.1 Modelos de análisis dependiente

Modelo de Korsmeyer-Peppas

Korsmeyer y col., en 1983, desarrollaron un modelo simple, semiempírico, que relaciona exponencialmente la liberación del fármaco con el tiempo transcurrido. Este modelo, que se ajusta principalmente al 60-70% de la cantidad de fármaco liberada (**Lin & Metters**, 2006), se emplea para determinar si la cinética de liberación sigue un mecanismo de difusión que obedece a la ley de Fick, o si por el contrario sigue un mecanismo diferente:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{KP} t^n \quad (1)$$

donde t es el tiempo de liberación, M_t es la cantidad de fármaco liberada en el tiempo t , M_∞ es la cantidad total de fármaco liberada, k_{KP} es una constante cinética que depende de las

características estructurales y geométricas de la matriz polimérica, y n es el exponente difusional, un indicador del mecanismo de liberación que toma distintos valores dependiendo de la geometría de la matriz (*Tabla 5*).

Según Peppas, el valor de n se relaciona con los diferentes mecanismos de liberación, de la siguiente manera (**Peppas, 1985; Ritger & Peppas, 1987; Sinclair & Peppas, 1984**):

- Valores cercanos a 0,5 indican que la liberación sigue un comportamiento fickiano, siendo la difusión el principal mecanismo implicado. En este caso, el estudio se puede continuar aplicando el modelo de Higuchi (**Higuchi, 1963**).
- Valores de n cercanos a 1 indican que la liberación está controlada por procesos de relajación/erosión del polímero, lo que se denomina transporte “Caso II”. Estos perfiles se ajustan al modelo de cinética de orden cero, por lo que presentan una liberación constante en el tiempo (**Costa & Sousa Lobo, 2001**).
- Valores comprendidos entre los dos anteriores (variables según geometría; *Tabla 5*) son indicativos de un mecanismo más complejo, en el que influyen ambos procesos, difusión y relajación/erosión de la matriz polimérica. Es lo que se denomina un transporte “anómalo”. En este caso, interesa estudiar el perfil de liberación empleando el modelo de cinética de primer orden o mediante el modelo aditivo de Peppas-Sahlin, que indica la contribución de cada proceso al mecanismo global que sigue la liberación (**Peppas & Sahlin, 1989**).
- Valores superiores a 1,0 muestran lo que algunos autores denominan transporte tipo “Súper Caso II” (**Ritger & Peppas, 1987**).

Tabla 5 – Interpretación del mecanismo de liberación según el exponente difusional n para matrices de diferente geometría (Ritger & Peppas, 1987).

Exponente difusional (n) según geometría			Mecanismo de liberación
Lámina fina	Cilindro	Esfera	
0,5	0,45	0,43	Difusión "fickiana"
$0,5 < n < 1,0$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Transporte anómalo
1,0	0,89	0,85	Transporte tipo Caso II
$> 1,0$	$> 0,89$	$> 0,85$	Transporte tipo Súper Caso II

Se han observado en algunos casos valores de n muy inferiores a 0,5. Estos valores suelen obtenerse en perfiles con efecto *burst*, que presentan una liberación muy rápida. El efecto *burst* puede considerarse según dos puntos de vista: a menudo se ve como una consecuencia negativa, cuando se intentan obtener matrices de liberación controlada a largo plazo; sin embargo, en otras ocasiones, se busca una rápida liberación o velocidades iniciales altas. Por ello, algunos autores recomiendan eliminar el primer 5-10% de la cantidad de fármaco liberada antes de realizar el ajuste a la ecuación (1) (**Huang & Brazel**, 2001).

Modelo de Higuchi

El modelo de **Higuchi** (1963) se emplea en los estudios de liberación de fármacos desde matrices no erosionables, como los hidrogeles. Higuchi describió la liberación como un proceso de difusión simple que sigue la ley de Fick y que depende de la raíz cuadrada del tiempo. Por tanto, el modelo de Higuchi simplificado puede expresarse de la siguiente manera:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_H t^{0,5} \quad (2)$$

donde t es el tiempo de liberación, M_t es la cantidad de fármaco liberada a tiempo t , M_∞ es la cantidad total de fármaco liberada, y k_H es la constante de disolución de Higuchi.

Este modelo se utiliza con frecuencia, debido principalmente a su simplicidad. De igual manera, al ser un modelo simplista, es difícil extraer conclusiones definitivas sobre el mecanismo de liberación de un fármaco, por lo que interesa ampliar el estudio mediante la aplicación de otros modelos, como los modelos cinéticos de primer orden y de orden cero (**Siepmann & Peppas**, 2001).

Por otro lado, en base al modelo de Higuchi es posible obtener una ecuación que permita determinar el coeficiente de difusión (D) en la liberación de un fármaco desde una matriz (**Pitarresi et al.**, 2002):

$$q = 2C_0 \left(\frac{Dt}{\pi} \right)^{0,5} \quad (3)$$

donde t es el tiempo de liberación en segundos, q es la cantidad de fármaco liberado al medio por unidad de superficie de la matriz (mg/cm^2), C_0 es la cantidad inicial de fármaco en la matriz por unidad de volumen (mg/cm^3), y D es el coeficiente de difusión aparente para el

fármaco (cm^2/s). Una buena correlación lineal q vs. $t^{0.5}$ se consigue normalmente hasta el 60-70% del fármaco liberado.

Modelo de cinética de Orden Cero

Una cinética de orden cero es el modelo ideal que debe seguir la liberación de un fármaco si el objetivo es conseguir una actividad constante y prolongada, debido a que se libera durante todo el proceso la misma cantidad de fármaco por unidad de tiempo (**Costa & Sousa Lobo**, 2001). Este modelo suele adecuarse cuando el mecanismo predominante es la relajación/erosión del polímero (valor de n cercano a 1 en Korsmeyer-Peppas), y viene expresado por la siguiente ecuación:

$$M_t = M_0 + k_0 t \quad (4)$$

donde M_t es la cantidad de fármaco liberada en el tiempo t , M_0 es la cantidad inicial de fármaco en el medio (si la hubiera) y k_0 es la constante cinética de orden cero. En este trabajo, la cantidad de fármaco cargado en cada matriz ha resultado diferente en función del tipo de fármaco y polímero. Para facilitar la comparación entre los diferentes sistemas, se ha modificado la ecuación anterior refiriendo M_t al cociente de la cantidad total liberada:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k'_0 t \quad (5)$$

donde M_∞ es la cantidad total de fármaco liberado, y k'_0 es la constante cinética de orden cero ($k_0 = k'_0 M_\infty$).

Modelo de cinética de Primer Orden

Por el mismo motivo que en el modelo anterior, se empleó una versión normalizada de este modelo, que se puede expresar de la siguiente manera (**Costa & Sousa Lobo**, 2001):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = e^{-k_1 t} \quad (6)$$

donde t es el tiempo de liberación, M_t es la cantidad de fármaco liberada en el tiempo t , M_∞ es la cantidad de fármaco liberado a tiempo infinito, y k_1 es la constante cinética de primer orden. Este modelo muestra, por lo general, buena correlación con los perfiles de liberación

que presentan un mecanismo mixto o transporte anómalo, en el que influyen, en distinta proporción, tanto la difusión según Fick como la relajación/erosión de la matriz polimérica.

Modelo aditivo de Peppas-Sahlin

En base a los trabajos previos realizados por **Alfrey** en 1966 para el caso de transporte del disolvente al polímero, **Peppas y Sahlin**, en 1989, desarrollaron un modelo en el que los dos mecanismos principales que controlan la liberación pueden considerarse aditivos, y que se expresa de la siguiente manera:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_D t^m + k_R t^{2m} \quad (7)$$

donde el término $k_D t^m$ corresponde a la contribución del mecanismo de difusión fickiana (k_D es la constante difusional), y el término $k_R t^{2m}$ al mecanismo de transporte tipo Caso II (k_R es la constante de relajación/erosión). El coeficiente m es el exponente de difusión puramente fickiana para una matriz de cualquier forma geométrica que presenta liberación controlada. El valor de m se determina en función de la relación diámetro/espesor que presenta la matriz (**Peppas & Sahlin**, 1989).

Los valores de k_D y k_R permiten determinar el porcentaje de contribución de cada uno de los mecanismos implicados en la liberación (F_D para difusión fickiana y R para relajación/erosión del polímero), de acuerdo a las ecuaciones (8) y (9) (**Peppas & Sahlin**, 1989; **Sujja-areevath** et al., 1998):

$$F_D = \frac{1}{1 + \frac{k_R}{k_D} t^m} \quad (8)$$

$$\frac{R}{F_D} = \frac{k_R}{k_D} t^m \quad (9)$$

2.3.2 Modelos de análisis independiente

Comparación de dos perfiles de liberación: factores de diferencia (f_1) y similitud (f_2)

Independientemente del modelo matemático seleccionado para el estudio de cada perfil de liberación, los perfiles realizados bajo condiciones idénticas (temperatura, medio de liberación, forma y resistencia de la matriz, tiempo de toma de muestra,...) pueden

compararse dos a dos empleando un factor de diferencia (f_1) y un factor de similitud (f_2) (FDA, 1997; Moore & Flanner, 1996).

El llamado factor de diferencia (f_1) calcula la diferencia en porcentaje entre dos curvas, teniendo en cuenta todos los puntos, y se expresa de la siguiente manera:

$$f_1 = \frac{\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|}{\sum_{t=1}^n R_t} \times 100 \quad (10)$$

El factor de similitud (f_2) es una transformación logarítmica de la inversa de la raíz cuadrada de la suma del cuadrado de la diferencia entre ambas curvas, y es una medida de la cercanía de los puntos de ambos perfiles, expresada como:

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\} \quad (11)$$

En ambos factores: n es el número de muestras tomadas, R_t y T_t indican el porcentaje de fármaco liberado al tiempo t (tiempo de cada toma de muestra) para el perfil de referencia y para el del ensayo, respectivamente. En una comparación entre dos perfiles, hay que seleccionar uno de ellos como referencia. También es posible tomar como referencia en f_1 la suma de los valores medios entre los perfiles (Costa & Sousa Lobo, 2001).

Finalmente, las dos curvas se consideran tanto o más similares cuanto más próximo sea el valor de f_1 a 0, y el valor f_2 a 100. Por lo general, los valores de f_1 de hasta 15 % (0-15) y los valores de f_2 mayores de 50 (50-100) aseguran la igualdad o equivalencia de las dos curvas (FDA, 1997; Costa & Sousa Lobo, 2001), considerándose idénticas si f_1 es igual a 0 y f_2 es igual a 100.

Área bajo la curva (AUC) y eficiencia de disolución (DE)

También es posible comparar dos perfiles mediante el cálculo del área bajo la curva (AUC) hasta un tiempo t , o mediante la eficiencia de disolución (DE). La DE se define como el área bajo la curva de liberación hasta un tiempo t , expresado como porcentaje de área del rectángulo descrito por el 100% del perfil en el mismo tiempo (Khan, 1975).

3. HIDROGELES

3.1 DEFINICIÓN

Un hidrogel es una red tridimensional de cadenas flexibles, constituida por elementos conectados de una determinada manera e hinchada debido a la absorción de agua (**Katime** et al., 2004). Estos geles son polímeros hidrófilos, insolubles en agua, blandos, elásticos, y en presencia de agua se hinchan, aumentando considerablemente su volumen, pero manteniendo su forma hasta alcanzar un equilibrio fisicoquímico (**Pedley** et al., 1980), mientras que en estado deshidratado (xerogel) son vítreos. La capacidad de sorción de agua de un xerogel depende del número de grupos hidrófilos y del grado de entrecruzamiento del polímero (**Pal** et al., 2009).

La hidrofiliidad de estos geles se debe a la presencia de grupos como: -OH, -COOH, -CONH₂ y -SO₃H (**Greenham** et al., 1993). Esta capacidad de absorber agua les convierte en materiales de enorme interés, sobre todo en la industria farmacéutica, como sistemas de liberación controlada y/o sostenida de principios activos, dispositivos para diagnóstico, substratos para el cultivo de células, geles para electroforesis, desintoxicantes sanguíneos, membranas para hemodiálisis, sistemas terapéuticos biodegradables, lentes de contacto e implantes (**Escobar** et al., 2002).

Los hidrogeles se obtienen mediante polimerización y entrecruzamiento simultáneo de uno o varios monómeros mono o polifuncionales. Las características de estos monómeros y del agente entrecruzante, así como el grado de entrecruzamiento, determinan las propiedades mecánicas y de hinchamiento del gel y, por tanto, su aplicabilidad.

3.2 PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LOS HIDROGELES

Composición química

La naturaleza de los monómeros y del agente entrecruzante empleados condiciona las propiedades del hidrogel resultante. Por ejemplo, el empleo de monómeros hidrófilos, como las ciclodextrinas, da lugar a geles con una mayor capacidad de retención de agua (y por tanto una mayor biocompatibilidad y una mayor capacidad de sorción de otras sustancias), pero con peores propiedades mecánicas (**Katime** et al., 2004).

Grado de entrecruzamiento

En función de la relación monómero/entrecruzante que presenta el hidrogel, sus propiedades son diferentes. Una estructura reticulada o con cadenas de entrecruzante cortas (densidad de nudos de entrecruzamiento elevada) da lugar a un material poco elástico, y con una capacidad de sorción limitada. Por el contrario, cadenas de entrecruzante de mayor tamaño producen una estructura menos reticulada, y por tanto más porosa, lo que conlleva una mayor capacidad de sorción e hinchamiento, y una mayor elasticidad.

Las propiedades mecánicas de un hidrogel se pueden determinar mediante la medida de la deformación que sufre un disco de polímero (λ) al aplicarle una tensión τ (**Lin** et al., 2007; **Rodríguez & Katime**, 2003). De acuerdo a las siguientes ecuaciones, es posible obtener diferentes parámetros mecánicos:

$$\tau = E(\lambda - 1) \quad (12)$$

$$\tau = G(\lambda - 1/\lambda^2) \quad (13)$$

donde E es el módulo de elasticidad de Young y G es el módulo de compresión. A partir del valor de estos módulos, es posible determinar la densidad de entrecruzamientos efectiva (ν_e) y la masa molar media por cadena de entrecruzante (M_c):

$$\nu_e = \frac{G\phi_2^{-1/3}}{RT} \quad (14)$$

$$M_c = \frac{\rho_0}{\nu_e} \quad (15)$$

donde R es la constante de los gases ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T es la temperatura, ϕ_2 es la relación, en volumen, entre xerogel e hidrogel y ρ_0 es la densidad del xerogel.

Capacidad de hinchamiento

La capacidad de absorción de agua, determinada por el estado de equilibrio hinchado, se debe al balance entre la ósmosis, flujo de agua que entra en la red, y la oposición que presentan las cadenas poliméricas a la expansión (**Katime** et al., 2004). Por tanto, la composición química y el grado de entrecruzamiento del polímero determinarán la capacidad

de hinchamiento de este, ya que los espacios que se establezcan entre las cadenas poliméricas flexibles determinarán la cantidad de agua que el hidrogel puede albergar (**Peppas**, 2001).

La cantidad de agua que puede retener un hidrogel en su estado de equilibrio hinchado se puede expresar matemáticamente de diferentes maneras (**Katime et al.**, 2004), como el grado de hinchamiento (D):

$$D = \frac{w_t}{w_d} \quad (16)$$

o el factor de hinchamiento (F):

$$F = \frac{w_w}{w_d} \quad (17)$$

donde w_t es el peso total del polímero hinchado en agua (hidrogel), w_w es el peso de agua retenida por el polímero, y w_d es el peso del gel seco (xerogel).

En base a los estudios realizados por **Ritger y Peppas** (1987), la cinética del proceso puede ser controlada mediante un seguimiento de los valores de F a diferentes tiempos, hasta llegar al equilibrio de hinchamiento, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$F_t / F_\infty = kt^n \quad (18)$$

donde F_t es el factor de hinchamiento a tiempo t , F_∞ es el factor de hinchamiento en equilibrio, k es una constante relacionada con la estructura de la red y n es un exponente indicativo del tipo de difusión (**Hariharan & Peppas**, 1996; **Lin et al.**, 2007; **Ritger & Peppas**, 1987; **Saraydin & Çaldiran**, 2001)

Es posible relacionar el factor de hinchamiento con la temperatura a la que se ha determinado, para obtener la variación de entalpía del proceso (ΔH), según la ecuación de Van't Hoff (**Hu & Lin**, 1994):

$$\frac{d \ln(F)}{d(1/T)} = -\frac{\Delta H}{R} \quad (19)$$

donde F es el factor de hinchamiento del polímero a temperatura T , ΔH es la entalpía de hinchamiento del polímero en agua, y R es la constante de los gases.

Capacidad de sorción de solutos

Se conoce como “sorción” cualquier proceso en el cual una sustancia se asocia con fases sólidas. Si el proceso se produce en una superficie bidimensional se denomina adsorción, mientras que si se da en una matriz tridimensional se trata de absorción (**Schwarzenbach et al.**, 2003). Para estudiar la distribución de equilibrio de un soluto entre un sólido y una disolución, hay que considerar que la concentración total de sorbato en el sólido, q (expresado como cantidad de sorbato por unidad de masa de sólido), depende de la concentración de soluto que queda en la disolución, C_{eq} . La relación entre estas dos concentraciones se conoce como isoterma de sorción, ya que se aplica únicamente a temperatura constante (**García-Zubiri**, 2006).

En la mayoría de los casos, las isothermas se representan satisfactoriamente por la ecuación empírica propuesta por Freundlich, y que se expresa de la siguiente manera:

$$q = k_F c_{eq}^{1/n} \quad (20)$$

donde k_F es la constante de Freundlich o factor de capacidad y $1/n$ es el exponente de Freundlich. Ambos se conocen como parámetros de Freundlich y representan la capacidad y la afinidad de la sorción respectivamente. La isoterma de Freundlich asume que hay un gran número de sitios de sorción, que además pueden ser de diferentes tipos, cada uno de ellos con una energía libre de sorción diferente (**García-Zubiri**, 2006). Si, por el contrario, existe un número total de sitios limitado y homogéneo, el sistema no se puede describir mediante la ecuación de Freundlich. En este caso, la isoterma de Langmuir puede ser un modelo más apropiado:

$$q = \frac{\Gamma_{max} K_L C_{eq}}{1 + K_L C_{eq}} \quad (21)$$

donde Γ_{max} representa el número total de sitios por masa de sorbente y K_L es la constante de Langmuir, que se define como la constante de equilibrio de la reacción de sorción.

Existen además otros modelos, como el modelo de modo dual, que no han sido utilizados para la caracterización de los polímeros en este trabajo (**García-Zubiri et al., 2009**).

3.3 HIDROGELES EN LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS

Los hidrogeles son materiales muy apropiados para posibles aplicaciones en medicina (**Hoffman, 2002**), ya que muestran buenas propiedades de biocompatibilidad, debido a su consistencia blanda, elástica y su contenido en agua (**Jeyanthi & Rao, 1990**). Además, su capacidad de hinchamiento les aporta la propiedad de absorber, retener y liberar algunos compuestos orgánicos en disolución (**Arredondo & Londoño, 2009; Katime et al., 2004**).

En el proceso de liberación de fármacos desde un hidrogel hacia el medio externo, estos deben atravesar la barrera que supone la superficie del gel. Cuando la capacidad de hinchamiento es elevada, la liberación del fármaco está determinada por la interacción con los intersticios de la red polimérica, por la geometría del polímero y por las características del propio fármaco (solubilidad y peso molecular) (**Fernández et al., 2011**). Por ello, las características de la red polimérica (descritas en el apartado 3.2) constituyen un factor importante en la liberación, y pueden controlarse durante la síntesis del polímero (**Matsuyama et al., 1997**).

Son particularmente interesantes los hidrogeles que contienen ciclodextrinas (**Cesteros et al., 2006, 2007; Fernández et al., 2011; Gazpio et al., 2008; García-Zubiri et al., 2007; Machín et al., 2012; Rodríguez-Tenreiro et al., 2006, 2007a; Uzqueda et al., 2011; Yang & Kim, 2010**). Debido a la capacidad de las CDs para incluir sustancias en su cavidad, estos hidrogeles presentan una mayor capacidad de sorción, y una liberación de fármaco sostenida de acuerdo con la composición del polímero y las características del disolvente.

La *Figura 7* muestra un polímero de ciclodextrina-epiclorhidrina (CD:EP) cargado con un hipotético principio activo (en rojo). Se observan inicialmente las moléculas de fármaco incluidas en las CDs y también retenidas en la estructura reticular del polímero. Al inicio de la liberación, en primer lugar difunden, en su mayor parte, las moléculas sorbidas en la red, para posteriormente ser liberadas las moléculas de fármaco que han formado complejo de inclusión con las ciclodextrinas. Esta hipótesis es coherente con los ensayos de determinación del calor isostérico de sorción para varios compuestos, realizados previamente en nuestro grupo de investigación con sustancias que forman complejos con β CD con constantes de asociación

elevadas. Estos ensayos concluyen que los sitios de alta interacción energética (las cavidades de las CDs) son los primeros en ocuparse, y por lo tanto, la liberación de las moléculas incluidas en esas cavidades será posterior a la de las retenidas en los intersticios de la red polimérica (**García-Zubiri et al., 2007; Gazpio et al., 2008**)

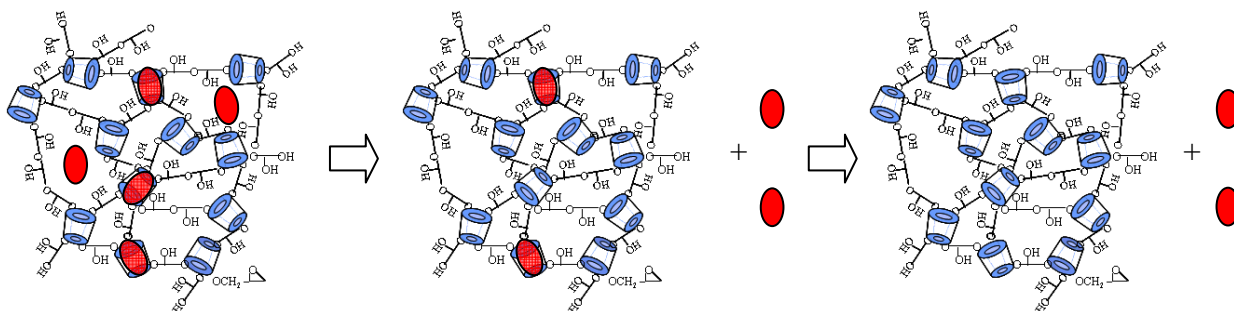


Figura 7 – Liberación de un fármaco desde una red entrecruzada de CD con EP.

El mecanismo de liberación depende por tanto de la composición del polímero. En función del tipo de CD, de la afinidad que tenga por el fármaco y de la estructura de la red polimérica, es posible diseñar hidrogeles que se ajusten a un mecanismo concreto de liberación y que presenten una velocidad de liberación determinada.

Los mecanismos cinéticos más importantes que regulan la velocidad de liberación de un fármaco son el hinchamiento, la difusión y la erosión de la matriz (**Costa & Sousa Lobo, 2001; Lin & Metters, 2006; Sandoval et al., 2008; Siepmann & Peppas, 2001; Zugasti et al., 2009**). El estudio de estos mecanismos requiere el ajuste de los datos cinéticos a determinados modelos matemáticos, teniendo en cuenta que el sistema presenta una geometría determinada que es estable durante la liberación (*Figura 8*).

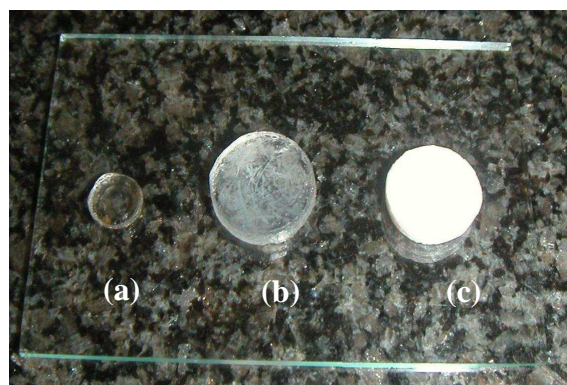


Figura 8 – Ejemplo de discos de CD:EP con una geometría controlada: (a) disco seco (xerogel); (b) disco hinchado (hidrogel); (c) disco liofilizado (xerogel poroso).

4. SUSTANCIAS MODELO

4.1 INTRODUCCIÓN

El uso como modelo de moléculas de estructura y dimensiones conocidas es importante a la hora de evaluar sistemas de liberación controlada. En este trabajo, se han empleado diferentes fármacos para estudiar las características de sorción y liberación desde los polímeros de ciclodextrina sintetizados. Estos fármacos presentan estructuras químicas similares (derivados del naftaleno), y se han elegido teniendo en cuenta trabajos anteriores del grupo de investigación sobre la formación de complejos con ciclodextrinas.

4.2 NAPROXENO

El naproxeno [ácido (+)-2-(6-metoxinaftil)-propanoico] es un derivado del ácido propanoico, de fórmula empírica $C_{14}H_{14}O_3$ y masa molar 230,3 g/mol, que pertenece al grupo de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), concretamente a los inhibidores de las ciclooxigenasas 1 y 2 (Vélaz et al., 1997). Se presenta en forma de polvo cristalino blanco e inodoro y tiene un punto de fusión de 156°C. Debido a su carácter ácido, su solubilidad es elevada a pH básico, y se considera prácticamente insoluble en medio ácido.

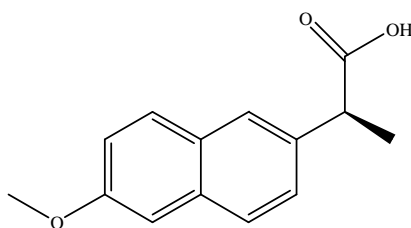


Figura 9 – Estructura química del naproxeno.

Los responsables de la actividad farmacológica del naproxeno son el grupo ácido y la parte aromática, que además están relacionados con la unión a proteínas en el lugar de acción. Por su parte, el radical metoxi es el responsable de la distribución del fármaco.

Su aplicación terapéutica está basada en su actividad antiinflamatoria y analgésica, por lo que se emplea en el tratamiento sintomático de enfermedades como la artritis reumatoide, la espondilitis anquilopoyética, la osteoartritis y la artritis gotosa. El naproxeno se puede administrar como ácido o en forma de sal sódica (absorción intestinal más rápida). En comparación con otros AINEs, presenta menor incidencia de efectos secundarios, lo cual probablemente se debe a la ausencia de nitrógeno en su estructura.

El naproxeno ha sido empleado como modelo para el desarrollo de matrices de liberación de muy diferente naturaleza y mecanismo de acción. Así, en los últimos años se han diseñado sistemas de liberación controlados por difusión, como hidrogeles inorgánicos (**Carriazo** et al., 2010), sistemas bioerosionables (**Grolleman** et al., 1986), sistemas basados en hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) (**Katzhender** et al., 2000) o matrices de ácido poliláctico (**Miyajima** et al., 1999). También se ha empleado el naproxeno en el diseño de matrices de liberación de orden cero, como sistemas basados en HPMC (**Conti** et al., 2007), y de otros sistemas potenciales para liberación de fármacos, como partículas de hidrogel de ácido hialurónico (**Ekici** et al., 2011) o sistemas basados en quitosanos (**Mura** et al., 2003).

La interacción del naproxeno con las diferentes ciclodextrinas es conocida y los valores de las constantes de estabilidad de los complejos de inclusión formados han sido determinados por diferentes técnicas [40 M^{-1} para el complejo formado con αCD , 1702 M^{-1} para βCD y 179 M^{-1} para γCD , determinadas por el método de solubilidad a 25°C (**Bettinetti** et al., 1989)]. Además, otros autores realizaron estudios con polímeros de ciclodextrina empleando NAP: **Mura** y col. (2002) caracterizaron mezclas de naproxeno con polímeros de βCD :EP, tanto solubles como insolubles, mientras que **Martín** y sus colaboradores, en 2006, observaron un aumento en la solubilidad del NAP y caracterizaron su constante de inclusión aparente con un polímero soluble de βCD .

4.3 NABUMETONA

La nabumetona [4-(6-metoxi-2-naftil) butan-2-ona] es un profármaco no ácido perteneciente a la familia de las aril-2-butanonas. Su fórmula empírica es $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_2$ y su masa molar $228,3 \text{ g/mol}$. Su metabolito activo es el ácido 6-metoxi-2-naftil-acético (6-MNA), que actúa como inhibidor de la síntesis de prostaglandinas pro-inflamatorias (**Goyenechea** et al., 2001).

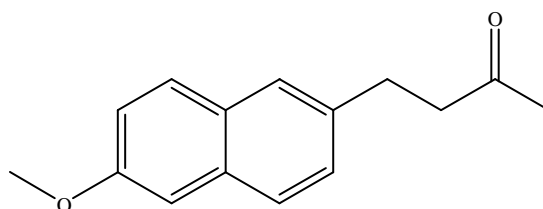


Figura 10 – Estructura química de la nabumetona.

La nabumetona se presenta en forma de polvo cristalino blanco e inodoro. El punto de fusión es 80°C y su cristalización se realiza en etanol. Por su naturaleza cetónica, sus propiedades no presentan variaciones significativas en función del pH.

Al igual que el naproxeno, su empleo es efectivo en el tratamiento de enfermedades como la artritis reumatoide y la osteoartritis. Como ventaja frente a otros principios activos presenta una menor toxicidad gastrointestinal, reflejada en la baja incidencia de úlceras producidas por su administración (**Helfgott**, 1994). Su interacción con las CDs ha sido estudiada con anterioridad (**Chen** et al., 2004; **Goyenechea** et al., 2001, 2002), lo que convierte a la nabumetona en una molécula interesante como modelo de liberación.

4.4 NAFTIFINA Y TERBINAFINA

Las alilaminas naftifina y terbinafina son dos fármacos antimicóticos, cuyo mecanismo de acción consiste en la inhibición de la epoxidación del escualeno, dentro de la vía de síntesis del ergosterol, constituyente esencial de la membrana celular de los hongos (**Balfour & Faulds**, 1992; **Ryder & Dupont**, 1985). Ambos se presentan como clorhidrato, en forma de polvo blanco. Su solubilidad en pH básico es muy reducida.

La naftifina [(E)-N-metil-N-(1-naftilmetil)-3-fenil-2-propen-1-amino clorhidrato] tiene una fórmula empírica $C_{21}H_{22}NCl$ y una masa molar de 323,5 g/mol. Su punto de ebullición es 177-179°C.

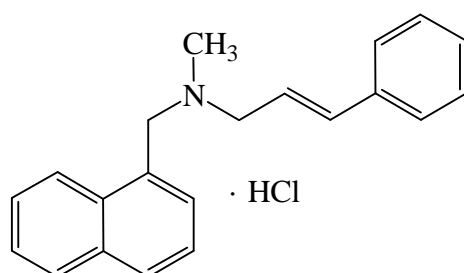


Figura 11 – Estructura química de la naftifina (clorhidrato).

La terbinafina [(E)-N-(6,6-dimetil-2-hepten-4-inil)-N-metil-1-naftaleno metanamina clorhidrato] por su parte tiene una fórmula empírica de $C_{21}H_{26}NCl$, una masa molar de 327,9 g/mol y un punto de ebullición de 203-207°C

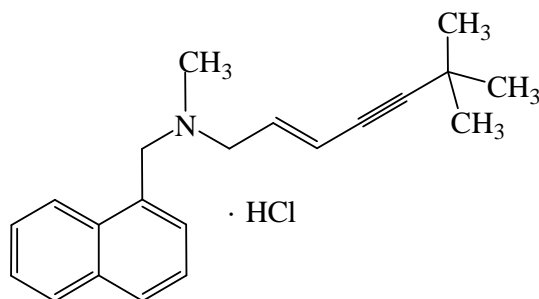


Figura 12 – Estructura química de la terbinafina (clorhidrato).

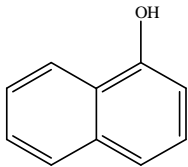
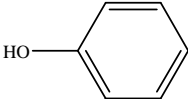
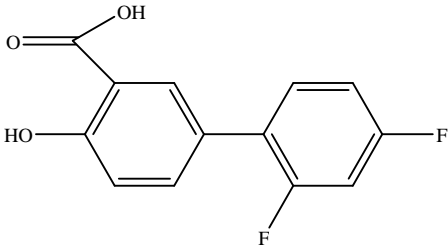
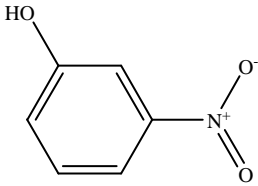
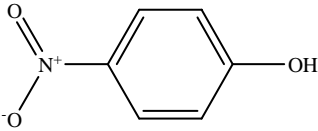
Ambas alilaminas han sido objeto de estudios recientes, y se han determinado tanto solubilidad como la estabilidad de los complejos que forman con las diferentes CDs (**Uzqueda** et al., 2006, 2009, 2010).

4.5 OTRAS SUSTANCIAS MODELO

Además de los fármacos anteriores, se han empleado otras sustancias como modelo para la caracterización de los diferentes polímeros sintetizados en este trabajo. Estas han sido fenol, 1-naftol y el fármaco antiinflamatorio diflunisal. Además, se han empleado dos derivados del fenol (3-nitrofenol y 4-nitrofenol). La estructura de estas moléculas está recogida en la *Tabla 6*.

La elección de estas sustancias se debe a diferentes motivos. Por un lado, la interacción de 1-naftol, fenol y diflunisal con las ciclodextrinas ya había sido estudiada en nuestro grupo de trabajo, así como por otros autores. Debido a su diferente tamaño, la interacción de cada una de estas sustancias con las diferentes CDs es diferente: el fenol, al ser de menor tamaño, presentará una mayor interacción con α CD (**Lewis y Hansen**, 1973), el 1-naftol con β CD (**García-Zubiri**, 2006), mientras que el diflunisal presentará una interacción similar con β y γ CD (**Sideris** et al., 1999). Por otro lado, se empleó el 4-nitrofenol, ya que permite caracterizar el material sorbente por medio de la estimación de la superficie disponible para la sorción (**Lynam** et al., 1995; **Pratt** et al., 2010), y el 3-nitrofenol, debido a su similitud estructural con el anterior.

Tabla 6 – Estructura química de las sustancias modelo empleadas en la caracterización de los polímeros.

Nombre	Masa molar (g/mol)	Estructura química
1-naftol	144,3	
fenol	94,1	
diflunisal	250,1	
3-nitrofenol	139,1	
4-nitrofenol	139,1	

5. BIBLIOGRAFÍA

- Alfrey, A.J., Gurnee, E.F. & Lloyd, W.G. (1966). Diffusion in glassy polymers. *Journal of Polymer Science. Part C: Polymer Symposia*, 12(1), 249-261.
- Arima, H., Motoyama, K. & Irie, T. (2011). *Recent findings on safety profiles of cyclodextrins, cyclodextrin conjugates, and polypseudorotaxanes*. En: Bilensoy, E. (Ed.), *Cyclodextrins in pharmaceuticals, cosmetics, and biomedicine*, Cap. 1, 3-18. Hoboken, New Jersey: Wiley.
- Arredondo, A. & Londoño, M.E. (2009). Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos. *Revista Ingeniería Biomédica*, 3(5), 83-94.
- Bajpai, A.K., Shukla, S.K., Bhanu, S. & Kankane, S. (2008). Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science*, 33, 1088-1118.
- Balfour, J.A. & Faulds, D. (1992). Terbinafine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in superficial mycoses. *Drugs*, 43(2), 259-284.
- Bender, M.L. & Komiyama, M. (1978). *Cyclodextrin Chemistry*. New York: Springer-Verlag.
- Bettinetti, G.P., Mura, P., Liguori, A., Bramanti, G. & Giordano, F. (1989). Solubilization and interaction of naproxen with cyclodextrins in aqueous solution and in the solid state. *Il Farmaco*, 44, 195-213.
- Blythe, R.H. (1958). U.S. Patent N° 2,783,303.
- Carriazo, D., Del Arco, M., Martín, C., Ramos, C. & Rives, V. (2010). Influence of the inorganic matrix nature on the sustained release of naproxen. *Microporous and Mesoporous Materials*, 130, 229-238.
- Cesteros, L.C., Ramírez, C., Peciña, A. & Katime, I. (2006). Poly(ethylene glycol-beta-cyclodextrin) gels: Synthesis and properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 102(2), 1162-1166.
- Cesteros, L.C., Ramírez, C., Peciña, A. & Katime, I. (2007). Synthesis and properties of hydrophilic networks based on poly(ethylene glycol) and beta-cyclodextrin. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 208(16), 1764-1772.
- Chaudhry, N.C. & Saunders, L. (1956). Sustained release of drugs from ion exchange resins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 8(1), 975-986.
- Chen, H.L., Wu, L.G., Tan, J. & Zhu, C.L. (2000). PVA membrane filled β -cyclodextrin for separation of isomeric xylenes by pervaporation. *Chemical Engineering Journal*, 78, 159-164.
- Chen, W., Chang, C. & Gilson, M. (2004). Calculation of cyclodextrin binding affinities: Energy, entropy, and implications for drug design. *Biophysical Journal*, 87(5), 3035-3049.
-

- Conti, S., Maggi, L., Segale, L., Ochoa Machiste, E., Conte, U., Grenier, P. & Vergnault, G. (2007). Matrices containing NaCMC and HPMC: 2. Swelling and release mechanism study. *International Journal of Pharmaceutics*, 333(1-2), 143-151.
- Costa, P. & Sousa Lobo, J.M. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(2), 123-133.
- Cramer, F. (1954). *Einschlussverbindungen (Inclusion Compounds)*. Berlín: Springer-Verlag.
- Crini, G., Janus, L., Morcellet, M., Torri, G. & Morin, N. (1999). Sorption properties toward substituted phenolic derivatives in water using macroporous polyamines containing β -cyclodextrin. *Journal of Applied Polymer Science*, 73, 2903-2910.
- Crini, G., Morin, N., Rouland, J.C., Janus, L., Morcellet, M. & Bertini, S. (2002). Adsorption de béta-naphtol sur des gels de cyclodextrine-carboxyméthylcellulose réticulés. *European Polymer Journal*, 38, 1095-1103.
- Crini, G. (2003). Studies on adsorption of dyes on beta-cyclodextrin polymer. *Bioresource Technology*, 90, 193-198.
- Crini, G. & Peindy, H.N. (2006). Adsorption of C.I. Basic Blue 9 on cyclodextrin-based material containing carboxylic groups. *Dyes and Pigments*, 70, 204-211.
- Dodziuk, H. (Ed.) (2006). *Cyclodextrins and their complexes: chemistry, analytical methods, applications*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Duchêne, D. (1987). *Cyclodextrins and their industrial uses*. París: De Santé.
- Duchêne, D. & Wouessidjewe D. (1990). Pharmaceutical uses of cyclodextrins and derivatives. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 16(17), 2487-2499.
- Duchêne, D. (2011). *Cyclodextrins and their inclusion complexes*. En: Bilensoy, E. (Ed.), *Cyclodextrins in pharmaceuticals, cosmetics, and biomedicine*, Cap. 1, 3-18. Hoboken, New Jersey: Wiley.
- Ekici, S., Ilgin, P., Butun, S. & Sahiner, N. (2011). Hyaluronic acid hydrogel particles with tunable charges as potential drug delivery devices. *Carbohydrate Polymers*, 84(4), 1306-1313.
- Escobar, J.J., García, D.M., Zaldivar, D. & Katime, I. (2002). Hidrogeles. Principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 3(3), 1-25.
- FDA (1997). Guidance for industry: Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. *U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research*.
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070237.pdf>
-

- FDA (2000). *FDA GRAS NOTICE INVENTORY (N° 000046): gamma-cyclodextrin*.
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/306909A.pdf
- FDA (2001). *FDA GRAS NOTICE INVENTORY (N° 000074): beta-cyclodextrin*.
<http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodIngredientsPackaging/GenerallyRecognizedasSafeGRAS/GRASListings/UCM261320.pdf>
- FDA (2004). *FDA GRAS NOTICE INVENTORY (N° 000155): alpha-cyclodextrin*.
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/grn0155.pdf
- Fernández, L., Machín, R., Zornoza, A., Vélaz, I., Martín, C. & Martínez-Ohárriz, M.C. (2011). Mechanism of sorption and release of a weak acid from beta-cyclodextrin polymers. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 69, 411-415.
- French, D. (1957). The Schardinger Dextrins. *Advances in Carbohydrate Chemistry*, 12, 189-280.
- French, D., Pulley, A.O., Effenberger, J.A. & Rougvie, M.A. (1965). Studies of the Schardinger dextrins. XII. Molecular size and structure of δ -, ϵ -, ζ - and η -dextrins. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 111(1), 153-160.
- Freudenberg, K. & Meyer-Delius, M. (1938). On the Schardinger dextrin made from starch. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 71, 1596-1600.
- Freudenberg, K., Cramer, F. & Plieninger, H. (1953). German Patent N° 895,769.
- García-Padial, M., Martínez-Ohárriz, M.C., Isasi, J.R., Vélaz, I. & Zornoza, A. (2012). Complexation of tyrosol with cyclodextrins. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, (in press, DOI: 10.1007/s10847-011-0095-3).
- García-Zubiri, I. (2006). Sorción de naftalenos en polímeros de β -ciclodextrina. Tesis Doctoral. *Universidad de Navarra*.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G. & Isasi, J.R. (2007). Isosteric heats of sorption of 1-naphthol and phenol from aqueous solutions by beta-cyclodextrin polymers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 307(1), 64-70.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G. & Isasi, J.R. (2009). Sorption models in cyclodextrin polymers: Langmuir, Freundlich, and a dual-mode approach. *Journal of Colloid and Interface Science*, 337, 11-18.
- Gazpio, C., Sánchez, M., Isasi, J.R., Vélaz, I., Martín, C., Martínez-Ohárriz, M.C. & Zornoza, A. (2008). Sorption of pindolol and related compounds by a beta-cyclodextrin polymer: Isosteric heat of sorption. *Carbohydrate Polymers*, 71(1), 140-146.
- Gelb, R.I., Schwartz, L.M., Bradshaw, J.J. & Laufer, D.A. (1980). Acid dissociation of cyclohexaamylose and cycloheptaamylose. *Bioorganic Chemistry*, 9, 299-304.
-

- Gelb, R.I., Schwartz, L.M. & Laufer, D.A. (1982). Acid dissociation of cyclooctaamylose. *Bioorganic Chemistry*, *11*, 274-280.
- González-Gaitano, G., Crespo, A. & Tardajos, G. (2000). Thermodynamic investigation (volume and compressibility) of the systems beta-cyclodextrin plus n-alkyltrimethyl-ammonium bromides plus water. *Journal of Physical Chemistry B*, *104*(8), 1869-1879.
- González-Gaitano, G., Guerrero, A., Núñez-Barriocanal, J.L., Montoro, T. & Tardajos, G. (2002). Spectroscopic characterization of the system beta-cyclodextrin plus propafenone hydrochloride plus water. *Journal of Physical Chemistry B*, *106*(23), 6096-6103.
- Goyenechea, N., Sánchez, M., Vélaz, I., Martín, C., Martínez-Ohárriz, M.C. & González-Gaitano, G. (2001). Inclusion complexes of nabumetone with β -cyclodextrins: thermodynamics and molecular modelling studies. Influence of sodium perchlorate. *Luminescence*, *16*(2), 117-127.
- Goyenechea, N., Sánchez, M., Vélaz, I., Martín, C., Martínez-Ohárriz, M.C. & Zornoza, A. (2002). Interactions of nabumetone with cyclodextrins in solution and in the solid state. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, *44*(1-4), 283-287.
- Greenham, N.C., Moratti, S.C., Bradley, D.D.C., Friend, R.H. & Holmes, A.B. (1993). Efficient light-emitting diodes based on polymers with high electron affinities. *Nature*, *365*(6447), 628-630.
- Grolleman, C.W.J., De Visser, A.C., Wolke, J.G.C., Van der Goot, H. & Timmerman, H. (1986). Studies on a bioerodible drug carrier system based on a polyphosphazene. *Journal of Controlled Release*, *4*, 119-131.
- Hariharan, D. & Peppas, N.A. (1996). Characterization, dynamic swelling behaviour and solute transport in cationic networks with applications to the development of swelling-controlled release systems. *Polymer*, *37*(1), 149-161.
- Helfgott, S.M. (1994). Nabumetone: A clinical appraisal. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, *23*(5), 341-346.
- Higuchi, T. (1963). Mechanism of sustained-action medication: theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *52*(12), 1145-1149.
- Hoffman, A.S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced drug delivery reviews*, *54*(1), 173-182.
- Hu, D.S.G. & Lin, M.T.S. (1994). Water-polymer interactions and critical phenomena of swelling in inhomogeneous poly(acrylonitrile-acrylamide-acrylic acid) gels. *Polymer*, *35*(20), 4416-4422.
- Huang, X. & Brazel, C.S. (2001). On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery. *Journal of Controlled Release*, *73*, 121-136.
- Irie, T. & Uekama, K. (1997). Pharmaceutical applications of cyclodextrins. III. Toxicological issues and safety evaluation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *86*(2), 147-162.
-

- Jeyanthi, R. & Rao, K.P. (1990). In vivo biocompatibility of collagenpoly(hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. *Biomaterials*, 11(4), 238-243.
- Katime, I., Katime, O. & Katime, D. (2004). *Los materiales inteligentes en este milenio. Los hidrogeles macromoleculares: Síntesis, propiedades y aplicaciones*. (1st ed.). Spain: Ed. Universidad del País Vasco.
- Katzhendler, I., Mäder, K. & Friedman, M. (2000). Structure and hydration properties of hydroxypropyl methylcellulose matrices containing naproxen and naproxen sodium. *International Journal of Pharmaceutics*, 200(2), 161-179.
- Khan, K.A. (1975). The concept of dissolution efficiency. *Journal of Pharmaceutical Controlled Release*, 27, 48-49.
- Khan, G.M. & Zhu, J.B. (1999). Studies on drug release kinetics from ibuprofen-carbomer hydrophilic matrix tablets: influence of coexcipients on release rate of the drug. *Journal of Controlled Release*, 57, 197-203.
- Kim, C. (2000). *Controlled release dosage form design*. Lancaster, Pennsylvania: Technomic Publishing Company.
- Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P. & Peppas, N.A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 15, 25-35.
- Langer, R. (1989). Biomaterials in controlled drug delivery: new perspective from biotechnological advances. *Pharmaceutical Technology*, 13(8), 22-30.
- Larrañeta, E. (2012). Geles autoensamblados de poloxaminas y poloxámeros con ciclodextrinas. Tesis Doctoral. *Universidad de Navarra*.
- Larsen, K.L., Endo, T., Ueda, H. & Zimmermann, W. (1998). Inclusion complex formation constants of α -, β -, γ -, δ -, ϵ -, ζ -, η - and θ -cyclodextrins determined with capillary zone electrophoresis. *Carbohydrate research*, 309, 153-159.
- Lewis, E.A. & Hansen, L.D. (1973). Thermodynamics of binding of guest molecules to alpha-cyclodextrins and beta-cyclodextrins. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions*, 2(15), 2081-2085.
- Li, S. & Purdy, W. (1992). Cyclodextrins and their applications in analytical chemistry. *Chemical Reviews*, 92(6), 1457-1470.
- Li, J. & Loh, X.J. (2008). Cyclodextrin-based supramolecular architectures: Syntheses, structures, and applications for drug and gene delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(9), 1000-1017.
- Lin, C. & Metters, A. (2006). Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12-13), 1379-1408.
-

- Lin, Z., Wu, W., Wang, J. & Jin, X. (2007). Studies on swelling behaviors, mechanical properties, network parameters and thermodynamic interaction of water sorption of 2-hydroxyethyl methacrylate/novolac epoxy vinyl ester resin copolymeric hydrogels. *Reactive and Functional Polymers*, 67, 789-797.
- Liu, H.H., Cai, X., Wang, Y. & Chen, J. (2011). Adsorption mechanism-based screening of cyclodextrin polymers for adsorption and separation of pesticides from water. *Water Research*, 45(11), 3499-3511.
- Loftsson, T. & Brewster, M.E. (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrins: 1. Drug solubilisation and stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85, 1017-1025.
- Loftsson, T., Matthíasson, K. & Másson, M. (2003). The effects of organic salts on cyclodextrin solubilization of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 262, 101-107.
- Loftsson, T. & Másson, M. (2004). The effects of water-soluble polymers on cyclodextrins and cyclodextrin solubilization of drugs. *S.T.P. Pharma Sciences*, 14(1), 35-43.
- Loftsson, T., Hreinsdóttir, D. & Másson, M. (2005). Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 302(1-2), 18-28.
- Loftsson, T. & Duchêne, D. (2007). Cyclodextrins and their pharmaceutical applications: historical perspectives. *International Journal of Pharmaceutics*, 329, 1-11.
- Lynam, M.M., Kilduff, J.E. & Weber, W.J. (1995). Adsorption of *p*-nitrophenol from dilute aqueous solution. An experiment in physical chemistry with an environmental application. *Journal of Chemical Education*, 72(1), 80-84.
- Macarak, E.J., Kumor, K. & Weisz, P.B. (1991). Sulfation and hemolytic-activity of cyclodextrin. *Biochemical Pharmacology*, 42(7), 1502-1503.
- Machín, R., Isasi, J.R. & Vélaz, I. (2012). β -Cyclodextrin hydrogels as potential drug delivery systems. *Carbohydrate Polymers*, 87, 2024-2030.
- Maddens, T., Vélaz, I., Machín, R., Isasi, J.R., Martín, C., Martínez-Ohárriz, M.C. & Zornoza, A. (2011). Complexation of ebastine with beta-cyclodextrin derivatives. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 70, 415-419.
- Martín, R., Sánchez, I., Cao, R. & Rieumont, J. (2006). Solubility and kinetic release studies of naproxen and ibuprofen in soluble epichlorohydrin-beta-cyclodextrin polymer. *Supramolecular Chemistry*, 18(8), 627-631.
- Matsuyama, H., Teramoto, M. & Urano, H. (1997). Analysis of solute diffusion in poly(vinyl alcohol) hydrogel membrane. *Journal of Membrane Science*, 126(1), 151-160.
- Melia, D.C. (1991). Hydrophilic matrix sustained release systems based on polysaccharide carriers. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 8, 395-421.
-

- Miyajima, M., Koshika, A., Okada, J. & Ikeda, M. (1999). Mechanism of drug release from poly(L-lactic acid) matrix containing acidic or neutral drugs. *Journal of Controlled Release*, 60, 199-209.
- Moore, J.W. & Flanner, H.H. (1996). Mathematical comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Technology*, 20, 64-74.
- Moya-Ortega, M.D., Álvarez-Lorenzo, C., Sigurdsson, H.H., Concheiro, A. & Loftsson, T. (2010). γ -Cyclodextrin hydrogels and semi-interpenetrating networks for sustained delivery of dexamethasone. *Carbohydrate Polymers*, 80(3), 900-907.
- Moyano-Méndez, J.R., Gines-Dorado, J.M., Arias-Blanco, M.J. & Rabasco-Álvarez, A.M. (1994). Utilidad de ciclodextrinas y derivados en el campo farmacéutico (I). *Industria Farmacéutica: Equipos, Procesos y Tecnología*, 4, 71-76.
- Mura, P., Faucci, M.T., Maestrelli, F., Furlanetto, S. & Pinzauti, S. (2002). Characterization of physicochemical properties of naproxen systems with amorphous β -cyclodextrin-epichlorohydrin polymers. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 29, 1015-1024.
- Mura, P., Zerrouk, N., Mennini, N., Maestrelli, F. & Chemtob, C. (2003). Development and characterization of naproxen-chitosan solid systems with improved drug dissolution properties. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(1), 67-75.
- Namaz, H. & Kanani, A. (2009). Investigation diffusion mechanism of beta-lactam conjugated telechelic polymers of PEG and beta-cyclodextrin as the new nanosized drug carrier devices. *Carbohydrate Polymers*, 76(1), 46-50.
- Ohtani, Y., Irie, T., Uekama, K., Fukunaga, K. & Pitha, J. (1989). Differential effects of α -, β - and γ -cyclodextrins on human erythrocytes. *European Journal of Biochemistry*, 186, 17-22.
- Pal, K., Banthia, A.K. & Majumdar, D.K. (2009). Polymeric hydrogels: characterization and biomedical applications – A mini review. *Designed Monomers and Polymers*, 12, 197-220.
- Panichpakdee, J. & Supaphol, P. (2011). Use of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin as adjuvant for enhancing encapsulation and release characteristics of asiaticoside within and from cellulose acetate films. *Carbohydrate Polymers*, 85(1), 251-260.
- Pedley, D.G., Skelly, P.J. & Tighe, B.J. (1980). Hydrogels in biomedical applications. *British Polymer Journal*, 12(3), 99-110.
- Peppas, N.A. (1985). Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers. *Pharmaceutica Acta Helvetica*, 60, 110-111.
- Peppas, N.A. & Sahlin, J.J. (1989). A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. *International Journal of Pharmaceutics*, 57(2), 169-172.
-

- Peppas, N.A. & Ende, D.J.A. (1997). Controlled release of perfumes from polymers. II. Incorporation and release of essential oils from glassy polymers. *Journal of Applied Polymer Science*, 66, 509-513.
- Peppas, N.A. (2001). *Gels for drug delivery*. En: Elsevier (Ed.), *Encyclopedia of materials: science and technology*, 3492-3495. Amsterdam: Elsevier.
- Phan, T.N.T., Bacquet, M. & Morcellet, M. (2002). The removal of organic pollutants from water using new silica-supported β -cyclodextrin derivatives. *Reactive and Functional Polymers*, 52, 117-125.
- Pitarresi, G., Cavallaro, G., Giammona, G., De Guidi, G., Salemi, M. & Sortino, S. (2002). New hydrogel matrices containing an anti-inflammatory agent. Evaluation of in vitro release and photoprotective activity. *Biomaterials*, 23(2), 537-550.
- Pratt, D.Y., Wilson, L.D., Kozinski, J.A. & Mohart, A.M. (2010). Preparation and sorption studies of β -cyclodextrin/epichlorohydrin copolymers. *Journal of Applied Polymer Science*, 116, 2982-2989.
- Rasheed, A., Ashok Kumar, C.K. & Sravanthi, V.V.N.S.S. (2008). Cyclodextrins as drug carrier molecule: a review. *Scientia Pharmaceutica*, 76, 567-598.
- Rekharsky, M. & Inoue, Y. (1998). Complexation thermodynamics of cyclodextrins. *Chemical Reviews*, 98, 1875-1917.
- Renard, E., Deratani, A., Volet, G. & Seville, B. (1997). Preparation and characterization of water soluble high molecular weight beta-cyclodextrin-epichlorohydrin polymers. *European Polymer Journal*, 33(1), 49-57.
- Ritger, P. & Peppas, N. (1987). A simple equation for description of solute release. II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release*, 5(1), 37-42.
- Rodríguez, E. & Katime, I. (2003). Some mechanical properties of poly[(acrylic acid)-*co*-(itaconic acid)] hydrogels. *Macromolecular Materials and Engineering*, 288(8), 607-612.
- Rodríguez-Tenreiro, C., Álvarez-Lorenzo, C., Rodríguez-Pérez, A., Concheiro, A. & Torres-Labandeira, J.J. (2006). New cyclodextrin hydrogels cross-linked with diglycidylethers with a high drug loading and controlled release ability. *Pharmaceutical Research*, 23(1), 121-130.
- Rodríguez-Tenreiro, C., Álvarez-Lorenzo, C., Rodríguez-Pérez, A., Concheiro, A. & Torres-Labandeira, J.J. (2007a). Estradiol sustained release from high affinity cyclodextrins hydrogels. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 66(1), 55-62.
- Rodríguez-Tenreiro, C., Diez-Bueno, L., Concheiro, A., Torres-Labandeira, J.J. & Álvarez-Lorenzo, C. (2007b). Cyclodextrin/carbopol micro-scale interpenetrating networks (ms-IPNs) for drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 123(1), 56-66.
-

- Romo, A., Peñas, F.J. & Isasi, J.R. (2004). Sorption of dibenzofuran derivatives from aqueous solutions by β -cyclodextrin polymers: an isosteric heat approach. *Journal of Colloid and Interface Science*, 279(1), 55-60.
- Romo, A., Peñas, F.J., Isasi, J.R., García-Zubiri, I.X. & González-Gaitano, G. (2008). Extraction of phenols from aqueous solutions by β -cyclodextrin polymers. Comparison of sorptive capacities with other sorbents. *Reactive and Functional Polymers*, 68(1), 406-413.
- Ryder, N.S. & Dupont, M.C. (1985). Inhibition of squalene epoxidase by allylamine antimycotic compounds. *Biochemical Journal*, 230(3), 765-770.
- Sáez, V., Hernández, E. & López, L. (2003). Liberación controlada de fármacos. Aplicaciones biomédicas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 4(2), 111-122.
- Sancey, B., Trunfio, G., Charles, J., Badot, P.M. & Crini, G. (2011). Sorption onto crosslinked cyclodextrin polymers for industrial pollutants removal: an interesting environmental approach. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 70(3-4), 315-320.
- Sandoval, H.P., Baena, Y., Aragón, M., Rosas, J. & Ponce D'León, L. (2008). Mecanismos generales de cesión de principios activos a partir de matrices monolíticas hidrofílicas preparadas con éteres de celulosa. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-farmacéuticas*, 37(2), 105-121.
- Saraydın, D., Çaldıran, Y. (2001). In vitro dynamic swelling behaviors of polyhydroxamic acid hydrogels in the simulated physiological body fluids. *Polymer Bulletin*, 46, 91-98.
- Schardinger, F.Z. (1903). Unters. Nahr. Genussm. *Gebrauchsgegenstaende*, 6, 865.
- Schneiderman, E. & Stalcup, A.M. (2000). Cyclodextrins: A versatile tool in separation science. *Journal of Chromatography B*, 745, 83-102.
- Schwarzenbach, R.P., Gschwend, P. & Imboden, D.M. (2003). *Environmental organic chemistry*. New Jersey: John Willey & Sons.
- Seader, J.D. & Henley, E.J. (1998). *Separations process principles*. New York: Wiley.
- Sevillano, X., Isasi, J.R. & Peñas, F.J. (2008). Feasibility study of degradation of phenol in a fluidized bed bioreactor with a cyclodextrin polymer as biofilm carrier. *Biodegradation*, 19, 589-597.
- Sevillano, X., Isasi, J.R. & Peñas, F.J. (2012). Performance of a fluidized-bed bioreactor with hydrogel biomass carrier under extremely low-nitrogen availability and effect of nitrogen amendments. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 87, 402-409.
- Sideris, E.E., Valsami, G.N., Koupparis, M.A. & Macheras, P.E. (1999). Studies on the interaction of diflunisal ion with cyclodextrins using ion-selective electrode potentiometry. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(4), 271-278.
-

- Siepmann, J. & Peppas, N.A. (2001). Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Advanced Drug Delivery Reviews*, 48, 139-157.
- Siepmann, J. & Siepmann, F. (2008). Mathematical modeling of drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 364, 328-343.
- Sinclair, G.W. & Peppas, N.A. (1984). Analysis of non-Fickian transport in polymers using simplified exponential expressions. *Journal of Membrane Science*, 17, 329-331.
- Singh, R., Bharti, N., Madan, J. & Hiremath, S.N. (2010). Characterization of cyclodextrin inclusion complexes – A review. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2(3), 171-183.
- Sujja-areevath, J., Munday, D.L., Cox, P.J. & Khan, K.A. (1998). Relationship between swelling, erosion and drug release in hydrophilic natural gum mini-matrix formulations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6, 207-217.
- Szejtli, J., Fenyvesi, E., Zoltan, S., Zsádon, B. & Tudos, F (1981). Cyclodextrin-polyvinyl alcohol polymers and a process for the preparation thereof in a pearl, foil, fiber or block form. US Patent N° 4274985.
- Szejtli, J., Cserhati, T. & Szogyi, M. (1986). Interactions between cyclodextrins and cell-membrane phospholipids. *Carbohydrate Polymers*, 6, 35-49.
- Szejtli, J. (1988). *Cyclodextrin Technology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher.
- Szejtli, J., & Osa T. (Ed.) (1996). *Cyclodextrins, comprehensive supramolecular chemistry, Vol 3*, Pergamon, Oxford, UK.
- Szejtli, J. (1997). Utilization of cyclodextrins in industrial products and processes. *Journal of Materials Chemistry*, 7(4), 575-587.
- Szejtli, J. (1998). Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical reviews*, 98, 1743-1753.
- Szejtli, J. (2004). Past, present and future of cyclodextrin research. *Pure and Applied Chemistry*, 76(10), 1825-1845.
- Utracki, L.A. (Ed.) (2002). *Polymer Blends Handbook (volume 1)*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Uzqueda, M., Martín, C., Zornoza, A., Sánchez, M., Martínez-Ohárriz, M.C. & Vélaz, I. (2006). Characterization of complexes between naftifine and cyclodextrins in solution and in the solid state. *Pharmaceutical Research*, 23(5), 980-988.
- Uzqueda, M., González-Gaitano, G., Wouessidjewe, D., Zornoza, A., Sánchez, M., & Martín, C. & Vélaz, I. (2009). Spectroscopic characterisation of the inclusion complexes between the antifungal drugs naftifine and terbinafine and cyclodextrins. *Supramolecular Chemistry*, 21(8), 759-769.
-

- Uzqueda, M., Martín, C., Zornoza, A., Sánchez, M. & Vélaz, I. (2010). Physicochemical characterization of terbinafine-cyclodextrin complexes in solution and in the solid state. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 66(3-4), 393-402.
- Uzqueda, M., Zornoza, A., Isasi, J.R., Martín, C., Sánchez, M. & Vélaz, I. (2011). Interactions of terbinafine with beta-cyclodextrin polymers: sorption and release studies. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 69, 469-474.
- Valero, M., Martínez, M., Ramírez, H., Valdivieso, M., Duarte, D., Ramírez, A. & Pulido, J. (2005). Preparación y comportamiento de polímeros de redes simultáneamente interpenetradas (IPN), formadas por poliuretano de aceite de higuera modificado y poliestireno. *Memorias del Congreso Colombiano de Ingeniería Química*, Manizales (Colombia).
- Vélaz, I., Sánchez, M., Martín, C., Martínez-Ohárriz, M.C. & Zornoza, A. (1997). Interactions of naproxen with vinylpyrrolidone and β -cyclodextrin: A fluorimetric study. *International Journal of Pharmaceutics*, 153(2), 211-217.
- Vélaz, I., Isasi, J.R., Sánchez, M., Uzqueda, M. & Ponchel, G. (2007). Structural characteristics of some soluble and insoluble beta-cyclodextrin polymers. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 57(1-4), 65-68.
- Villiers, M.A. (1891). Sur la transformation de la fécula en dextrine par le ferment butyrique. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 112, 536-538.
- Yang, X. & Kim, J.C. (2010). Beta-cyclodextrin hydrogels containing naphthaleneacetic acid for pH-sensitive release. *Biotechnology and Bioengineering*, 106(2), 295-302.
- Yu, J.C., Jiang, Z.T., Liu, H.Y., Yu, J. & Zhang, L. (2003). β -Cyclodextrin epichlorohydrin copolymer as a solid-phase extraction adsorbent for aromatic compounds in water samples. *Analytica Chimica Acta*, 477, 93-101.
- Zhang, X., Zhang, X., Wu, Z., Gao, X., Cheng, C., Wang, Z. & Li, C. (2011). A hydrotropic β -cyclodextrin grafted hyperbranched polyglycerol co-polymer for hydrophobic drug delivery. *Acta Biomaterialia*, 7(2), 585-592.
- Zugasti, M.E., Zornoza, A., Goñi, M.M., Isasi, J.R., Vélaz, I., Martín, C., Sánchez, M. & Martínez-Ohárriz, M.C. (2009). Influence of soluble and insoluble cyclodextrin polymers on drug release from hydroxypropyl methylcellulose tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 35(10), 1264-1270.
-

II. OBJETIVOS

Como se ha comentado en la introducción, las ciclodextrinas son moléculas de gran interés en la industria farmacéutica, dado que su posible interacción con un principio activo puede mejorar las propiedades de este, bien sea su estabilidad, su solubilidad, o la velocidad de liberación al medio desde la forma farmacéutica. Por ello, nuestro grupo de investigación se ha centrado en los últimos años en la realización de diferentes estudios de interacción de las ciclodextrinas y los polímeros de ciclodextrina con fármacos modelo de diversa naturaleza y actividad, tales como los antiinflamatorios no esteroideos naproxeno, nabumetona y diflunisal, los antifúngicos naftifina y terbinafina, el regulador lipídico gemfibrozilo, el antihipertensivo pindolol o el antidiabético glisentida. Todos ellos contienen en su estructura grupos aromáticos que presentan una interacción favorable con las cavidades hidrófobas de las ciclodextrinas. Estos trabajos han incluido, entre otros ensayos, la caracterización de los complejos fármaco-ciclodextrina formados, tanto en solución como en estado sólido, y el estudio de las cinéticas de sorción y liberación de la sustancia modelo desde polímeros de β -ciclodextrina.

Este trabajo pretende profundizar en estos estudios. Por ello, se han sintetizado matrices poliméricas en forma de discos, para disponer de una geometría controlada que permita abordar el estudio matemático de la liberación de los fármacos. Esto supone un peldaño más en esta línea de investigación, en su camino para una posible aplicación en la industria farmacéutica.

Los objetivos específicos de esta tesis doctoral podrían resumirse de la siguiente manera:

1.- Optimizar la síntesis de polímeros de β CD entrecruzados con epiclorhidrina, a diferentes temperaturas (25, 35, 50 y 60°C), en forma de discos de dimensiones determinadas. Por el mismo procedimiento de síntesis, obtener discos similares con las ciclodextrinas α y γ , así como mezclas α/β y β/γ , sintetizados a una misma temperatura. Optimizar los procesos de liofilización y secado de los discos de polímero sintetizados para su conservación y uso en ensayos posteriores (*Capítulos 1, 3 y 4*).

2.- Caracterizar los diferentes polímeros sintetizados según su capacidad de sorción de agua y solutos diversos, sus cinéticas de hinchamiento en agua, la determinación de entalpías de hinchamiento en agua, ensayos mecánicos, y análisis de la estructura y tamaño de los poros (*Capítulos 1 y 2*).

3.- Estudiar la sorción de diferentes sustancias modelo en los polímeros sintetizados. Optimizar la carga de los discos a partir de disoluciones concentradas de fármaco en mezclas etanol/agua (*Capítulos 2, 3 y 4*).

4.- Estudiar la liberación de los fármacos modelo desde diferentes discos de polímero, en medios de liberación que simulan condiciones fisiológicas. Mediante el estudio de los datos obtenidos en estas cinéticas empleando modelos matemáticos, caracterizar cada liberación mediante la identificación del principal o los principales mecanismos implicados en la misma. Con ello, se pretende profundizar en el conocimiento de estos sistemas, con el fin de avanzar hacia la posible aplicabilidad de los mismos (*Capítulos 3 y 4*)

III. RESULTADOS

CAPÍTULO 1

Swelling behaviour and porous structure of poly(β -cyclodextrin) gels

ABSTRACT

Different insoluble polymers (hydrogels) have been synthesized by crosslinking β -cyclodextrins (β CD) with the reagent epichlorohydrin at different temperatures. These gels have been characterized by measuring their swelling capacity, mechanical behaviour, thermal properties and pore size distribution. The enthalpy of swelling calculated show that water uptake is an exothermic process. The hydrogels synthesized at higher temperatures present a higher swelling capacity, due to the self-polymerization of epichlorohydrin, yielding a more expanded reticular structure. Mechanical assays show that a lower synthesis temperature leads to stronger and harder polymers, according with a lower swelling capacity. SEM microphotographs and pore structure assays confirm the macroporosity of the freeze-dried samples, and the relationship between average pore size and synthesis temperature. The characteristics of the polymer network constitute a crucial factor in the resulting sorption capacity and release behaviour and, according to their properties, these hydrogels are potentially suitable as drug release systems.

Keywords: β -cyclodextrin, hydrogel, swelling kinetics, mechanical properties, porosity

1. INTRODUCTION

A hydrogel is a three-dimensional network consisting of flexible chains constituted by some elements connected in a certain way and swollen by water (**Katime** et al., 2004). These gels are hydrophilic, soft and elastic materials, insoluble in water because of their “infinite” covalent structure, and capable of swelling in aqueous solutions with a substantial increase in volume, but keeping its shape until physico-chemical equilibrium is reached (**Pedley** et al., 1980). The hydrophilicity of these gels is due to the presence of functional groups such as -OH, -COOH, -CONH₂ and -SO₃H (**Greenham** et al., 1993). This water uptake ability and their soft and elastic consistency make them extremely interesting materials, especially in the pharmaceutical industry, because of their good biocompatibility (**Hoffman**, 2002; **Jeyanthi & Rao**, 1990). Moreover, the swelling ability gives them the capacity to absorb, retain, and release some substances under controlled conditions (**Arredondo & Londoño**, 2009; **Katime** et al., 2004). For this reason, hydrogels are potentially suitable for applications as controlled/sustained release systems and diagnostic devices, as substrates for the growing of cells, in the design of electrophoresis gels, or as biodegradable therapeutic systems (**Escobar** et al., 2002).

Hydrogels are obtained by simultaneous polymerization and crosslinking of one or more mono or polyfunctional monomers. The characteristics of these monomers and the crosslinking agent, as well as the crosslinking density, determine their network structure and, consequently, the properties and applicability of the hydrogel (**Pal** et al., 2009; **Peppas**, 2001). Among the physical properties of a hydrogel, both the mechanical behaviour and the swelling capacity possess important roles. The mechanical properties are directly related to the crosslinking density: long crosslinker chains (and/or low density of crosslinking knots) relates to a greater resistance to deformation of the material. The swelling capacity, determined by the equilibrium swollen state, is due to the balance between osmotic forces (the driving force for the water uptake) and the forces exerted by the polymer chains in opposition to this expansion (**Katime** et al., 2004). Hence, the determination of the amount of water imbibed within the hydrogel is an important criterion for characterizing the hydrogel for biomedical applications (**Kashyap** et al., 2005).

Cyclodextrins (CDs) are cyclic torus-shaped oligosaccharides formed by α -(1-4) glycosidic linked glucopyranose molecules. The more common are α , β and γ CD, with six, seven and eight glucopyranose units, respectively. CDs present a relatively hydrophobic

cavity (**Szejtli**, 1998), which gives rise to a remarkable capacity to form inclusion complexes with organic molecules, through host-guest interactions (**Crini**, 2003). Due to their ability to form inclusion complexes with different molecules, CDs are particularly interesting in the synthesis of hydrogels. Thus, different CD polymers have been synthesized in recent years (**Cesteros et al.**, 2006, 2007; **García-Zubiri et al.**, 2007; **Rodríguez-Tenreiro et al.**, 2007; **Yang & Kim**, 2010). Because of the complexing ability of the cyclodextrins, these hydrogels are expected to show a higher sorption capacity, as the sorbate can be retained both in the CD cavity and in the polymer network (**García-Zubiri et al.**, 2007; **Gazpio et al.**, 2008).

By modifying the synthesis conditions, the gel properties of the cyclodextrin polymers can be tuned. Previously, the effects of the crosslinker length (**Cesteros et al.**, 2007) and the crosslinking density (**Katime et al.**, 2006; **Romo et al.**, 2006) have been studied. The characteristics of the polymer network constitute a crucial factor in the resulting release behaviour, and the predominant mechanism of the process can be controlled from the synthesis of the gel (**Matsuyama et al.**, 1997). In the present work, β CD based hydrogels have been synthesized at different temperatures, in order to obtain materials with different properties, which have been characterized by measuring their swelling capacity, mechanical behaviour and pore structure. These gels are expected to be suitable for application in controlled drug release systems (**Machín et al.**, 2012).

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 MATERIALS

β -cyclodextrin (β CD) was a commercial product (Wacker). Reagents epichlorohydrin (EP; Sigma Aldrich), NaBH_4 and NaOH (Panreac, analytical grade) were used as received. All other reagents and solvents were from Panreac.

2.2 POLYMER SYNTHESIS

Bulk polymerization was developed by crosslinking β -CD with reagent epichlorohydrin, according to **García-Zubiri et al.** (2006) (based on the procedure of **Crini et al.** (1998)). β CD and a constant 1:11 CD:EP mole ratio were used for the synthesis process. Four insoluble polymers were synthesized at different temperatures: 25°C, 35°C, 50°C and 60°C. According to molar ratio and temperature, polymers were named 1125, 1135, 1150 and 1160, respectively.

Once the reacting mixtures are about to reach the gel point, they were transferred to cylindrical moulds (diameter 76 mm, thickness 3 mm) consisting on a Teflon® ring between two glass squares (Cesteros et al., 2009; Machín et al., 2012). After complete gelation in an oven at the same synthesis temperature, the moulds were carefully removed and the gels were cut with a cork borer to obtain 13 ± 1 mm diameter discs. The resulting discs were immersed in water overnight to remove possible reaction residues. After this procedure, the discs can be stored in two ways: either dried or lyophilized. Some discs were dried at room temperature, introducing them into small bottles with a small amount of towel paper, to ensure a very slow drying and to prevent the rupture of the disc. Paper sheets were changed daily, until the total drying of the discs. Other discs were freeze-dried (*Telstar Cryodos Lyophilizator*) for 4-5 hours at -50°C . The samples were previously frozen at -80°C for 30 minutes.

2.3 ASSAYS IN XEROGELS

Swelling studies

In order to characterize the network structure of the different synthesized polymers, swelling kinetic studies were carried out at constant temperature using a heating bath. Dried hydrogel discs were immersed in an excess of distilled water (1L) at 20, 30, 40 and 50°C . The swelling kinetics assays were performed in duplicate, following standard procedures (Cesteros et al., 2006, 2007; Quintana et al., 1999).

The amount of water retained inside the hydrogels in the equilibrium state can be expressed mathematically in different ways, either as a swelling degree or a swelling factor (Katime et al., 2004). The swelling factor (F) is defined as the ratio of the weight of water retained by a polymer disc (w_w) and the weight of the same dried disc (w_d) [Eq.(1)]. The swelling degree (D) is defined as the ratio of the total weight of a swollen polymer disc (w_t) and the weight of the same dried disc (w_d) [Eq.(2)]:

$$F = w_w / w_d \quad (1)$$

$$D = w_t / w_d \quad (2)$$

Based on the F values obtained, the enthalpies of swelling of the synthesized polymers were calculated by plotting $\ln F$ versus $1/T$, according to the van't Hoff equation for F (Hu & Lin, 1994):

$$\frac{d \ln(F)}{d(1/T)} = -\frac{\Delta H_m}{R} \quad (3)$$

where F is the swelling factor of the polymer at temperature T , ΔH_m the enthalpy of mixing between each polymer and water, and R is the gas constant.

Finally, according to **Ritger and Peppas** (1987), the water uptake and the time (t) are related by an exponential function:

$$F_t / F_\infty = kt^n \quad (4)$$

where F_t is the swelling factor at time t , F_∞ is the equilibrium state swelling factor, k is a constant related to the structure of network and n is an exponent indicative of the type of mechanism (**Lin et al.**, 2007; **Ritger & Peppas**, 1987; **Saraydin & Çaldiran**, 2001); a value of n equal to 0.5 indicates that the water uptake follows a Fickian behaviour, whereas a value close to 1.0 reflects the influence of polymer chains relaxation on the movement of water molecules in the matrix. The first 60% of the water uptake data were fitted to Eq.(4) and the corresponding values of k and n were obtained (**Hariharan & Peppas**, 1996).

Pore structure

A comparative pore size distribution study was performed for the different freeze-dried polymers with the mercury intrusion porosimetry technique using a *Micromeritics AutoPore IV 9500* with a pressure range between 0.0015 and 207 MPa. Pressure, pore diameter and intrusion volume were automatically registered.

In addition, the microscopic structure of the polymers was observed by SEM (*Scanning Electron Microscope, DSM 940 A Zeiss*). Also, freeze-dried polymer discs hardnesses were measured using a *Caleva Tablet Hardness Tester*.

2.4 ASSAYS IN HYDROGELS

Mechanical properties

The extension ratio of the hydrogel disc (λ) versus the applied force per unit area (τ) was measured for swelling hydrogels using a *Perkin Elmer DMA-7 dynamic mechanical analyzer* with parallel plate geometry (**Rodríguez & Katime**, 2003). According to the following equations, different mechanical parameters could be obtained (**Hariharan & Peppas**, 1996; **Lin et al.**, 2007):

$$G = \frac{\tau}{\lambda - \lambda^{-2}} = \frac{E}{3} \quad (5)$$

$$G = RTv_e\phi_2^{1/3} \quad (6)$$

$$M_c = \frac{\rho_0}{v_e} \quad (7)$$

where G is the shear modulus, E is the Young's modulus, ϕ_2 is the volume fraction of polymer in the hydrogel, v_e is the effective cross-link density, ρ_0 is the density of the xerogel, and M_c is the molar mass per cross-link.

Thermal analysis

The thermal analysis of the polymers was performed using a *differential scanning calorimeter TA Instruments (DSC 2920)* calibrated with indium and equipped with a refrigeration unit. Excess of water was removed by tapping the surface of the hydrogels with filter paper.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 ASSAYS IN XEROGELS

Swelling studies

The amount of water absorbed by the xerogel discs and the corresponding swelling process were studied following standard procedures. The swelling factors (F) were calculated for the five polymers according to Equation (1).

Table 1 shows the F values obtained for the polymers, measuring them at different temperatures after equilibrium is reached. The obtained F values evidence the remarkable affinity of the polymer discs towards aqueous media, which confers them the potential ability to release entrapped solutes in a biological medium. It is observed that the swelling factor is higher when the synthesis temperature increases. This can be related to the fact that EP self-polymerization is favoured at higher temperatures, yielding a more expanded reticular structure, which explains the higher water sorption capacity observed (**Romo** et al., 2006). Moreover, the increase in the temperature of the swelling medium results in slightly lower values of F for the same polymer, due to the exothermic nature of the swelling.

Table 1 - Swelling factors of the synthesized polymers determined at different water temperatures.

Water temperature (°C)	Polymer			
	1125	1135	1150	1160
20	1.82	1.86	2.74	3.62
30	1.81	1.84	2.69	3.58
40	1.79	1.80	2.64	3.48
50	1.78	1.78	2.58	3.41

The enthalpies of mixing between each polymer and water (ΔH_m) were calculated according to Equation (3). The values of $\ln F$ versus $1/T$ were plotted for the four polymers (Figure 1), and the corresponding enthalpies were calculated from the respective slope values (Table 2). Negative values of ΔH_m confirm the exothermic nature of the swelling, as seen in the literature for other swellable polymers (Lin et al., 2007). Also, it is observed that the enthalpy value depends on the polymer type. It can be seen that $|\Delta H_m|$ values increase for the polymers synthesized at higher temperatures, i.e. those presenting a more pronounced swelling capacity.

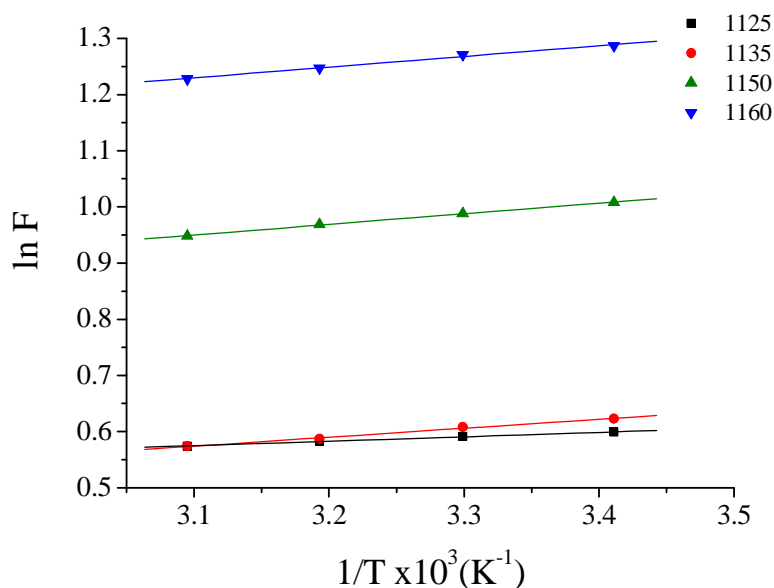


Figure 1 – Temperature dependence of equilibrium water uptake for different polymers.

Table 2 - Values of ΔH_m for the swelling of the synthesized polymers.

Polymer type	ΔH_m (kJ mol ⁻¹)
1125	-0.65
1135	-1.32
1150	-1.56
1160	-1.60

The swelling profiles confirm the data obtained in Table 1 (Figure 2). Figure 2a shows the complete swelling profiles of the four polymers in water at 20°C. Higher F values are gradually observed according to the increase in the synthesis temperature. On the other hand, Figure 2b shows the first section of the swelling profiles of sample 1150. In all cases, for a given polymer, higher F values are observed at higher water temperatures, corresponding to a faster diffusion of the water molecules within the polymer network. Although the swelling process occurs faster at higher water temperatures, the equilibrium F values reached are slightly lower (Table 1).

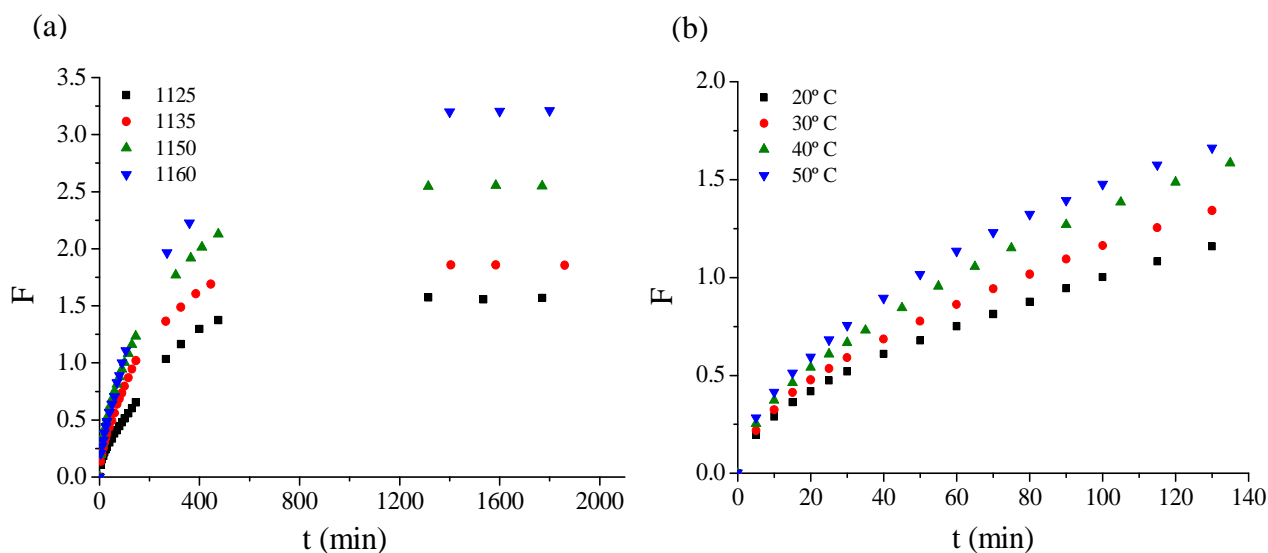


Figure 2 – Swelling profiles of cyclodextrin polymers obtained in water at 20°C (a), and the first section (0-150 min) of the swelling profiles of the 1150 sample at different temperatures (b).

In *Table 3* the kinetic parameters obtained by fitting the swelling data of the polymers to Eq.(4) at different water temperatures are compiled. The n values are between 0.5 and 0.6 for all cases, indicating that these swelling processes are mainly controlled by Fickian diffusion (**Lin & Metters**, 2006). For a given polymer, an increase of k values as a function of the temperature was observed. It occurs because, as noted above, an increase in water temperature facilitates the water diffusion into the polymer matrix. These values are in the range of those obtained by other authors (**Lin et al.**, 2007).

Table 3 - Values of k and n for CD polymers determined at different temperatures. The coefficient of determination (r^2) is given.

Polymer type	T (°C)	r^2	$k \times 10^2$	n
1125	20	0.999	2.7±0.1	0.54±0.1
	30	0.998	3.0±0.1	0.56±0.1
	40	0.996	3.1±0.2	0.58±0.2
	50	0.994	3.4±0.3	0.58±0.2
1135	20	0.999	2.8±0.1	0.54±0.1
	30	0.998	3.1±0.1	0.54±0.1
	40	0.996	3.2±0.2	0.57±0.2
	50	0.998	3.5±0.2	0.57±0.1
1150	20	0.999	3.2±0.1	0.55±0.1
	30	0.999	3.4±0.1	0.56±0.1
	40	0.996	3.6±0.2	0.57±0.1
	50	0.999	4.1±0.1	0.59±0.1
1160	20	0.999	3.8±0.1	0.50±0.1
	30	0.998	4.0±0.2	0.55±0.1
	40	0.999	4.4±0.1	0.52±0.1
	50	0.999	4.6±0.1	0.52±0.1

Pore structure

In order to evaluate the microstructure of the polymer discs, the pore size distribution was measured by mercury intrusion-extrusion porosimetry. The main characteristic parameters are shown in *Table 4*. Samples 1150 and 1160 presented a total intrusion volume higher than that of the polymers synthesized at lower temperatures. As mentioned above, the self-reactivity of epichlorohydrin molecules increases for higher temperatures; therefore, polymers synthesized at 50 or 60°C present longer crosslinking chains, resulting in higher porosities of the freeze-dried materials obtained from them. In contrast, these polymers present a total pore area smaller than those synthesized at 35 and, especially, at 25°C. The polymers synthesized at lower temperatures have smaller pores, which results in a larger contact surface. This is confirmed by the tortuosity of the samples, an index related to the diffusivity of molecules within the polymer (**Escudero et al., 2008**). The tortuosity is higher for polymers synthesized at lower temperatures, according to its lower porosity and the small volume of its pores which produces to a more labyrinthine structure. This index is also related to the kinetic constants of the swelling processes already shown in *Table 3*: a high tortuosity value is related to a slower diffusion of water molecules into the polymer network.

Table 4 - Parameters characterizing the porous structure of the freeze-dried samples.

Polymer type	Total intrusion volume (mL/g)	Total pore area (m²/g)	Tortuosity
1125	0.89	5.05	5.49
1135	1.16	3.31	3.68
1150	2.67	0.73	2.36
1160	2.64	0.52	2.42

The pore size distribution for each polymer is shown in *Figure 3*. It is observed in all cases a predominant family of 18-20 µm diameter pores, originated by the freeze-drying of the discs. Moreover, there is a relationship between the synthesis temperature and the presence of pores of smaller diameter: at lower synthesis temperatures the presence of pores of smaller diameter is observed; even a family of pores less than 0.01 µm diameter for the polymer 1125 becomes evident (*Figure 3*). Obviously, the CD cavities [inner diameter: 0.63±0.03 nm (**Szejtli, 1998**)] are not detected with this technique.

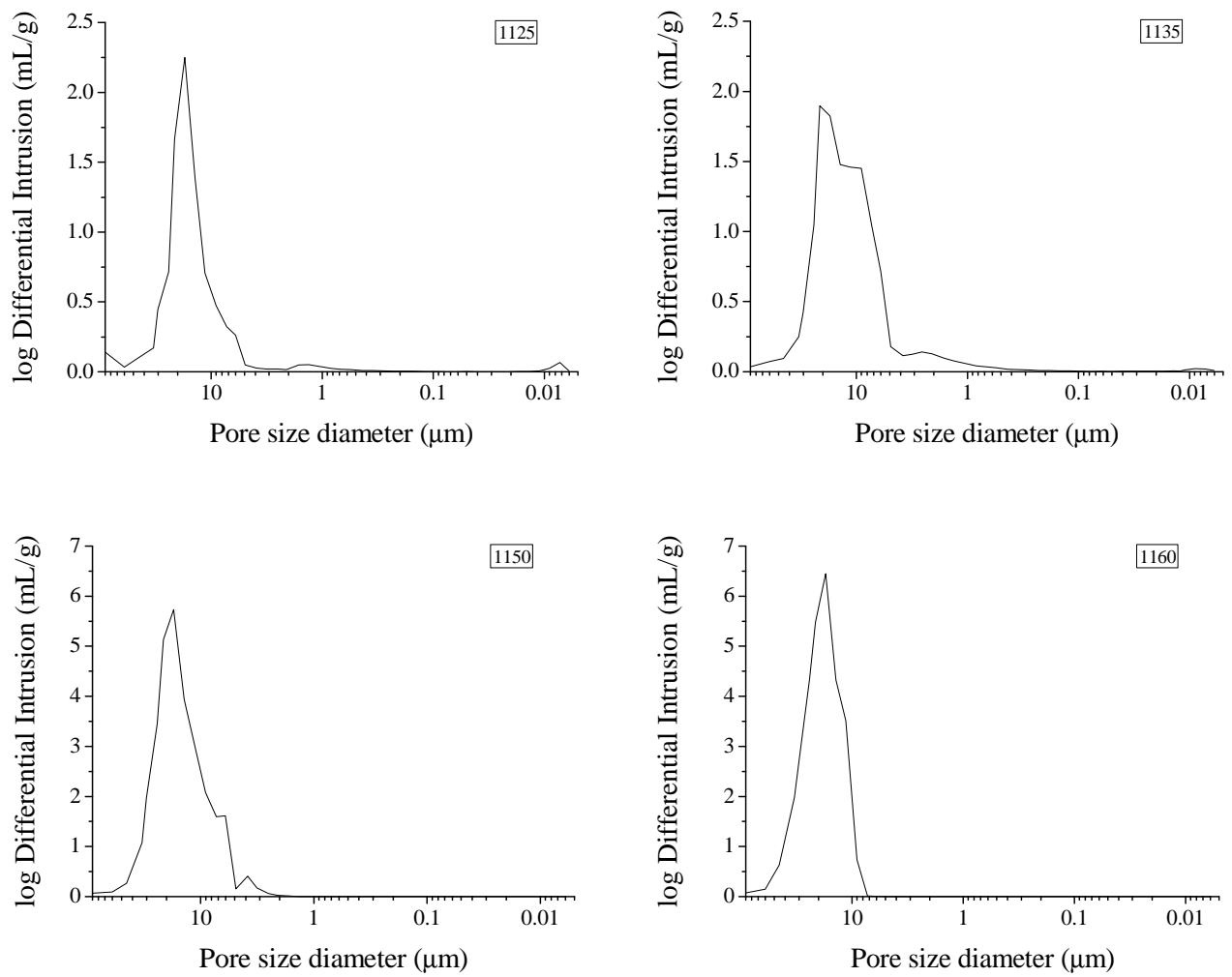


Figure 3 – Semi-logarithmic plot of pore size versus differential intrusion for the four synthesized polymers.

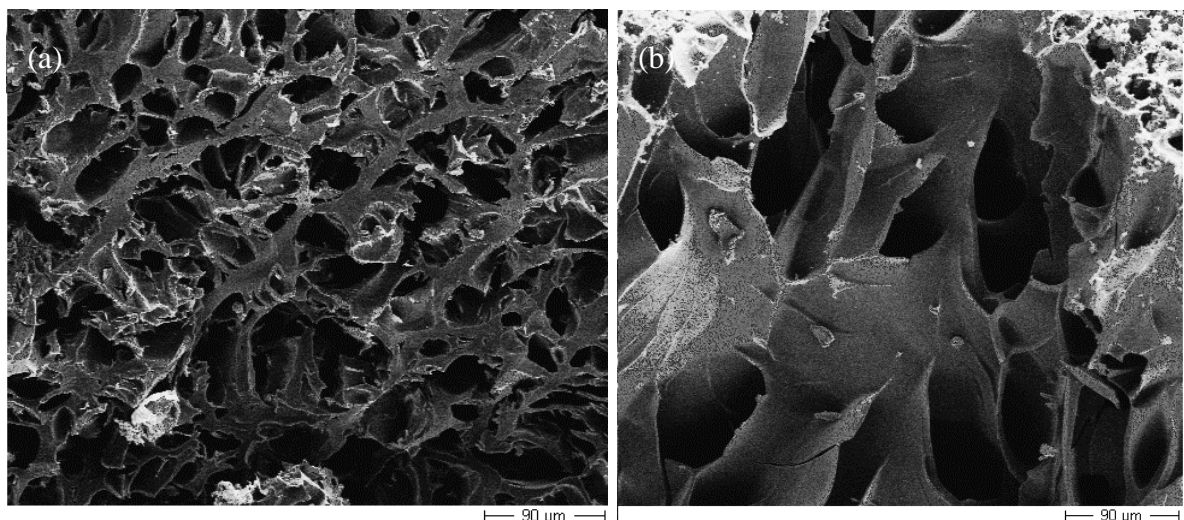


Figure 4 – SEM images of 1125 (a) and 1150 (b) polymers (200x).

Scanning electron microscopy images are shown in *Figure 4*. The porous structure of the freeze-dried polymers can be clearly observed. The SEM results are consistent with the porosimetry studies (*Table 4*): a few large pores are observed in the polymer synthesized at a higher temperature, while lower synthesis temperatures results in a more “crosslinked” structure, with pores of smaller diameter.

The hardness of the freeze-dried discs was obtained as an average of at least ten measurements, and the results obtained, expressed as the force required to fracture the sample disc (N), were 40 ± 8 , 35 ± 4 , 23 ± 3 and 20 ± 3 for the polymers synthesized at 25, 35, 50 and 60°C , respectively. It can be observed that a correlation between hardness and synthesis temperature occurs: the resistance to fracture increases for polymers prepared at lower temperatures, agreeing with its lower swelling capacity. Moreover, hardness seems to be quite similar for polymers 1125 and 1135, and also for 1150 and 1160 samples. Because of this similarity, only polymers 1125 and 1150 have been used for a more exhaustive study on mechanical properties of the hydrogels.

3.2 ASSAYS IN HYDROGELS

Mechanical properties

A mechanical characterization was carried out for the cyclodextrin based hydrogels. Polymer discs with a defined geometry were used for this analysis.

Table 5 - Mechanical properties of polymer discs.

Polymer type	G (kPa)	E (kPa)	Φ_2	$v_e \times 10^2$ (mol/dm ³)	ρ_0 (kg/dm ³)	M_c (kg/mol)
1125	99.7	299.0	0.270	6.2	0.505	8.1
1135	-	-	0.299	-	0.470	-
1150	42.4	127.2	0.319	2.5	0.330	13.2
1160	-	-	0.327	-	0.234	-

Using Equation (5), G moduli were determined for swollen polymer discs using a mechanical analyzer with parallel plate geometry (*Table 5*). The corresponding Young's modulus (E) values were obtained considering that they are three times greater than G (**Lin et al.**, 2007). These moduli are higher for the 1125 polymer, according to its higher hardness. The molar mass per cross-link (M_c) is higher for the polymer synthesized at 50°C, in agreement with the fact that the self-polymerization of epichlorohydrin, favoured at high temperatures, produces longer crosslink chains between cyclodextrin knots. It can be observed that the effective crosslink density (ν_e) increases as M_c decreases. Short crosslink chains give rise to a more reticulate polymer, with a higher density (ρ_0) and higher effective cross-link density (ν_e) (*Table 5*). Finally, it has to be noticed that a decrease in M_c leads to a Young's modulus (E) increase according to the statistical theory of rubber elasticity (**Flory**, 1953).

Freezing and non-freezing water content

Hydrogel properties are considerably influenced by the amount of water in equilibrium, which depends on the chemical composition and the crosslinking density of the material. It has been shown that some water molecules can be strongly associated to the polar groups of the polymeric structure. On the other hand, the presence of water molecules with a high degree of mobility, which can be deduced by their ability to freeze at the same temperature than pure water, is often responsible for a decrease of the mechanical resistance of the material. Calorimetric measurements allow us to obtain the freezing water contents of the gels. Taking into account the total amount of water sorbed, the difference between these two values correspond to the non-freezing water content of the hydrogel.

As shown in our previous work (**Isasi et al.**, 2002), the amount of associating (i.e. "non-freezing") water is very similar for cyclodextrin polymers prepared using different CD/epichlorohydrin feed ratios and synthesis temperatures. Thus, the considerably higher water contents of the hydrogels prepared at 50° or 60°C are attributed mostly to the corresponding increase in their "freezing" water contents. In these "freezing water" regions, the diffusion rates of solutes would be equal of those in pure water.

4. CONCLUDING REMARKS

The amount of water absorbed by these CD/EP polymers is high enough so they are adequate sorbing materials. Not all the water molecules are bound to the gel structure in the same way, which can have an effect in their transport and mechanical properties. The freeze-drying process is also relevant in regard to the material porosity and can have an influence in the behaviour of the gel and its interaction with a retained sorbate (**Boateng** et al., 2009). Although these hydrogels cannot be considered as superabsorbing materials, they retain a considerable amount of water, depending on the synthesis conditions of the network.

Three types of “cavities” are present in these materials. First of all, the small cyclodextrin cavities, of a constant volume, provide an interaction site for several hydrophobic groups (mainly benzene or naphthalene rings but also aliphatic chains) that can be present in a selected sorbate (such as a drug or a pesticide) and can be considered as a specific interaction with a high inclusion constant value. Secondly, the network cavities formed in the crosslinking process can possess different sizes and shapes depending on the gelation conditions, giving rise to interaction sites less specific but capable of hosting more sorbate molecules which, in general, will be more easily delivered from the matrix. Finally, the pores formed during the freeze-drying process facilitate the diffusion of the sorbate through the matrix. As can be deduced from the results presented in this work, the network structure of these systems can be tuned in order to reach an optimal delivery of a particular sorbate.

Acknowledgements

The authors wish to thank Dr. Álvarez-Galindo for the mercury intrusion porosimetry measurements and Dr. Baquero for the SEM microphotographs. Authors also acknowledge to Universidad de Navarra (PIUNA) and Ministerio de Ciencia y Tecnología (project no. MAT2007-65752) for the financial aid, and to Gobierno de Navarra for the grant of R. Machín.

REFERENCES

- Arredondo, A. & Londoño, M.E. (2009). Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos. *Revista Ingeniería Biomédica*, 3(5), 83-94.
- Boateng, J.S., Matthews, K.H., Auffret, A.D., Humphrey, M.J., Stevens, H.N. & Eccleston, G.M. (2009). *In vitro* drug release studies of polymeric freeze-dried wafers and solvent-cast films using paracetamol as model soluble drug. *International Journal of Pharmaceutics*, 378, 66-72.
- Cesteros, L.C., Ramírez, C., Peciña, A., & Katime, I. (2006). Poly(ethylene glycol-beta-cyclodextrin) gels: Synthesis and properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 102(2), 1162-1166.
- Cesteros, L.C., Ramírez, C., Peciña, A., & Katime, I. (2007). Synthesis and properties of hydrophilic networks based on poly(ethylene glycol) and beta-cyclodextrin. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 208(16), 1764-1772.
- Cesteros, L.C., González-Teresa, R., & Katime, I. (2009). Hydrogels of β -cyclodextrin crosslinked by acylated poly(ethylene glycol): Synthesis and properties. *European Polymer Journal*, 45(3), 674-679.
- Crini, G., Cosentino, C., Bertini, S., Naggi, A., Torri, G., & Vecchi, C. (1998). Solid state NMR spectroscopy study of molecular motion in cyclomaltoheptaose (beta-cyclodextrin) crosslinked with epichlorohydrin. *Carbohydrate Research*, 308(1-2), 37-45.
- Crini, G. (2003). Studies on adsorption of dyes on beta-cyclodextrin polymer. *Bioresource Technology*, 90, 193-198.
- Escobar, J.J., García, D.M., Zaldívar, D. & Katime, I. (2002). Hidrogeles. Principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 3(3), 1-25.
- Escudero, J.J., Ferrero, C. & Jiménez-Castellanos, M.R. (2008). Compactation properties, drug release kinetics and fronts movement studies from matrices combining mixtures of swellable and inert polymers: Effect of HPMC of different viscosity grades. *Internatonal Journal of Pharmaceutics*, 351, 61-73.
- Flory, P.J. (1953). *Principles of polymer chemistry*. New York: Cornell University Press.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G., & Isasi, J. (2006). Thermal stability of solid dispersions of naphthalene derivatives with beta-cyclodextrin and beta-cyclodextrin polymers. *Thermochimica Acta*, 444(1), 57-64.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G., & Isasi, J.R. (2007). Isosteric heats of sorption of 1-naphthol and phenol from aqueous solutions by beta-cyclodextrin polymers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 307(1), 64-70.
-

- Gazpio, C., Sánchez, M., Isasi, J.R., Vélaz, I., Martín, C., & Martínez-Ohárriz, C. (2008). Sorption of pindolol and related compounds by a beta-cyclodextrin polymer: Isosteric heat of sorption. *Carbohydrate Polymers*, 71(1), 140-146.
- Greenham, N.C., Moratti, S.C., Bradley, D.D.C., Friend, R.H. & Holmes, A.B. (1993). Efficient light-emitting diodes based on polymers with high electron affinities. *Nature*, 365(6447), 628-630.
- Hariharan, D., Peppas, N.A. (1996). Characterization, dynamic swelling behaviour and solute transport in cationic networks with applications to the development of swelling-controlled release systems. *Polymer*, 37(1), 149-161.
- Hoffman, A.S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced drug delivery reviews*, 54(1), 173-182.
- Hu, D.S.G. & Lin, M.T.S. (1994). Water-polymer interactions and critical phenomena of swelling in inhomogeneous poly(acrylonitrile-acrylamide-acrylic acid) gels. *Polymer*, 35(20), 4416-4422.
- Isasi, J.R., Romo, A., Sevillano, X., González-Gaitano, G. & Peñas, J. (2002). Swelling behaviour of poly(β -cyclodextrins). *11th International Cyclodextrin Symposium*, Reykjavik (Iceland).
- Jeyanthi, R. & Rao, K.P. (1990). In vivo biocompatibility of collagen poly(hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. *Biomaterials*, 11(4), 238-243.
- Kashyap, N., Kumar, N. & Ravi Kumar, M.N.V. (2005). Hydrogels for pharmaceutical and biomedical applications. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 22, 107-150.
- Katime, I., Katime, O. & Katime, D. (2004). *Los materiales inteligentes en este milenio. Los hidrogeles macromoleculares: Síntesis, propiedades y aplicaciones*. (1st ed.). Spain: Ed. Universidad del País Vasco.
- Katime, I., Díaz de Apodaca, E. & Rodríguez, E. (2006). Effect of crosslinking concentration on mechanical and thermodynamic properties in acrylic acid-co-methyl methacrylate hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science*, 102, 4016-4022.
- Lin, C., & Metters, A. (2006). Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12-13), 1379-1408.
- Lin, Z., Wu, W., Wang, J. & Jin, X. (2007). Studies on swelling behaviors, mechanical properties, network parameters and thermodynamic interaction of water sorption of 2-hydroxyethyl methacrylate/novolac epoxy vinyl ester resin copolymeric hydrogels. *Reactive and Functional Polymers*, 67, 789-797.
- Machín, R., Isasi, J.R. & Vélaz, I. (2012). β -Cyclodextrin hydrogels as potential drug delivery systems. *Carbohydrate Polymers*, 87, 2024-2030.
-

- Matsuyama, H., Teramoto, M. & Urano, H. (1997). Analysis of solute diffusion in poly(vinyl alcohol) hydrogel membrane. *Journal of Membrane Science*, 126(1), 151-160.
- Pal, K., Banthia, A.K. & Majumdar, D.K. (2009). Polymeric hydrogels: characterization and biomedical applications – A mini review. *Designed Monomers and Polymers*, 12, 197-220.
- Pedley, D.G., Skelly, P.J. & Tighe, B.J. (1980). Hydrogels in biomedical applications. *British Polymer Journal*, 12(3), 99-110.
- Peppas, N.A. (2001). *Gels for drug delivery*. En: Elsevier (Ed.), *Encyclopedia of materials: science and technology*, 3492-3495. Amsterdam: Elsevier.
- Quintana, J.R., Valderruten, N.E. & Katime, I. (1999). Synthesis and swelling kinetics of poly(dimethylaminoethyl acrylate methyl chloride quaternary-co-itaconic acid) hydrogels. *Langmuir*, 15, 4728-4730.
- Ritger, P., & Peppas, N. (1987). A simple equation for description of solute release. II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release*, 5(1), 37-42.
- Rodríguez, E., & Katime, I. (2003). Some mechanical properties of poly[(acrylic acid)-co-(itaconic acid)] hydrogels. *Macromolecular Materials and Engineering*, 288(8), 607-612.
- Rodríguez-Tenreiro, C., Álvarez-Lorenzo, C., Rodríguez-Perez, A., Concheiro, A. & Torres-Labandeira, J.J. (2007). Estradiol sustained release from high affinity cyclodextrins hydrogels. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 66(1), 55-62.
- Romo, A., Peñas, F.J., Sevillano, X. & Isasi, J.R. (2006). Application of factorial experimental design to the study of the suspension polymerization of β -cyclodextrin and epichlorohydrin. *Journal of Applied Polymer Science*, 100, 3393-3402.
- Saraydin, D., Çaldıran, Y. (2001). In vitro dynamic swelling behaviors of polyhydroxamic acid hydrogels in the simulated physiological body fluids. *Polymer Bulletin*, 46, 91-98.
- Szejtli, J. (1998). Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical reviews*, 98, 1743-1753.
- Yang, X. & Kim, J.C. (2010). Beta-cyclodextrin hydrogels containing naphthaleneacetic acid for pH-sensitive release. *Biotechnology and Bioengineering*, 106(2), 295-302.
-

CAPÍTULO 2

Sorption of phenols from single and mixed cyclodextrin polymers

ABSTRACT

Cyclodextrin (CD) hydrogels were synthesized by the crosslinking reaction with epichlorohydrin using α CD, β CD, γ CD, and 50:50 mixtures of α/β CD and β/γ CD. In order to investigate the sorption capacity of these hydrogels to different solutes, five model molecules have been selected: phenol, 3-nitrophenol, 4-nitrophenol, 1-naphthol, and the antiinflammatory drug diflunisal. The amounts sorbed have been related to the different affinities of the solutes. 1-naphthol shows the highest affinity for these polymers, especially in the case of sorbents containing β CD. The sorption is considerably poorer for phenol than for its nitro derivatives. For the latter, the two structural isomers also show significant differences in their affinities towards α CD and β CD. Finally, the obtained results for the larger model molecule diflunisal suggest a more important role of the crosslinking network in this case.

Keywords: cyclodextrin hydrogels, sorption, surface area

1. INTRODUCTION

Cyclodextrins (CD) are torus-shaped cyclic oligosaccharides formed by α -(1-4) bonds of six, seven or eight glucopyranose units, named α , β and γ CD, respectively. This structure gives CDs a remarkable capacity to form inclusion complexes with organic molecules through host-guest interactions (**Dodziuk**, 2006; **Martín del Valle**, 2004). Insoluble polymers can be obtained by crosslinking cyclodextrins with a bifunctional reagent, such as epichlorohydrin (**Crini** et al., 1998; **García-Zubiri** et al., 2006). Cyclodextrin/epichlorohydrin (CD/EP) copolymers can be swollen in aqueous solutions; for this reason, a large number of potential applications are attributed to these polymers, such as pollutant removal or drug release matrices (**Fernández** et al., 2011; **Hoffman**, 2002; **Machín** et al., 2012; **Romo** et al., 2008; **Sevillano** et al., 2008).

Besides their mechanical and structural properties, the sorption capacity of a particular solute is important in polymer characterization (**Umpleby** et al., 2001). The sorption mechanism of these polymers involves the inclusion complexation of the solute within the CD cavities and also the interactions of the sorbate with the polymer network, either with the tails of the crosslinking agent or with the flexible secondary cavities formed by the polymeric structure (**Fernández** et al., 2011). In order to study the distribution of a solute between a polymer and a solution, the total concentration of sorbate in the gel, q (expressed as the amount of sorbate per unit mass of sorbent) must be considered as a function of the solute concentration that remains in solution, C_{eq} . The relationship between these two concentrations is known as the sorption isotherm, because it is only applicable at a constant temperature (**García-Zubiri**, 2009).

In most cases, the sorption of organic molecules within polymers is satisfactorily represented by the empirical equation proposed by Freundlich:

$$q = K_F C_{eq}^{1/n} \quad (1)$$

where K_F is the Freundlich constant and $1/n$ is the Freundlich exponent. These Freundlich parameters represent the capacity and affinity of the sorption, respectively. Both are empirical constants dependent on several environmental factors, such as drug: β CD ratio, drug initial concentration and ionic strength (**Uzqueda** et al., 2011). This isotherm assumes a large

number and variety of sorption sites, with different energies of sorption. On the contrary, if there is a limited number of homogeneous sites for solute interaction in the polymer, the Langmuir isotherm may be a more appropriated model:

$$q = \frac{\Gamma_{\max} K_L C_{eq}}{1 + K_L C_{eq}} \quad (2)$$

where Γ_{\max} represents the total number of sorption sites per mass of sorbent and K_L is the Langmuir constant, defined as the equilibrium constant for the sorption reaction.

The aim of this work was to investigate the sorption of different solutes on insoluble CD based polymers. These gels exhibit a similar reticular structure and it is expected that the affinity for the CD cavities would be selective according to the nature of the solute. This process has been studied using five sorbates, selected by their different structures and sizes. Provided that the porous structure of the gel permits a complete diffusion of the sorbates towards the appropriate interaction sites within the gel structure, the amounts sorbed will be related to the different affinities of the solutes by the CDs. The model sorbates chosen were phenol, 1-naphthol, the antiinflammatory drug diflunisal, and two phenol derivatives: 3-nitrophenol and 4-nitrophenol (*Figure 1*). Different CD insoluble polymers were synthesized using α CD, β CD and γ CD; besides, two mixed polymers were synthesized using 50:50 mixtures of α/β CD and β/γ CD.

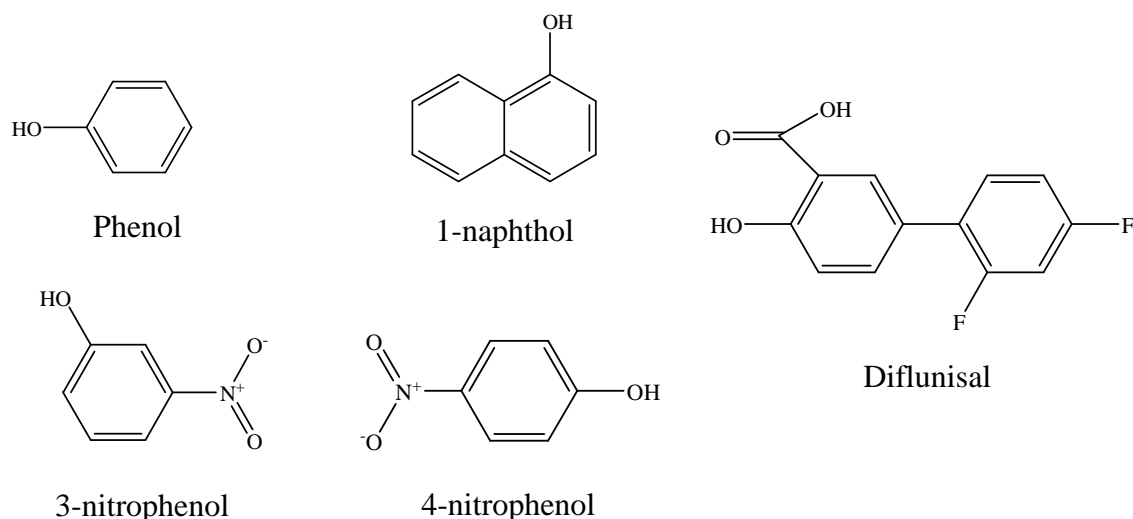


Figure 1 - Chemical structures of the model sorbates.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 MATERIALS

α , β and γ -cyclodextrins (α , β , γ CD) were commercial products (Wacker). Reagents epichlorohydrin (EP; Aldrich), NaBH_4 and NaOH (Panreac, analytical grade) were used as received. Isomers 3- and 4-nitrophenol ($\geq 99\%$) were purchased from Aldrich. 1-Naphtol ($\geq 99\%$) was from Merck and phenol was from Aldrich. Diflunisal [DIF; 2',4'-difluoro-4-hydroxy-(1,1'-biphenyl)-3-carboxylic acid] was obtained from Merck Sharp and Dohme de España S.A. All other reagents and solvents were from Panreac.

2.2 POLYMER SYNTHESIS

Different cyclodextrin insoluble polymers (CDP) containing α , β , γ CD and 50:50 nominal mixtures of α/β or β/γ CD were synthesized using the reagent epichlorohydrin (EP). The synthesis temperature was 50°C and CD:EP ratio was 1:11, for all the polymers, according to previous works (**García-Zubiri** et al., 2006; **Machín** et al., 2012). After the bulk polymerization was carried out, the resulting resins were cut in small pieces and immersed in water overnight to remove possible reaction residues. Following this purification procedure, the presence of free residual EP is improbable (**Crini & Peindy**, 2006).

After the washing step, polymer pieces were freeze-dried (*Telstar Cryodos Lyophilizator*) for 4-5 hours at -50°C (the samples were previously frozen at -80°C for 30 minutes). Freeze-dried polymers were ground, and then they were sieved; the particle size fraction selected was 100-315 μm .

2.3 SORPTION STUDIES

Sorption tests were carried out in flasks containing 50 mL of sorbate aqueous solutions and different amounts of polymers at 25°C . After stirring for at least 2 hours, a sample of each flask was centrifuged (12000 g, 20'), and UV measurements of the supernatant were carried out using a *Hewlett-Packard 8452A spectrophotometer*. Initial concentrations were different for each substance, according to the different solubility of the sorbates used. The main experimental conditions are summarized in *Table 1*. Sorption data were fitted [q (mmol/g) vs. C_{eq} (mol/L)] to the Freundlich equation [Eq.(1)]. Other sorption models, as the Langmuir isotherm, could not be applied for this study because of experimental sorption range.

Table 1 - Wavelength for UV determinations, initial sorbate concentration in water, and polymer range amounts for the isotherms measured at 25°C.

Sorbate	Wavelength (nm)	Concentration x 10 ⁴ (mol/L)	CDP amounts (mg)
phenol	270	2.0	250 - 1000
1-naphthol	322	5.0	50 - 200
diflunisal	252	4.0	50 - 200
3-nitrophenol	330	3.5	250 - 1000
4-nitrophenol	318	3.5	250 - 1000

2.4 STUDY OF THE SURFACE AREA

The dye-based sorption method provides an independent estimate of the sorbent surface area, according to the following equation (**Pratt et al., 2010; Wilson et al., 2011**):

$$SA(m^2 / g) = \frac{Q_m N \sigma}{Y} \quad (3)$$

where Q_m is an estimate of the monolayer coverage at equilibrium (mol/g), N is Avogadro number ($6.022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$), σ is the cross-sectional molecular area of the adsorbate (m^2) and Y is the coverage factor.

Sorption data of 4-nitrophenol were used for dye sorption method, according to the cross-sectional molecular area (σ is $5.25 \cdot 10^{-19} \text{ m}^2/\text{mol}$ for planar orientation and $2.5 \cdot 10^{-19} \text{ m}^2/\text{mol}$ for “end-on” orientation for 4-NP) and the coverage factor (Y equals to unity for 4-NP) already known (**Gilles et al., 1970; Lynam et al., 1995**).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 SORPTION OF NITROPHENOLS AND DETERMINATION OF THE SURFACE AREA (SA) OF THE POLYMERS

Sorption studies

Polymer characterization by sorption studies were carried out using the common model adsorbate 4-nitrophenol and its structural isomer 3-nitrophenol. *Figure 2* shows the higher sorption values of 4-NP in the different polymers, according to the higher q values for similar equilibrium concentrations. This result is attributed to the greater affinity of 4-NP towards the cyclodextrin polymers, probably due to its more linear structure, resulting in a different mechanism of inclusion into the cyclodextrins (Yudiarso et al., 2001).

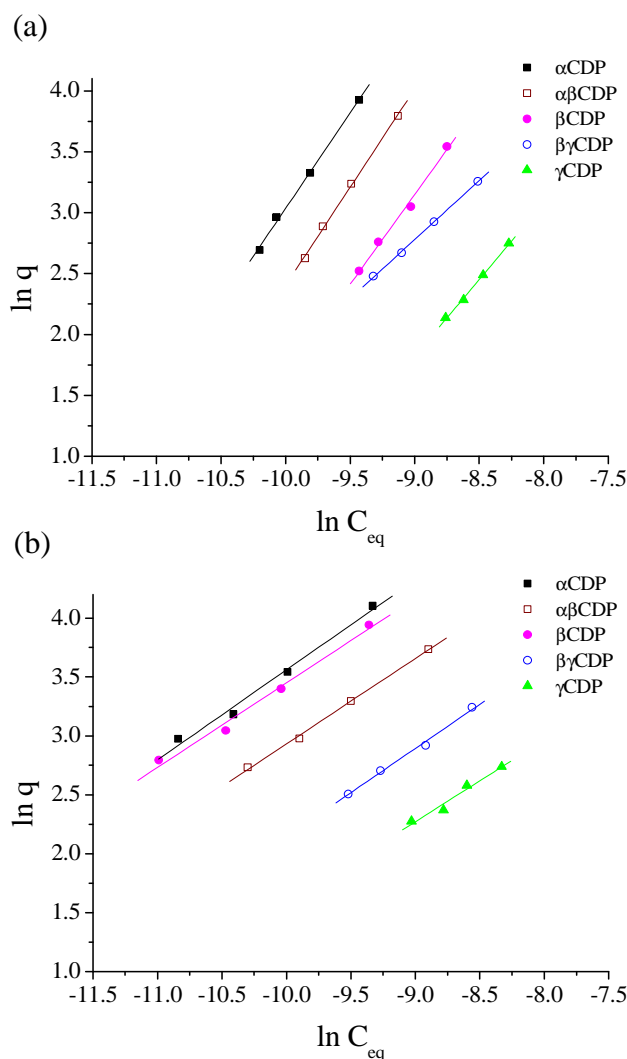


Figure 2 – Freundlich isotherms for 3-NP (a) and 4-NP (b) sorption on different cyclodextrin polymers, at 25°C.

The Freundlich parameters K_F and n have been determined and they are shown in *Table 2*. As can be seen, the Freundlich parameters for the sorption of 4-NP yielded similar n values for the five isotherms. Therefore, their K_F values can be compared: higher values are observed for the polymers containing α , β and α/β CDs, respectively, according to their higher sorption capacities, as observed in *Figure 2*. Polymers containing γ CD (either single or mixed with β CD) showed a lower sorption capacity for 4-NP, probably because the γ CD cavity is too large to produce a good interaction with this molecule. Furthermore, the sorption of 3-NP also showed a better capacity for α CDP, as can be observed in *Figure 2* and *Table 2*. The mixed α/β CD polymer showed an intermediate behaviour between α CDP and β CDP. The n values for the sorption of 3-NP were similar except for β/γ CDP.

Table 2 - Fitting parameters of the Freundlich isotherms K_F and n and correlation coefficient for 3-nitrophenol and 4-nitrophenol in water at 25°C.

Polymer	Sorbate	R²	ln K_F	n
α CDP	3-nitrophenol	0.997	18.7	0.64
α/β CDP		0.999	18.5	0.62
β CDP		0.994	16.3	0.69
β/γ CDP		0.999	11.5	1.03
γ CDP		0.997	13.2	0.79

α CDP	4-nitrophenol	0.989	11.2	1.31
α/β CDP		0.999	10.4	1.34
β CDP		0.987	10.6	1.39
β/γ CDP		0.995	9.6	1.34
γ CDP		0.967	8.5	1.44

Study of the surface area

The surface areas (SA) of the different polymers were estimated by the dye-based method for the sorption of 4-nitrophenol at 25°C, considering the maximum coverage obtained for each polymer (q) as the monolayer coverage (Q_m).

The SA estimates are dependent on the 4-NP orientation in the polymer (Allen, 1997; Wilson et al., 2011). Table 3 shows different SA values for a planar or an “end-on” orientation. The planar orientation values are about twice those of the end-on orientation, according to the dimensions of the 4-NP molecule. A previous study, using mercury intrusion-extrusion porosimetry, gave a surface area of 0.73 m²/g for the βCDP synthesized at 25°C (Chapter 1). The SA estimates were consistent in magnitude with the porosimetry obtained in those previous studies, but they are higher for the dye-based method. The differences are attributed to the diverse nature of the experimental conditions for each technique. The greater SA estimates derived from the dye-based method are attributed to framework structural changes of the polymer in aqueous solution despite the insoluble character of the polymers (Wilson et al., 2011). The surface area estimated for each polymer is related with the isotherm parameters showed in Table 2: a higher sorption capacity results in a higher SA estimation according to the dye sorption method (Okeola & Odebunmi, 2010).

Table 3 - Dye-based method estimates of the surface area (SA) for polymeric materials obtained for the sorption of 4-nitrophenol in water at 25°C.

Polymer	SA for planar orientation (m²/g)	SA for end-on orientation (m²/g)
αCDP	6.20	2.95
α/βCDP	4.87	2.32
βCDP	5.17	2.46
β/γCDP	3.88	1.85
γCDP	3.07	1.46

3.2 SORPTION ISOTHERMS OF PHENOL, 1-NAPHTHOL AND DIFLUNISAL

Figure 3 illustrates different families of sorption isotherms, according to the chemical structure of each sorbate. It can be observed that phenol shows lower sorption values than its nitro- derivatives (see also Figure 2). In addition, the best sorption behaviour of phenol is observed for the α/β CD polymer, probably related to a synergistic effect of mixing two different CDs in a same polymeric structure. It can also be confirmed by the higher value of K_F compared to those of α CDP and β CDP, which possess similar n values (Table 4). γ CDP showed a very low n value, related to a poor affinity of phenol for this cyclodextrin.

1-naphthol showed the highest sorption capacity of all the studied sorbates, as can be observed by its higher values of q for similar C_{eq} (Figure 3). β CDP showed the highest sorption capacity, followed by the mixed polymers, which also contain β CD. These results confirm the optimal interaction of 1-naphthol with this cyclodextrin, and, consequently, its applicability in order to ascertain the roles of the CD cavities and the network structures in the sorption of aromatic molecules (García-Zubiri et al., 2007, 2009).

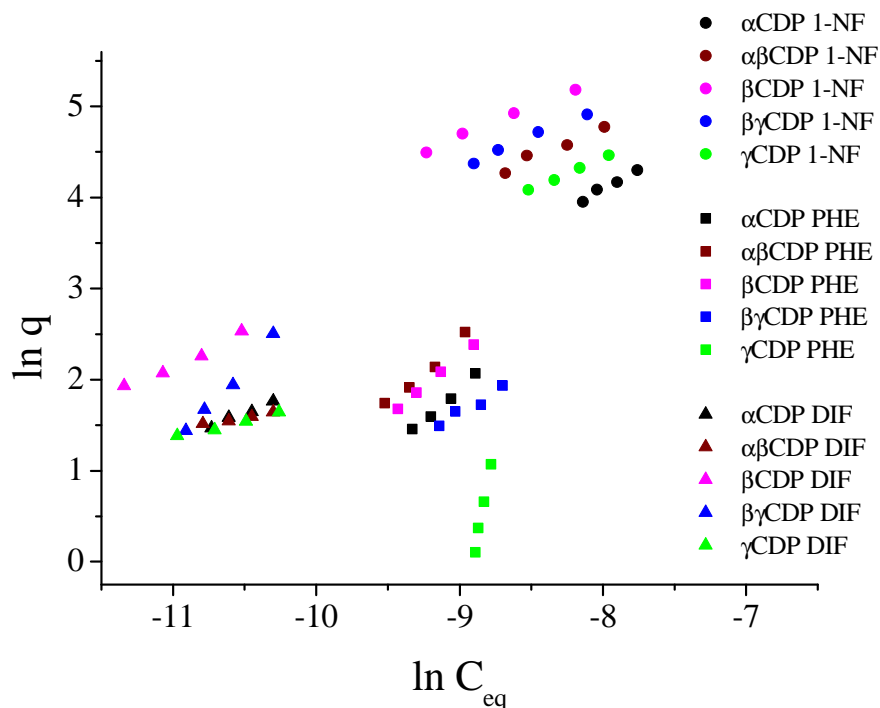


Figure 3 – Freundlich isotherms of phenol, 1-naphthol and diflunisal sorption on different polymers, at 25°C.

Finally, the antiinflammatory drug diflunisal was selected for its higher size, which leads to a good interaction with γ CD. Previous studies have shown that this molecule presents similar inclusion constants for its complexes with β CD and γ CD (Sideris et al., 1999). The corresponding Freundlich constants could not be compared because the n values were too different for each sorbent (Table 4). Figure 3 shows also that the isotherms were studied for lower C_{eq} values in this case, according to the very limited solubility of diflunisal. β CDP shows the highest sorption capacity of all the polymers, significantly above that of γ CD. This result undoubtedly points to the influence of the network in the sorption capacity, since polymers containing CDs with similar affinity for this solute (i.e. γ CDP and β/γ CDP), showed remarkable differences in the sorption of diflunisal.

Table 4 - Fitting parameters of the Freundlich isotherms, K_F and n , and correlation coefficient for phenol, 1-naphthol and diflunisal in water at 25°C.

Polymer	Sorbate	R^2	$\ln K_F$	n
α CDP	phenol	0.988	14.3	0.72
α/β CDP		0.981	14.9	0.72
β CDP		0.999	14.4	0.74
β/γ CDP		0.950	9.9	1.09
γ CDP		0.993	78.7	0.11
α CDP	1-naphthol	0.975	7.6	2.51
α/β CDP		0.962	10.2	1.46
β CDP		0.995	10.6	1.53
β/γ CDP		0.962	10.4	1.48
γ CDP		0.999	9.9	1.46
α CDP	diflunisal	0.979	8.6	1.51
α/β CDP		0.980	4.3	3.82
β CDP		0.980	10.2	1.37
β/γ CDP		0.991	20.3	0.58
γ CDP		0.981	5.5	2.65

4. CONCLUDING REMARKS

Although phenol can be considered as a standard sorbate useful to compare the retention capacities of these polymers with the common sorbents, other model molecules such as 1-naphthol or nitrophenols provide essential information regarding their optimal interactions with CD cavities of different sizes. The glyceryl bridges of variable lengths found in these cyclodextrin/epichlorohydrin polymers form relatively polar environments that are not suited to provide a significant interaction with benzene or naphthalene moieties. Nevertheless, they can contribute to enhance the cleavage of the inclusional interactions within the CD cavities by means of additional favourable contacts between hydroxyl groups. The present work has shown that several orders of magnitude of the amount sorbed q can be obtained for a given polymer using different sorbates but also for the same sorbate using variable cyclodextrin combinations. These results confirm the importance of the inclusional interactions in the sorption processes and point to the possibility of tailoring these resins to fulfil specific applications.

Acknowledgements

The authors wish to thank to Universidad de Navarra (PIUNA) and Ministerio de Ciencia y Tecnología (project no. MAT2007-65752) for the financial aid, and to Gobierno de Navarra for the grant of R. Machín.

REFERENCES

- Allen, T. (1997). *Particle size measurement: Surface Area and pore size determination (5th ed.)*. London: Chapman & Hall.
- Crini, G., Cosentino, C., Bertini, S., Naggi, A., Torri, G. & Vecchi, C. (1998). Solid state NMR spectroscopy study of molecular motion in cyclomaltoheptaose (beta-cyclodextrin) crosslinked with epichlorohydrin. *Carbohydrate Research*, 308(1-2), 37-45.
- Crini, G. & Peindy, H.N. (2006). Adsorption of C.I. Basic Blue 9 on cyclodextrin-based material containing carboxylic groups. *Dyes and Pigments*, 70, 204-211.
- Dodziuk, H. (2006). *Cyclodextrins and their complexes: Chemistry, analytical methods, applications*. Weinheim: Wiley VCH.
- Fernández, L., Machín, R., Zornoza, A., Vélaz, I., Martín, C. & Martínez-Ohárriz, M.C. (2011). Mechanism of sorption and release of a weak acid from beta-cyclodextrin polymers. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 69, 411-415.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G., & Isasi, J.R. (2006). Thermal stability of solid dispersions of naphthalene derivatives with beta-cyclodextrin and beta-cyclodextrin polymers. *Thermochimica Acta*, 444(1), 57-64.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G. & Isasi, J.R. (2007). Isothermic heats of sorption of 1-naphthol and phenol from aqueous solutions by beta-cyclodextrin polymers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 307(1), 64-70.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G. & Isasi, J.R. (2009). Sorption models in cyclodextrin polymers: Langmuir, Freundlich and a dual-mode approach. *Journal of Colloid and Interface Science*, 337, 11-18.
- Giles, C.H., D'Silva, A.P. & Trivedi, A.S. (1970). Use of *para* nitrofenol for specific surface measurement of granular solids and fibres. *Journal of Applied Chemistry of the USSR*, 20(2), 37.
- Hoffman, A.S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced drug delivery reviews*, 54(1), 173-182.
- Lynam, M.M., Kilduff, J.E. & Weber, W.J. (1995). Adsorption of *p*-nitrophenol from dilute aqueous solution. An experiment in physical chemistry with an environmental application. *Journal of Chemical Education*, 72(1), 80-84.
- Machín, R., Isasi, J.R. & Vélaz, I. (2012). β -Cyclodextrin hydrogels as potential drug delivery systems. *Carbohydrate Polymers*, 87, 2024-2030.
-

- Martín del Valle, E.M. (2004). Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*, 39, 1033-1046.
- Okeola, F.O. & Odebunmi, E.O. (2010). Comparison of Freundlich and Langmuir isotherms for adsorption of methylene blue by agrowaste derived activated carbon. *Advances in Environmental Biology*, 4(3), 329-335.
- Pratt, D.Y., Wilson, L.D., Kozinski, J.A. & Mohart, A.M. (2010). Preparation and sorption studies of β -cyclodextrin/epichlorohydrin copolymers. *Journal of Applied Polymer Science*, 116, 2982-2989.
- Romo, A., Peñas, F.J., Isasi, J.R., García-Zubiri, I.X. & González-Gaitano, G. (2008). Extraction of phenols from aqueous solutions by β -cyclodextrin polymers. Comparison of sorptive capacities with other sorbents. *Reactive and Functional Polymers*, 68(1), 406-413.
- Sevillano, X., Isasi, J.R. & Peñas, F.J. (2008). Feasibility study of degradation of phenol in a fluidized bed bioreactor with a cyclodextrin polymer as biofilm carrier. *Biodegradation*, 19, 589-597.
- Sideris, E.E., Valsami, G.N., Koupparis, M.A. & Macheras, P.E. (1999). Studies on the interaction of diflunisal ion with cyclodextrins using ion-selective electrode potentiometry. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(4), 271-278.
- Umpleby, R.J., Baxter, S.C., Chen, Y., Shah, R.N. & Shimizu, K.D. (2001). Characterization of molecularly imprinted polymers with the Langmuir-Freundlich isotherm. *Analytical Chemistry*, 73(19), 4584-4591.
- Uzqueda, M., Zornoza, A., Isasi, J.R., Martín, C., Sánchez, M. & Vélaz, I. (2011). Interactions of terbinafine with beta-cyclodextrin polymers: sorption and release studies. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 69, 469-474.
- Wilson, L.D., Mohamed, M.H. & Headley, J.V. (2011). Surface area and pore structure properties of urethane-based copolymers containing β -cyclodextrin. *Journal of Colloid and Interface Science*, 357, 215-222.
- Yudiarto, A., Kashiwabara, S., Tashiro, Y. & Kokugan, T. (2001). Separation of structural isomers using soluble β -cyclodextrin polymer by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 24, 243-253.
-

CAPÍTULO 3

β-Cyclodextrin hydrogels as potential drug delivery systems

Carbohydrate Polymers, 87, 2024-2030 (2012)

ABSTRACT

β -cyclodextrins (β CD) are cyclic oligosaccharides which have been widely employed for pharmaceutical applications. Discs of insoluble polymers were synthesized by crosslinking β -cyclodextrins with the reagent epichlorohydrin. In this work, the possibility of employing a polymer containing 60 ± 3 % β CD for drug delivery of two antiinflammatory (naproxen and nabumetone) and two antifungal drugs (naftifine and terbinafine) has been investigated. The interaction of naproxen with the polymers was evidenced by X-ray diffractometry, FT-IR spectroscopy and differential thermal analysis. Drug release kinetics were carried out at physiological conditions of pH and temperature, and kinetic and diffusion constants were calculated by fitting 60% of the release profile according to the Korsmeyer-Peppas equation. Also, diffusion coefficients were calculated according to the simplified Higuchi model. The drug release followed a simple Fickian diffusion mechanism for all the model drugs. This study suggests that these hydrogel matrices are potentially suitable as sustained release systems.

Keywords: β -cyclodextrin hydrogels, diffusion coefficients, release profiles, drug delivery

1. INTRODUCTION

β -cyclodextrin (β CD), a natural molecule derived from starch, is a torus-shaped cyclic oligosaccharide with a relatively hydrophobic cavity (Szejtli, 1998). It is well known that this structure gives rise to a remarkable capacity to form inclusion complexes with organic molecules, through host-guest interactions (Dodziuk, 2006). A great variety of applications for CDs has been described: water purification, analytical separations, food and pharmaceutical industry uses (Skold et al., 2009; Szejtli & Osa, 1996; Szente & Szejtli, 2004). Numerous studies have revealed that CDs are capable of improving the solubility and bioavailability of poorly soluble drugs (Loftsson & Masson, 2004; Szejtli & Osa, 1996).

The efficiency and applicability of cyclodextrins can be increased if they are incorporated into a polymeric structure (i.e. an insoluble three-dimensional network) (Cesteros et al., 2006, 2007; García-Zubiri et al., 2007; Renard et al., 1997). In the last 20 years, the pharmaceutical research studies have been focussed on obtaining new compounds useful for drug controlled release. Hydrogels are three dimensional high molecular weight networks which have acquired great importance because of their potential applications (Hoffman, 2002; Liu et al., 2004; Lowman, 2000; Pasparakis & Bouropoulos, 2006; Peppas & Klier, 1991).

β -cyclodextrin insoluble polymers using epichlorohydrin as a crosslinking agent can be obtained as reported previously (Figure 1) (Crini & Morcellet, 2002). The high capacity of retaining water for these polymers suggests the possibility of using them as carriers of drugs for controlled release (Peppas & Ende, 2007). The controlled release allows keeping dosage of drugs within the therapeutic level. This fact reduces the administration frequency, toxicity and potential side effects.

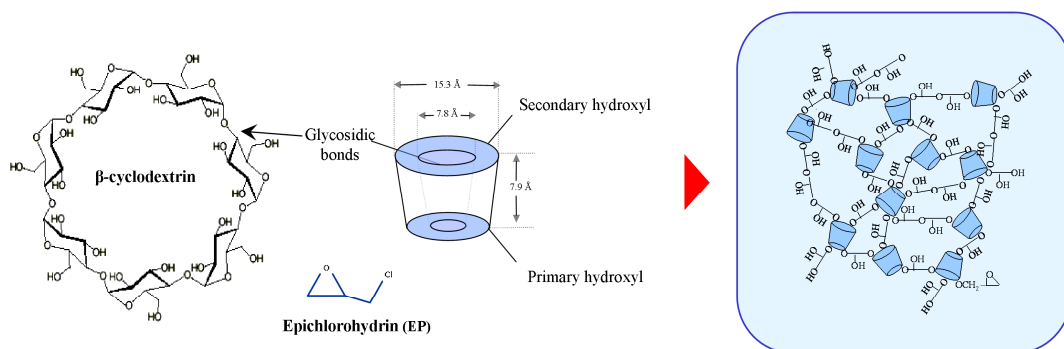


Figure 1 - β CD, epichlorohydrin and polymer network structures.

Once the polymers have been obtained it is important to know the predominant mechanism of drug release (**Lin & Metters**, 2006). Incorporation of CDs into polymeric systems can influence these mechanisms (**Liu et al.**, 2004; **Pariot et al.**, 2002). The quantitative analysis of the physical, chemical and potentially biological phenomena, which are involved in the control of drug release, offers another fundamental advantage: the underlying drug release mechanisms can be elucidated (**Siepmann**, 2008).

Mechanistic mathematical theories are based on real phenomena, such as diffusion, dissolution, swelling, erosion, precipitation and/or degradation. This type of models allows for the determination of system specific parameters that can offer a deeper insight into the underlying drug release behaviour. For instance, the relative importance of several processes that are involved (e.g. drug diffusion and polymer swelling) can be estimated.

The aim of this work is the synthesis and characterization of novel β -cyclodextrin polymers (β CDP) as well as to study their applicability as drug carriers for drug release. The mechanisms involved in the process have been studied using four different model drugs (Naproxen, NAP; Nabumetone, NAB; Naftifine, NF and Terbinafine, TB; *Figure 2*). Naproxen and the prodrug nabumetone have anti-inflammatory effects in the symptomatic treatment of diseases such as osteoarthritis and rheumatoid arthritis. The allylamines naftifine and terbinafine are two antifungal drugs, whose mechanism involves inhibition of squalene epoxidation, an earlier stage in the ergosterol pathway.

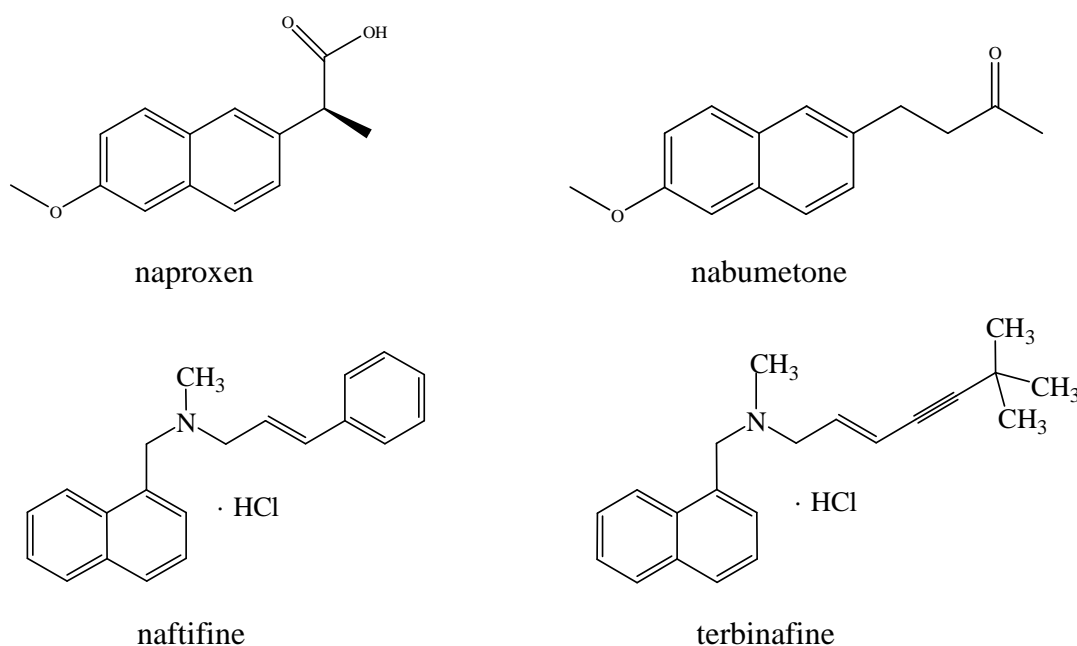


Figure 2 - Chemical structures of the drugs.

Previous works have demonstrated the ability of cyclodextrins to retain the model drugs selected. The interaction between naproxen (Vélaz et al., 1997, 2007) and nabumetone (Chen et al., 2004; Goyenechea et al., 2001, 2002) with β -cyclodextrin molecules have been extensively studied. More recent studies, carried out in our laboratory, have proved the formation of the inclusion complexes between β -cyclodextrin and the two antifungal drugs used as models (Uzqueda et al., 2006, 2010).

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 MATERIALS

β -cyclodextrin was purchased to Wacker (water content $12\pm 1\%$). Naproxen ((+)-6-methoxy- α -methyl-2-naphthaleneacetic acid; $C_{14}H_{14}O_3$; molecular weight: 230.3 g/mol; melting point: 156°C) was obtained from Syntex-Latino. Nabumetone (4-(6-methoxy-2-naphthyl)-2-butanone; $C_{15}H_{16}O_2$; molecular weight: 228.3 g/mol; melting point: 80°C) was from SmithKline-Beecham pharmaceuticals. Naftifine ((E)-N-methyl-N-(1-naphthylmethyl)-3-phenyl-2-propen-1-amine-hydrochloride; $C_{21}H_{22}NCl$; molecular weight: 323.5 g/mol; melting point: $177\text{-}179^\circ\text{C}$) was kindly supplied by Schering. Terbinafine ((E)-N-(6,6-dimethyl-2-hepten-4-ynyl)-N-methyl-1-naphthalenemethylamine-hydrochloride; $C_{21}H_{26}NCl$; molecular weight: 327.9 g/mol; melting point: $203\text{-}207^\circ\text{C}$) was kindly supplied by Novartis. Reagents epichlorohydrin (EP) (Aldrich), NaBH_4 and NaOH (Panreac, analytical grade) were used as received. Release media were prepared using: HCl , Na_2HPO_4 and KH_2PO_4 (Panreac). All other reagents and solvents were from Panreac.

2.2 SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF THE CYCLODEXTRIN POLYMERS

Polymer synthesis

β -cyclodextrin insoluble polymers (β CDP) were synthesized using the reagent epichlorohydrin. The EP:CD ratio was 11:1, and the synthesis temperature ranged between 25 and 60°C . The procedure was previously detailed by García-Zubiri et al. (2006) based on that of Crini et al. (1998).

In order to synthesize the cyclodextrin polymer, 12 g β CD were dissolved in 12 mL H_2O in a thermostated reactor vessel containing $NaBH_4$ (30 mg), that prevents oxidation of β CD. After homogenizing the mixture, an excess of NaOH 40% w/w (13 mL) was added. NaOH deprotonates the hydroxyl groups in the β CD, allowing them to react with EP. Epichlorohydrin was added slowly and with constant stirring at a constant temperature. Stirring continued until there was only a single homogeneous phase (see *Table 1* for approximate gelation times); then the mixture was carefully transferred into a template using a syringe. Templates were made of two silanized glass squares (treated with a 4% solution of dichloromethylsilane in toluene) and a Teflon® ring, forming a cylindrical cavity (diameter 76 mm, thickness 3 mm). The samples were introduced in an oven at the synthesis temperature, until complete gelation. Subsequently, moulds were carefully removed and the gels were cut with a cork borer (diameter 13 mm) to obtain smaller discs.

Once the polymers have been cut in small discs, they were washed twice: water was replaced after 2-3 hours and the discs were left immersed overnight (ca.12 hours) to remove reaction residues (NaOH, reagents) and small polymer particles, which sometimes remain attached to the disc surface. After washing, discs were frozen at $-80^\circ C$, in their equilibrium swollen state, and freeze-dried (*Telstar Cryodos Lyophilizator*) at $-50^\circ C$ (4 h).

Characterization of the polymers

The percentage of cyclodextrin present in each type of polymer was studied by elemental analysis of ground powdered samples (ca. 0.180 g) using a *LECO CHN-2000 analyzer* (**García-Zubiri** et al., 2006). The average of three measurements for the polymers is shown in *Table 1*. This method has been also reported by other authors (**Gao & Zhao**, 2004). In our particular case, we realized that consistency is excellent when the humidity of the sample is also considered in the stoichiometry of the material. Other methods have been proposed in the literature, based on the determination of reducing sugars (**Crini** et al., 1998). In our previous works, we concluded that elemental analysis yields reproducible results while the hydrolysis of the cyclodextrin materials can be somewhat problematic.

Swelling assays were carried out for dried polymers synthesized at four temperatures: 25, 35, 50 and $60^\circ C$ according to standard procedures. The results revealed that the polymers are able to retain 65, 65, 73 and 78 % of water, respectively.

2.3 DRUG LOADING

Freeze-dried discs synthesized at 50°C were loaded with the drugs from ethanol/water solutions. Due to the different solubility of each drug, 40/60 (v/v) ethanol/water solutions were used for the anti-inflammatory drugs (NAP: $5.2 \cdot 10^{-3}$ M; NAB: $3.5 \cdot 10^{-3}$ M), and 30/70 (v/v) ethanol/water solutions were used in the case of the antifungal drugs loading ($3.7 \cdot 10^{-3}$ M). The loading assays were carried out at $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ in a shaking thermostated bath (50 osc/min). Each disc was immersed in 50 mL of loading solution for 48 hours. The loading solutions were changed after 24 hours.

To determine the loaded amount, some discs were placed in a medium that allowed them to release all the drug loaded. The total amount of drug loaded was estimated spectrofluorimetrically (*Perkin Elmer LS-50B spectrofluorimeter*; excitation/emission: 272/353 nm for NAP and NAB; 256/325 nm for NF; 284/325 nm for TB). The assays for the quantification of the amount of drug loaded were performed in triplicate.

2.4 INTERACTIONS BETWEEN NAPROXEN AND β CD

Solid state studies were carried out only for NAP, due to its higher amount of drug loaded compared with NAB, NF and TB. The formation of the complex was evidenced by X-ray diffractometry, IR spectroscopy and differential thermal analysis, by comparison with the NAP/ β CDP physical mixture with the same molar ratio. X-ray powder diffraction patterns were collected on a *Bruker D8 Advance diffractometer* (Karlsruhe, Germany), with a $\text{CuK}_{\alpha 1}$ radiation, at a 40 kV voltage and a 30 mA current ($2\text{-}40^\circ$). The IR spectra were recorded over the range $600\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ with a *Nicolet-FTIR Avatar 360 spectrometer* (WI, USA), using a MKII Golden Gate ATR device, with OMNIC E.S.P. software (128 scans, resolution 2 cm^{-1}). The thermal analysis was performed with a simultaneous *TGA/sDTA 851 Mettler Toledo thermoanalyzer* (Schwerzenbach, Switzerland). The thermal behaviour was studied by heating about 10 mg of the sample at a scan rate of $5^\circ\text{C}/\text{min}$ in a pierced aluminium crucible under static air atmosphere from 25 to 250°C .

2.5 DRUG RELEASE KINETICS

In vitro drug release experiments were carried out using loaded and dried discs. According to the swelling kinetics, sorption and mechanical properties, the discs synthesized at 50°C were selected for these assays. Two different release media were used: pH 7.0

phosphate buffer (simulated intestinal pH) and pH 1.2 HCl solution (simulated gastric pH). The dissolution tests were performed using the USP paddle method at 50 rpm with a *Sotax AT7 smart* (Sotax, Basel, Switzerland). All assays were carried out according to sink conditions. Each loaded disc was placed into a vessel containing 900 mL of release medium at $37.0\pm 0.2^\circ\text{C}$. Aliquots of 3 mL were withdrawn and replaced with fresh medium to keep constant volume. The amount of drug delivered from discs was determined spectrofluorimetrically. Kinetic and diffusion constants were calculated by fitting the release data corresponding to 60% of drug released according to Korsmeyer-Peppas equation (**Lin & Metters, 2006**):

$$M_t/M_\infty = kt^n \quad (1)$$

where t is the release time (min), M_t is the amount of drug delivered at time t , M_∞ is the total amount of drug delivered, k is a kinetic constant related to the network structure and n is a diffusion constant which indicates the mechanism of release. Due to the similar diffusion constants obtained in all the release assays, no other mathematical models (Higuchi, First order or Zero order kinetics (**Costa & Sousa Lobo, 2000**)) were applied.

Diffusion coefficients were determined for all the assays, according to the simplified Higuchi model (**Pitarresi et al., 2002**):

$$q = 2C_0(Dt/\pi)^{1/2} \quad (2)$$

where q is the amount of drug released into the medium per unit area of exposure (mg/cm^2), C_0 is the amount of drug loaded per unit volume of disc (mg/cm^3), D is the apparent diffusion coefficient of each drug (cm^2/s) and t represents the time elapsed since the start of drug release. Values of D were calculated from the slope of the linear regression of q versus $t^{1/2}$.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF THE CYCLODEXTRIN POLYMERS

Several batches of CD polymer were synthesized at different temperatures (25, 35, 50 and 60°C). These polymers were named 1125, 1135, 1150 and 1160, respectively, the first two digits referring to the EP:CD molar ratio used, and the last two digits to the temperature at which each synthesis was carried out.

Samples of each polymer were characterised by elemental analysis (*Table 1*). It can be observed that the amount of cyclodextrin in the polymer is higher at a lower temperature of synthesis. It can be due to the fact that higher temperatures promote the self-reaction of epichlorohydrin so the average distance between the cyclodextrin molecules is increased. Gelation times also depend on synthesis temperature (*Table 1*). The average yield of the synthesis was about 51%. The main characteristics of the discs obtained from the different polymer types are listed in *Table 1*.

Table 1 - Percentage of cyclodextrin, gelation times, and average size and weight of discs, for different synthesized polymers^a

Polymer	% Cyclodextrin	Gelation time (min)	Diameter (mm)	Thickness (mm)	Dry weight (mg)
1125	64 ± 3	250 - 300	12.3 ± 0.1	2.9 ± 0.1	174 ± 2
1135	61 ± 3	120 - 150	12.7 ± 0.2	2.9 ± 0.1	179 ± 2
1150	60 ± 3	45 - 60	13.5 ± 0.3	3.3 ± 0.1	156 ± 8
1160	58 ± 3	25 - 30	14.2 ± 0.1	3.6 ± 0.1	133 ± 2

^a Standard errors are calculated

3.2 DRUG LOADING

A comparative assay was performed by loading lyophilized discs of the four polymer types using the same drug (NAP) in all tests. The results show that 1150 polymer discs were able to retain a higher amount of NAP (*Table 2*). Moreover, they showed higher resistance to breakage than the others; therefore, 1150 polymer discs were selected as the most suitable ones for the controlled release kinetics.

Table 2 - Amount loaded of NAP in 1125, 1135, 1150 and 1160 polymer discs^a

Polymer	Amount loaded (mg/disc)	Amount loaded (mg/g dry polymer)
1125	9±2	50±1
1135	16±3	90±2
1150	23±1	156±3
1160	18±1	130±1

^a Standard errors are calculated

The amount of drug loaded (average of at least 3 discs) was successfully quantified in 1150 polymer discs. The results are shown in *Table 3*. The sorption capacity is related to the formation of inclusion complexes with the cyclodextrin units and to physical adsorption in the polymer network (**Gazpio** et al., 2008). NAP showed the highest amount loaded probably due to the higher value of NAP-βCD complex stability constant (**Goyenechea** et al., 2001; **Uzqueda** et al., 2009; **Vélaz** et al., 1997); although complex stability constants studied were obtained by different techniques in aqueous solutions, NAP presents a stronger interaction with βCD in the loading solution.

Table 3 - Amount loaded of model drugs in 1150 polymer discs^a

Drug	Amount loaded (mg/disc)	Amount loaded (mg/g dry polymer)
Naproxen	22.6±0.4	156±3
Nabumetone	2.0±0.6	14±4
Naftifine	1.8±0.2	11±1
Terbinafine	1.8±0.3	12±2

^a Standard errors are calculated

3.3 INTERACTIONS BETWEEN NAPROXEN AND β CDP

The diffraction patterns are shown in *Figure 3*. The physical mixture pattern was a superposition of both single components. Main naproxen peaks between $2\theta = 5^\circ$ to 30° can be observed, suggesting the presence of free drug in this sample. In contrast, in the loaded polymer pattern, NAP peaks could not be observed, probably because the drug inclusion within CD cavities and its sorption into polymer network prevent its crystallization.

Differential thermal analysis of NAP showed an endothermic peak at $158\text{-}160^\circ\text{C}$, corresponding to the melting point of the drug (*Figure 4*). This peak was also detected in the physical mixture, but it disappeared in the loaded polymer. This fact can be considered as an evidence of complex formation between NAP and β CDP, in agreement with the X-ray diffraction study shown in *Figure 3*.

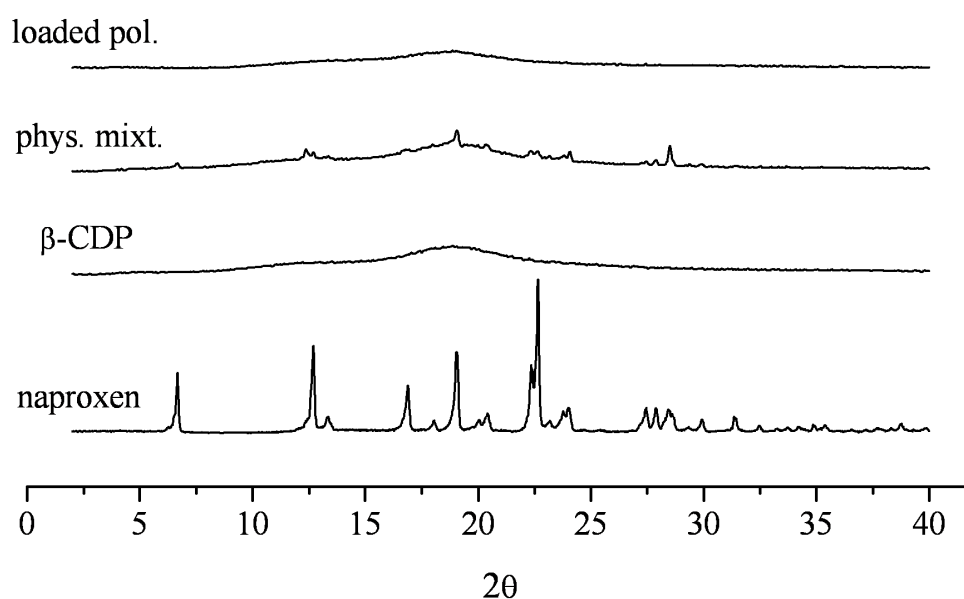


Figure 3 - X-ray diffraction patterns of NAP, β CDP, physical mixture and loaded polymer

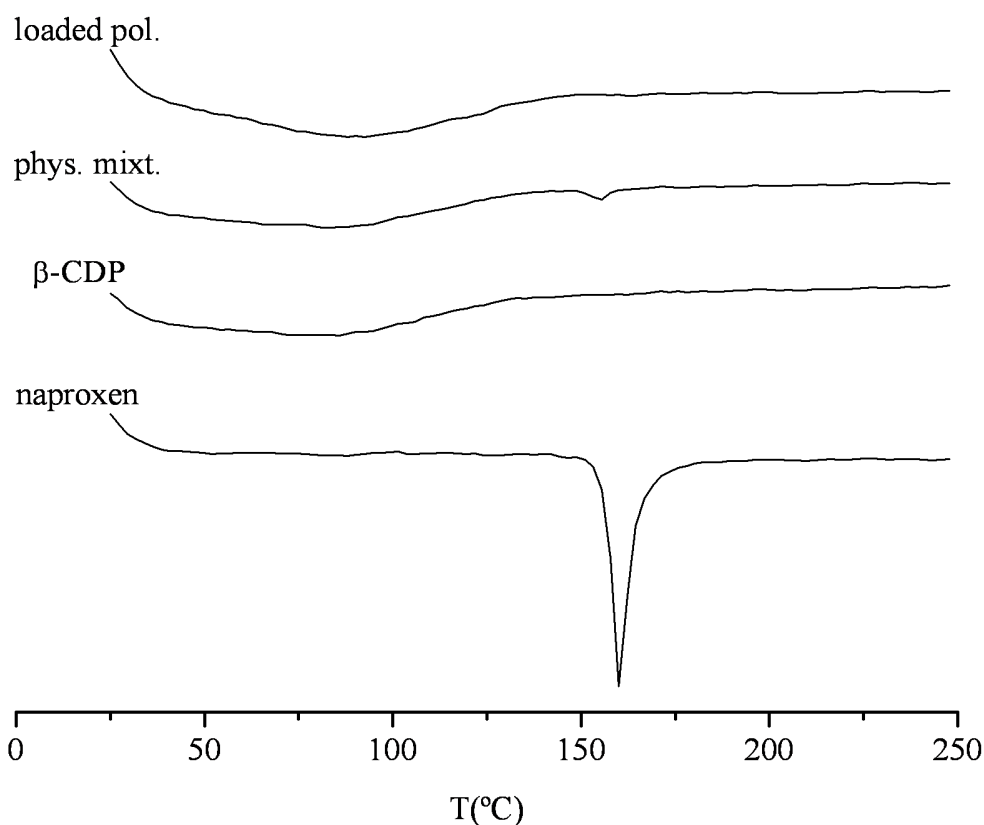


Figure 4 - DTA thermograms of NAP, β CDP, physical mixture and loaded polymer

Figure 5 shows the FT-IR spectra of solid dispersions. The vibration modes detected at 1026 and 857 cm^{-1} correspond to C-O-C bonds in naproxen. The band at 1726 cm^{-1} is attributed to C=O stretching vibration. Figure 5a shows the C-O-C naproxen bands in the case of the physical mixture, but not for the loaded polymer. Moreover, the band at 1726 cm^{-1} , corresponding to the carbonyl stretching region (Figure 5b), is observed in the physical mixture and also for the loaded polymer, confirming the presence of NAP in both polymer samples. It can be inferred that the interaction between the drug and the polymer occurs; probably through the methoxy group of naproxen.

Moreover, β CDP presents an intense band located at 1650 cm^{-1} , corresponding to the δ -HOH bending of water molecules attached to β CD (Netto-Ferreira et al., 2000). This band has been shifted to lower frequencies for the spectrum corresponding to the loaded polymer. This effect could be attributed to naproxen molecules replacing water molecules in the cyclodextrin cavities as previously shown for other systems (García-Zubiri et al., 2006).

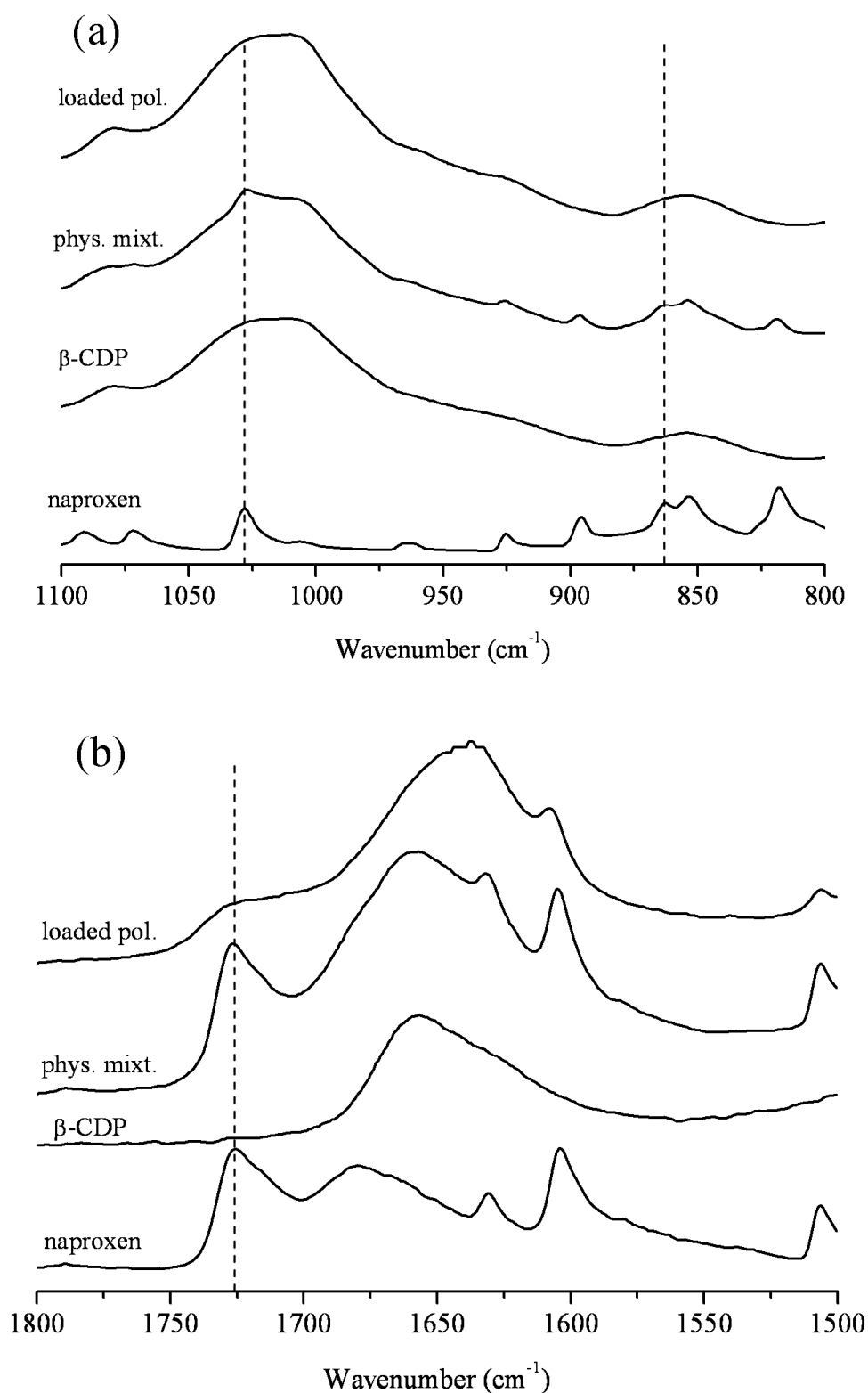


Figure 5 - FTIR spectra of NAP, β CD polymer, physical mixture and loaded polymer, in (a) the 1100–800 cm^{-1} region (broken lines: modes at 857 cm^{-1} and 1026 cm^{-1}), and (b) the carbonyl stretching region (broken line: mode at 1726 cm^{-1}).

3.4 CONTROLLED RELEASE KINETICS

All the release experiments were carried out at 37°C in pH 1.2 and 7.0. The percentages released were calculated taking into account the amounts loaded. The amount of NAP released at pH 7.0 (64±10% of the amount loaded) was higher than that delivered in the acidic medium (11±1%). This is a reasonable result taking into account that NAP is an acidic drug ($pK_a = 4.2$), so at pH 7.0 it is in its ionised form. In these conditions, the solubility of the drug is 250±10 mg/L eight-fold higher than at pH 1.2 (31±6 mg/L). NAB, however, presents similar behaviours at both pH values (slightly higher at pH 7.0 (38±3%) than at pH 1.2 (21±2%)), in accordance with the absence of ionisable groups (*Figure 2*). NF and TB present a low solubility at pH 7.0 (NF: 11±1 mg/L; TB: 5±2 mg/L) (**Uzqueda** et al., 2006, 2010). For this reason, the amounts released were much higher in acidic media (NF: 77±2%; TB: 96±6%) than at pH 7.0 (NF: 15±2%; TB: 10±3%) for both drugs.

The drug release profiles obtained at 37°C are compiled in *Figure 6*. *Table 4* shows the kinetic and diffusion constants calculated according to Ec.(1). NAP kinetic constant at pH 7.0 is higher than pH 1.2 because of its acidic nature. In contrast, kinetic constants are similar for NAB at both media; this is consistent with the ketonic nature of the drug. In the case of the two allylamines, the kinetic parameters obtained (*Table 4*) can be related to the chemical structure of the drug and to the stability constants of their inclusion complexes with β CD (NF: 830 M⁻¹; TB: 1400 M⁻¹ at 25°C (**Uzqueda** et al., 2009)). The higher kinetic constant of NF compared to that of TB can be associated to its lower stability constant, which leads to a poorer entrapment of the drug in the polymer. Constants could not be determined at pH 7.0 for the antifungal drugs, due to its extremely low solubility in this medium, yielding a negligible amount released and a greater experimental error.

Table 4 - Kinetic and diffusion constants calculated according to Korsmeyer-Peppas equation for model drugs in 1150 polymer discs, at 37°C^a

Drug	pH	r²	k (x10²)	n
Naproxen	7.0	0.995	4.9±0.6	0.47±0.03
	1.2	0.995	1.9±0.2	0.53±0.01
Nabumetone	7.0	0.995	2.2±0.2	0.54±0.02
	1.2	0.990	2.8±0.5	0.53±0.03
Naftifine	1.2	0.991	5.2±0.9	0.45±0.03
Terbinafine	1.2	0.990	3.0±0.4	0.52±0.03

^a Standard errors are calculated

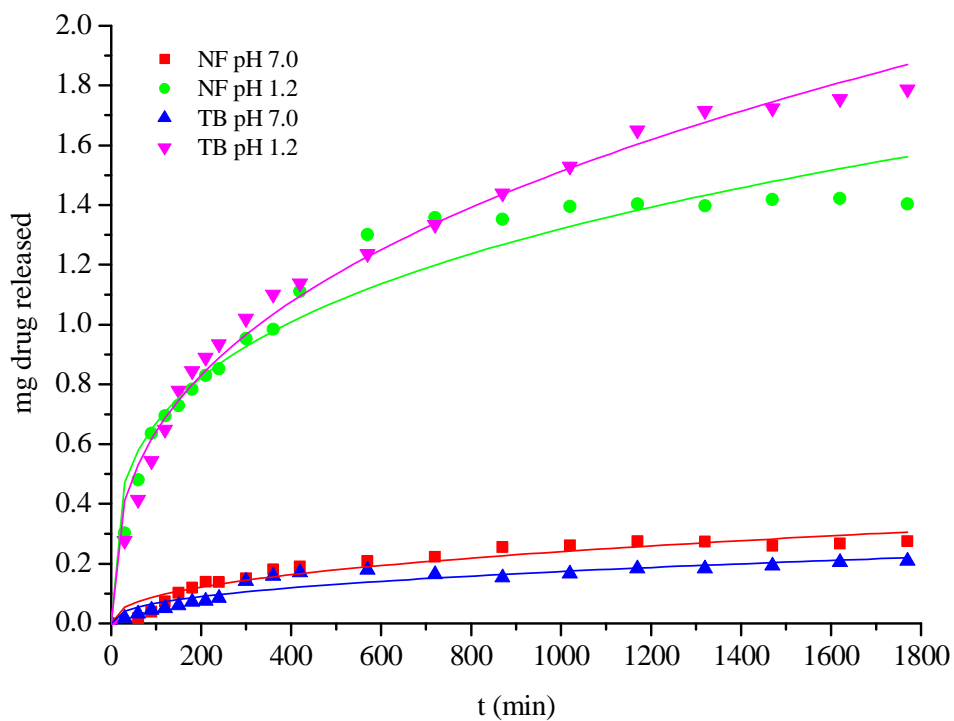
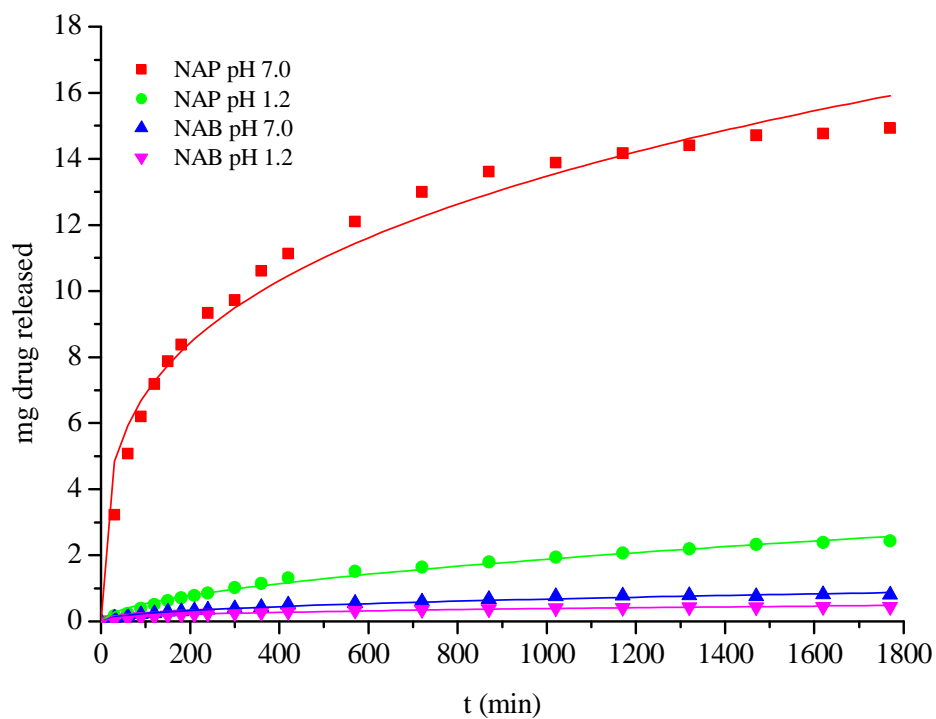


Figure 6 - Release profiles of model drugs obtained at pH 7.0 and pH 1.2 at 37°C

According to n values, a delivery system can be classified into three different types (Namazi & Kanani, 2009): a) n values near 0.5 refer to a simple Fickian diffusion mechanism; b) a value of n of about 1.0 means a Case II transport, that reflects the influence of polymer relaxation on guest molecules movement in the matrix; c) if n takes a value between 0.5-1.0 this indicates a non-Fickian or anomalous behaviour, when the Fickian transport and polymer relaxation occur simultaneously and their rates are comparable (Ritger & Peppas, 1987a, 1987b). Values of n close to 0.5 in all the assays point to a simple Fickian diffusion (Case I diffusion).

In order to determine diffusion coefficients, at least three assays for each drug and medium were plotted using Eq.(2) (Figure 7), obtaining a good linear relationship ($r > 0.98$). Linearity is kept only for the first 60% of released drug data in all the assays, which confirms the decision of fitting release data to Eq.(1) up to that time. Table 5 shows that apparent diffusion coefficients are much higher for each drug in its most favourable release medium; these results are consistent with kinetic constants shown in Table 4.

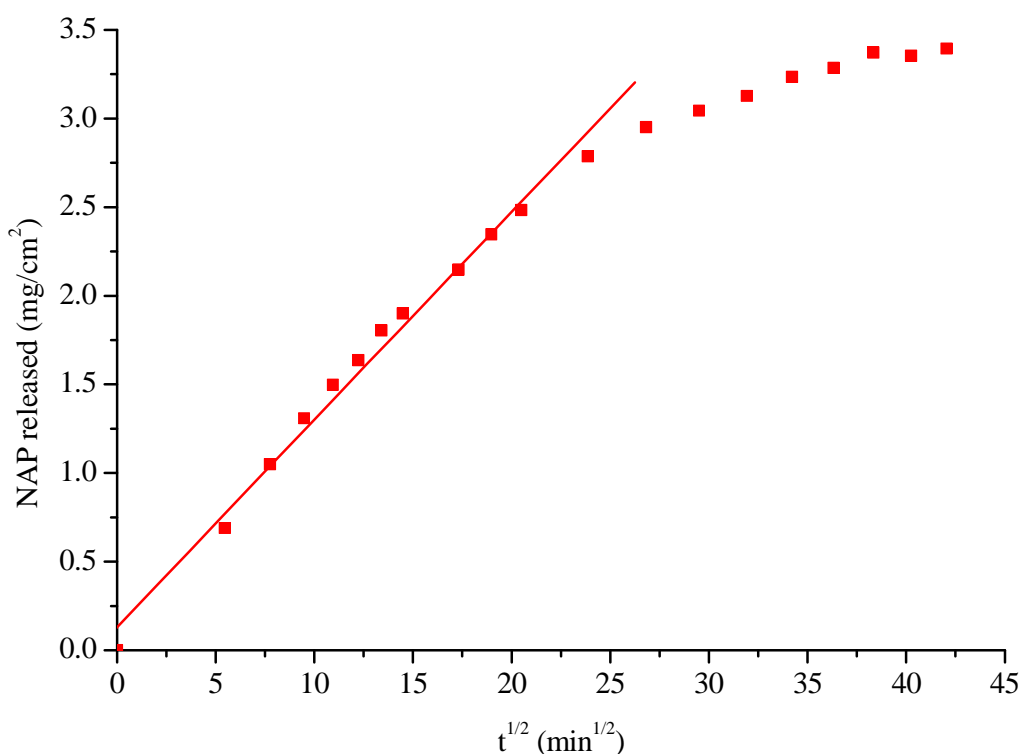


Figure 7 - Amount of NAP released per unit area of exposure at pH 7.0 as a function of the square root of time

Table 5. Drug diffusion coefficients (D, cm²/s) at 37°C

Drug	pH	r	D (cm²/s) x 10⁸
Naproxen	7.0	0.994	7.6
	1.2	0.986	0.1
Nabumetone	7.0	0.997	2.3
	1.2	0.992	0.9
Naftifine	1.2	0.992	13.5
Terbinafine	1.2	0.988	15.3

4. CONCLUDING REMARKS

Cyclodextrin-epichlorohydrin insoluble polymers have been used widely in our group for sorption and release studies of different substances, not only drugs but also pollutants (Fernández et al., 2011; García-Zubiri et al., 2003, 2006, 2007; Gazpio et al., 2008; Maddens et al., 2011; Uzqueda et al., 2011; Vélaz et al., 2007). In this work, we propose a novel polymeric hydrogel synthesized with a controlled geometry, as a drug carrier for controlled release. The interest of a controlled geometry system lies in the possibility to obtain kinetic parameters by fitting experimental data to mathematical models for drug release (Lin & Metters, 2006), and to obtain diffusion coefficients according to the contact surface of the polymeric matrix. It has been demonstrated that solute transport in swellable hydrophilic polymers is affected by a variety of structural and physical characteristics of the crosslinked polymers and by the nature of the solutes used (Brazel & Peppas, 1999, 2000). Knowing kinetic parameters and diffusion coefficients of a particular drug delivery system allows us to achieve progress in the design of new polymeric matrices, by using either different crosslinking agents or other cyclodextrins, according to the structure of the selected model drugs.

Acknowledgements

The authors wish to thank to Universidad de Navarra (PIUNA) and Ministerio de Ciencia y Tecnología (project no. MAT2007-65752) for the financial aid and to Gobierno de Navarra for the grant of R. Machín.

REFERENCES

- Brazel, C.S., Peppas, N.A. (1999). Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers. *Polymer*, 40, 3383-3398.
- Brazel, C.S., Peppas, N.A. (2000). Modeling of drug release from swellable polymers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 49, 47-58.
- Cesteros, L.C., Ramírez, C., Peciña, A., & Katime, I. (2006). Poly(ethylene glycol-beta-cyclodextrin) gels: Synthesis and properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 102(2), 1162-1166.
- Cesteros, L.C., Ramírez, C., Peciña, A., & Katime, I. (2007). Synthesis and properties of hydrophilic networks based on poly(ethylene glycol) and beta-cyclodextrin. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 208(16), 1764-1772.
- Chen, W., Chang, C., & Gilson, M. (2004). Calculation of cyclodextrin binding affinities: Energy, entropy, and implications for drug design. *Biophysical Journal*, 87(5), 3035-3049.
- Costa, P., Manuel, J., & Lobo, S. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(2), 123-133.
- Crini, G., Cosentino, C., Bertini, S., Naggi, A., Torri, G., & Vecchi, C. (1998). Solid state NMR spectroscopy study of molecular motion in cyclomaltoheptaose (beta-cyclodextrin) crosslinked with epichlorohydrin. *Carbohydrate Research*, 308(1-2), 37-45.
- Crini, G., & Morcellet, M. (2002). Synthesis and applications of adsorbents containing cyclodextrins. *Journal of Separation Science*, 25(13), 789-813.
- Dodziuk, H. (2006). *Cyclodextrins and their complexes: Chemistry, analytical methods, applications*. Weinheim: Wiley VCH.
- Fernández, L.; Machín, R.; Zornoza, A.; Vélaz, I.; Martín, C., & Martínez-Ohárriz, C. (2011). Mechanism of sorption and release of a weak acid from beta-cyclodextrin polymers. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 69, 411-415.
- Gao, Z., Zhao, X. (2004). Two roles of guest and crosslinked degree on hydrosoluble beta-cyclodextrin polymer electrorheological fluids. *Polymer*, 45, 1609-1615.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G., Sánchez, M., & Isasi, J.R. (2003). FTIR study of dibenzofuran-2-carboxylic acid and its complexes with beta-cyclodextrin. *Vibrational Spectroscopy*, 33(1-2), 205-213.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G., & Isasi, J.R. (2006). Thermal stability of solid dispersions of naphthalene derivatives with beta-cyclodextrin and beta-cyclodextrin polymers. *Thermochimica Acta*, 444(1), 57-64.
-

- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G., & Isasi, J.R. (2007). Isosteric heats of sorption of 1-naphthol and phenol from aqueous solutions by beta-cyclodextrin polymers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 307(1), 64-70.
- Gazpio, C., Sánchez, M., Isasi, J.R., Vélaz, I., Martín, C., & Martínez-Ohárriz, C. (2008). Sorption of pindolol and related compounds by a beta-cyclodextrin polymer: Isosteric heat of sorption. *Carbohydrate Polymers*, 71(1), 140-146.
- Goyenechea, N., Sánchez, M., Vélaz, I., Martín, C., Martínez-Ohárriz, C., & Zornoza, A. (2002). Interactions of nabumetone with cyclodextrins in solution and in the solid state. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, 44(1-4), 283-287.
- Goyenechea, N., Sánchez, M., Vélaz, I., Martín, C., Martínez-Ohárriz, M., & González-Gaitano, G. (2001). Inclusion complexes of nabumetone with beta-cyclodextrins: Thermodynamics and molecular modelling studies. Influence of sodium perchlorate. *Luminescence*, 16(2), 117-127.
- Hoffman, A. S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(1), 3-12.
- Lin, C., & Metters, A. (2006). Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12-13), 1379-1408.
- Liu, Y., Fan, X., Hu, H., & Tang, Z. (2004). Release of chlorambucil from poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels with beta-cyclodextrin moieties. *Macromolecular Bioscience*, 4(8), 729-736.
- Loftsson, T., & Masson, M. (2004). The effects of water-soluble polymers on cyclodextrins and cyclodextrin solubilization of drugs. *STP Pharma Sciences*, 14(1), 35-43.
- Lowman, A. M. (2000). Complexing polymers in drug delivery. In D. L. Wise (Ed.), *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology* (pp. 89-98).
- Maddens, T., Vélaz, I., Machín, R., Isasi, J.R., Martín, C., Martínez-Ohárriz, M.C., & Zornoza, A. (2011). Complexation of ebastine with beta-cyclodextrin derivatives. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 70, 415-419.
- Namazi, H., & Kanani, A. (2009). Investigation diffusion mechanism of beta-lactam conjugated telechelic polymers of PEG and beta-cyclodextrin as the new nanosized drug carrier devices. *Carbohydrate Polymers*, 76(1), 46-50.
- Netto-Ferreira, J.C., Ilharco, L.M., García, A.R., & Ferreira, L.F.V. (2000). Characterization of solid complexes between aromatic ketones and beta-cyclodextrin using diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy. *Langmuir*, 16(26), 10392-10397.
- Pariot, N., Edwards-Levy, F., Andry, M., & Levy, M. (2002). Cross-linked beta-cyclodextrin microcapsules. II. Retarding effect on drug release through semi-permeable membranes. *International Journal of Pharmaceutics*, 232(1-2), 175-181.
-

- Pasparakis, G., & Bouropoulos, N. (2006). Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate-chitosan beads. *International Journal of Pharmaceutics*, 323(1-2), 34-42.
- Peppas, N., & Ende, D. (1997). Controlled release of perfumes from polymers .2. incorporation and release of essential oils from glassy polymers. *Journal of Applied Polymer Science*, 66(3), 509-513.
- Peppas, N., & Klier, J. (1991). Controlled release by using poly (methacrylic acid-g-ethylene glycol) hydrogels. *Journal of Controlled Release*, 16(1-2), 203-214.
- Pitarresi, G., Cavallaro, G., Giammona, G., De Guidi, G., Salemi, M., & Sortino, S. (2002). New hydrogel matrices containing an anti-inflammatory agent. Evaluation of in vitro release and photoprotective activity. *Biomaterials*, 23(2), 537-550.
- Renard, E., Deratani, A., Volet, G., & Seville, B. (1997). Preparation and characterization of water soluble high molecular weight beta-cyclodextrin-epichlorohydrin polymers. *European Polymer Journal*, 33(1), 49-57.
- Ritger, P., & Peppas, N. (1987a). A simple equation for description of solute release. I. Fickian and non-Fickian release from non-swelling devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *Journal of Controlled Release*, 5(1), 23-36.
- Ritger, P., & Peppas, N. (1987b). A simple equation for description of solute release. II. Fickian and anomalous release from swelling devices. *Journal of Controlled Release*, 5(1), 37-42.
- Siepmann, J., & Siepmann, F. (2008). Mathematical modeling of drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 364(2), 328-343.
- Skold, M., Thyne, G., Drexler, J., & McCray, J. (2009). Solubility enhancement of seven metal contaminants using carboxymethyl-beta-cyclodextrin (CMCD). *Journal of Contaminant Hydrology*, 107(3-4), 108-113.
- Szejtli, J., & Osa T. (Ed.) (1996). *Cyclodextrins, comprehensive supramolecular chemistry, Vol 3*, Pergamon, Oxford, UK.
- Szejtli, J. (1998). Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical Reviews*, 98(5), 1743-1753.
- Szente, L., & Szejtli, J. (2004). Cyclodextrins as food ingredients. *Trends in Food Science Technology*, 15(3-4), 137-142.
- Uzqueda, M., González-Gaitano, G., Wouessidjewe, D., Zornoza, A., Sánchez, M., Martín, C., & Vélaz, I. (2009). Spectroscopic characterisation of the inclusion complexes between the antifungal drugs naftifine and terbinafine and cyclodextrins. *Supramolecular Chemistry*, 21(8), 759-769.
- Uzqueda, M., Martín, C., Zornoza, A., Sánchez, M., Martínez-Ohárriz, M., & Vélaz, I. (2006). Characterization of complexes between naftifine and cyclodextrins in solution and in the solid state. *Pharmaceutical Research*, 23(5), 980-988.
-

- Uzqueda, M., Martín, C., Zornoza, A., Sánchez, M., & Vélaz, I. (2010). Physicochemical characterization of terbinafine-cyclodextrin complexes in solution and in the solid state. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, 66(3-4), 393-402.
- Uzqueda, M., Zornoza, A., Isasi, J.R., Martín, C., Sánchez, M., & Vélaz, I. (2011). Interactions of terbinafine with beta-cyclodextrin polymers: sorption and release studies. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 69, 469-474.
- Vélaz, I., Sánchez, M., Martín, C., Martínez-Ohárriz, M. C., & Zornoza, A. (1997). Interactions of naproxen with vinylpyrrolidone and β -cyclodextrin: A fluorimetric study. *International Journal of Pharmaceutics*, 153(2), 211-217.
- Vélaz, I., Machín, R., Zornoza, A., Safont, B., Martínez-Ohárriz, M.C., González-Gaitano, G., Martín, C., Sánchez, M., & Isasi, J.R. (Poster). New drug delivery systems based on beta-cyclodextrin polymers. *Optimising drug therapy: an imperative for world health*, Amsterdam, 2007 (e-book of abstracts: DD-W-105).
-

CAPÍTULO 4

Mechanisms of drug release from hydrogel matrices containing single and mixed natural cyclodextrins

ABSTRACT

Hydrogel networks of α , β or γ -cyclodextrin (CD) and mixtures of α/β or β/γ CDs have been obtained using epichlorohydrin (EP) as a crosslinking agent. Discs of the resulting polymers were evaluated as drug carriers for controlled release using the antiinflammatory naproxen (NAP), loaded from ethanol/water solutions. The β CD polymer (β CDP) has shown the highest amount of drug loaded and the lowest one corresponds to the polymer containing α CD, in agreement with the affinities for NAP of the corresponding cyclodextrins.

In addition, *in vitro* drug release kinetics assays from the loaded discs have been carried out and the release profiles at physiological conditions of pH and temperature have been obtained. Using suitable mathematical models, the kinetic parameters and the apparent diffusional coefficients have been calculated. It can be inferred that a simple Fickian diffusion mechanism occurs, except for the mixed polymers at pH 1.2 (anomalous transport) and in the case α CDP at pH 7.0 (*burst* phenomenon). Furthermore, the diffusion and relaxation contributions have been determined for the mixed polymers in order to achieve progress in the design of new polymer matrices according to the structure of the selected drugs.

Keywords: cyclodextrin hydrogels, drug delivery, diffusion coefficients, release mechanisms

1. INTRODUCTION

In the present days, efforts to develop novel polymers for formulation of controlled release oral dosage forms are abundant (**Bajpai et al.**, 2008; **Lowman**, 2000; **Moya-Ortega et al.**, 2012; **Rodríguez-Tenreiro et al.**, 2007). Controlled drug delivery involves the application of physical and polymer chemistry to produce well characterized and reproducible dosage forms, providing a promising way to decrease the possible side effects of drugs by preventing the fluctuation of the therapeutic concentration of the drug in the body (**Alderman**, 1984). The common goal is to exert control over release rate and duration, which depend on the mechanisms implicated (**Costa & Sousa Lobo**, 2001; **Lin & Metters**, 2006; **Siepmann & Siepmann**, 2008). Knowing the delivery profile and the mechanisms involved in a drug release process can be very helpful in the design of potential matrix systems with pharmaceutical applications.

A matrix system is defined as a support with a controlled geometry that regulates the release of a drug according to the contact surface of the matrix with the medium. Cyclodextrins (CD) are cyclic oligosaccharides formed by α -(1-4) bonds of six, seven or eight glucopyranose units, named α , β and γ CD, respectively. Cyclodextrins show a relatively hydrophobic inner cavity and it is well known that this structure gives rise to a remarkable capacity to form inclusion complexes with hydrophobic organic molecules through host-guest interactions (**Szejtli**, 1998). In addition, according to the number of its glucopyranose units, the CD molecules show different inner cavity diameters, so different sized molecules are expected to interact with each of them. Therefore, taking into account the characteristics of the drug, it is possible to choose different cyclodextrins to design a suitable matrix. It is expected that cyclodextrins increase their applicability when they are incorporated into an insoluble polymeric structure. It is known that the insoluble polymers obtained by crosslinking β CD with epichlorohydrin (EP) possess the ability to swell in the presence of water (hydrogels) (**Crini et al.**, 1998). These systems have a great importance in the field of controlled release and are known as “swellable controlled release systems” (**Ritger & Peppas**, 1987). In these systems, the release of a drug is controlled by one or more of the following processes: transport of the solvent into the polymer matrix, swelling of the associated polymer, diffusion of the solute through the matrix, and erosion/relaxation of the swollen polymer (**Lin & Metters**, 2006).

In an aqueous medium, a hydrophilic matrix is capable of retaining water and begins to hydrate from the periphery towards the centre forming a gelatinous swollen mass. Then, a solvent penetration front is produced at the interface between the dry and hydrated polymer. The thickness of this layer is related to the diffusion extent of the drug released. If the drug release follows a simple Fickian diffusion, a linear relationship between the amount of drug released and the square root of time is obtained and the results adjust to the Higuchi model (**Higuchi**, 1963).

However, diffusion is generally not the only mechanism controlling drug release. It has been shown that in aqueous media the polymer undergoes a relaxation process resulting in a slow direct erosion of the hydrated polymer. Therefore, both mechanisms contribute to the overall drug release rate and a careful balance between diffusion and erosion processes is needed to optimise drug release to achieve a constant rate of release, i.e. zero order kinetics (**Sujja-areewath** et al., 1998).

Previous studies have revealed that insoluble cyclodextrin networks (CDP) obtained using epichlorohydrin as a crosslinking agent show a considerable capacity to retain different compounds (**García-Zubiri** et al., 2006, 2007; **Li** et al., 2010; **Liu** et al., 2011; **Moya-Ortega** et al., 2011; **Sancey** et al., 2011). Hydrogels composed of cyclodextrins present some benefits as drug delivery systems. Covalent attachment of CDs to chemically crosslinked networks may enable CDs to fully display their complexation capability and, at the same time, prevent the dilution phenomenon that occurs when solutions and physical gels are administered. Once in contact with the physiological fluids, the hydrogel swells but the volume of water taken up is limited by the polymer network and, consequently, the polymeric chains do not dissolve and move apart. This creates a microenvironment rich in cavities available to interact with the guest drug molecules. In such a network, the affinity of the drug molecules for the CD cavities controls the delivery. Drug affinity for the CD network is expected to be sensitive to the environmental conditions or to the presence of certain competitors for the CDs, opening the possibility of developing hydrogels that self-regulate drug delivery. This provides CD hydrogels with a unique potential as controlled-release devices (**Álvarez-Lorenzo** et al., 2011).

In this work, polymers obtained by the reaction between EP and α , β or γ CD or mixtures of α/β or β/γ CD have been investigated (*Figure 1*). Previously, we proposed a novel polymeric hydrogel of β CD, synthesized with a controlled geometry, as a drug carrier for

controlled release (**Machín** et al., 2012). The interest of testing the matrices using a controlled geometry device lies in the possibility of obtaining kinetic parameters by fitting experimental data to mathematical models (**Lin & Metters**, 2006).

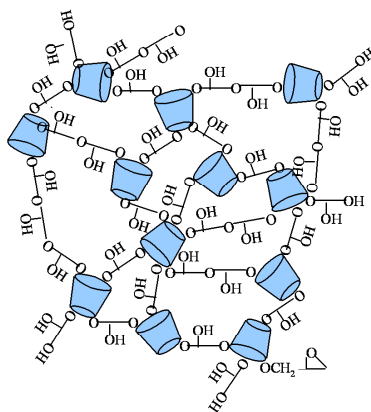


Figure 1 – Scheme of the CD polymer structure.

The applicability of the synthesized polymers for drug delivery has been evaluated using the antiinflammatory naproxen (NAP, *Figure 2*) as a model drug. Several authors have developed different diffusion-controlled drug delivery systems using naproxen as a model drug, such as inorganic hydrogels (**Carriazo** et al., 2010), bioerodible systems (**Grolleman** et al., 1986), hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) based systems (**Katzhendler** et al., 2000) or poly(L-lactic acid) matrices (**Miyajima** et al., 1999). Furthermore, NAP has been also applied for the design of zero order release matrices as HPMC based systems (**Conti** et al., 2007), and other potential drug delivery devices, as hyaluronic acid hydrogel particles (**Ekici** et al., 2011) or chitosan systems (**Mura** et al., 2003).

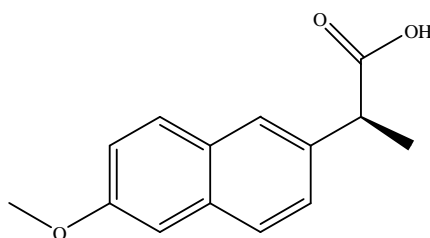


Figure 2 – Chemical structure of naproxen.

The interaction of NAP with different cyclodextrins and their derivatives has been previously described (**Banik** et al., 2012; **Bettinetti** et al., 1989; **Vélaz** et al., 1997), so it is expected to be an appropriate drug for the loading of the polymers synthesized in this work. Thus, ground mixtures of naproxen with amorphous beta-cyclodextrin soluble and insoluble polymers were investigated for both solid phase characterization and dissolution properties (**Mura** et al., 2002). In addition, Martín and col. observed an increase in the NAP solubility and calculated the apparent inclusion constant for the drug with a water-soluble β -cyclodextrin polymer (**Martín** et al., 2006).

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 MATERIALS

α , β and γ -cyclodextrins (α , β , γ CD) were commercial products (Wacker). Reagents epichlorohydrin (EP; Aldrich), NaBH_4 and NaOH (Panreac, analytical grade) were used as received. Naproxen [NAP; (+)-6-methoxy- α -methyl-2-naphtaleneacetic acid; $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_3$; molar mass: 230.3 g/mol; melting point: 156°C] was obtained from Roig Farma. Release media were prepared using the following reagents: HCl, Na_2HPO_4 and KH_2PO_4 (Panreac). All other reagents and solvents were from Panreac.

2.2 SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF THE POLYMERS

Polymer synthesis

Cyclodextrin insoluble polymers (CDP) containing α , β , γ CD, and 50:50 nominal mixtures of α/β or β/γ CD were synthesized using the reagent epichlorohydrin (EP). The synthesis temperature was 50°C and CD:EP ratio was 1:11 for all the synthesized polymers. The procedure was previously detailed by **García-Zubiri** et al. (2006) based on that of **Crini** et al. (1998), and the employ of moulds to obtain cyclodextrin polymers with a controlled geometry has been recently reported (**Cesteros** et al., 2009; **Machín** et al., 2012). These moulds consist on a Teflon® ring between two glass squares (treated with a 4% solution of dichloromethylsilane in toluene), forming a cylindrical cavity (diameter 76 mm, thickness 3 mm) where CD polymer networks reach the gel point.

After complete gelation in an oven (50°C), the moulds were carefully removed and gels were cut with a cork borer to obtain smaller discs of the desired size (diameter 13±1 mm). The resulting discs were immersed in water overnight to remove possible reaction residues. Due to toxicity of epichlorohydrin, the polymers have been purified before use, and the presence of free residual EP is improbable (**Crini & Peindy**, 2006). The purified discs were freeze-dried (*Telstar Cryodos Lyophilizator*) for 4-5 hours at -50°C (the samples were previously frozen at -80°C for 30 minutes).

Characterization and swelling kinetics of the cyclodextrin polymers

The total amount of cyclodextrin present in each type of polymer was studied by elemental analysis of ground powdered samples (ca. 0.180 g) using a LECO CHN-2000 analyzer (**García-Zubiri et al.**, 2006). This method has been also reported by other authors (**Gao & Zhao**, 2004), and used previously in our group with consistent results (**Machín et al.**, 2012).

In order to characterize the structure of the networks of the synthesized polymers, swelling kinetic studies were carried out at constant temperature. Dried hydrogel discs were immersed in an excess (1L) of distilled water at 25°C, using a heating bath. The swelling kinetics analyses were performed following standard procedures (**Cesteros et al.**, 2006, 2007; **Quintana et al.**, 1999).

The amount of water retained inside the hydrogels in the equilibrium state can be expressed mathematically in different ways, as a swelling degree or a swelling factor (**Katime et al.**, 2004). In this work, the swelling factors (F) were calculated according to the following equation:

$$F = w_w / w_d \quad (1)$$

where w_w is the weight of water taken up by the polymer (mg), and w_d is the weight of the dry polymer disc (mg). According to **Ritger and Peppas** (1987), the swelling factor (F) and the time (t) are related by an exponential function:

$$F_t = kt^n \quad (2)$$

where k is a constant related to the structure of network and n is an exponent indicative of the

type of diffusion (**Lin et al.**, 2007; **Ritger & Peppas**, 1987; **Saraydin & Çaldiran**, 2001); a value of n equal to 0.5 indicates that the water uptake follows a Fickian behaviour. The first 60% of the water uptake data were fitted to Eq.(2) and the corresponding values of k and n were obtained (**Hariharan & Peppas**, 1996).

For a more comprehensive study, the area under curve (AUC) of the plot F_t versus t (0-150 min) for the different polymers was also determined.

2.3 DRUG LOADING

Freeze-dried discs (155 ± 5 mg) of the five different polymers synthesized at 50°C were loaded from 5.2×10^{-3} M of NAP in 40/60 (v/v) ethanol/water solutions.

The loading assays were carried out at $25\pm 0.1^\circ\text{C}$ in a shaking thermostated bath (50 osc/min). Each disc was immersed in 50 mL of loading solution for 48 hours, changing the solutions after the first 24 hours. To determine the amount loaded, some discs were placed in an adequate medium to release all the drug loaded (i.e. pH 7.0 phosphate buffer). The total amount of drug loaded in each case was estimated spectrofluorimetrically from these experiments (*Perkin Elmer LS-50B spectrofluorimeter*; excitation/emission: 272/353 nm, slits: 5 nm). The assays were performed in triplicate.

2.4 CONTROLLED RELEASE KINETICS

The drug release experiments were developed using the USP paddle method (**USP**, 2010) at 50 rpm in a *SOTAX AT7 smart* (Sotax, Basel, Switzerland), with dried discs previously loaded with the drug (**Machín et al.**, 2012). The release media used simulated physiological pH: pH 7.0 phosphate buffer (intestinal pH) and pH 1.2 HCl solutions (gastric pH). Each loaded disc was placed into a Sotax vessel containing 900 mL of release medium at $37\pm 0.2^\circ\text{C}$. Aliquots of 3 mL were withdrawn and replaced with fresh medium to keep a constant volume. The amount of drug delivered from the discs was determined spectrofluorimetrically. Sink conditions were taken into account: the drug concentration in the dissolution fluids did not exceed 1/3 of NAP solubility (**USP**, 2010).

2.5 MATHEMATICAL MODELLING

Korsmeyer-Peppas model

Korsmeyer and col. developed a simple, semiempirical model, which relates exponentially drug release with the elapsed time:

$$M_t/M_\infty = k_{KP}t^n \quad (3)$$

where t is the release time (min), M_t is the amount of drug delivered at time t , M_∞ is the total amount of drug delivered, k_{KP} is a kinetic constant, and the diffusional exponent, n , gives an indication of the mechanism of drug release and takes various values depending on the geometry of the release device: in the case of wafers, n equals 0.5 for the diffusion, is ca. 0.65 to 0.85 for the non-Fickian diffusion (i.e. a mixed diffusion and chain relaxation mechanisms) and 1.0 for the zero order kinetics (**Korsmeyer** et al., 1983). A value of n close to unity means a Case II transport, which reflects the influence of polymer relaxation on the guest molecules movement within the matrix. Values of n greater than 1 result in what some authors called Super Case II-transport (**Ritger & Peppas**, 1987; **Sinclair & Peppas**, 1984). To determine these constants, the first 60% drug release data were fitted to Eq.(3). The same percentage was applied to all models described below.

Higuchi model

Higuchi (1963) developed several theoretical models to study the drug release. In summary, a simplified Higuchi model can be expressed as:

$$M_t/M_\infty = k_H t^{0.5} \quad (4)$$

where t is the release time (min), M_t is the amount of drug delivered at time t , M_∞ is the total amount of drug delivered, and k_H is the Higuchi diffusion constant. This model shows good correlation in the release profiles whose predominant mechanism is simple Fickian diffusion.

Using the simplified Higuchi model (**Pitarresi** et al., 2002), diffusional coefficients were determined according to:

$$q = 2C_0(Dt/\pi)^{0.5} \quad (5)$$

where q is the amount of drug released into the medium per unit area of exposure (mg/cm^2), C_0 is the amount of drug loaded per unit volume of disc (mg/cm^3), D is the apparent diffusion coefficient of drug (cm^2/s) and t represents the time elapsed since the start of drug release. Due to the good linearity observed, values of D were calculated from the slope of the linear regression of q versus $t^{1/2}$.

Zero order kinetic model

The equation for zero order release is (Costa & Sousa Lobo, 2001):

$$M_t = M_0 + k_0 t \quad (6)$$

where t is the release time (min), M_t is the amount of drug delivered at time t , M_0 is the initial amount of drug in the solution, and k_0 is the zero order release constant. Due to the different total amounts of drug released from the synthesized polymers, a standardized version of this equation was used in this work, as follows:

$$M_t/M_\infty = k'_0 t \quad (7)$$

where t is the release time (min), M_t is the amount of drug delivered at time t , M_∞ is the total amount of drug delivered, and k'_0 is the zero order release constant ($k_0 = k'_0 M_\infty$). The release profiles that present a better fit to this model generally agree with those that show a Case II transport mechanism in the Korsmeyer-Peppas model.

First order kinetic model

A standardized version of the first order equation can be expressed as follows (Costa & Sousa Lobo, 2001):

$$M_t/M_\infty = e^{-k_1 t} \quad (8)$$

where t is the release time (min), M_t is the amount of drug delivered at time t , M_∞ is the total amount of drug delivered, and k_1 is the first order release constant. This model shows good correlations in the release profiles whose predominant mechanism is simple diffusion anomalous behaviour.

Peppas-Sahlin model

The contribution of Fickian and non-Fickian release can be evaluated by using the **Peppas-Sahlin** model equation (1989):

$$M_t/M_\infty = k_D t^m + k_R t^{2m} \quad (9)$$

where t is the release time (min), M_t is the amount of drug delivered at time t , M_∞ is the total amount of drug delivered, the first term of the right-hand side is the Fickian contribution (k_D is the diffusional constant) and the second term is the Case II relaxational contribution (k_R is the relaxational constant), and m is the Fickian diffusion exponent for a device of any geometrical shape. The value of m for our tablets was 0.45 as determined from the plot of aspect ratio (diameter/thickness) against diffusional exponent (**Peppas & Sahlin**, 1989). The k_D and k_R values were used to calculate the contribution percentage of Fickian diffusion (F_D) and relaxation (R), respectively, with Equations 10 and 11 (**Peppas & Sahlin**, 1989):

$$F_D = \frac{1}{1 + \frac{k_R t^m}{k_D}} \quad (10)$$

$$\frac{R}{F_D} = \frac{k_R t^m}{k_D} \quad (11)$$

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 CHARACTERIZATION AND SWELLING KINETICS OF THE CYCLODEXTRIN POLYMERS

The total amount of cyclodextrin present in each type of polymer was studied by elemental analysis. The polymers with single CDs showed a similar percentage of α , β , and γ CD units (68 ± 1 , 68 ± 4 and 69 ± 5 , respectively). The percentage of CD in the mixed polymers was 72 ± 5 for α/β CDP and 62 ± 5 for β/γ CDP. Due to the similar reactivity of the different CDs, the ratio between CDs in the mixed polymers was considered similar to the nominal percentage (i.e. 50/50).

The degree of swelling of the hydrogel discs in water and the corresponding kinetics of the process were studied following standard procedures. The swelling factors (F) as well as the values of k and n constants were calculated according to equations (1) and (2). The obtained F values evidence the great affinity of the polymer discs towards aqueous media, which gives them potential ability to release entrapped solutes in a biological medium. Values of n close to 0.5 in all the assays show that the swelling process follows a simple Fickian diffusion (*Table 1*).

Table 1 - Swelling factors (F), and constants k and n and AUC obtained from the swelling kinetics of the polymers at 25°C

Polymer	F	k x10²	n	AUC
α CDP	2.8±0.1	6.9±0.2	0.56±0.01	108
α/β CDP	3.1±0.1	7.1±0.1	0.56±0.01	113
β CDP	2.7±0.2	7.0±0.2	0.57±0.01	115
β/γ CDP	3.1±0.1	7.0±0.3	0.56±0.01	102
γ CDP	2.6±0.1	7.2±0.6	0.54±0.02	102

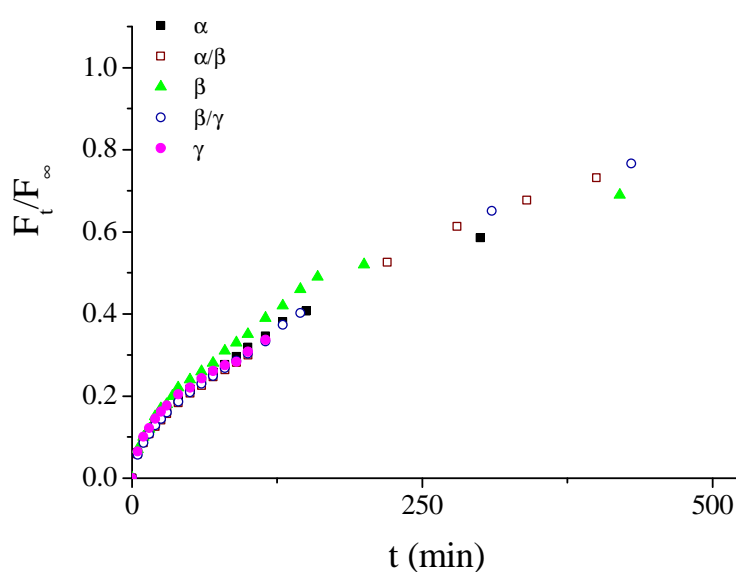


Figure 3 - Standardized swelling profiles of the polymers at 25 °C.

There are no significant differences between the swelling profiles for the five polymers (*Figure 3*), as can be seen from the medium values of F and k , taking into account the 99% confidence intervals (CI_{99}): $F = 2.9$, $CI_{99} = 2.6-3.1$; $k = 7.0$, $CI_{99} = 6.9-7.2$. Also, the swelling profiles were compared calculating the average of the area under curve between 0 and 150 minutes (*Table 1*). The results obtained again show no significant differences ($AUC = 107$, $CI_{99} = 101-115$). Therefore, it can be inferred that the networks of different synthesized polymers are remarkably similar allowing a better comparison of both loading and drug release data.

3.2 DRUG LOADING

Previous works have revealed that the sorption capacity of β CDP hydrogels is related to the formation of inclusion complexes with the cyclodextrin units and also to the adsorption within the polymer networks (**García-Zubiri et al., 2007**; **Gazpio et al., 2008**). As mentioned above, the networks of all the synthesized polymers are similar, so differences in the amounts of drug loaded should be attributed to the types of cyclodextrin present in each polymer.

The amounts of NAP loaded (average values of at least 3 discs) were successfully quantified, and are compiled in *Table 2*. β CDP showed the highest amount loaded probably due to the higher value of NAP- β CD complex stability constant [β CD (1702 M^{-1}) > γ CD (179 M^{-1}) > α CD (40 M^{-1}) at 25°C , determined by the solubility method (**Bettinetti et al., 1989**)]. The two other single CD polymers, i.e. α CDP and γ CDP, exhibited lower amounts of drug loaded, in agreement with a less favoured inclusional affinity of the corresponding CD units, and the mixed polymers presented intermediate values, as expected.

Table 2 - NAP loaded and released from discs of the different polymers, at pH 1.2 and 7.0

Polymer	NAP loaded		NAP released			
	(mg/disc)	(mg/g)	pH 7.0 (mg/g)	pH 1.2 (mg/g)	pH 7.0 (%)	pH 1.2 (%)
α CDP	6.3±0.1	41±1	33±1	6±1	81±1	16±4
α/β CDP	13.8±0.1	90±3	70±2	12±1	77±3	14±1
β CDP	22.6±0.4	156±3	99±17	16±1	63±8	10±1
β/γ CDP	17±1	108±3	80±4	16±1	74±4	15±1
γ CDP	12.0±0.3	75±2	59±3	16±1	79±4	21±2

3.3 CONTROLLED RELEASE KINETICS

All the release experiments were carried out at 37°C in two different media: pH 1.2 and 7.0. The amounts of NAP released at pH 7.0 were higher than those delivered in the acidic medium for the five polymers (*Table 2, Figure 4*). This is a reasonable result considering that NAP is an acidic drug ($pK_a = 4.2$), so at pH 7.0 it is in its ionised form and, in these conditions, the solubility of the drug is 250 ± 10 mg/L, eight times higher than in its neutral form at pH 1.2 (31 ± 6 mg/L) (**Machín** et al., 2012; **Vélaz** et al., 1997). The percentages of NAP released were calculated taking into account the amounts loaded (*Table 2*). Comparing these values, it is observed that the polymer containing β CD show the lowest percentage, once again because of the higher affinity of NAP for β CD with respect to α CD and γ CD. Thus, although the amount loaded is higher for β CDP, a percentage of the drug remains retained and is not released.

In order to determine diffusion coefficients (D), the release data (q vs $t^{0.5}$) were plotted using Eq.(5) (*Figure not shown*), and good linear correlations ($r > 0.98$) were obtained. As expected, the diffusion coefficients calculated are much higher for the drug in its most favourable release medium (*Table 3*); these results are consistent with the percentage of NAP released (*Table 2*). Moreover, comparing the values of D at pH 7.0, it is observed that the value for β CDP is the lowest, due to a higher retention of the drug for this polymer. The matrices containing cyclodextrins with reduced affinity for NAP (α CDP and γ CDP) show higher values of D because the diffusion of the drug to the medium is favoured. On the other hand, the mixed polymers present intermediate values, as expected according to their CD composition.

The drug release profiles obtained at pH 1.2 and 7.0 at 37.0 ± 0.1 °C are shown in *Figure 4*, expressed both as the total amount (mg) and as a fraction, related to the total amount delivered. The parameters obtained in all the release assays by applying all the mathematical models described in section 2.5 are compiled in *Table 4*. Referring to n values, calculated with the Korsmeyer-Peppas model [Eq.(3)], a simple Fickian diffusion mechanism occurs (values of n close to 0.5), except with α CDP at pH 7.0 and with the mixed polymers at acidic pH. The data of the processes governed by Fickian diffusion fit very well to the Higuchi model [Eq.(4)]. As can be seen in *Table 4*, the values of k_H (Higuchi constants) for a given polymer are always higher at pH 7.0, according to the higher solubility of naproxen in this medium. Also, although the amount of NAP loaded varies according to the different

polymers, some considerations could be made regarding the apparent k_H values at pH 7.0. As can be seen in *Table 4*, α CDP and γ CDP present higher values compared to that of β CDP; this fact could be related to the stability constants of the inclusion complexes of NAP with the different cyclodextrins. On the other hand, the mixed polymers α/β CDP and β/γ CDP show the lowest values of k_H , which implies a slower release in comparison with the other networks.

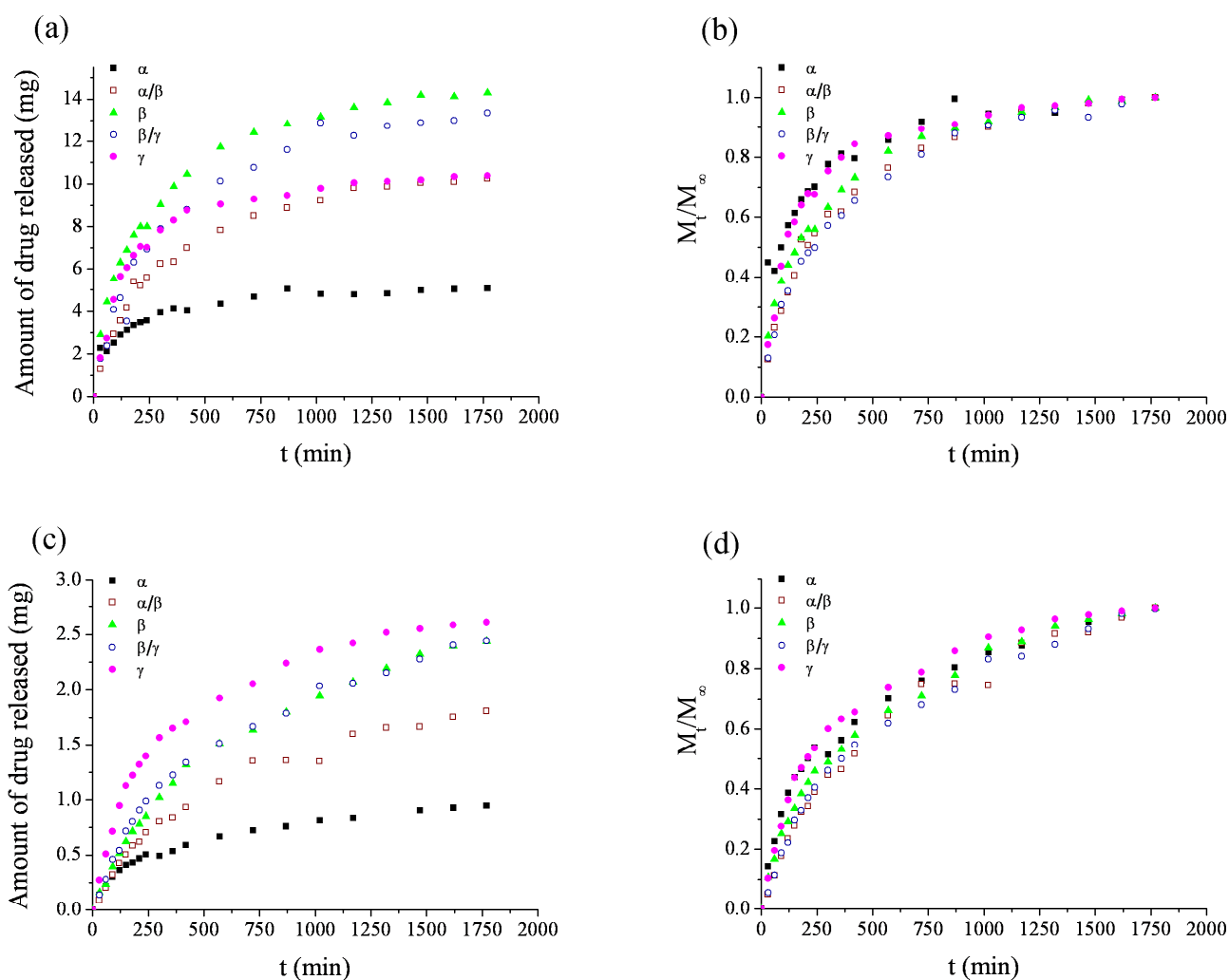


Figure 4 - Release profiles of naproxen at pH 7.0 and $37.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, expressed as mg (a) and M_t/M_∞ (b) of drug released, and pH 1.2, as mg (c) and M_t/M_∞ (d)

Table 3 - NAP diffusion coefficients

Polymer	pH	r	D (cm ² /s) x 10 ⁸
α CDP	7.0	0.992	12.0
	1.2	0.991	0.3
α/β CDP	7.0	0.995	10.4
	1.2	0.997	0.3
β CDP	7.0	0.994	7.6
	1.2	0.986	0.1
β/γ CDP	7.0	0.996	10.2
	1.2	0.995	0.3
γ CDP	7.0	0.991	13.4
	1.2	0.994	0.5

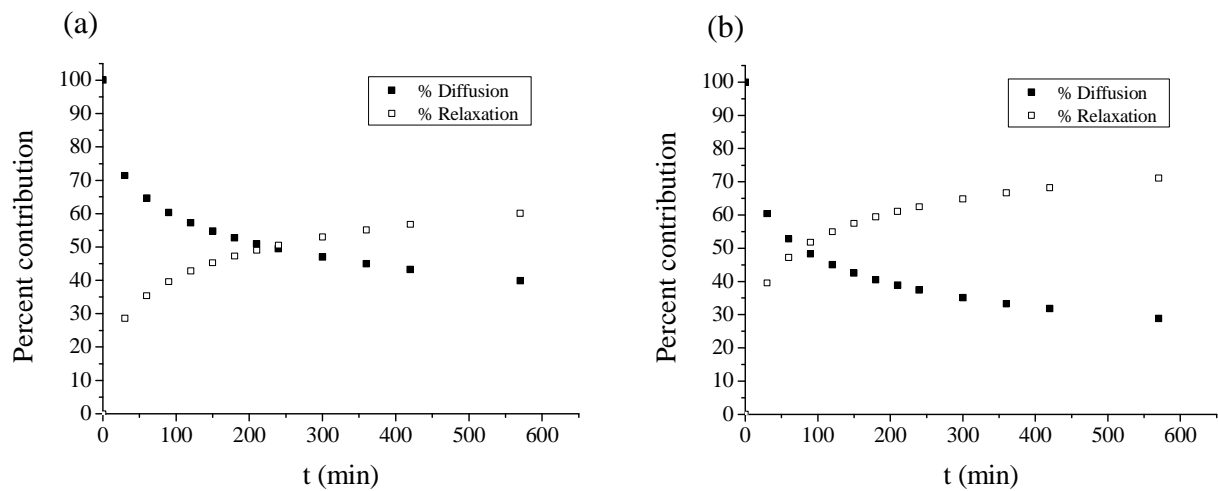


Figure 5 - Percentage contributions of the Fickian diffusion (F_D) and the relaxational mechanisms (R) in the release of naproxen from α/β CD (a) and β/γ CD (b) polymers at pH 1.2

For both α/β CD and β/γ CD mixed polymers at pH 1.2, n was determined to be 0.67 and 0.71, respectively (*Table 4*). These values point to an anomalous (non-Fickian) behaviour (**Vueba et al., 2005**), consisting of a coupling of diffusion and macromolecular relaxation mechanisms. These systems present an acceptable fitting to the first order kinetic model, and a very similar first order constant (k_1). A more comprehensive study was performed by using the Peppas-Sahlin model and Equations (10) and (11) (**Sujja-areevath et al., 1998**). The percentage contributions of Fickian diffusion and macromolecular relaxation over the first 60% of drug released are shown in *Figure 5*. In both cases, Fickian diffusion predominates on the first part of the dissolution period, and decreases gradually until the relaxation mechanism becomes more important. However, the predominance of relaxation appears significantly earlier in the case of β/γ CDP, which is consistent with its highest value of n compared to that of α/β CDP. Because of the participation of both mechanisms, these polymers show a more sustained release, pointing to a possible synergistic effect by the mixture of two different cyclodextrins in the same polymer network.

Finally, with α CDP at pH 7.0 ($n < 0.5$, *Table 4*), a rapid drug release is observed; a “burst” delivery seems to occur indicating that the release occurs mostly from the polymer network, in agreement with a lower affinity of the α CD cavities present in this matrix.

Table 4 - Model parameters^a for NAP-CDP at 37°C

pH	Polymer	Korsmeyer-Peppas			Higuchi		First order		Zero order		Peppas Sahlin		
		$k_{KP} \times 10^2$	n	R^2	$k_H \times 10^2$	R^2	$k_1 \times 10^3$	R^2	$k_0 \times 10^3$	R^2	$k_D \times 10^3$	$k_R \times 10^3$	R^2
7.0	α CDP	10.5±0.8	0.34±0.02	0.998	5.0±0.2	0.967	7.0±0.8	0.843	4.2±0.5	0.604	8.0±0.4	0	0.997
	α/β CDP	2.1±0.3	0.58±0.02	0.994	3.2±0.1	0.986	3.1±0.1	0.966	2.1±0.1	0.825	2.9±0.3	0.11±0.02	0.993
	β CDP	4.9±0.6	0.47±0.02	0.995	4.2±0.1	0.993	5.1±0.4	0.925	3.2±0.3	0.715	5.3±0.4	0.02±0.04	0.994
	β/γ CDP	2.2±0.4	0.56±0.02	0.995	3.1±0.1	0.989	2.8±0.1	0.950	1.8±0.1	0.830	2.9±0.2	0.09±0.02	0.994
	γ CDP	3.2±0.2	0.54±0.02	0.994	4.4±0.1	0.986	4.4±0.2	0.964	3.3±0.2	0.850	4.0±0.3	0.10±0.03	0.993
1.2	α CDP	3.7±0.8	0.48±0.04	0.975	3.3±0.1	0.974	3.4±0.2	0.911	2.1±0.2	0.570	4.2±0.5	0.01±0.04	0.973
	α/β CDP	0.9±0.2	0.67±0.03	0.988	2.4±0.1	0.948	1.9±0.1	0.985	1.3±0.1	0.886	1.5±0.3	0.13±0.02	0.984
	β CDP	2.0±0.2	0.54±0.01	0.995	2.5±0.1	0.992	1.9±0.1	0.934	1.2±0.1	0.700	2.6±0.1	0.05±0.01	0.994
	β/γ CDP	0.8±0.2	0.71±0.04	0.987	2.5±0.1	0.939	2.1±0.1	0.989	1.5±0.1	0.921	1.2±0.3	0.17±0.03	0.983
	γ CDP	2.3±0.6	0.56±0.04	0.976	3.3±0.1	0.970	3.2±0.1	0.966	2.0±0.1	0.774	3.3±0.5	0.09±0.04	0.971

^a Bold type indicates the best fitting model after studying Korsmeyer-Peppas

4. CONCLUDING REMARKS

The main focus of our research in the last few years has been the study of the interactions of cyclodextrin-epichlorohydrin resins with different substrates, such as drugs (**Fernández et al.**, 2011; **Gazpio et al.**, 2008; **Uzqueda et al.**, 2011) and pollutants (**Romo et al.**, 2008). Recently, the design of controlled geometry delivery devices (**Machín et al.**, 2012) has opened a wide range of possibilities in the study of drug release profiles by mathematical models (**Lin & Metters**, 2006).

In this work, we have studied the release of a previously well-known model drug (NAP), from polymer matrices based on different cyclodextrins. The different release profiles obtained have been correctly defined, identifying in each case the release mechanisms and the corresponding kinetic constants. Also, the more sustained release observed in the mixed polymers can be very useful in the design of matrices close to a zero order release.

The results obtained along this study provide useful information to achieve progress in the design of new polymeric matrices. Future studies may be directed to accomplish further characterization of the mixed CD networks, to synthesize matrices using optimal ratios of each type of cyclodextrin better suited for a given drug, or even to employ the mixed polymers to retain two drugs with different structures in the same matrix.

Acknowledgements

The authors wish to thank to C. Martín and S. Ardanza-Trevijano for helpful discussions, to Universidad de Navarra (PIUNA) and Ministerio de Ciencia y Tecnología (project no. MAT2007-65752) for the financial aid, and to Gobierno de Navarra for the grant of R. Machín.

REFERENCES

- Alderman, D.A. (1984). A review of cellulose ethers in hydrophilic matrices for oral controlled release dosage form. *International Journal of Pharmaceutical Technology and Product Manufacture*, 5, 1-9.
- Álvarez-Lorenzo, C., Moya-Ortega, M.D., Loftsson T., Concheiro, A. & Torres-Labandeira, J.J. (2011). Cyclodextrin-based hydrogels. In E. Bilensoy (Ed.) *Cyclodextrins in pharmaceuticals, cosmetics and biomedicine* (pp. 297-321). New Jersey: John Willey & Sons, Inc.
- Bajpai, A.K., Shukla, S.K., Bhanu, S. & Kankane, S. (2008). Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science*, 33, 1088-1118.
- Banik, A., Gogoi, P. & Saikia, M.D. (2012). Interaction on naproxen with β -cyclodextrin and its derivatives/polymer: experimental and molecular modeling studies. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 72, 449-458.
- Bettinetti, G.P., Mura, P., Liguori, A., Bramanti, G. & Giordano, F. (1989). Solubilization and interaction of naproxen with cyclodextrins in aqueous solution and in the solid state. *Il Farmaco*, 44, 195-213.
- Carriazo, D., Del Arco, M., Martín, C., Ramos, C. & Rives, V. (2010). Influence of the inorganic matrix nature on the sustained release of naproxen. *Microporous and Mesoporous Materials*, 130, 229-238.
- Cesteros, L.C., Ramírez, C., Pecina, A. & Katime, I. (2006). Poly(ethylene glycol-beta-cyclodextrin) gels: Synthesis and properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 102(2), 1162-1166.
- Cesteros, L.C., Ramírez, C., Pecina, A. & Katime, I. (2007). Synthesis and properties of hydrophilic networks based on poly(ethylene glycol) and beta-cyclodextrin. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 208(16), 1764-1772.
- Cesteros, L.C., González-Teresa, R. & Katime, I. (2009). Hydrogels of β -cyclodextrin crosslinked by acylated poly(ethylene glycol): Synthesis and properties. *European Polymer Journal*, 45(3), 674-679.
- Conti, S., Maggi, L., Segale, L., Ochoa Machiste, E., Conte, U., Grenier, P. & Vergnault, G. (2007). Matrices containing NaCMC and HPMC: 2. Swelling and release mechanism study. *International Journal of Pharmaceutics*, 333(1-2), 143-151.
- Costa, P. & Sousa Lobo, J.M. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(2), 123-133.
- Crini, G., Cosentino, C., Bertini, S., Naggi, A., Torri, G. & Vecchi, C. (1998). Solid state NMR spectroscopy study of molecular motion in cyclomaltoheptaose (beta-cyclodextrin) crosslinked with epichlorohydrin. *Carbohydrate Research*, 308(1-2), 37-45.
- Crini, G. & Peindy, H.N. (2006). Adsorption of C.I. Basic Blue 9 on cyclodextrin-based material containing carboxylic groups. *Dyes and Pigments*, 70, 204-211.
-

- Ekici, S., Ilgin, P., Butun, S. & Sahiner, N. (2011). Hyaluronic acid hydrogel particles with tunable charges as potential drug delivery devices. *Carbohydrate Polymers*, 84(4), 1306-1313.
- Fernández, L., Machín, R., Zornoza, A., Vélaz, I., Martín, C. & Martínez-Ohárriz, M.C. (2011). Mechanism of sorption and release of a weak acid from beta-cyclodextrin polymers. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 69, 411-415.
- Gao, Z. & Zhao, X. (2004). Two roles of guest and crosslinked degree on hydrosoluble β -cyclodextrin polymer electro rheological fluids. *Polymer*, 45(5), 1609–1615.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G. & Isasi, J.R. (2006). Thermal stability of solid dispersions of naphthalene derivatives with beta-cyclodextrin and beta-cyclodextrin polymers. *Thermochimica Acta*, 444(1), 57-64.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G. & Isasi, J.R. (2007). Isosteric heats of sorption of 1-naphthol and phenol from aqueous solutions by beta-cyclodextrin polymers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 307(1), 64-70.
- Gazpio, C., Sánchez, M., Isasi, J.R., Vélaz, I., Martín, C., Martínez-Ohárriz, M.C. & Zornoza, A. (2008). Sorption of pindolol and related compounds by a beta-cyclodextrin polymer: Isosteric heat of sorption. *Carbohydrate Polymers*, 71(1), 140-146.
- Grolleman, C.W.J., De Visser, A.C., Wolke, J.G.C., Van der Goot, H. & Timmerman, H. (1986). Studies on a bioerodible drug carrier system based on a polyphosphazene. *Journal of Controlled Release*, 4, 119-131.
- Hariharan, D. & Peppas, N.A. (1996). Characterization, dynamic swelling behaviour and solute transport in cationic networks with applications to the development of swelling-controlled release systems. *Polymer*, 37(1), 149-161.
- Higuchi, T. (1963). Mechanism of sustained-action medication: theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52(12), 1145-1149.
- Katime, I., Katime, O. & Katime, D. (2004). *Los materiales inteligentes en este milenio. Los hidrogeles macromoleculares: Síntesis, propiedades y aplicaciones*. (1st ed.). Spain: Ed. Universidad del País Vasco, (Chapter 4).
- Katzhendler, I., Mäder, K. & Friedman, M. (2000). Structure and hydration properties of hydroxypropyl methylcellulose matrices containing naproxen and naproxen sodium. *International Journal of Pharmaceutics*, 200(2), 161-179.
- Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P. & Peppas, N.A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 15, 25-35.
- Li, N., Mei, Z. & Ding, S. (2010). 2,4-Dichlorophenol sorption on cyclodextrin polymers. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 68, 123-129.
-

- Lin, C. & Metters, A. (2006). Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12-13), 1379-1408.
- Lin, Z., Wu, W., Wang, J. & Jin, X. (2007). Studies on swelling behaviors, mechanical properties, network parameters and thermodynamic interaction of water sorption of 2-hydroxyethyl methacrylate/novolac epoxy vinyl ester resin copolymeric hydrogels. *Reactive and Functional Polymers*, 67, 789-797.
- Liu, H.H., Cai, X., Wang, Y. & Chen, J. (2011). Adsorption mechanism-based screening of cyclodextrin polymers for adsorption and separation of pesticides from water. *Water Research*, 45(11), 3499-3511.
- Lowman, A.M. (2000). Complexing polymers in drug delivery. In Wise, D.L. (Ed.) *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology* (pp. 89-98). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Machín, R., Isasi, J.R. & Vélaz, I. (2012). β -Cyclodextrin hydrogels as potential drug delivery systems. *Carbohydrate Polymers*, 87, 2024-2030.
- Martín, R., Sánchez, I., Cao, R. & Rieumont, J. (2006). Solubility and kinetic release studies of naproxen and ibuprofen in soluble epichlorohydrin-beta-cyclodextrin polymer. *Supramolecular Chemistry*, 18(8), 627-631.
- Miyajima, M., Koshika, A., Okada, J. & Ikeda, M. (1999). Mechanism of drug release from poly(L-lactic acid) matrix containing acidic or neutral drugs. *Journal of Controlled Release*, 60, 199-209.
- Moya-Ortega, M.D., Messner, M., Jansook, P., Nielsen, T.T., Wintgens, V., Lambertsen Larsen, K., Amiel, C., Sigurdsson, H.H. & Loftsson, T. (2011). Drug loading in cyclodextrin polymers: dexamethasone model drug. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 69(3-4), 377-382.
- Moya-Ortega, M.D., Álvarez-Lorenzo, C., Sigurdsson, H.H., Concheiro, A. & Loftsson, T. (2012). Cross-linked hydroxypropyl β -cyclodextrin and γ -cyclodextrin nanogels for drug delivery: physicochemical and loading/release properties. *Carbohydrate Polymers*, 87, 2344-2351.
- Mura, P., Faucci, M.T., Maestrelli, F., Furlanetto S. & Pinzauti, S. (2002) Characterization of physicochemical properties of naproxen systems with amorphous beta-cyclodextrin-epichlorohydrin polymers. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 29(6), 1015-1024.
- Mura, P., Zerrouk, N., Mennini, N., Maestrelli, F. & Chemtob, C. (2003). Development and characterization of naproxen-chitosan solid systems with improved drug dissolution properties. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(1), 67-75.
- Peppas, N.A., & Sahlin, J.J. (1989). A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. *International Journal of Pharmaceutics*, 57(2), 169-172.
- Pitarresi, G., Cavallaro, G., Giammona, G., De Guidi, G., Salemi, M., & Sortino, S. (2002). New hydrogel matrices containing an anti-inflammatory agent. Evaluation of in vitro release and photoprotective activity. *Biomaterials*, 23(2), 537-550.
-

- Quintana, J.R., Valderruten, N.E. & Katime, I. (1999). Synthesis and swelling kinetics of poly(dimethylaminoethyl acrylate methyl chloride quaternary-co-itaconic acid) hydrogels. *Langmuir*, *15*, 4728-4730.
- Ritger, P., & Peppas, N. (1987). A simple equation for description of solute release. II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release*, *5*(1), 37-42.
- Rodríguez-Tenreiro, C., Álvarez-Lorenzo, C., Rodríguez-Pérez, A., Concheiro, A. & Torres-Labandeira, J.J. (2007). Estradiol sustained release from high affinity cyclodextrin hydrogels. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *66*, 55-62.
- Romo, A., Peñas, F.J., Isasi, J.R., García-Zubiri, I.X. & González-Gaitano, G. (2008). Extraction of phenols from aqueous solutions by β -cyclodextrin polymers. Comparison of sorptive capacities with other sorbents. *Reactive and Functional Polymers*, *68*(1), 406-413.
- Sancey, B., Trunfio, G., Charles, J., Badot, P.M. & Crini, G. (2011). Sorption onto crosslinked polymers for industrial pollutants removal: an interesting environmental approach. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, *70*, 315-320.
- Saraydin, D. & Çaldıran, Y. (2001). In vitro dynamic swelling behaviors of polyhydroxamic acid hydrogels in the simulated physiological body fluids. *Polymer Bulletin*, *46*, 91-98.
- Siepmann, J., & Siepmann, F. (2008). Mathematical modeling of drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, *364*(2), 328-343.
- Sinclair, G.W. & Peppas, N.A. (1984). Analysis of non-Fickian transport in polymers using simplified exponential expressions. *Journal of Membrane Science*, *17*, 329-331.
- Sujja-areevath, J., Munday, D.L., Cox, P.J. & Khan, K.A. (1998). Relationship between swelling, erosion and drug release in hydrophilic natural gum mini-matrix formulations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *6*, 207-217.
- Szejtli, J. (1998). Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical reviews*, *98*, 1743-1753.
- USP (2010). USP 33 – NF 28, Chapter 1088. In vitro and in vivo evaluation of dosage forms. *The United States Pharmacopeial Convention*.
- Uzqueda, M., Zornoza, A., Isasi, J.R., Martín, C., Sánchez, M., & Vélaz, I. (2011). Interactions of terbinafine with beta-cyclodextrin polymers: sorption and release studies. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, *69*, 469-474.
- Vélaz, I., Sánchez, M., Martín, C., Martínez-Ohárriz, M. C. & Zornoza, A. (1997). Interactions of naproxen with vinylpyrrolidone and β -cyclodextrin: A fluorimetric study. *International Journal of Pharmaceutics*, *153*(2), 211-217.
-

Vueba, M.L., Batista de Carvalho, L.A.E., Veiga, F., Sousa, J.J. & Pina, M.E. (2005). Role of cellulose ether polymers on ibuprofen release from matrix tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 31, 653-665.

IV. DISCUSIÓN GENERAL

Consideraciones previas

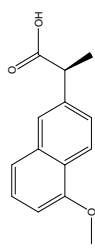
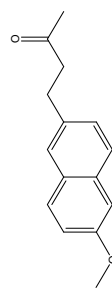
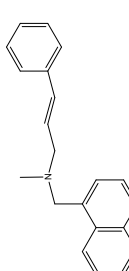
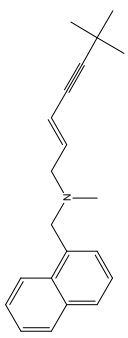
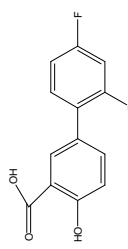
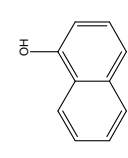
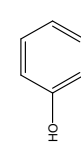
La utilización de hidrogeles en el diseño de matrices para la liberación controlada de fármacos ha ido aumentando con los años (**Hoffman**, 2002). Esto se debe principalmente a su capacidad de hinchamiento, que les permite absorber, retener y liberar determinadas sustancias bajo condiciones controladas, y a su consistencia blanda y elástica, relacionada generalmente con una buena biocompatibilidad (**Arredondo y Londoño**, 2009; **Hoffman**, 2002; **Katime et al.**, 2004).

El uso de ciclodextrinas (CD) en el diseño de estos hidrogeles resulta de gran interés, ya que en este caso la sustancia modelo puede quedar retenida tanto por la red polimérica del gel, como formando un complejo de inclusión con la cavidad de la CD (**García-Zubiri et al.**, 2007; **Gazpio et al.**, 2008). Por ello, es importante caracterizar previamente la interacción entre las diferentes ciclodextrinas y las sustancias modelo que se desean retener y posteriormente liberar.

Este trabajo se apoya en diferentes estudios previos, llevados a cabo tanto en el propio grupo de investigación, como por parte de otros investigadores. Estos estudios, mencionados en el apartado *Objetivos*, consistieron en la caracterización de la interacción de las principales ciclodextrinas con diferentes sustancias (ver resumen en *Tabla 1*). Además, se realizaron también algunos estudios empleando polímeros de CD para analizar la sorción y/o la liberación de la sustancia modelo. Estos ensayos se realizaron empleando polímero en polvo (es decir, la resina triturada y tamizada) no liofilizado. En esta tesis, el empleo de discos de polímero liofilizados, y con una geometría controlada y mantenida durante el ensayo, pretende ser un avance notable partiendo de dichos estudios. Estos discos permiten que la liberación se produzca de una manera más lenta, al presentar una menor superficie de contacto con el medio, que la que se obtiene al emplear polímero en polvo. Además, la geometría controlada (y mantenida durante el ensayo) permite emplear de manera fiable diferentes modelos matemáticos (**Lin & Metters.**, 2006). Así, es posible determinar tanto los coeficientes de difusión, como los mecanismos principales implicados en la liberación, de manera que sea posible adecuar la síntesis de un polímero al mecanismo de liberación deseado.

En esta *Discusión General* se comentan de manera conjunta los resultados más relevantes de este trabajo, haciendo referencia a las figuras y tablas que contiene cada capítulo de la sección de *Resultados*, cuando ha sido necesario.

Tabla 1 - Características principales de las sustancias modelo empleadas en los ensayos con: * polímeros simples de β CD; ** polímeros simples y mixtos de CD

Compuesto	Estructura	PM (g/mol)	Solubilidad en agua	Método de determinación K	log K_{α CD	log K_{β CD	log K_{γ CD	Referencias	BCS ^a
Naproxeno**		230,3 (C ₁₄ H ₁₄ O ₃)	~30 mg/L	Solubilidad, 25°C	1,6	3,2	2,3	Vélaz et al., 1997; Betinetti et al., 1989	II
Nabumetona*		228,3 (C ₁₅ H ₁₆ O ₂)	~20 mg/L	Solubilidad, 25°C	1,9	3,3	2,3	Goyenechea et al., 2001, 2002	II
Naftifina*		323,5 (C ₂₁ H ₂₂ NCl)	~10 mg/L	Solubilidad, 25°C	No forma complejo	2,7	2,3	Uzqueda et al., 2006	n.e.
Terbinafina*		327,9 (C ₂₁ H ₂₆ NCl)	~10 mg/L	Solubilidad, 25°C	2,4	3,4	1,8	Uzqueda et al., 2010	I
Diflunisal**		250,2 (C ₁₃ H ₈ F ₂ O ₃)	~15 mg/L	Potenciometría, 25°C	No forma complejo	4,9	4,9	Sideris et al., 1999	II
1-naftol**		144,3 (C ₁₀ H ₈ O)	~100 mg/L	Fluorimetría, 25°C	Menor que β	3,0	Menor que β	García-Zubiri, 2006	-
Fenol**		94,1 (C ₆ H ₆ O)	~80 g/L	Calorimetría, 25°C	4,2	3,4	Menor que α y β	Lewis & Hansen, 1973	-

^a BCS: Sistema de clasificación biofarmacéutica; n.e.: no especificado

Síntesis y caracterización de polímeros de ciclodextrina-epiclorhidrina (CD:EP)

La eficacia y aplicabilidad de las ciclodextrinas puede incrementarse si son incorporadas dentro de una estructura polimérica, ya sea en forma de polímero soluble o insoluble. El entrecruzante empleado en este trabajo para la obtención de polímeros insolubles de CD (*Figura 1*) ha sido el agente bifuncional epiclorhidrina. La síntesis de estos polímeros en bloque ya ha sido descrita por otros autores (**Crini** et al., 1998; **García-Zubiri** et al., 2006), y ha servido como referencia para este trabajo.

Romo y col., en 2006, sintetizaron estos polímeros, tanto en bloque como en suspensión en aceite de parafina, realizando un diseño experimental factorial que variaba diferentes condiciones de síntesis (concentración inicial de NaOH, relación molar CD:EP, velocidad de agitación, temperatura de síntesis o cantidad de agua inicial en la mezcla). De esta manera, Romo obtuvo varios productos diferentes, tanto solubles en agua como insolubles, que pudo caracterizar empleando diferentes técnicas (**Romo** et al., 2004, 2006).

En base a estos trabajos previos, se realizó un diseño experimental para la obtención de polímeros insolubles de β CD que mantuviese constantes todas las variables empleadas por Romo, excepto la temperatura de síntesis. Las temperaturas empleadas fueron 25, 35, 50 y 60°C, obteniéndose cuatro polímeros diferentes denominados respectivamente 1125, 1135, 1150 y 1160, para hacer referencia a la relación molar CD:EP 1:11, mantenida en todas las síntesis, y a la temperatura del proceso. De acuerdo a la temperatura de síntesis, el tiempo de polimerización varió notablemente, siendo más lenta la síntesis realizada a menor temperatura (*Tabla 1, Cap. 3*).

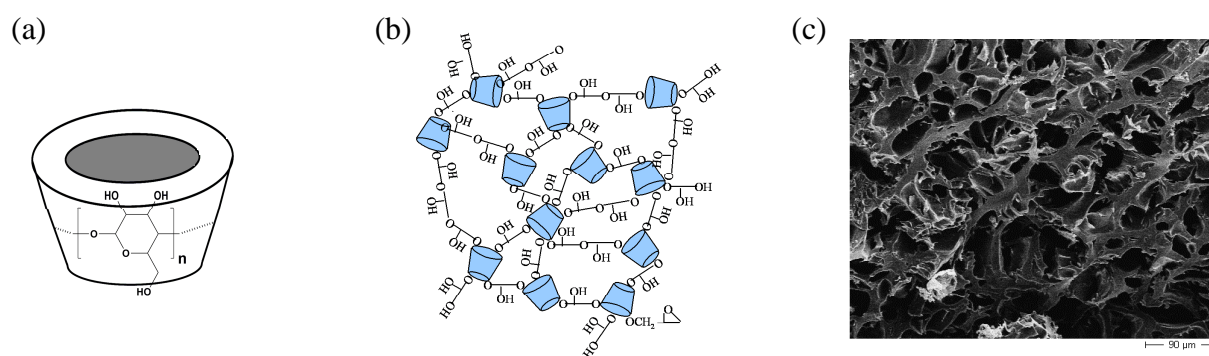


Figura 1 – Estructura esquemática de una ciclodextrina (a), un polímero de ciclodextrina entrecruzado con epiclorhidrina (b) y una imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) que muestra la estructura porosa de este polímero una vez liofilizado (c).

La caracterización de estos polímeros se ha realizado de un modo detallado, como se recoge principalmente en el *Capítulo 1* de este trabajo. En primer lugar se determinaron las propiedades de hinchamiento de los polímeros sintetizados. Se observa una relación entre el factor de hinchamiento (F) y la temperatura de síntesis, aumentando el primero en función de la segunda (*Tabla 1, Cap. 1*). Esto es debido a que la epíclorhidrina tiende a autopolimerizarse a temperaturas altas, dando lugar a cadenas de entrecruzante más largas y, por lo tanto, a una estructura reticular con cavidades más grandes, lo que confiere al polímero una mayor capacidad de sorción de agua (**Romo et al.**, 2006).

El hinchamiento se da principalmente por difusión simple, lo cual se deduce de los valores de exponente difusional (n) obtenidos, cercanos a 0,5 (*Tabla 3, Cap. 1*) (**Harikiran & Peppas**, 1996). Las constantes cinéticas son mayores para los polímeros obtenidos a mayor temperatura de síntesis, indicando que el hinchamiento se produce de manera más rápida en estos polímeros. Además se comparó el hinchamiento a diferentes temperaturas para cada tipo de polímero. Se observa que el hinchamiento es más rápido conforme aumenta la temperatura del medio acuoso, ya que las temperaturas altas facilitan la difusión de las moléculas de agua hacia el interior del polímero (*Figura 2 y Tabla 3, Cap. 1*). Por el contrario, para un mismo polímero, el factor de hinchamiento fue menor a mayores temperaturas de agua. Esta menor capacidad de sorción de agua a temperatura alta indica el carácter exotérmico del proceso de hinchamiento (**Lin et al.**, 2007). Por ello, se determinaron las entalpías de hinchamiento para cada tipo de polímero (*Figura 1 y Tabla 2, Cap. 1*), demostrándose que, efectivamente, el proceso es exotérmico en todos los casos, y el valor de $|\Delta H_m|$ es mayor para los polímeros con una mayor capacidad de hinchamiento.

El estudio de las propiedades mecánicas se realizó empleando tanto discos de polímero liofilizados como hinchados en agua. En primer lugar, se midió la dureza de los cuatro polímeros, empleando discos liofilizados. Se utilizó para ello un *Caleva Tablet Hardness Tester*, equipo habitualmente empleado en la industria farmacéutica para medir la resistencia de los comprimidos obtenidos, y que da un valor de la fuerza necesaria para romper el disco. Se observó una mayor resistencia en los polímeros sintetizados a menor temperatura, debido probablemente al mayor grado de reticulación que presenta su estructura.

En base a estos resultados, se realizó un estudio más amplio con los polímeros 1125 y 1150. Empleando discos hinchados de estos polímeros, se determinaron los módulos de compresión para cada tipo de polímero (*Tabla 5, Cap. 1*). Se observó que el valor de este módulo es mayor para el polímero 1125, indicando una menor elasticidad de este hidrogel, lo cual concuerda con la mayor resistencia a la fractura que presentan los polímeros 1125 liofilizados. En base a los módulos obtenidos, se pudieron determinar otros parámetros de la red polimérica, como la densidad de entrecruzamientos efectiva y la masa molar media de las cadenas de entrecruzante (*Tabla 5, Cap. 1*). Los resultados obtenidos fueron consistentes con los estudios de hinchamiento: se observa que conforme aumenta la temperatura de síntesis del polímero, la densidad de entrecruzamiento es menor, mientras que las cadenas de entrecruzante son más largas. Se observa, por lo tanto, cómo la elasticidad de un polímero aumenta en función de la longitud de sus cadenas de entrecruzante, de acuerdo con la teoría de elasticidad del caucho (*rubber elasticity*) (**Flory**, 1953).

Los estudios de porosimetría de intrusión de mercurio mostraron un mayor volumen de intrusión en los polímeros 1150 y 1160, a la vez que presentaban una menor área total de poro (*Tabla 4, Cap. 1*). Se observa una relación entre la distribución de poros en el polímero y la temperatura de síntesis, que se puede explicar de la siguiente manera: debido a la mayor autorreactividad de la epíclorhidrina a temperaturas altas, los polímeros 1150 y 1160 presentarán menos poros, pero de un diámetro mayor. El índice de tortuosidad, relacionado con el coeficiente de difusión de las moléculas hacia el polímero (**Escudero et al.**, 2008), fue mayor para los polímeros sintetizados a menor temperatura, lo cual concuerda con la presencia de un mayor número de poros, de un diámetro menor, lo que da lugar a una estructura más reticulada y laberíntica. Esto concuerda con los resultados obtenidos en los estudios de hinchamiento, ya que se observa que los polímeros con una estructura más tortuosa son los que captan menos agua y de una manera más lenta (*Tablas 1 y 3, Cap. 1*).

Las imágenes de SEM de los polímeros liofilizados (*Figura 4, Cap. 1*) confirmaron la naturaleza porosa del material de estudio. El proceso de liofilización es relevante en esta porosidad, y puede influir en el comportamiento de los polímeros en su interacción con un principio activo (**Boateng et al.**, 2009). Además, como ya se intuía en los estudios de porosimetría, se observa que una mayor temperatura de síntesis da lugar a un material con un menor número de poros de mayor tamaño, dando lugar a un mayor volumen de poros total y a una menor superficie de contacto.

Estos resultados demuestran que es posible modificar la estructura reticular del polímero mediante un ajuste de las condiciones de síntesis, en especial la temperatura del proceso. En base a la información obtenida en la caracterización de estos polímeros, más la experiencia obtenida al trabajar con ellos, los polímeros de β CD sintetizados a 50°C parecen presentar unas características intermedias de hinchamiento, dureza, elasticidad y porosidad. Los sintetizados a 60°C, pese a presentar una resistencia a la fractura y una porosidad similares a los 1150, se fracturan fácilmente en su estado hinchado al ser manipulados, dificultando su utilización. Por ello, los polímeros 1150, en forma de discos liofilizados, fueron seleccionados como los más adecuados para su utilización en los diferentes ensayos de carga y liberación de fármacos recogidos en este trabajo.

Además, se sintetizaron polímeros empleando otras ciclodextrinas, pero manteniendo en todos los casos una relación molar CD:EP 1:11 y una temperatura de síntesis de 50°C (polímeros 1150). Mediante el mismo protocolo empleado para los polímeros de β CD, se obtuvieron polímeros insolubles de α CD y de γ CD, así como otros que contenían cantidades equimolares tanto de α y β como de β y γ CDs, llamados respectivamente α CDP, γ CDP, α/β CDP y β/γ CDP. Estos polímeros se caracterizaron analizando sus cinéticas de hinchamiento a 25°C, no observándose diferencias significativas entre ellas en dichos estudios. Por ello, se considera que las redes que conforman cada polímero son de estructura similar, por lo que las diferencias en la interacción de estos polímeros con diferentes sustancias será atribuible al tipo o tipos de CD que componen cada polímero, y no a una diferencia significativa entre las estructuras reticulares de los polímeros (*Tabla 1, Cap. 4*).

Sorción de sustancias modelo en los diferentes polímeros sintetizados

Cuando un polímero entrecruzado insoluble se introduce en una disolución, una parte del soluto puede quedar retenido en la superficie o en el entramado de las partículas de gel (**Fernández**, 2008). En los polímeros sintetizados en este trabajo, se distinguen tres posibles zonas en las que un soluto puede quedar retenido: las cavidades de las ciclodextrinas (cavidad primaria), las cavidades formadas por la red polimérica (cavidades secundarias) y las asociadas a las colas de entrecruzante.

En los últimos años, se han realizado diferentes estudios para caracterizar la sorción de varios solutos en polímeros de ciclodextrina, que han servido como referencia para esta tesis. **Romo** y col., en 2008, estudiaron la capacidad de estos polímeros para retener contaminantes presentes en aguas residuales, como el fenol y sus derivados los cresoles. Se demostró su buena capacidad de sorción, comparable a otros adsorbentes como el alginato. Además, el uso de CDs puede otorgar al polímero una afinidad específica sobre determinados solutos.

Por otro lado, **García-Zubiri** y col., en 2009, realizaron un amplio estudio de caracterización de diferentes polímeros de ciclodextrina por medio de sus isothermas de adsorción, empleando 1-naftol y fenol como sorbatos modelo. Además, en nuestro grupo de investigación se realizaron otros ensayos de sorción, por medio de cinéticas y de isothermas de sorción, empleando sustancias de interés farmacéutico, como el pindolol (**Gazpio** et al., 2008), el gemfibrozilo (**Fernández** et al., 2011), o el antifúngico terbinafina (**Uzqueda** et al., 2011). En estos estudios se comprobó que, además de la estructura del polímero, la solubilidad y el pH del medio influyen en su interacción con el polímero.

Los estudios de sorción han sido de gran importancia en este trabajo, especialmente a la hora de comparar los polímeros sintetizados empleando diferentes ciclodextrinas. Como se ha comentado anteriormente, estos polímeros presentaron capacidades de hinchamiento muy similares, por lo que no se consideraron significativamente diferentes sus estructuras reticulares, y debido a ello no se realizaron estudios mecánicos o de porosimetría para estas muestras.

En primer lugar, se estudió la sorción de estos polímeros empleando un sorbato habitual en este tipo de ensayos, el 4-nitrofenol (4-NP) o *para*-nitrofenol, así como su isómero estructural 3-nitrofenol (3-NP). Las isothermas realizadas mostraron una mayor sorción de 4-NP en los diferentes polímeros (*Figura 2, Cap. 2*). Esto es debido a que el isómero *para*-presenta una estructura más lineal que el *orto*-, dando lugar a un mecanismo de inclusión diferente en las ciclodextrinas (**Yudiarto** et al., 2001). Los valores del exponente n de Freundlich (*Tabla 2, Cap. 2*) mostraron una sorción más favorable para el 4-NP en todos los polímeros. Los valores de K_F se compararon para cada familia de isothermas (*Tabla 2, Cap. 2*). Se observa, para ambas sustancias, que los valores de K_F son mayores para polímeros que contienen α CD y β CD, así como el polímero mixto que contiene ambas CDs. Esto se debe a que la cavidad interna de γ CD es probablemente demasiado grande para presentar una buena interacción con estas moléculas.

Los datos de sorción de 4-NP se emplearon además para realizar una estimación de la superficie disponible para la adsorción del soluto en cada polímero. Es, propiamente, una simple estimación, ya que no se alcanzaron valores de q que dieran un recubrimiento monocapa (q_m) en estos ensayos. Los valores obtenidos oscilaron entre 3,1 y 6,1 o entre 1,5-3 m²/g, de acuerdo a si se considera una orientación plana o lateral del sorbato en el polímero (**Pratt et al.**, 2010; **Wilson et al.**, 2011). Comparando estos valores con los valores de área de poro obtenidos en la porosimetría de intrusión (*Tabla 5, Cap. 1*), los calculados por el método de sorción para β CDP fueron algo mayores, pero dentro de un mismo orden de magnitud. A esta diferencia puede contribuir la forma de aplicación de cada técnica: mientras que la porosimetría se realizó a partir de discos de polímero liofilizados, los ensayos de sorción se realizan en disolución con polímero en polvo, que en esas condiciones se encuentra hinchado, y puede haber un mayor movimiento de las cadenas de entrecruzante (**Wilson et al.**, 2011). Los valores de área estimados muestran también una correlación con los valores de K_F obtenidos en las isothermas: los polímeros que presentan una mayor sorción, dieron valores de área estimada superiores según este método.

Posteriormente, se realizó un estudio más amplio de sorción seleccionando tres sustancias modelo (fenol, 1-naftol y diflunisal), de acuerdo a sus diferentes tamaños y afinidades por las ciclodextrinas (*Figura 3, Cap. 2*). En primer lugar, se observa cómo el fenol presenta una menor capacidad de sorción que sus derivados nitrofenólicos, posiblemente debido a su peor interacción con las cavidades de las ciclodextrinas. Además, comparando la sorción de fenol en los diferentes polímeros, se observa una mayor sorción en α/β CDP, lo que indica un posible efecto sinérgico en la sorción debido a la presencia de dos CDs diferentes en una misma estructura reticular. Los polímeros que contienen γ CD, al igual que ocurría con los nitrofenoles, presentan una capacidad de sorción menor, debido al excesivo tamaño de la cavidad de esta ciclodextrina. El 1-naftol, por su parte, demostró ser un sorbato muy eficaz en el estudio de estos sistemas. Esta molécula mostró una gran capacidad de sorción para estos polímeros, especialmente los que contienen β CD, debido a su buena interacción con dicha ciclodextrina (**García-Zubiri et al.**, 2007, 2009). Finalmente, en el caso del fármaco diflunisal, se esperaba obtener una mayor sorción en los polímeros con γ CD, debido a la similitud de la constante de estabilidad con la de β CD. La mayor sorción encontrada en β CDP hace pensar en la posible influencia de la red polimérica en la sorción de solutos en comparación con la interacción con CDs libres.

Además, se realizó un estudio de sorción con diferentes discos de polímero liofilizados. En primer lugar, se estudió la sorción del fármaco antiinflamatorio naproxeno en los polímeros de β CD sintetizados a diferentes temperaturas, observándose que, como se podía intuir en la caracterización, los polímeros 1150 son los que presentan una mayor capacidad de sorción del fármaco (*Tabla 2, Cap. 3*). En base a esto, se estudió la sorción de cuatro fármacos con estructura química similar (derivados del naftaleno): naproxeno, nabumetona, naftifina y terbinafina. Se observó una mayor afinidad del naproxeno por el polímero, reflejada en una carga aproximadamente diez veces mayor (*Tabla 3, Cap. 3*). Por ello, este fármaco fue utilizado como modelo en los posteriores ensayos de sorción de este trabajo.

La sorción de naproxeno en discos liofilizados de los cinco polímeros que contienen diferentes ciclodextrinas refleja que, al ser las estructuras reticulares de estos polímeros muy similares, el tipo o tipos de CD presente en cada polímero es decisivo en la sorción (*Tabla 2, Cap. 4*). Así, el polímero de β CD presenta la mayor capacidad de carga de fármaco, debido a la mayor constante de estabilidad del complejo formado con esta ciclodextrina (**Bettinetti et al.**, 1989). Los polímeros de α CD y γ CD muestran una capacidad de carga muy inferior, mientras que los polímeros mixtos presentan valores intermedios en función de su composición.

Liberación controlada de fármacos desde discos de polímero liofilizados

El objetivo principal de esta tesis es el estudio de la posible aplicación de los polímeros sintetizados en la liberación controlada de fármacos. La desorción de sustancias retenidas en polímeros de ciclodextrina ya fue estudiada para algunos fármacos, empleando para ello las muestras de polímero en polvo cargadas durante los ensayos de sorción. **Uzqueda** y col., en 2011, estudiaron la liberación de terbinafina desde polímero comercial pulverizado, pudiéndose determinar que dicha liberación sigue un mecanismo de difusión *fickiana*. Por su parte, **Fernández** y col. (2011) estudiaron el efecto del pH en la liberación de gemfibrozilo, observándose notables diferencias debido al carácter ácido de este fármaco.

Teniendo en cuenta estos trabajos previos, se plantearon diferentes estudios de liberación empleando discos liofilizados de los diferentes polímeros sintetizados. En primer lugar, y en base a los ensayos de caracterización realizados, se seleccionaron polímeros 1150 de β -ciclodextrina. Se emplearon cuatro fármacos modelo, todos ellos derivados del naftaleno, una estructura común en muchos principios activos, que encaja bien en la cavidad

de la β -ciclodextrina. Los fármacos presentan en sus estructuras grupos químicos diferentes (*Tabla 1*), comparables dos a dos, lo que facilita la comparación en los estudios de liberación. Estos fármacos fueron el antiinflamatorio ácido naproxeno, el profármaco cetónico nabumetona, y dos antifúngicos, las alilaminas naftifina y terbinafina, ambos presentados como clorhidrato. Los ensayos se realizaron en un equipo *Sotax AT7 Smart* (*Figura 2*), según la normativa de la farmacopea americana (**USP**, 2010). Se emplearon dos medios de liberación diferentes: pH 7,0, simulando condiciones intestinales, y pH 1,2, simulando condiciones gástricas.

En primer lugar, se estudió la cantidad de fármaco liberada en cada medio, en relación a la inicialmente disponible en los discos de polímero. El ácido naproxeno ($pK_a = 4,2$) presenta un porcentaje de liberación mucho mayor a pH neutro que a pH ácido, de acuerdo a su forma predominante desprotonada o protonada, respectivamente, lo cual afecta notablemente a su solubilidad. La nabumetona, por su parte, debido a su naturaleza cetónica, muestra un comportamiento menos diferenciado en ambos medios, siendo algo superior la cantidad liberada en pH 7,0. Los antifúngicos, debido a su limitada solubilidad a pH 7,0 (**Uzqueda et al.**, 2006, 2010), presentan una tasa de liberación muy pequeña en este medio, de manera que no se puede evaluar con precisión su perfil cinético. En medio ácido, por el contrario, ambos fármacos mostraron una buena desorción, con valores por encima del 75% de la cantidad cargada.



Figura 2 – Equipo de velocidad de disolución Sotax AT7 smart

El estudio de los perfiles de liberación se realizó mediante el ajuste de los datos de las cinéticas de liberación al modelo de Korsmeyer-Peppas. Los valores de los exponentes n obtenidos fueron cercanos a 0,5 para todos los ensayos (*Tabla 4, Cap. 3*). Esto indica un mecanismo de liberación controlado principalmente por difusión según la ley de Fick (**Korsmeyer et al.**, 1983). En base a la similitud de estos valores de n , las constantes cinéticas de Korsmeyer-Peppas (k_{KP}) pudieron ser comparadas (*Tabla 4, Cap. 3*). En el caso del naproxeno la constante cinética es mayor a pH neutro, de acuerdo a la naturaleza ácida del compuesto y a su baja solubilidad en medio ácido. Por el contrario, las constantes cinéticas fueron similares en ambos pH para el profármaco nabumetona. Para naftifina y terbinafina, sólo fue posible determinar los valores de k_{KP} para la liberación en medio ácido. Comparando ambos antifúngicos, se observa una constante cinética algo mayor para la naftifina, lo cual es consistente con el menor valor de la constante de estabilidad de su complejo con la CD respecto de la terbinafina (**Uzqueda et al.**, 2009). Esto provoca que esta última se libere de manera más lenta, al presentar una mayor afinidad por las ciclodextrinas presentes en el polímero.

Además, se determinaron los coeficientes de difusión aparentes (D) (*Tabla 5, Cap. 3*). Esta determinación es posible debido a la utilización de matrices con una geometría conocida y que se mantiene durante el ensayo. Se observan unos valores de D mayores para cada fármaco en su medio de liberación más favorable, lo cual es consistente con las constantes cinéticas determinadas previamente.

Estos estudios demuestran que el transporte de solutos en hidrogeles depende de las características estructurales y físicas del polímero, pero también de la naturaleza de los solutos utilizados (**Brazel & Peppas**, 1999, 2000). Los parámetros cinéticos determinados permiten caracterizar el sistema, y aportan información para el diseño de nuevas matrices poliméricas. En base a esto, se seleccionó uno de los fármacos de estos primeros ensayos (el naproxeno, debido a su mayor carga en los discos de polímero y a su carácter ácido) para estudiar su liberación desde polímeros 1150 que contienen otras ciclodextrinas: α CDP, γ CDP, y mezclas α/β CDP y β/γ CDP.

En primer lugar, se observa que, al igual que en los estudios de liberación comentados anteriormente, las cantidades de naproxeno liberadas a pH 7,0 fueron notablemente mayores respecto al medio ácido en todos los polímeros estudiados (*Figura 4 y Tabla 2, Cap. 4*). Si comparamos los porcentajes de naproxeno liberado para los diferentes polímeros, se observa

que β CD presenta una mayor retención del fármaco, reflejada en un porcentaje total de liberación menor que en polímeros que contienen otras ciclodextrinas. Esto se debe a la mayor afinidad del naproxeno por la β CD con respecto a α CD y γ CD. Los polímeros mixtos, por su parte, mostraron valores intermedios, de acuerdo a su composición.

Los coeficientes de difusión (D) determinados, mostraron en primer lugar unos valores muy superiores en medio neutro en todos los polímeros (*Tabla 3, Cap. 4*). Estos resultados son consistentes con los porcentajes de fármaco liberado (*Tabla 2, Cap. 4*); es decir, las matrices que contienen ciclodextrinas con una afinidad baja por el naproxeno (α CD y γ CD), mostraron mayores valores de D , ya que la difusión de fármaco en estos casos está más favorecida.

El estudio de los perfiles de liberación se realizó, en primer lugar, mediante el ajuste de los datos al modelo de Korsmeyer-Peppas. Se observan diferentes valores de n , y por lo tanto, diferentes mecanismos de liberación en función a la composición del polímero (*Tabla 4, Cap. 4*). Por ello, se realizó un estudio más amplio, empleando otros modelos matemáticos para el estudio de los diferentes sistemas (**Costa & Sousa Lobo, 2001; Lin & Metters, 2006**). La liberación desde polímero de α CD en medio neutro dio valores de n inferiores a 0,5, indicando un *burst* en la liberación, es decir, una tasa de liberación muy rápida en un breve espacio de tiempo. Esto se debe a que, al presentar el naproxeno una afinidad muy pequeña con α CD, la liberación desde este polímero se dará en su mayor parte desde las cavidades secundarias de la red, y no desde las ciclodextrinas.

El resto de liberaciones muestran un mecanismo de difusión *fickiana* (valores de n cercanos a 0,5), excepto con los polímeros mixtos α/β CD y β/γ CD en medio ácido (*Tabla 4, Cap. 4*). Las liberaciones con mecanismo *fickiano* presentan un buen ajuste al modelo de Higuchi. Los valores de la constante de Higuchi (k_H) han sido siempre mayores en las liberaciones en pH 7,0, debido a la mayor solubilidad del naproxeno en este medio. Además, aunque sus valores son aparentes debido a las diferentes cantidades iniciales de fármaco en cada matriz, su comparación muestra valores mayores de k_H en los polímeros que contienen CDs con menor afinidad por el fármaco (α CD y γ CD). Por otro lado, los polímeros mixtos α/β CDP y β/γ CDP presentan los menores valores de k_H , lo cual implica una liberación más lenta en comparación con los otros polímeros, probablemente debido a la presencia de dos ciclodextrinas de tamaños diferentes.

Estos polímeros mixtos presentan un mecanismo diferente en la liberación en medio ácido: al ser los valores de n mayores de 0,5 y menores de 1, se habla en este caso de un mecanismo de transporte anómalo, que implica a la vez difusión *fickiana* y la relajación de las cadenas del polímero (**Korsmeyer** et al., 1983). Por ello, se estudió la contribución de cada fenómeno de transporte al mecanismo total de liberación mediante el modelo de Peppas-Sahlin (**Peppas & Sahlin**, 1989; **Sujja-areevath** et al., 1998). Se observa en ambos casos cómo la difusión *fickiana* predomina al inicio de la liberación, y su tasa decrece gradualmente conforme aparece la influencia de la relajación (*Figura 5, Cap. 4*). Debido a la participación de ambos mecanismos, estos polímeros presentan una liberación más lenta, lo cual apunta a un posible efecto sinérgico debido a la mezcla de dos CDs diferentes en una misma red polimérica.

Los resultados obtenidos en este estudio proporcionan una información útil para avanzar en el diseño de nuevas matrices poliméricas para la liberación. Los posibles estudios futuros podrían encaminarse a ampliar el conocimiento sobre estos interesantes polímeros mixtos. Por ejemplo, podría cambiarse la proporción de cada tipo de CD en el polímero, de acuerdo a la estructura de la molécula a liberar, o incluso estudiar la posibilidad de retener dos sustancias con una estructura diferente (una en cada tipo de CD) en la misma matriz, para lograr una liberación conjunta de ambas moléculas. Esto podría ser interesante, por ejemplo, a la hora de incorporar en una misma formulación un antiinflamatorio y un protector gástrico que se liberasen cada uno con un mecanismo independiente del otro.

Referencias

- Arredondo, A. & Londoño, M.E. (2009). Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos. *Revista Ingeniería Biomédica*, 3(5), 83-94.
- Bettinetti, G.P., Mura, P., Liguori, A., Bramanti, G. & Giordano, F. (1989). Solubilization and interaction of naproxen with cyclodextrins in aqueous solution and in the solid state. *Il Farmaco*, 44, 195-213.
- Boateng, J.S., Matthews, K.H., Auffret, A.D., Humphrey, M.J., Stevens, H.N. & Eccleston, G.M. (2009). *In vitro* drug release studies of polymeric freeze-dried wafers and solvent-cast films using paracetamol as model soluble drug. *International Journal of Pharmaceutics*, 378, 66-72.
- Brazel, C.S., Peppas, N.A. (1999). Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers. *Polymer*, 40, 3383-3398.
- Brazel, C.S., Peppas, N.A. (2000). Modeling of drug release from swellable polymers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 49, 47-58.
- Costa, P. & Sousa Lobo, J.M. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(2), 123-133.
- Crini, G., Cosentino, C., Bertini, S., Naggi, A., Torri, G., & Vecchi, C. (1998). Solid state NMR spectroscopy study of molecular motion in cyclomaltoheptaose (beta-cyclodextrin) crosslinked with epichlorohydrin. *Carbohydrate Research*, 308(1-2), 37-45.
- Escudero, J.J., Ferrero, C. & Jiménez-Castellanos, M.R. (2008). Compactation properties, drug release kinetics and fronts movement studies from matrices combining mixtures of swellable and inert polymers: Effect of HPMC of different viscosity grades. *International Journal of Pharmaceutics*, 351, 61-73.
- Fernández, L. (2008). Análisis de la complejación de gemfibrozilo con ciclodextrinas y con polímeros de ciclodextrinas. Tesis Doctoral. *Universidad de Navarra*.
- Fernández, L., Machín, R., Zornoza, A., Vélaz, I., Martín, C. & Martínez-Ohárriz, M.C. (2011). Mechanism of sorption and release of a weak acid from beta-cyclodextrin polymers. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 69, 411-415.
- Flory, P.J. (1953). Principles of polymer chemistry. *New York: Cornell University Press*.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G. & Isasi, J.R. (2007). Isothermic heats of sorption of 1-naphthol and phenol from aqueous solutions by beta-cyclodextrin polymers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 307(1), 64-70.
- García-Zubiri, I., González-Gaitano, G. & Isasi, J.R. (2009). Sorption models in cyclodextrin polymers: Langmuir, Freundlich and a dual-mode approach. *Journal of Colloid and Interface Science*, 337, 11-18.
-

- Gazpio, C., Sánchez, M., Isasi, J.R., Vélaz, I., Martín, C., & Martínez-Ohárriz, C. (2008). Sorption of pindolol and related compounds by a beta-cyclodextrin polymer: Isosteric heat of sorption. *Carbohydrate Polymers*, 71(1), 140-146.
- Goyenechea, N., Sánchez, M., Vélaz, I., Martín, C., Martínez-Ohárriz, C. & González-Gaitano, G. (2001). Inclusion complexes of nabumetone with β -cyclodextrins: thermodynamics and molecular modelling studies. Influence of sodium perchlorate. *Luminescence*, 16(2), 117-127.
- Goyenechea, N., Sánchez, M., Vélaz, I., Martín, C., Martínez-Ohárriz, C., & Zornoza, A. (2002). Interactions of nabumetone with cyclodextrins in solution and in the solid state. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 44(1-4), 283-287.
- Hariharan, D., Peppas, N.A. (1996). Characterization, dynamic swelling behaviour and solute transport in cationic networks with applications to the development of swelling-controlled release systems. *Polymer*, 37(1), 149-161.
- Hoffman, A.S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(1), 3-12.
- Katime, I., Katime, O. & Katime, D. (2004). *Los materiales inteligentes en este milenio. Los hidrogeles macromoleculares: Síntesis, propiedades y aplicaciones*. (1st ed.). Spain: Ed. Universidad del País Vasco.
- Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P. & Peppas, N.A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 15, 25-35.
- Lewis, E.A. & Hansen, L.D. (1973). Thermodynamics of binding of guest molecules to alpha-cyclodextrins and beta-cyclodextrins. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions*, 2(15), 2081-2085.
- Lin, C., & Metters, A. (2006). Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12-13), 1379-1408.
- Lin, Z., Wu, W., Wang, J. & Jin, X. (2007). Studies on swelling behaviors, mechanical properties, network parameters and thermodynamic interaction of water sorption of 2-hydroxyethyl methacrylate/novolac epoxy vinyl ester resin copolymeric hydrogels. *Reactive and Functional Polymers*, 67, 789-797.
- Peppas, N.A., & Sahlin, J.J. (1989). A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. *International Journal of Pharmaceutics*, 57(2), 169-172.
- Pratt, D.Y., Wilson, L.D., Kozinski, J.A. & Mohart, A.M. (2010). Preparation and sorption studies of β -cyclodextrin/epichlorohydrin copolymers. *Journal of Applied Polymer Science*, 116, 2982-2989.
- Romo, A. (2004). Síntesis y caracterización de polímeros de beta-ciclodextrina. Aplicación a la eliminación de compuestos aromáticos. Tesis Doctoral. *Universidad de Navarra*.
-

- Romo, A., Peñas, F.J., Sevillano, X. & Isasi, J.R. (2006). Application of factorial experimental design to the study of the suspension polymerization of β -cyclodextrin and epichlorohydrin. *Journal of Applied Polymer Science*, 100, 3393-3402.
- Romo, A., Peñas, F.J., Isasi, J.R., García-Zubiri, I.X. & González-Gaitano, G. (2008). Extraction of phenols from aqueous solutions by β -cyclodextrin polymers. Comparison of sorptive capacities with other sorbents. *Reactive and Functional Polymers*, 68(1), 406-413.
- Sideris, E.E., Valsami, G.N., Koupparis, M.A. & Macheras, P.E. (1999). Studies on the interaction of diflunisal ion with cyclodextrins using ion-selective electrode potentiometry. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(4), 271-278.
- Sujja-areevath, J., Munday, D.L., Cox, P.J. & Khan, K.A. (1998). Relationship between swelling, erosion and drug release in hydrophilic natural gum mini-matrix formulations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6, 207-217.
- USP (2010). USP 33 – NF 28, Chapter 1088. In vitro and in vivo evaluation of dosage forms. *The United States Pharmacopeial Convention*.
- Uzqueda, M., Martín, C., Zornoza, A., Sánchez, M., Martínez-Ohárriz, M.C. & Vélaz, I. (2006). Characterization of complexes between naftifine and cyclodextrins in solution and in the solid state. *Pharmaceutical Research*, 23(5), 980-988.
- Uzqueda, M., Martín, C., Zornoza, A., Sánchez, M. & Vélaz, I. (2010). Physicochemical characterization of terbinafine-cyclodextrin complexes in solution and in the solid state. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 66(3-4), 393-402.
- Uzqueda, M., Zornoza, A., Isasi, J.R., Martín, C., Sánchez, M. & Vélaz, I. (2011). Interactions of terbinafine with beta-cyclodextrin polymers: sorption and release studies. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 69, 469-474.
- Vélaz, I., Sánchez, M., Martín, C., Martínez-Ohárriz, M. C. & Zornoza, A. (1997). Interactions of naproxen with vinylpyrrolidone and β -cyclodextrin: A fluorimetric study. *International Journal of Pharmaceutics*, 153(2), 211-217.
- Wilson, L.D., Mohamed, M.H. & Headley, J.V. (2011). Surface area and pore structure properties of urethane-based copolymers containing β -cyclodextrin. *Journal of Colloid and Interface Science*, 357, 215-222.
- Yudiarto, A., Kashiwabara, S., Tashiro, Y. & Kokugan, T. (2001). Separation of structural isomers using soluble β -cyclodextrin polymer by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 24, 243-253.
-

V. CONCLUSIONES

1.- Los polímeros sintetizados poseen la capacidad de hincharse debido a la absorción de agua. El hinchamiento, cuya cinética sigue un mecanismo de difusión simple, es dependiente de la temperatura de síntesis del polímero, siendo mayor en el sintetizado a 60°C. Además, las entalpías de hinchamiento determinadas muestran que el proceso es exotérmico, y está más favorecido para los polímeros sintetizados a mayor temperatura. Por el contrario, no parece haber diferencias significativas en la sorción de agua en los polímeros sintetizados a 50°C empleando diferentes ciclodextrinas.

2.- Las propiedades mecánicas muestran una mayor dureza y una menor elasticidad en los polímeros sintetizados a menor temperatura, lo cual se relaciona con su menor capacidad de hinchamiento. Los estudios de porosimetría de intrusión de mercurio con polímeros liofilizados dan idea de la naturaleza porosa del material, que es mayor para los sintetizados a mayor temperatura, como confirman las imágenes de SEM. El aumento observado en la porosidad se debe a la autopolimerización de la epiclorhidrina a temperaturas altas, lo cual da lugar a cadenas de entrecruzante más largas y a una menor densidad de entrecruzamientos y, por lo tanto, a poros de mayor tamaño. El proceso de liofilización influye en la macroporosidad del material, y facilita la difusión de solutos hacia su interior.

3.- La estimación de la superficie de contacto del polímero β -ciclodextrina sintetizado a 50°C en base a la sorción de 4-nitrofenol, es coherente con los estudios de porosimetría, pero los valores de área son ligeramente superiores debido a la naturaleza de cada técnica. La sorción de fenol y sus derivados nitrados es mayor en las ciclodextrinas con cavidad interna más pequeña, observándose un posible efecto sinérgico en la mezcla α/β -ciclodextrina para la sorción de fenol. El 1-naftol presenta una gran afinidad por los polímeros, especialmente los que contienen β -ciclodextrina. Por su parte, la sorción de diflunisal muestra la influencia de la red en la sorción del compuesto por complejación con la ciclodextrina.

4.- Los discos de polímero liofilizados presentan una capacidad de sorción de los fármacos modelo suficiente para su uso en ensayos de liberación controlada. La sorción de naproxeno en los polímeros de β -ciclodextrina sintetizados a diferentes temperaturas es mayor en los polímeros 1150, de acuerdo a sus propiedades mecánicas y de hinchamiento. Además, el naproxeno muestra una sorción notablemente mayor que los otros fármacos modelo sobre estos polímeros. Por el contrario, su sorción en polímeros que contienen α o γ -ciclodextrina es inferior que para β , debido a su menor afinidad por estas ciclodextrinas, mientras que los polímeros mixtos captan cantidades intermedias, según su composición.

5.- La liberación de naproxeno desde polímeros de β -ciclodextrina está notablemente influida por el pH del medio, debido al carácter ácido del fármaco y a su baja solubilidad en medios de pH bajo. En la liberación de la nabumetona, la influencia de la acidez del medio es menos significativa, debido a la naturaleza cetónica de este compuesto. Los antifúngicos naftifina y terbinafina, debido a su baja solubilidad a pH neutro, son liberados en mayor cantidad en medio ácido.

6.- Los ajustes de los perfiles de liberación de los cuatro fármacos desde polímeros de β -ciclodextrina al modelo de Korsmeyer-Peppas muestran un mecanismo de liberación controlado principalmente por difusión simple *fickiana*. Para el naproxeno, la constante cinética obtenida es mayor a pH neutro, de acuerdo con la baja solubilidad del fármaco en medio ácido. Por el contrario, las constantes cinéticas son similares en ambos pH para el profármaco nabumetona. En cuanto a los antifúngicos, la naftifina presenta una constante cinética mayor que la terbinafina, debido a su menor afinidad por β -ciclodextrina, lo cual produce una liberación más rápida. Los coeficientes de difusión determinados para estos ensayos son mayores para cada fármaco en su medio de liberación más favorable, lo cual confirma la influencia de la naturaleza de los solutos en la liberación desde polímeros iguales.

7.- La liberación de naproxeno desde polímeros que contienen diferentes ciclodextrinas está condicionada por el tipo o tipos de CDs que contenga la matriz. Así, en polímeros de β -ciclodextrina se observa un porcentaje de liberación menor que en polímeros que contienen otras ciclodextrinas, debido a la mayor afinidad del naproxeno por la primera. Los polímeros mixtos, por su parte, muestran porcentajes de liberación intermedios, de acuerdo a las ciclodextrinas que los componen.

8.- Los coeficientes de difusión determinados están relacionados con los porcentajes de naproxeno liberados desde cada tipo de polímero, en función a la afinidad de cada ciclodextrina por el fármaco. La liberación desde polímeros de α -ciclodextrina es la más rápida, ya que el fármaco se encuentra adsorbido en su mayor parte en la red polimérica, dada su baja afinidad por esta ciclodextrina. Además, se observa un fenómeno *burst* en la liberación en medio neutro desde estos polímeros. Los polímeros mixtos, por su parte, muestran liberaciones más lentas, indicando un posible efecto sinérgico por la presencia de distintas ciclodextrinas en un mismo polímero. En medio ácido, estos polímeros muestran un mecanismo que implica a la vez difusión y relajación de las cadenas del polímero. El resto de liberaciones muestran un comportamiento *fickiano*, con un buen ajuste al modelo de Higuchi.

VI. ANEXOS

ANEXO I: Metodología empleada en los ensayos de liberación controlada (USP, 2010)

Los ensayos de liberación *in vitro* se llevaron a cabo en un equipo de velocidad de disolución *Sotax AT7 Smart* con colector de muestras automático, de acuerdo a la normativa de la farmacopea norteamericana para este tipo de ensayos.

Las características principales de estos ensayos se pueden resumir de la siguiente manera:

- Temperatura constante de 37°C.
- Medio de disolución: se emplearon dos medios, que simulan pH fisiológicos:
 - Medio de pH 7,0: consistente en una disolución de KHPO_4 (7,5 g/L) y Na_2PO_4 (11,2 g/L).
 - Medio de pH 1,2: consistente en una disolución de HCl 0,1M.
- Volumen de disolución: el volumen del medio fue siempre de 900 mL, manteniéndose constante por adición automática de medio para compensar la toma de cada muestra (3 mL). Las condiciones *sink* fueron tenidas en cuenta: el volumen utilizado fue siempre, al menos, tres veces mayor del necesario para formar una disolución saturada.
- Velocidad de agitación: de acuerdo con la normativa, la agitación debe de ser de 100 rpm para ensayos con cestillos, 50 rpm para formas sólidas en ensayos con paletas, y 25 rpm para suspensiones con paletas. Por ello, la agitación fue de 50 rpm en todos los ensayos, y el método utilizado, la agitación con paletas.

El programa de tiempos se optimizó para la toma de 20 muestras en 30 horas, hasta alcanzar la cantidad máxima de fármaco liberada para cada ensayo. Los tiempos de toma de muestra fueron los siguientes: 30', 60', 90', 120', 150', 180', 210', 240', 300', 360', 420', 570', 720', 870', 1020', 1170', 1320', 1470', 1620' y 1770'. La cuantificación se realizó por espectrofluorimetría, debido a que la alta sensibilidad de esta técnica permite la detección de las cantidades de fármaco liberadas en los tiempos iniciales.

Tabla 1- Condiciones del método espectroscópico para los distintos compuestos.

Compuesto	pH	$\lambda_{\text{absorción}}$ (nm)	$\epsilon \times 10^{-3}$ (M⁻¹cm⁻¹)
Naproxeno	7,0	272	5,6
Nabumetona		272	4,7
Naftifina		256	17,5
Terbinafina		284	9,9
Naproxeno	1,2	272	5,5
Nabumetona		272	4,7
Naftifina		256	18,5
Terbinafina		284	7,3
Diflunisal	Agua	252	14,0
1-naftol		322	2,3
Fenol		270	1,4
3-nitrofenol		330	2,0
4-nitrofenol		318	9,3

Tabla 2- Condiciones del método espectrofluorimétrico para los distintos compuestos.

Compuesto	pH	$\lambda_{\text{excitación}}$ (nm)	$\lambda_{\text{emisión}}$ (nm)	Rendijas (excitación/emisión)	Recta calibrado
Naproxeno	7,0	272	353	5/5	$y = 1,96 \cdot 10^9 x + 4$
Nabumetona		272	353	5/5	$y = 3,72 \cdot 10^7 x + 25$
Naftifina		256	325	5/5	$y = 1,54 \cdot 10^8 x + 30$
Terbinafina		284	325	5/5	$y = 6,34 \cdot 10^7 x + 33$
Naproxeno	1,2	272	353	5/5	$y = 1,35 \cdot 10^9 x + 22$
Nabumetona		272	353	5/5	$y = 4,74 \cdot 10^7 x + 2$
Naftifina		256	325	5/5	$y = 1,29 \cdot 10^8 x + 39$
Terbinafina		284	325	5/5	$y = 1,52 \cdot 10^8 x + 32$