



UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACIÓN A DISTANCIA
FACULTAD DE CIENCIAS
MÁSTER EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA QUÍMICA

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER
MÓDULO DE QUÍMICA ORGÁNICA

ESTRUCTURA, PROPIEDADES Y APLICACIONES DE LAS
CICLODEXTRINAS Y DERIVADOS

Autor: Joan Serra Massana

Tutora: Dolores Santa María Gutiérrez

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y BIO-ORGÁNICA
Octubre 2016

**ESTRUCTURA, PROPIEDADES Y APLICACIONES DE LAS
CICLODEXTRINAS Y DERIVADOS**

PRESENTADO POR:

Joan Serra Massana

TUTORA

Dolores Santa María Gutiérrez
Dpto. de Química Orgánica y Bio-Orgánica

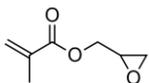
ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
3. BREVE HISTORIA DE LAS CICLODEXTRINAS.....	4
4. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y PROPIEDADES DE LAS CICLODEXTRINAS	6
5. PRODUCCIÓN ENZIMÁTICA DE CICLODEXTRINAS.....	12
6. DERIVADOS DE CICLODEXTRINAS NATURALES.....	16
6.1. Ciclodextrinas anfifílicas.....	20
6.1.2. Nanoestructuras supramoleculares.....	22
7. POLÍMEROS DE CICLODEXTRINA.....	23
7.1. Ciclodextrinas en la cadena principal del polímero.....	23
7.2. Ciclodextrinas conjugadas con el polímero.....	25
7.3. Rotaxanos y Pseudorotaxanos basados en ciclodextrinas.....	27
7.4. Pseudopolirrotaxanos y polirrotaxanos basados en ciclodextrinas.....	30
8. HIDROGELES DE CICLODEXTRINA.....	32
8.1. Hidrogeles por entrecruzamiento.....	32
8.2. Hidrogeles por polimerización de monómeros de CD.....	34
8.3. Hidrogeles de CD basados en complejos de inclusión.....	35
9. COMPLEJOS DE INCLUSIÓN CICLODEXTRINA-FÁRMACO. APLICACIONES FARMACÉUTICAS.....	35
9.1. Modelo termodinámico de los complejos de inclusión.....	35
9.2. Constante de equilibrio y diagrama de solubilidad de fase.....	38
9.3. Aplicaciones farmacéuticas.....	42

10. OTRAS APLICACIONES.....	45
11. CONCLUSIONES.....	48
12. BIBLIOGRAFÍA.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
ATRP	Polimerización radicalaria por transferencia de átomos.
cc	Centímetros cúbicos
CD	Ciclodextrina
CDPs	CD en la cadena de un polímero
CDs	Ciclodextrinas
CGTasa	Ciclodextrin-glucosil-transferasa
EDA	Etilendiamina
EPI	Epiclorhidrina
GMA	 metacrilato de glicidilo
HP/β-CD	Hidroxipropil-β-ciclodextrina; CH ₂ CHOHCH ₃ .
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
IR	Espectroscopia de Infrarrojo
M/γ-CD	Metil-γ-ciclodextrina
M/β-CD	Metil-β-ciclodextrina
NOEs	Nuclear Overhauser effects
PEA	Polietilenadipato
PEG	Polietilenglicol
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RM-β-CD	(random) Metil-β-ciclodextrina

TBDMS-Cl	Cloruro de <i>terc</i> -butildimetilsililo
TCE	Ticloroetileno
TMS-Cl	Cloruro de trimetilsililo
TREN	Tris(2-aminoetil)amina
α-CD	α -Ciclodextrina
β-CD	β -Ciclodextrina
γ-CD	γ -Ciclodextrina

1. INTRODUCCIÓN

Las ciclodextrinas (CDs) son oligosacáridos cíclicos formados por seis (α -CDs), siete (β -CDs) u ocho (γ -CDs) unidades de D-(+) glucopiranosas unidas por enlaces α (1-4) (Figura 1.1) y se obtienen de la degradación enzimática del almidón. También se conocen con el nombre de dextrinas de Schardinger, cicloamilosas y ciclo-glucoamilosas.

La estructura molecular a la que dan lugar las CDs es rígida y de forma troncocónica, con una cavidad interior, de volumen específico, que es capaz de albergar moléculas más pequeñas, tanto de naturaleza orgánica como inorgánica. Esta interacción entre las ciclodextrinas y un sustrato, da lugar a complejos de inclusión anfitrión-huésped (*host-guest* en inglés) de gran importancia dentro del campo de la química supramolecular y más concretamente en el del reconocimiento molecular [1-2].

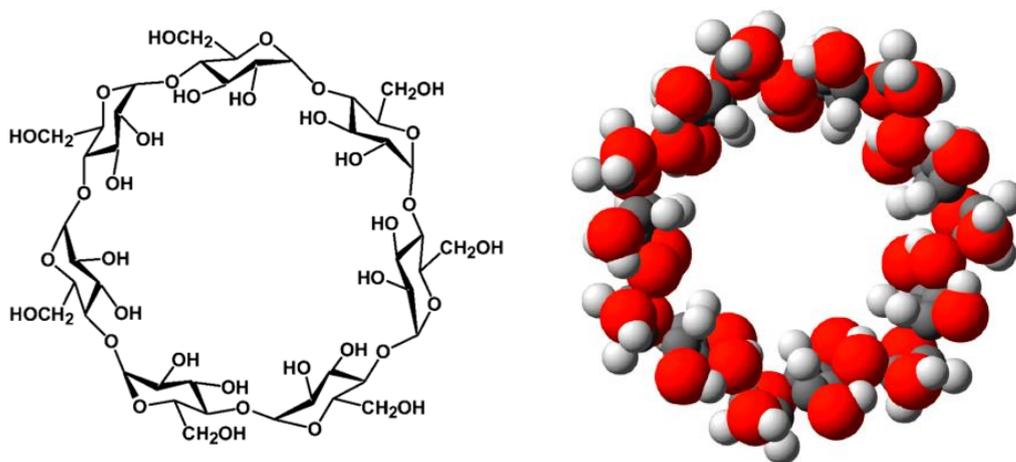


Figura 1.1. Estructura de una β -ciclodextrina y vista superior del modelo molecular. [29]

Las razones por las que las ciclodextrinas son importantes como anfitriones en la química *host-guest*, son [3]:

- Son productos seminaturales, con origen en un material natural renovable, el almidón, por una reacción enzimática simple.
- Se producen miles de toneladas al año con tecnologías respetuosas con el medio ambiente.

- Sus precios son aceptables para la mayoría de procesos industriales.
- Su capacidad para formar complejos de inclusión, modifica las propiedades de las sustancias encapsuladas en las CDs de manera tan significativa, que son ampliamente usadas en muchos productos, tecnologías y métodos.
- Cualquier efecto tóxico es de carácter secundario y es eliminado por la selección adecuada del tipo de CD, derivado o forma de aplicación.

Por otro lado, al ser las ciclodextrinas estructuras polihidroxiladas, han sido objeto de estudio en una gran variedad de reacciones con la finalidad de obtener diferentes derivados y poder estudiar sus propiedades y aplicaciones [4-6].

Los campos de aplicación de las ciclodextrinas son muy diversos y se puede decir que su utilización y producción industrial se inició en los años 1970 [7,8]. La mayor parte de las ciclodextrinas que se comercializan pertenecen a la industria alimentaria [9], la cosmética y de aseo personal [10]. Sin embargo, es incuestionable que su mayor potencial de aplicación está en el campo farmacéutico [11,12], problemas tales como la baja solubilidad en agua y, por ello, baja absorción del fármaco, o la incompatibilidad en el medio biológico, pueden resolverse mediante la formación de complejos fármaco-ciclodextrina.

En la actualidad, tanto las ciclodextrinas como sus derivados ofrecen otras múltiples posibilidades de aplicación: tienen actividad catalítica, siendo de interés como modelos enzimáticos; son muy eficientes para la separación cromatográfica de mezclas de sustancias complejas incluyendo a los enantiómeros; se utilizan como receptores de nucleótidos; precursores de tubos moleculares; sensores químicos, etc. [6,13].

2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo está resumido en el título del mismo: descubrir el mundo de las ciclodextrinas y derivados y conocer sus posibles aplicaciones. Y se me recomendó el poner especial énfasis en las aplicaciones farmacológicas. Como la microbiología no es un campo conocido por mí, me interesé en ver de dónde salía el bacilo productor de las CDs, y resulta que no hay uno sino varios y no todos reaccionan igual; estos se relacionan en el trabajo.

La revisión histórica del apartado tres ha ido trazando el camino hasta completar el objetivo del trabajo. Hubo que esperar hasta 1948 a que K.Freudenberg clarificara la estructura de la γ -CD por cristalografía de Rayos-X, y ya en los años 40 del siglo pasado F.Cramer había sugerido la formación de complejos de inclusión. Dicho esto es evidente la necesidad del apartado cinco dedicado a la producción actual de las CDs, que aun siendo un proceso industrial, sigue siendo enzimático, si bien en la actualidad ya se han descrito síntesis químicas. En la década de los años 50 F. Cramer centró su atención en los complejos de inclusión y ya se evidenció su importancia. El estudio de las propiedades de las ciclodextrinas y estructura, necesario para entender y prever su comportamiento, se relaciona en el capítulo cuatro.

Como indica el título el trabajo abarca también el estudio de los derivados de las ciclodextrinas, estos se tratan en el apartado seis, donde también se mencionan las nanoestructuras supramoleculares de gran importancia en la investigación oncológica. El campo de derivados se amplía muchísimo por la formación de complejos con CDs en la cadena principal del complejo, o por formación de supramoléculas con la cadena del polímero usado, estos se tratan en el capítulo siete y son el pilar de las nanoestructuras mencionadas en el seis. Los hidrogeles son complejos especiales muy higroscópicos, su afinidad por el agua hace que se hinchen manteniendo la compleja red que les permite retener fármacos insolubles en agua, estos se mencionan en el apartado ocho. En el apartado número nueve se justifica la estabilidad de los complejos de inclusión con los fármacos, y enumera los fármacos CDs autorizados. Y finalmente, el apartado diez muestra el gran abanico de usos de las ciclodextrinas.

3. BREVE HISTORIA DE LAS CICLODEXTRINAS

En 1891, A. Villiers descubrió las CDs tras la digestión del almidón de patata con *Bacillus amylobacter* (probablemente un cultivo no puro, que contenía esporas resistentes al calor de *Bacillus macerans*), al aislar 3 g de una sustancia cristalina a partir de 1000 g de almidón. Llamó a este producto "*Cellulosine*", por tener una resistencia a la hidrólisis ácida parecida a la celulosa y por no mostrar propiedades reductoras. Incluso, observó que se formaban dos "*Cellulosines*" diferentes [14,15].

Del alcohol usado para precipitar las dextrinas resultantes de la digestión, al cabo de unas semanas se separaron unos cristales que contenían agua y alcohol en un 4%, en contacto con el aire estos cristales perdieron el agua y el alcohol, sin variar sensiblemente el peso. Al disolverlos en agua caliente abundante, y dejarlos enfriar aparecieron unos cristales de fórmula $(C_6H_{10}O_5)_2 + 3H_2O$. Los cristales secos son muy ávidos de agua, la absorción se completa en dos días y tan rápido que es difícil pesarlos secos. En alcohol los cristales tienen la fórmula $(C_{12}H_{10}O_{10})_6 \cdot C_4H_6O_2 \cdot 10 HO$. Fórmulas empíricas fueron las dadas por A. Villiers [14].

Son muy interesantes las observaciones que Williers dio sobre estos cristales:

- Los cristales son blancos y de sabor casi dulce.
- Son muy poco solubles en agua a temperatura ambiente, lo que permite determinar su masa molecular por crioscopía (100 cc de agua a 15 °C disuelven 1.3 g de CD). La solubilidad aumenta con la temperatura (a 70 °C, 100 cc disuelven entre 15 y 16 g).
- Su rotación óptica es muy alta, en seco $D = 159,42^\circ$
- No fermentan y no reducen el licor cupropotásico. (*Azucares no reductores*).
- Al someterlos a ebullición con ácidos minerales diluidos, se transforman completamente en glucosa, transformación que requiere 24 horas, se hidrolizan por tanto mucho más lentamente que para las dextrinas y el almidón. Williers se aseguró que no existiesen antes en el almidón y concluyó que era un producto secundario de la fermentación del almidón. Finalmente, consiguió diferenciar dos "*Cellulosines*".

En 1903 el químico y bacteriólogo austriaco Franz Schärddinger, estudiaba la resistencia al calor de microorganismos que pueden inducir toxicidad alimenticia. Y descubrió uno muy resistente capaz de disolver el almidón y formar subproductos cristalinos similares a la "Cellulosine". Aisló la cepa de la bacteria responsable de la degradación del almidón y la formación de los productos cristalinos; la llamó cepa II.9 Usando la reacción con yodo, y un ensayo colorimétrico simple, distinguió dos tipos, que llamó dextrina cristalina A y dextrina cristalina B. En 1904, aisló un nuevo microorganismo, que primero llamó *rottebazillus*. Y por su acción sobre el almidón, meses después lo llamó *Bacillus macerans*. Entre 1905 y 1911, Schärddinger dio una descripción detallada de la preparación, separación y purificación de las "Cellulosines". Estudió su química frente alcoholes, cloroformo, éter y solución de yodo. Mostró que las CDs no eran reductoras frente los reactivos de cobre y no fermentables por la levadura. Usó diversas fuentes de almidón (patatas, arroz, trigo) y bacterias (la formación de dextrina dependía del tipo de bacterias). Basó su separación en la facilidad de cristalización de la β -dextrina en agua y su baja solubilidad a temperatura ambiente, y la precipitación de la α -dextrina del licor madre por la adición de alcohol. Y finalmente denominó a las "Cellulosines", α -dextrina y β -dextrina. Descubrió su capacidad para formar complejos. Su hipótesis de que eran polisacáridos cíclicos fue retomada 30 años después por Freudenberg, y no fue hasta finales de 1940 que se confirmó por rayos X. El principal descubrimiento de Schärddinger fue aislar el microorganismo capaz de sintetizar la enzima que cataliza la degradación del almidón en CDs. Más tarde se identificó la enzima CGTasa, como la causa de la transformación de la amilosa en CDs, el componente lineal de almidón [16].

En la década de 1950 se reconoció que las CDs podían formar complejos de inclusión y que todos los tipos de CDs tenían estructura troncocónica, debido a la conformación en forma de silla de las unidades de glucopiranososa. Así mismo, dos grupos de investigadores, liderados por French en 1957 y Cramer en 1954, empezaron a trabajar en la producción enzimática de CDs. French descubrió que existían otras CDs naturales, formadas por un número mayor de unidades de glucosa, que en 1961 fueron denominadas como δ -, ζ -, ξ - y η - CDs (9-12 residuos), mientras que el grupo de Cramer se centró en el estudio de las propiedades de los complejos de inclusión

formados por las CDs. En 1953 Freudenberg, Cramer y Plieninger obtuvieron una patente, en la que se desarrollaban los aspectos más importantes de la aplicación de las CDs en la formulación de fármacos para su protección frente a la oxidación, aumento de la solubilidad y protección de compuestos volátiles [16].

4. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y PROPIEDADES DE LAS CICLODEXTRINAS

Fue French el científico que demostró que la oxidación de CDs con peryodato no produce ni ácido fórmico, ni formaldehído, al igual que las hidrolisis ácidas, esto le permitió confirmar la estructura cíclica, propuesta por Freudenberg (Figura 4.1).

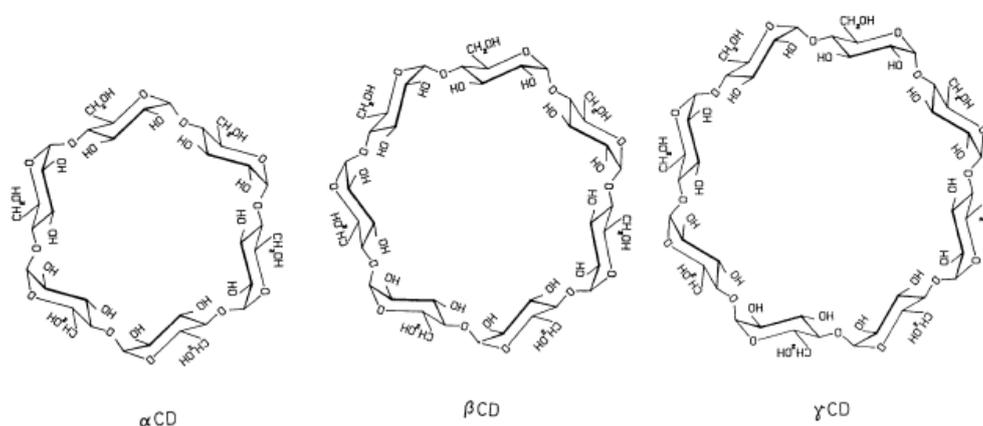


Figura 4.1. Estructuras de las α -, β - y γ -CDs. [25]

La principal conclusión de French fue que las CDs se componen de diversas unidades de D-(+) glucopiranosas unidas por enlaces α (1 \rightarrow 4) glucosídicos. La estructura requiere arreglos que le dan una serie de características (Figura 4.2) (i) la conformación 4C_1 de glucopiranosas, sitúa los hidroxilos secundarios de los carbonos C-2 y C-3 de cada unidad de glucosa orientados hacia la boca ancha de la estructura troncocónica, mientras que los hidroxilos primarios de los C-6 se encuentran hacia la boca estrecha de la estructura, quedando orientados los grupos CH_2OH hacia la superficie externa del cono; (ii) los hidrógenos de los carbonos C-3 y C-5 y el oxígeno de los enlaces glucosídicos quedan orientados hacia el interior de la estructura; y, (iii) los hidroxilos de los carbonos C-2 y C-3 forman enlaces de hidrógeno que estabilizan la molécula e influyen en su solubilidad.

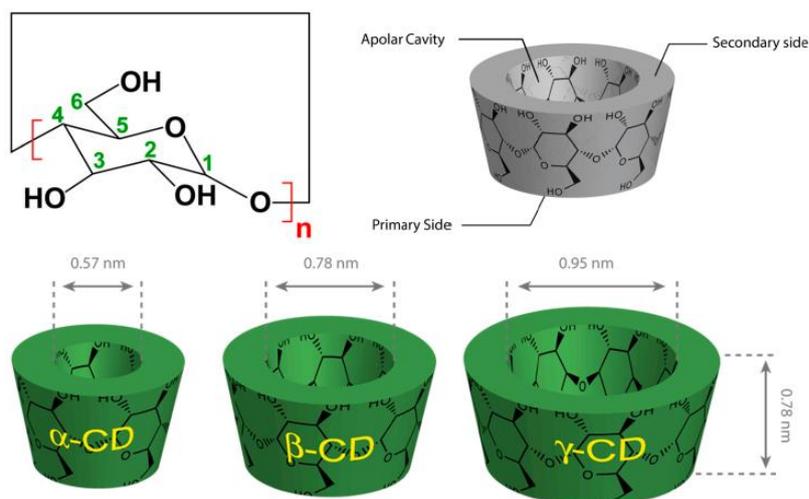


Figura 4.2. Esquema estructural y dimensiones de las α - ($n=6$), β - ($n=7$) y γ -CDs ($n=8$) [16]

Espectroscopía de RMN

Benito Casu demostró que la RMN de ^1H y la espectroscopía IR eran muy útiles para estudiar las conformaciones de CDs, fue el primero en demostrar la existencia de enlaces de hidrógeno entre el agua y los hidroxilos secundarios, que desplazan ligeramente los protones de estas funciones. La fuerza de estos enlaces es: $\alpha\text{-CD} > \beta\text{-CD} > \gamma\text{-CD}$, con el aumento de la temperatura la señal se desplaza a campos más altos lo que indica un debilitamiento del enlace. A la vez que los protones anoméricos se mantienen sin cambios. La presencia de enlaces de hidrógeno intramolecular ya había sido propuesta el 1965, por Hybl sobre la base de cristalografía de Rayos-X [16].

En los campos magnéticos superiores a 9,4 T, correspondientes a 400 MHz para los espectros de RMN de ^1H , la dispersión es lo suficientemente alta como para localizar en un espectro de una dimensión (1D) la mayor parte de los protones, gracias a la alta simetría de las CDs. En la figura 4.3 se muestran los espectros de ^1H de la β -CD en D_2O y DMSO-d_6 . Como puede verse en la tabla 4.1, la diferencia entre α - β - y γ -CDs es solo de 0.1 ppm para el protón anomérico H-1, e incluso más pequeña para otros. A campos de 400 MHz, sólo los protones anoméricos están suficientemente separados del resto para un análisis de primer orden [17,18].

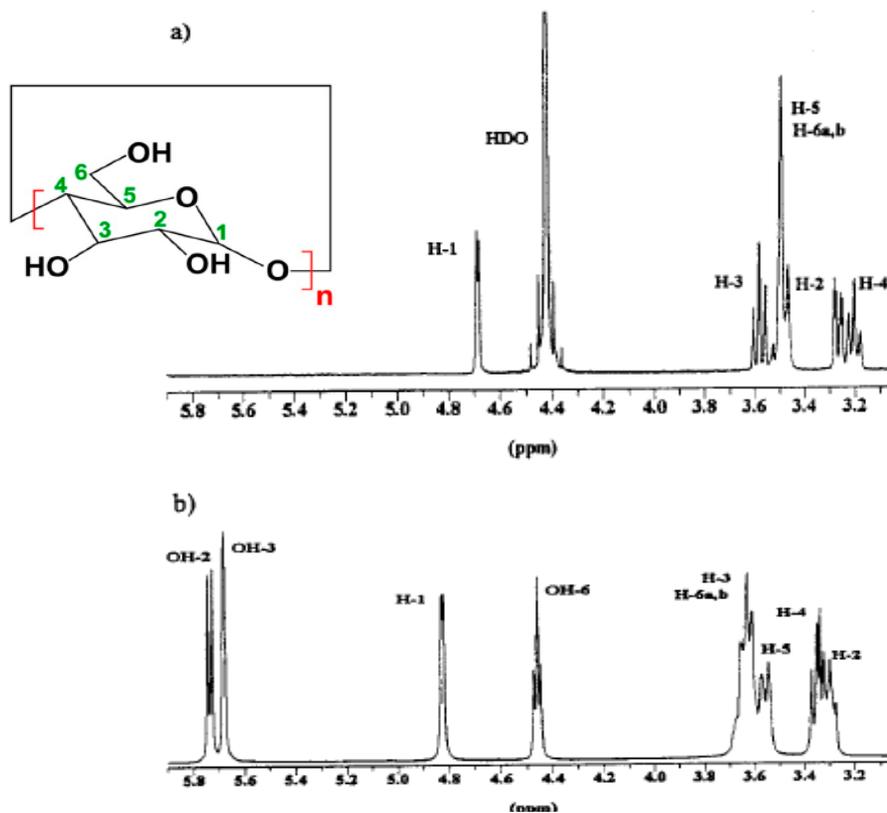


Figura 4.3. Espectro ^1H NMR a (400 MHz) de β -CD at 298 K: (a) en D_2O y (b) en $\text{DMSO-}d_6$. [17]

Tabla 4.1. Desplazamientos químicos δ (ppm) en ^1H -RMN de C-H en CDs no sustituidas, en D_2O y en $\text{DMSO-}d_6$. [17]

	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a,b
	D_2O					
α -CyD	4.60	3.19	3.57	3.08	3.39	3.44
β -CyD	4.68	3.26	3.58	3.19	3.47	3.49
γ -CyD	4.53	3.08	3.35	3.00	3.26	3.30
	$\text{DMSO-}d_6$					
α -CyD	4.79	3.29	3.78	3.40	3.59	3.65
β -CyD	4.82	3.29	3.64	3.34	3.59	3.64
γ -CyD	4.89	3.32	3.65	3.36	3.56	3.65

Las constantes de acoplamiento H-C-C-H vecinales están de acuerdo con una conformación silla $^4\text{C}_1$ del anillo de piranosa como en los 1,4 glucósidos de β -glucosa. Un análisis más detallado de H6a y H6b de la α -CD en función de la temperatura, da unas constantes de acoplamiento J_{5-6a} y J_{5-6b} que indican una mayor contribución del conformero *gauche-gauche* (gg) de la figura 4.4, con el grupo C6-OH apuntando hacia el anillo de piranosa, aunque también contribuye de manera significativa el

confórmero *gauche-trans* (gt), aquel que tiene el C6-OH inclinado hacia el átomo de oxígeno de piranosa.

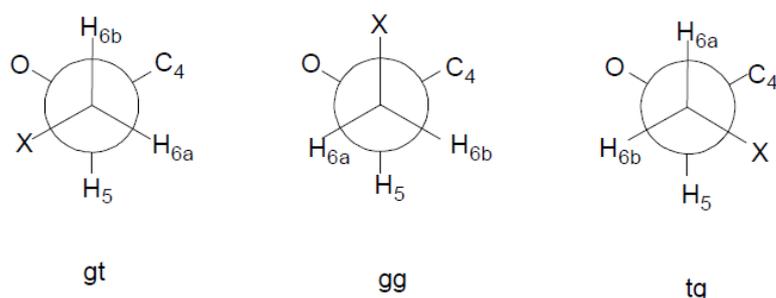


Figura 4.4. Conformación gg (gauche-gauche); gt (gauche-trans) y tg (trans-gauche) de la silla 4C_1 del anillo de piranosa [17]

Los desplazamientos químicos de ${}^{13}\text{C}$ RMN de las CDs (Tabla 4.2) al extenderse sobre una escala mucho mayor que la de los protones, son especialmente útiles para identificar ciclodextrinas, incluso en mezclas.

Tabla 4.2. Desplazamientos químicos δ (ppm) en ${}^{13}\text{C}$ -RMN de CDs no sustituidas en D_2O [17]

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
α -CyD	102.19	72.61	74.21	82.07	72.91	61.37
β -CyD	102.58	72.67	73.89	81.94	72.89	61.17
β -CyD	102.58	72.80	73.80	81.55	72.53	63.09
γ -CyD	102.42	73.19	73.82	81.33	72.69	61.21
δ -CyD	100.96	73.08	73.74	79.26	72.34	61.29
ϵ -CyD	99.74	72.65	73.68	78.03	71.78	61.49
ζ -CyD	99.83	72.56	73.66	78.31	71.74	61.53
η -CyD	100.17	72.53	73.67	78.87	71.82	61.54
θ -CyD	100.34	72.51	73.64	78.97	71.90	61.43

Estudio teórico de los confórmeros de las CDs

Debido a la gran libertad conformacional que presentan las CDs, resulta muy difícil identificar una única estructura que ofrezca una visión realista de las CDs. Solamente cuando se tienen datos experimentales (RX, RMN, etc.) en los que apoyarse, se puede llegar a identificar el confórmero que más contribuye.

Un ejemplo es el estudio teórico llevado a cabo por Alderete y Jiménez con la α -CD [19]. La optimización de la geometría de los cuatro confórmeros de mínima energía se realizó utilizando diferentes métodos, PM3, HF/STO-3G, HF/3-21G, HF/6-31G, B3LYP/6-31G y X3LYP/6-31G. Todos poseen longitudes de enlace, ángulos y ángulos diedros que están de acuerdo con la estructura cristalina de la α -CD. Sin

embargo, sólo tres conforméromos (1-3) (Figura 4.5) muestran patrones intramoleculares de enlaces de hidrógeno que están de acuerdo con los valores experimentales de RMN. El conforméromo 3 parece ser la especie más estable, tanto en fase gaseosa como en solución, por tanto, es la estructura más adecuada para representar la α -CD [19].

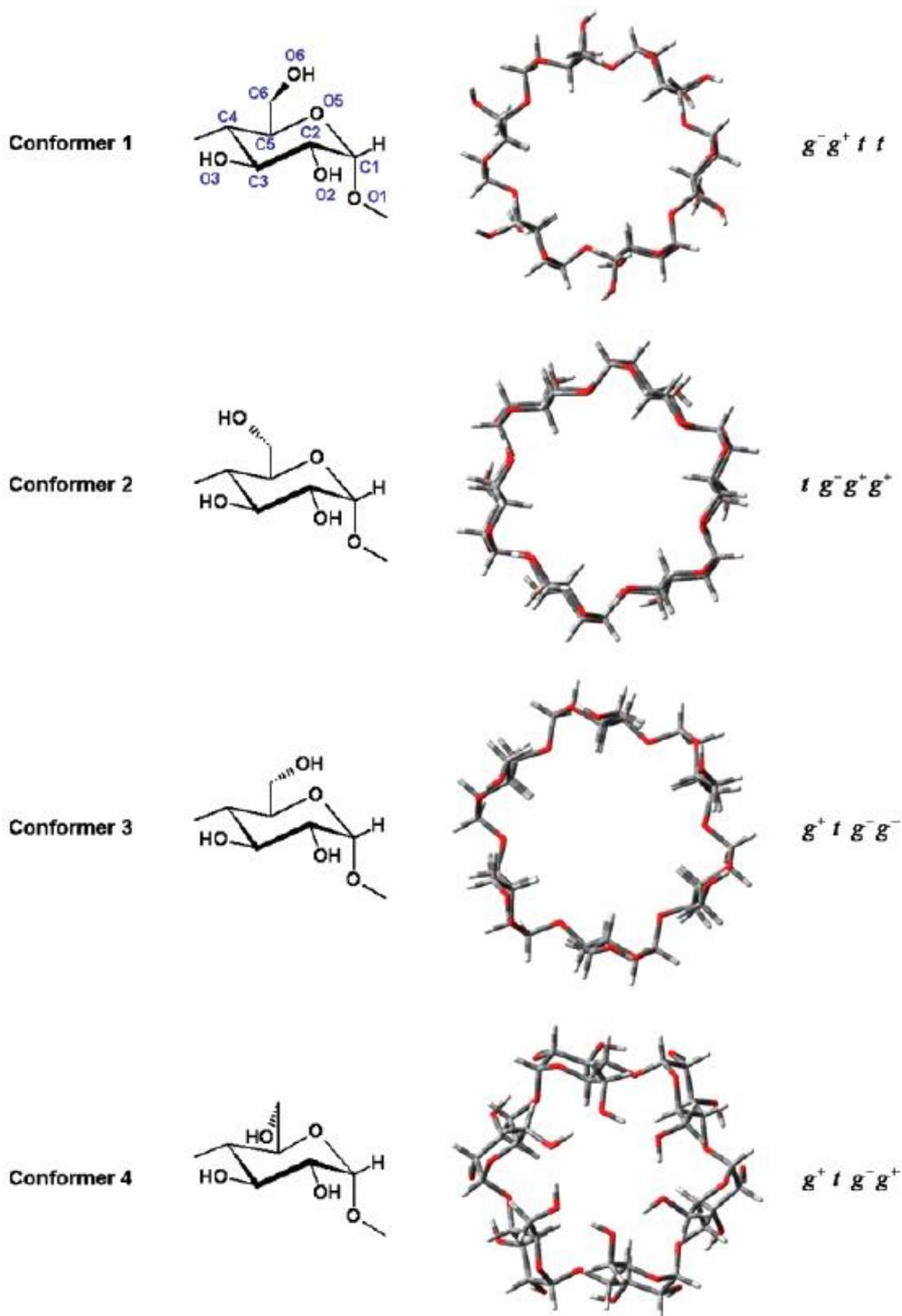


Figura 4.5. Conformaciones de mínima energía de la α -CD, obtenidas por B3LYP/6-31G(d) [19]

Propiedades

Las α -, β y γ -CDs, denominadas CDs de primera generación, parentales o naturales, son sólidos cristalinos incoloros. Su hidrólisis ácida parcial produce una mezcla de glucosa y una serie de oligosacáridos lineales. Las principales propiedades fisicoquímicas de las ciclodextrinas dependen del número de unidades de D-(+) glucopiranosas presentes en la molécula y se recogen en la tabla 4.3.

Tabla 4.3. Algunas características y propiedades de las de las α -, β - y γ -CDs [3]

Propiedades	α -CD	β -CD	γ -CD
Unidades de D-(+)-glucopiranosas	6	7	8
Masa molar (g/mol)	973	1135	1297
Diámetro de la cavidad (Å)	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
Temperatura de descomposición (°C)	250-260	255-265	240-245
Solubilidad en H ₂ O (g /100 cc a 25 °C)	14.5	1.85	23.2
Poder rotatorio de la luz polarizada [α] _D 25°C	150	162.5	177.4
Profundidad de la cavidad (Å)	7.9	7.9	7.9
Diámetro de la periferia (Å)	14.6	15.4	17.5
Volumen aproximado de la cavidad (Å ³)	174	262	972

Como ya se ha comentado, los grupos hidroxilo en las CDs adoptan una orientación específica, lo que da lugar a una molécula con un revestimiento externo de naturaleza altamente hidrofílica y una cavidad interna de carácter marcadamente hidrofóbico y apolar, estructura representada en la figura 4.6. Por ello, son solubles en agua y disolventes polares apróticos como el dimetilsulfóxido (DMSO) y dimetilformamida (DMF) y prácticamente insolubles en la mayoría de los disolventes orgánicos comunes (alcoholes, acetona, etc.) [20].

El grupo C2-OH de una unidad glucopiranosas forma un enlace de hidrógeno con el grupo C3-OH de la glucopiranosas adyacente. En la molécula de CD, un cinturón secundario está formado por estos enlaces de hidrógeno intramoleculares, es probablemente la explicación de que la β -CD es la menos soluble en agua de todas las

CDs. La α -CD, es la unidad de glucopiranososa más distorsionada, de los seis posibles enlaces de hidrógeno solo se pueden establecer cuatro. La γ -CD no es coplanar, de estructura más flexible, por tanto la más soluble en agua.

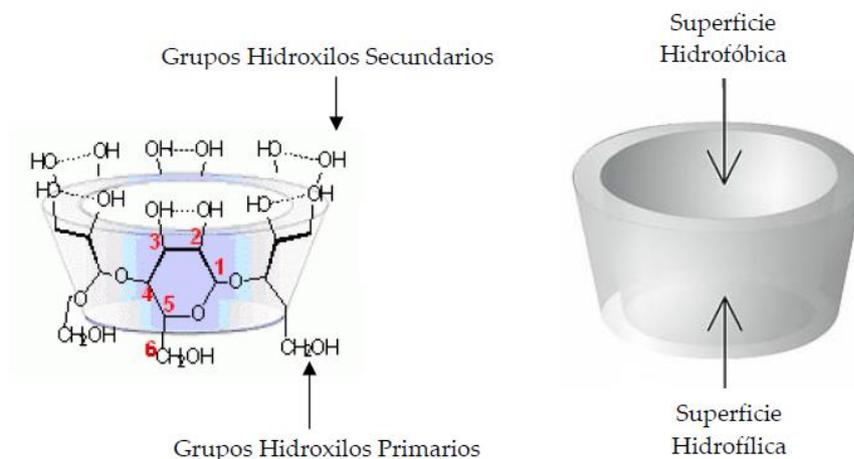


Figura 4.6. Disposición de los hidroxilos primarios y secundarios en las CDs

En el lado de los hidroxilos secundarios, el diámetro de la cavidad es más grande que en el lado opuesto donde están los primarios, la libre rotación de estos reduce el diámetro. Hasta 1950 solo las α -, β - y γ -CD eran conocidas, de todos modos solo estas tienen importancia, son conocidas como naturales o dextrinas de Schäringer, el resto salvo excepción (espirolactona, digitoxina,...), no favorecen la disolución de fármacos. Las CDs mayores no son estructuras cilíndricas regulares, sino más bien cilindros hundidos, con una cavidad más pequeña, que no favorece la disminución de entalpía por sustitución de las moléculas de la cavidad. No se conocen CDs de menos de 6 unidades probablemente por impedimento estérico [3].

5. PRODUCCIÓN ENZIMÁTICA DE CICLODEXTRINAS

Las ciclodextrinas se obtienen en la degradación enzimática del almidón. El almidón más utilizado como materia prima es el del maíz.

Las enzimas utilizadas se llaman ciclodextrin-glucosil-transferasas (CGTasa). Están presentes en diversos microorganismos (Tabla 5.1). El primero en ser explotado fue el *Bacillus macerans*. Hoy en día las enzimas se obtienen con procesos de tecnología genética a partir de organismos genéticamente modificados.

El principal propósito en la síntesis de las ciclodextrinas es obtener un producto uniforme que contenga el máximo porcentaje del número de moléculas CDs con el número de glucosas por unidad deseado, ya que las aplicaciones dependen mucho del tamaño de la cavidad.

Hasta el momento, han sido identificadas, al menos, 38 CGTasa, principalmente de especies Gram positivas del género *Bacillus*, y de *Thermoanaerobacterium*, *Thermoanaerobacter*, *Micrococcus*, y de *Klebsiella*, la única Gram negativa productora de CGTasa. Aunque todas las CGTasa tienen similitudes en la composición de aminoácidos en un 60%, sus características son diferentes. La relación molar de α -CD, β -CD y γ -CD obtenida, y sus propiedades fisicoquímicas (estabilidad, pH y temperatura óptima) varían dependiendo de la bacteria productora de la enzima. Existen numerosas α -CGTasa y β -CGTasa, aunque muy pocas γ -CGTasa, según el principal producto obtenido. Por ejemplo, la CGTasa de *Bacillus macerans* es una α -CGTasa, mientras que la CGTasa de *Bacillus circulans* es una β -CGTasa, el *Bacillus subtilis* (cepa 313) es el único microorganismo conocido capaz de sintetizar γ -CD. Se debe recurrir a otras CGTasa, en concreto a la CGTasa de *Bacillus ohbensis*, que se utiliza a nivel industrial para la obtención de β -CD y γ -CD (no se detecta la presencia de α -CD) [21,22].

Tabla 5.1. Caracterización de las CGTasa a partir de diferentes cepas [21]

Cepa	pH óptimo	Temperatura óptima °C	Estabilidad pH	Estabilidad térmica °C	CD dominante
<i>B. megaterium</i>	7.2	60	6.0-10.5	30	β
<i>B. Macerans 11</i>	4.5	65	6.8-8.0	65	$\alpha > \beta > \gamma$
<i>B. Firmus No. 37</i>	6	65	-	60	$\beta > \gamma > \alpha$
<i>B. Firmus NCIM 51119</i>	5.5-8.5	65	7.0-11.0	30	β
<i>B. Agaradhaerens LC-3C</i>	9	55	5.4-11.0	40	β
<i>Bacillus sp. 277</i>	5; 8.5	60	6-10.0	70	β - γ
<i>Bacillus sp. G1</i>	6	60	7.0-9.0	60	β
<i>Paenibacillus sp. F8</i>	7.5	50	6,0-6,8	40	β
<i>K.pneumoniae AS-22</i>	7,0-7,5	45	6.0-6.9	35	α
<i>Anaerobranka sp.</i>	6.0-9.0	65	-	66	α
<i>Thermococcus sp.</i>	5.0-5.5	90-100	-	100	α
<i>B. circulans</i>	5.2-5.7	55	7.0-9.0		$\beta > \gamma > \alpha$
<i>B. Licheniformis</i>	5.5	65-79			$\alpha > \beta > \gamma$
<i>B. Ohbensis</i>	5.5	60	6.6-9.5		$\beta > \gamma$

<i>B. Stearothermophilus</i>	6	70-75	8.0-10.0		$\alpha>\beta>\gamma$
<i>B. Subtilis 313</i>	8	65	6.0-8.0		γ
<i>B. Sp. Alcalófilos neutros</i>	7	50	6.0-8.0		$\beta>\gamma>\alpha$
<i>B. Sp. Alcalófilos ácidos</i>	4.5-4.7	45	6.0-10.0		$\beta>\gamma>\alpha$
<i>Klebsiella oxytoca</i>	6.0-7.2		5.0-6.7		$\alpha>\beta>\gamma$
<i>Thermoanaerobacterium sp</i>	5.8	90-95	5.0-6.7		$\beta>\gamma>\alpha$
<i>Thermosulfurigenes</i>	6	85			$\beta>\gamma>\alpha$

El proceso de preparación de CDs consta de cuatro etapas: (1) el cultivo del microorganismo que produce la CGTasa; (2) la separación, concentración y purificación de la enzima del medio de fermentación; (3) la conversión enzimática del almidón prehidrolizado en mezcla de dextrinas cíclicas y acíclicas; y (4) la separación de las ciclodextrinas de la mezcla, su purificación y cristalización [23].

La etapa 2, que constituye en sí misma el proceso de formación de CDs, puede llevarse a cabo con o sin disolvente. En el proceso con disolvente éste actúa como agente complejante y dirige la reacción enzimática hacia la producción mayoritaria de una clase de CD, es decir, es un proceso en el que se extrae selectivamente un tipo de ciclodextrina. Sin embargo, en el proceso sin disolvente al no incorporar el agente complejante orgánico se forma una mezcla de CDs, en función de la CGTasa y las condiciones empleadas [23-25]. La figura 5.1 muestra el diagrama de los dos procesos.

Proceso con disolvente: es el proceso más utilizado a escala industrial y emplea como disolvente principalmente tolueno, etanol o acetona. Se empieza licuando el almidón, bien utilizando una α -amilasa estable al calor, ácidos (ej. HCl), desintegración mecánica o una CGTasa termoestable. Después de la licuefacción, la solución se enfría hasta la temperatura de la reacción enzimática, se añade la CGTasa y el agente complejante orgánico. Se forman entonces las CDs y el tipo de CD que se desea obtener forma un complejo con el agente complejante y precipita. La separación del complejo de la solución se lleva a cabo por filtración o centrifugación. A continuación, el CD-agente complejante se escinde con agua caliente, y el agente se recupera. De la solución precipitan las CDs, se filtran, lavan y secan. Este proceso precipita las CDs pero no las separa. Por tanto, la selectividad va a depender de la enzima y del agente complejante elegidos.

Disolventes como el n-decanol, tetrahidrofurano, acetonitrilo, 1-butanol, ciclohexano, éteres alifáticos o cíclicos aumentan el rendimiento de α -CDs, el tolueno el de β -CDs y el bromobenceno favorece la producción de γ -CDs [23-25].

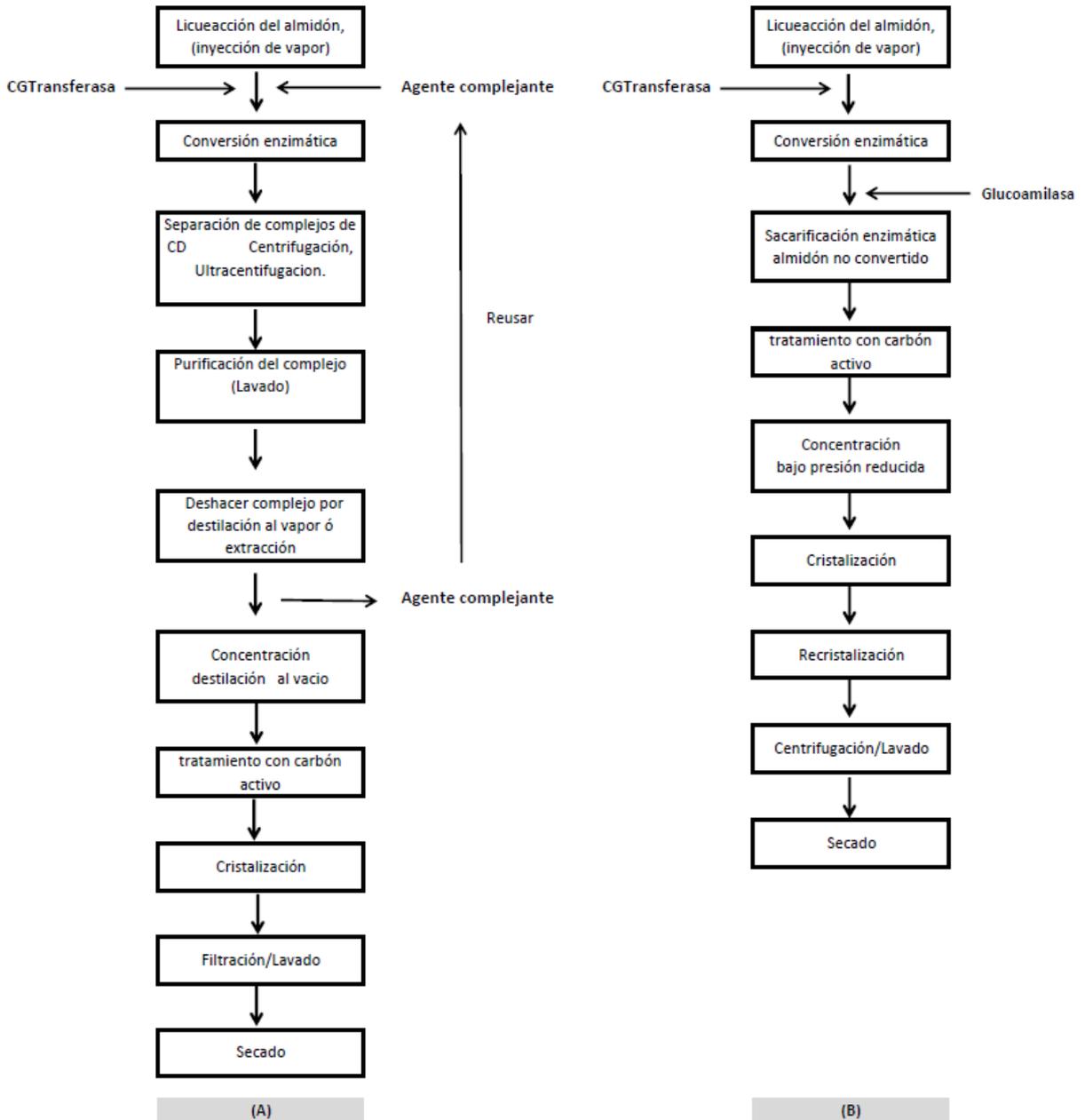


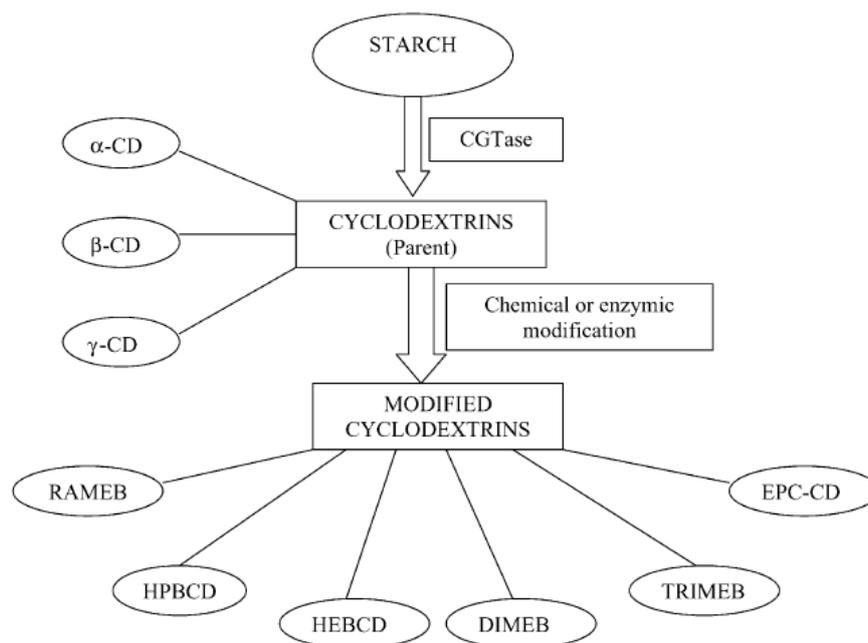
Figura 5.1. Esquemas de los procesos de producción de CDs: a) con disolvente y b) sin disolvente [25]

Proceso sin disolvente: fue desarrollado para la producción de β -CD a escala industrial ya que debido a su baja solubilidad puede ser fácilmente purificada por cristalización. El proceso comienza con la licuefacción del almidón y conversión enzimática idéntica al proceso con disolvente, pero sin agente complejante. Al final se inactiva la CGTasa, se reduce el pH y se añade glucoamilasa. La glucoamilasa convierte el almidón no utilizado, y otras dextrinas lineales, en glucosa y maltosa. Se cristaliza, y el precipitado de β -CD se seca. El resto, glucosa, maltosa, α -CD y γ -CD, se usa como aditivo alimenticio.

6. DERIVADOS DE CICLODEXTRINAS NATURALES

A partir de las CDs naturales se han sintetizado otros tipos de CDs, llamadas derivadas o modificadas, con el fin de poder modificar sus propiedades físicas y químicas. La síntesis de derivados de ciclodextrinas constituye en la actualidad un desafío de extraordinaria dimensión para la química supramolecular, debido a sus potenciales aplicaciones en diversos campos. Por otro lado, en muchas ocasiones las CDs modificadas poseen una mayor capacidad de formación de complejos de inclusión, como consecuencia de los nuevos grupos funcionales incorporados a las ciclodextrinas

Las reacciones que dan lugar a derivados de CDs son, entre otras, acilaciones, esterificaciones y eterificaciones de los grupos hidroxilo de los carbonos primarios y secundarios de las CDs naturales (Figura 6.1). Dependiendo del sustituyente adicionado, la solubilidad de las CDs modificadas es diferente a las de su parental. Prácticamente, todas las CDs modificadas tienen cambios en el volumen de su cavidad hidrofóbica y estas modificaciones mejoran su solubilidad en agua, dato importante en sus aplicaciones, fundamentalmente en el campo farmacéutico [13].

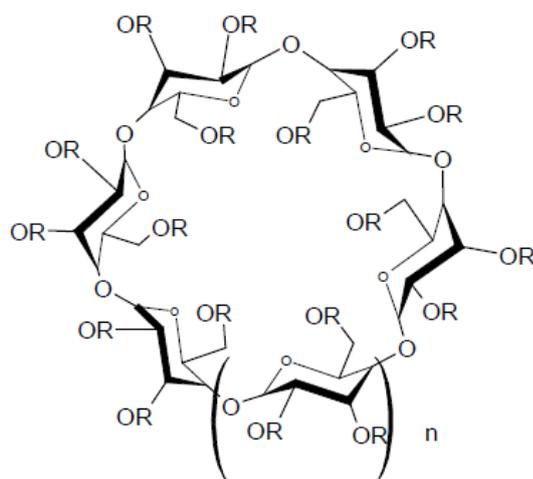


- RAMEB-randomly methylated beta-CD
- HPBCD-hydroxypropyl-beta-CD
- HEBCD-hydroxyethyl-beta-CD
- DIMEB-heptakis(2,6-dimethyl)-beta-CD
- TRIMEB-heptakis(2,3,6-trimethyl)-beta-CD
- EPC-CD crosslinked with epichlorhydrin

Figura 6.1. Algunos tipos de CD modificadas [13]

En la década de 1980 se describen numerosos derivados por modificación de las dextrinas a través de los hidroxilos de las posiciones C-2, C-3 y C-6. Los hidroxilos secundarios difieren poco en reactividad de los primarios (los primarios son algo más reactivos), en realidad los derivados comercializados son mezclas de sustancias. Como las CDs tienen 18 (α -CD), 21 (β -CD) o 24 (γ -CD) hidroxilos sustituibles, el número de posibles derivados es ilimitado, así en 1997 ya se había publicado la síntesis de más de 1500 CDs. En 1997 se producen toneladas de: CDs metiladas (RAMEB = metilación aleatoria β -CD); CDs hidroxialquiladas (β -CD hidroxipropil y γ -CD hidroxipropil); CDs acetiladas (γ -CD acetil-); CDs reactivos (β -CD clorotriazinil); y ramificadas CDs (β -CD glucosil y maltosil). Lista que se completa con sulfobutil-(β -CD), CDs sulfatadas y polímeros de CD [3]. En la tabla 6.1 se muestran los nombres y abreviaturas de algunos derivados de CDs que han encontrado aplicación farmacéutica.

Tabla 6.1. Nombre y abreviatura de CDs modificadas con aplicación farmacéutica [26]



Ciclodextrina	Abreviatura	R*	n
α-ciclodextrina	α-CD	H	1
β-ciclodextrina	β-CD	H	2
γ-ciclodextrina	γ-CD	H	3
Carboximetil-β-ciclodextrina	CM-β-CD	CH ₂ CO ₂ H o H	2
Carboximetil-etil-β-ciclodextrina	CME-β-CD	CH ₂ CO ₂ H, CH ₂ CH ₃ o H	2
Dietil-β-ciclodextrina	DE-β-CD	CH ₂ CH ₃ o H	2
Dimetil-β-ciclodextrina	DM-β-CD	CH ₃ o H	2
Metil-β-ciclodextrina	M-β-CD	CH ₃ o H	2
(random) Metil-β-ciclodextrina	RM-β-CD	CH ₃ o H	2
Glucosil-β-ciclodextrina	G ₁ -β-CD	glucosil o H	2
Maltosil-β-ciclodextrina	G ₂ -β-CD	maltosil o H	2
Hidroxietil-β-ciclodextrina	HE-β-CD	CH ₂ CH ₂ OH o H	2
Hidroxipropil-β-ciclodextrina	HP-β-CD	CH ₂ CHOHCH ₃ o H	2
Sulfobutiléter-β-ciclodextrina	SBE-β-CD	(CH ₂) ₄ SO ₃ Na o H	2

*Los derivados pueden tener diferentes grados de sustitución en las posiciones 2,3 y 6.

Ya se ha comentado que la cavidad interna en las CDs es hidrófoba por la presencia de oxígenos glucosídicos y C-H, mientras que el revestimiento externo es muy hidrofílico debido a la presencia de los grupos hidroxilo (Figura 6.2). Los hidroxilos primarios C6-OH tienen rotación libre, no así los secundarios C2-OH y C3-OH que están protegidos por el anillo de enlaces de hidrógeno, que da rigidez a la CD. Todas las modificaciones tienen lugar en los hidroxilos y vienen determinadas por su carácter nucleófilo y su capacidad para formar complejos [27].

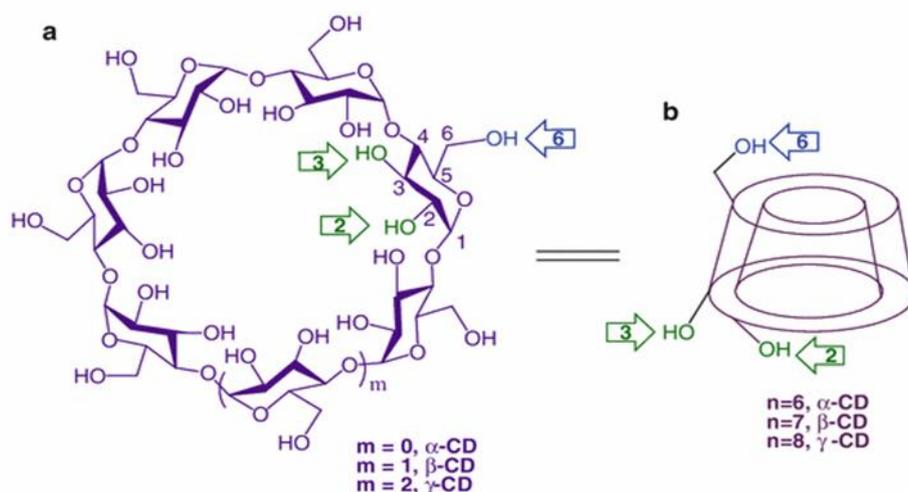


Figura 6.2. Situación de los grupos hidroxilo en las CDs [28]

Los C6-OH son los más básicos, los C2-OH los más ácidos y los C3-OH los más inaccesibles. Los agentes más reactivos atacarán a los OH de manera poco selectiva, mientras que los menos reactivos seleccionarán los C6-OH. Por ejemplo, con cloruro de *terc*-butildimetilsililo (TBMS-Cl) se formarán exclusivamente los silil éteres en los C6-OH, mientras que con un agente más reactivo como el cloruro de trimetilsililo (TMS-Cl) reaccionarán todos los hidroxilos.

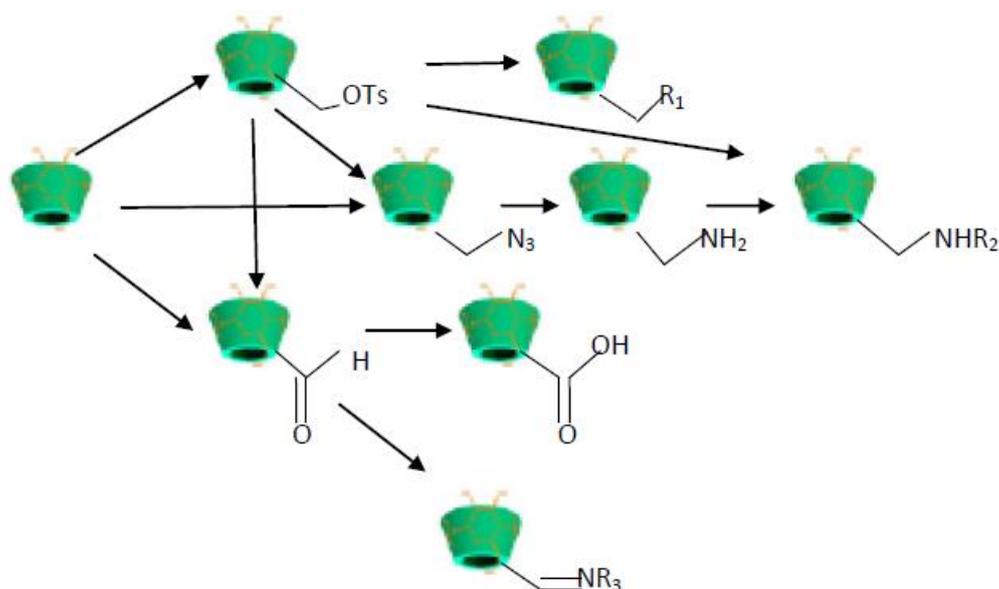
Como los C2-OH son los más ácidos serán los primeros en desprotonarse; ahora el alcóxido resultante es más nucleófilo que el C6-OH, pero la transferencia protónica que tiene lugar entre esas dos posiciones conduce a una mezcla de productos.

La formación de complejos con CDs y la fortaleza de los mismos va a determinar el tipo derivado formado. Así, si el complejo es muy fuerte, el producto predominante vendrá dado por la orientación que tiene el reactivo dentro de la CD, sin embargo, si el complejo es débil, estará determinado por la nucleofilia relativa de los grupos hidroxilo.

Además, en la fortaleza de la unión CD-reactivo el disolvente juega un papel decisivo. Por ejemplo, el cloruro de tosilo reacciona con $\alpha\text{-CD}$ en piridina para dar 6-tosil- $\alpha\text{-CD}$, mientras que en fase acuosa se forma 2-tosil- $\alpha\text{-CD}$.

Las 6-tosilciclodextrinas son precursoras de una amplia variedad de CD modificadas ya que ahora el C6 tiene carácter electrófilo y el grupo tosilo puede ser

desplazado por diversos nucleófilos tales como, yodo, azida, tioacetato, hidroxilamina, alquil- o poli(alquilaminas) [27]. La figura 6.3 muestra derivados funcionalizados en la posición C6-OH.



- R_1 I^- ; N_3^- ; $-SCOCH_3$; alquil o polialquil aminas; tio-alquil
 R_2 derivados de β -D-Glucosa; β -D-Galactosa; α -D-Manosa; α -D y L-fructosa
 R_3 $-OH$; $-NH-Ph$

Figura 6.3. Esquema general de los métodos de monosustitución en la posición 6 de las CDs [27]

6.1. Ciclodextrinas anfifílicas

Como su propio nombre indica una CD anfifílica será aquella que posea un extremo o lado hidrofílico y otro hidrofóbico. Los objetivos de sintetizar este tipo de derivados han sido dos, por un lado, conseguir aumentar las interacciones de las CDs con las membranas biológicas y, por otro, potenciar la capacidad de autoensamblaje en soluciones acuosas. En función de los grupos que se conjuguen con las CDs, los derivados resultantes se pueden clasificar en CDs anfifílicas neutras, catiónicas y aniónicas. En la figura 6.4 se muestra un esquema representativo de cada una de ellas [29].

Así, en la figura 6.4 (A) muestra una CD en la que el lado de los grupos hidroxilos primarios se mantiene como tal dando el carácter polar o hidrofílico a la CD, mientras que el otro lado, el de los hidroxilos secundarios de las posiciones 2 y 3, ha

sido modificado para dar el carácter hidrofóbico mediante esterificación conteniendo grupos diacilo con cadenas desde 2 hasta 14 átomos de carbono.

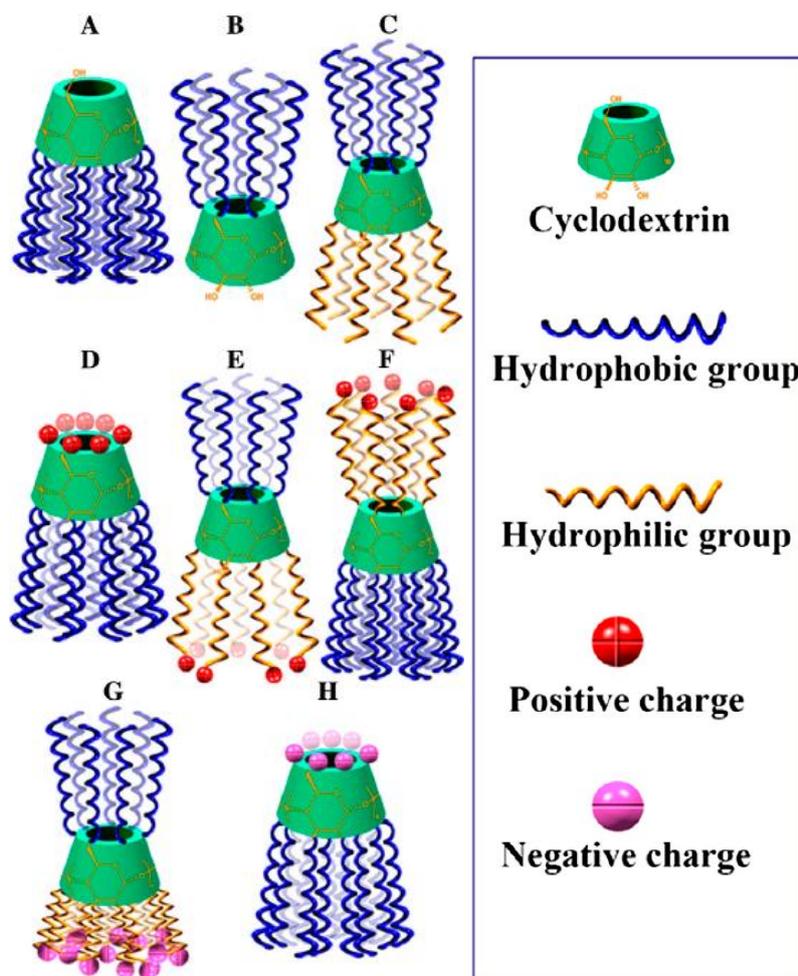


Figura 6.4. **A.** CDs anfílicas neutras modificadas hidrofóticamente en el lado secundario. **B.** CDs anfílicas neutras con la modificación hidrofoba en el lado primario. **C.** CDs anfílicas neutras con restos hidrofobos en ambos lados. **D.** CDs catiónicas con grupos cargados en el lado primario y restos hidrofobos en secundario. **E.** CDs catiónicas con restos cargados en el lado secundario y hidrofobos en el primario. **F.** Con la carga en el lado primario y los restos hidrofobos en el secundario. **G y H.** CDs anfílicas aniónicas [29]

Otro tipo de CD anfílica neutra, la representada en la figura 6.4 (B), se puede sintetizar por desplazamiento del bromo de la heptakis(6-bromo-6-desoxi)- β -CD (Figura 6.5) con tiolatos de alquilo (de 2 a 18 carbonos) y manteniendo la cara de los hidroxilos secundarios sin cambio alguno.

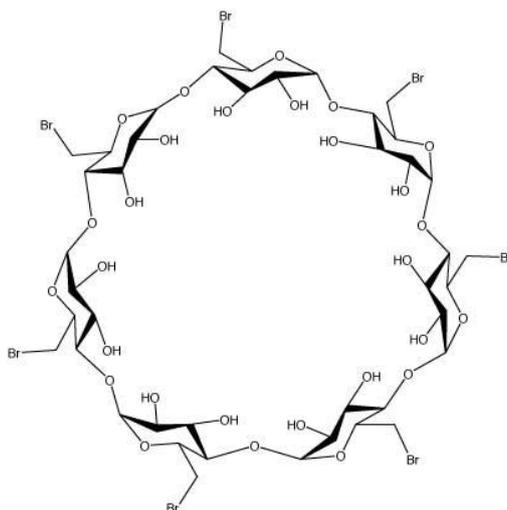


Figura 6.5. Heptakis(6-bromo-6-desoxi)- β -CD

Las CDs anfílicas catiónicas se han preparado para productos de autoensamblaje y más recientemente para la liberación de genes. Un ejemplo de este tipo lo constituye una síntesis que introduce grupos amina protonados en la cara de los hidroxilos primarios y grupos alquilo en las posiciones 2 y 3, dando lugar a una CD como la representada esquemáticamente en la figura 6.4 (D).

En las CDs anfílicas aniónicas, como las mostradas en la figura 6.4 (G y H), los restos se pueden situar en cualquiera de las caras y las más representativas son las que contienen grupos carboxilato o sulfato.

6.1.2. Nanoestructuras supramoleculares

Hay una gran variedad de CDs anfílicas con capacidad de autoensamblarse en medio acuoso y dar lugar a nanoestructuras supramoleculares del tipo vesículas, micelas, nanobastones, nanoesferas y otras clases de nanopartículas (Figura 6.6). Estas CDs anfílicas se obtienen por medios químicos o enzimáticos modificando las caras primarias o secundarias de las CDs por fosfolípidos, peptidolípidos, colesterol y oligo(óxido de etileno) así como por cadenas hidrófobas de hidrocarburos o cadenas fluoradas [30].

El tipo de nanoestructura a la que den lugar al autoensamblarse va a depender de varios factores: naturaleza química, la disposición geométrica y tipo de cadenas lipófilas unidas a la CD. El proceso de agregación depende también de la concentración de CDs, el disolvente y la temperatura.

Esta capacidad de las CDs anfífilas de autoensamblarse solas o mezcladas con otras moléculas de importancia terapéutica ha dado lugar a importantes aplicaciones: nanoencapsulación de moléculas de fármacos entre las cadenas hidrófobas y nanocavidades de las CDs (que sirven como portadores de fármacos o excipientes), contra el cáncer, en fototerapia, entrega de genes y protección de compuestos activos inestables por inclusión de éstos en la nanoestructura.

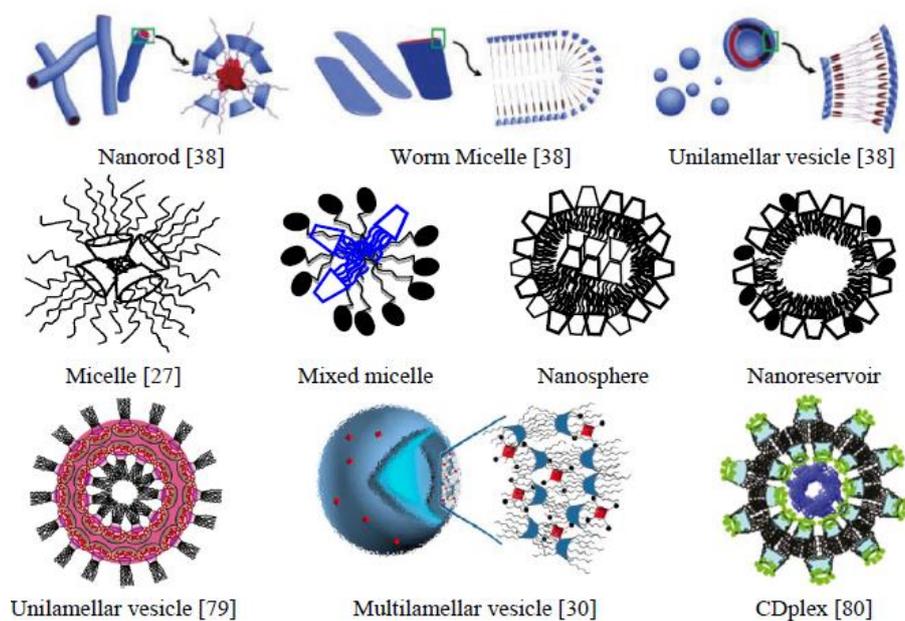


Figura 6.6. Nanoestructuras que implican ciclodextrinas anfífilas [30]

7. POLÍMEROS DE CICLODEXTRINAS

Otro de los aspectos de interés en la química de las ciclodextrinas, es la presencia de éstas en una estructura polimérica. Con ello se obtienen materiales con múltiples sitios de reconocimiento para el autoensamblaje molecular, se mejora la biocompatibilidad de los polímeros para aplicaciones biomédicas, y se pueden conseguir materiales para el transporte controlado de fármacos y terapia génica [29].

7.1. Ciclodextrinas en la cadena principal del polímero

Un ejemplo lo constituyen los polímeros lineales que contienen unidades de β -CDs en la cadena principal (β -CDPs). En la figura 7.1 se muestra de forma esquemática la estructura de un β -CDPs con grupos carboxílicos laterales obtenido por

policondensación de un derivado de diamino- β -CD con polietilenglicol (PEG) difuncionalizado como copolímero. Estos polímeros son muy solubles en agua y presentan una baja toxicidad en cultivos celulares. La Camptotecina, un potente antineoplásico, se puede unir covalentemente a estos CDPs a través de dos hidroxilos funcionalizados de la CD.

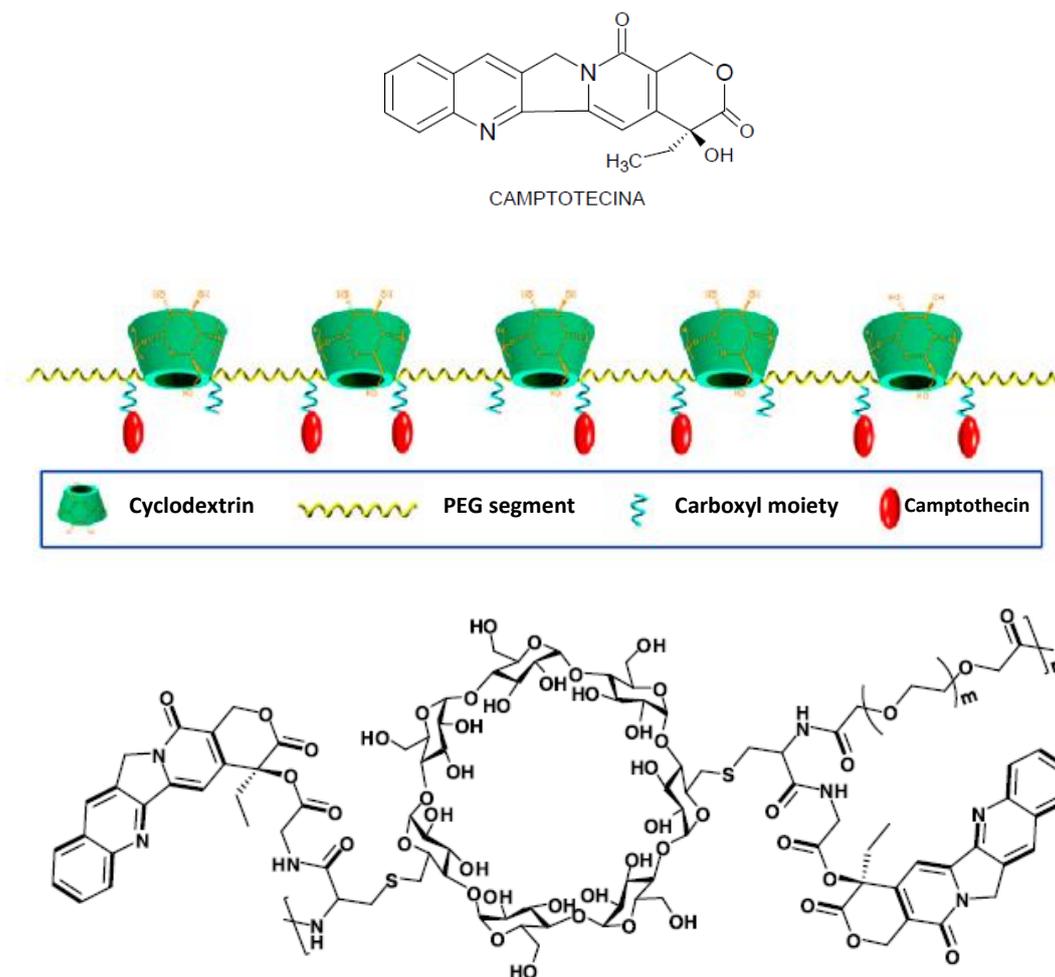


Figura 7.1. Estructura de un CDPs conjugado con Camptotecina [29]

Son diversas las estructuras de los CDPs. Las CDs han sido utilizadas como núcleos para producir moléculas en forma de estrella aptas para el suministro de drogas, genes y la formación de imágenes médicas. Un ejemplo de este tipo de estructuras se muestra en la figura 7.2 sintetizada por reacción "click" entre una perazida- β -CD (1) y siete moléculas de un alquino funcionalizado con ácido dietilentriaminotetraacético (2) capaz de formar el quelato final con gadolinio. La

importancia radica en su aplicación como agente de contraste macromolecular para la formación de imágenes de resonancia magnética.

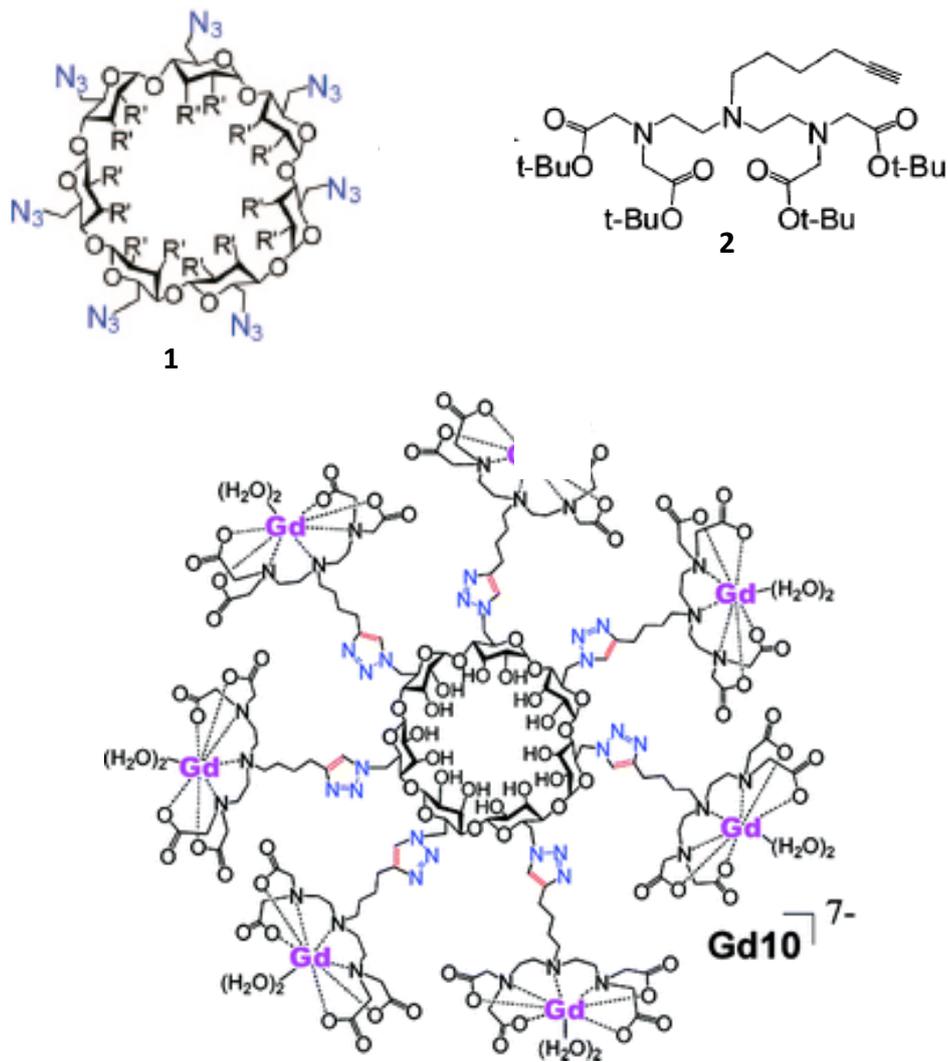


Figura 7.2. Estructura en estrella de un CDPs [31]

7.2. Ciclodextrinas conjugadas con el polímero

Las CDs han sido conjugadas covalentemente sobre varios polímeros para modificar sus propiedades fisicoquímicas y mejorar su biocompatibilidad, para el suministro de fármacos y genes o dar macromoléculas con muchos puntos de enlace (lineales, ramificadas, hiperramificadas o dendríticas). Estos polímeros se usan para fabricar ensamblajes moleculares de escala nano, micro y macro. En la Figura 7.3 se

muestran las diferentes estructuras que pueden obtenerse, en las que en todas ellas las unidades de CD están colgando del polímero.

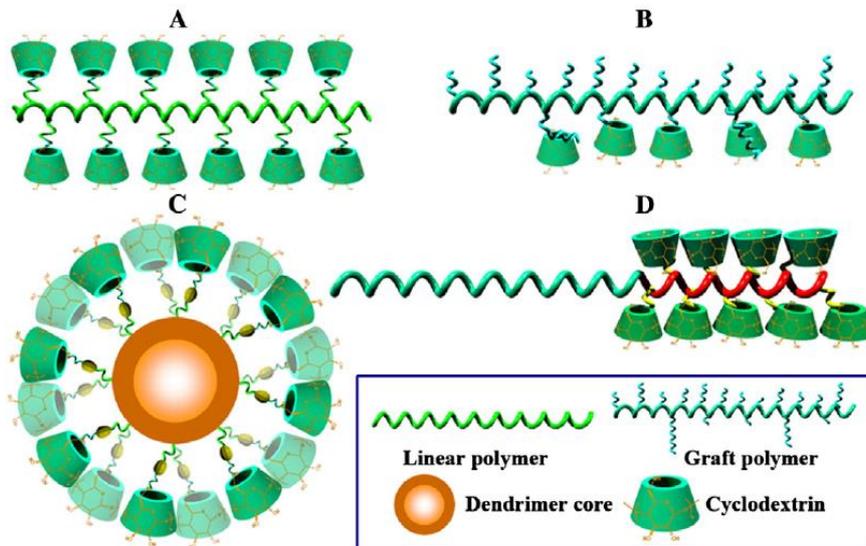


Figura 7.3. Estructuras de CD conjugadas con polímeros [29]

Un método de obtención de estas estructuras consiste en la polimerización directa de los monómeros, este método se utiliza para preparar polímeros acrílicos (Figura 7.4).

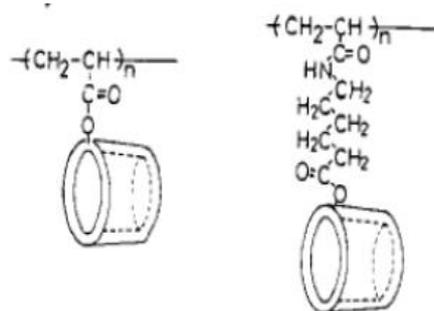


Figura 7.4. Poliacrilil-β-CD y Poli-N-acrilil-6-aminocaproil-β-CD [32]

Un ejemplo de síntesis de un complejo en forma de estrella se muestra en la figura 7.5:

- Primero se sintetiza el polímero heptakis [2,3,6-tri-O-(2-cloropropionil)]-β-ciclodextrina (21Cl-β-CD) por reacción de β-CD con cloruro de 2-cloropropionilo.
- Síntesis de la estrella de 21 brazos (star-PNIPAm) por polimerización radicalaria por transferencia de átomos (ATRP) de *N*-isopropilacrilamida (NIPAm) y 21Cl-β-CD.
- Síntesis del monómero GMA-EDA-β-CD mostrado en la figura 7.5 (c).

d) Síntesis de la star-PNIPAm-CD, mediante ATRP de derivados monómeros de β -CD, (GMA-EDA- β -CD) a través de la star-PNIPAm.

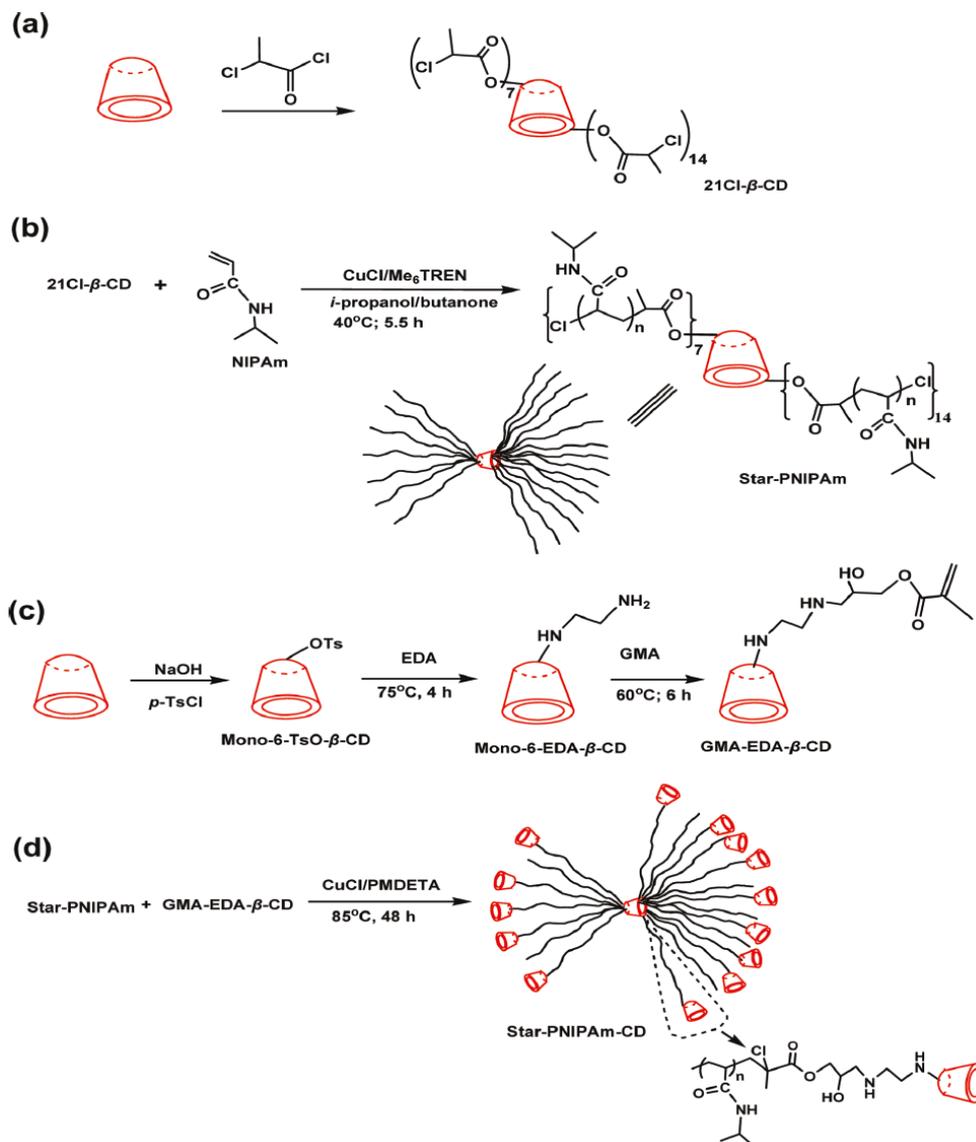


Figura 7.5. Síntesis de star-PNIPAm-CD a partir de star-PNIPAm [33]

7.3. Rotaxanos y Pseudorotaxanos basados en ciclodextrinas

Los rotaxanos son especies moleculares que consisten en una estructura macrocíclica, por la que se inserta una cadena suficientemente larga (eje) con grupos finales voluminosos (topes o tapones) que evitan la disociación del componente cíclico y del componente lineal (Figura 7.6-A). Se puede decir que un rotaxano es una

arquitectura molecular mecánicamente entrelazada. Y hay que diferenciarlos de los pseudorotaxanos los cuales, al carecer de los grupos bloqueantes (Figura 7.6-B) poseen una estructura con mayor dinamismo, estando siempre el pseudorotaxano en equilibrio con los componentes moleculares libres.



Figura 7.6. Representaciones esquemáticas de: un rotaxano (A) y un pseudorotaxano (B)

Las CDs al ser moléculas macrocíclicas pueden dar lugar a rotaxanos y pseudorotaxanos, como se verá a continuación. Las CDs experimentan un cuello de botella a nivel de los hidrógenos H-5 que invade la cavidad (Figura 7.7-A). El diámetro de la parte hidrófoba de los huéspedes tiene que ser menor que el diámetro mínimo de las CDs para permitir la formación de un compuesto de inclusión axial estable. Diferenciamos tres tipos de huéspedes: (A) de canal de inclusión, (B) anfifílicos, (C) compuestos bola-anfifílicos [34]. En una estructura de canal los anillos de CD se apilan de manera que las cavidades CD están orientadas (Figura 7.7-B). Como los hidroxilos primarios se adaptan mejor a los primarios y los secundarios a los secundarios, se orientan cola a cola y cabeza a cabeza, preferiblemente a cabeza-cola.

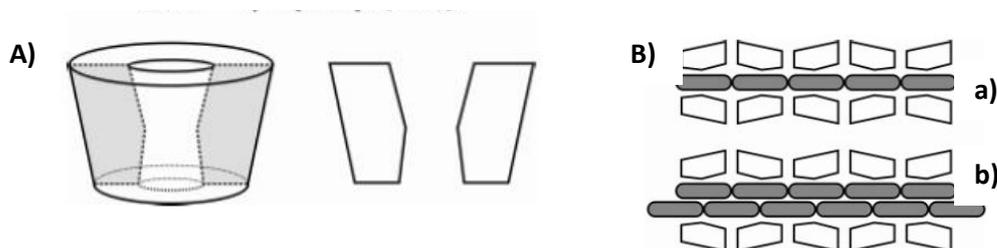
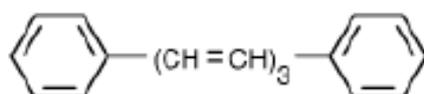


Figura 7.7. A) Estrechamiento de la cavidad de CDs, B) Canales de inclusión de CDs: a) sencillo y b) doble [34]

Las γ -CDs son lo suficientemente grandes para acomodar a dos huéspedes, como el difenil hexatrieno, resultando un huésped en cadena doble (Figura 7.7-B-b).



Difenil hexatrieno

Los bola anfífilos tienen un huésped con dos grupos terminales hidrófilos y forman complejos CD/huésped 1:1, 2:1, y 1:2 (Figura 7.8).

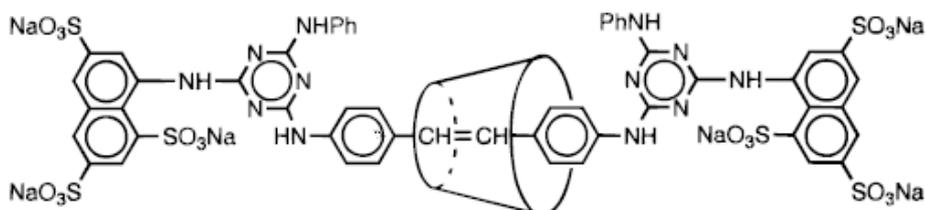


Figura 7.8. Ejemplo de rotaxano bola-anfifílica [35]

Si los grupos terminales son pequeños se produce un equilibrio entre el huésped sin complejar y el complejo huésped-CD. El huésped $\text{NH}_3^+(\text{CH}_2)_{12}\text{NH}_3^+$ proporciona un intercambio rápido pero el trimetilamonio, más voluminoso, da una estructura más estable. ¿Son rotaxanos?. Se decidió que no, ya que no son lo suficientemente estables. El criterio es poseer una energía de activación para la disociación de $50RT$, para garantizar una vida útil de varios años. Por debajo se denominan pseudorotaxanos [34].

Para finalizar este apartado se va a mostrar un ejemplo de una máquina o interruptor molecular basado en un rotaxano con CD. Una máquina molecular puede ser definida como un ensamblaje de un número discreto de componentes moleculares diseñada para realizar movimientos mecánicos específicos como consecuencia de un estímulo externo apropiado como puede ser cambio del pH, la luz, un campo magnético, etc. Las máquinas moleculares pueden realizar diversas acciones tales como mover un macrociclo a través de un eje. En la figura 7.9 se muestra como la isomerización trans/cis inducida fotoquímicamente de un estilbeno causa un vaivén de la CD [34].

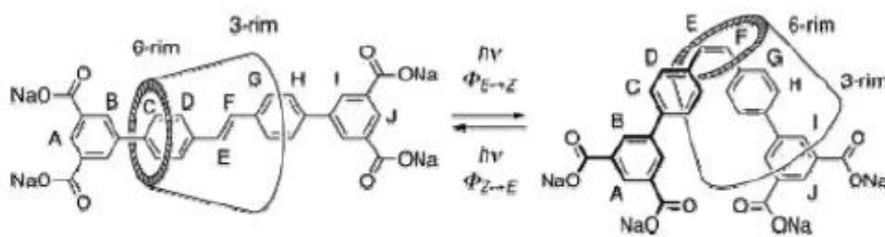


Figura 7.9. Isomerización inducida fotoquímicamente de un estilbeno [34]

7.4. Pseudopolirotaxanos y Polirotaxanos basados en ciclodextrinas

Un pseudopolirotaxano lineal de CDs se forma en general al enhebrar muchos anillos de CD a una cadena polimérica. También se pueden formar por polimerización. La inclusión de CDs requiere un medio acuoso o al menos polar, mientras que la policondensación requiere condiciones inertes.

El polietilenglicol (PEG) fue descubierto por el grupo de Harada [36] como el primer polímero que formaba compuestos de inclusión con α -CDs (Figura 7.10). La preparación del compuesto de inclusión es muy sencilla, porque el PEG y la α -CD son solubles en agua, mientras que el compuesto de inclusión no lo es.

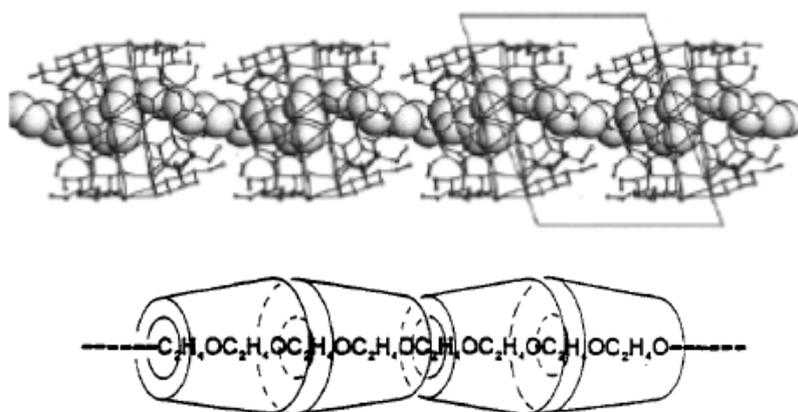


Figura 7.10. Pseudopolirotaxano α -CD-PEG [36]

La γ -CD no forma el complejo fácilmente, pero si es capaz de formar complejos de doble cadena de inclusión con polietilenadipato (PEA) (Figura 7.11).

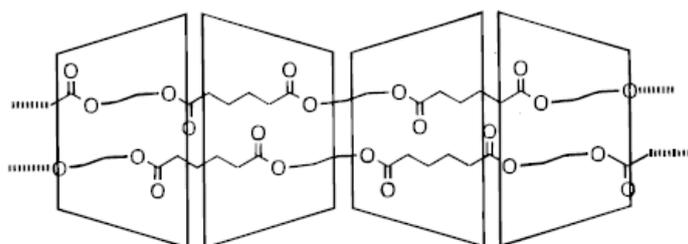


Figura 7.11. Pseudopolirotaxano γ -CD-PEA [36]

Los polirotaxanos basados en CDs se sintetizan por la fijación de toques a los pseudopolirotaxanos, ya sea en los extremos o a lo largo de la cadena de polímero. En

la figura 7.12 se muestran distintos tipos de reacciones empleadas para introducir grupos voluminosos o toques en los extremos de la cadena polimérica y poder obtener polirotaxanos a partir de pseudopolirotaxanos.

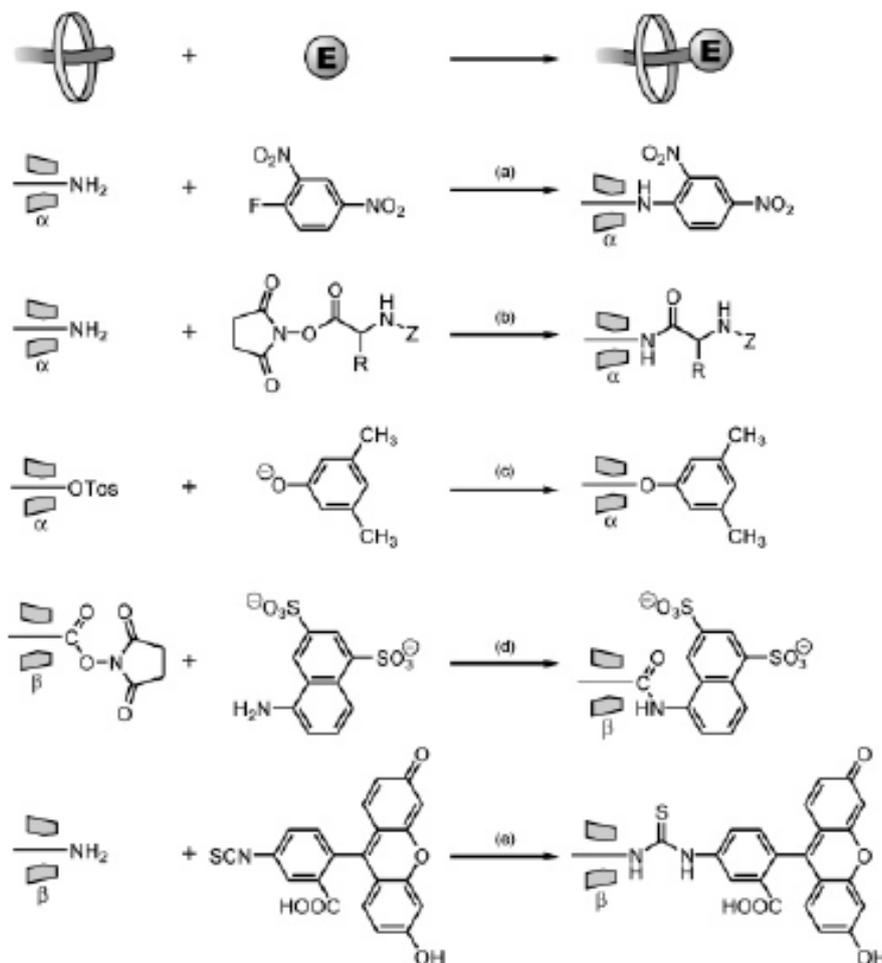


Figura 7.12. Reacciones para la síntesis de polirotaxanos a partir de pseudopolirotaxanos [34]

El grupo que resulta de la reacción ha de ser suficientemente grande para actuar como tope. Por ejemplo, el 2-antrilo no es lo suficiente grande para formar un polirotaxano con anillos de β -CD, pero su fotodímero es lo suficiente grande como para bloquear el desenroscado de los anillos de β -CD. Para su síntesis primero se sintetizó el pseudopolirotaxano al enhebrar anillos de β -CD a poli(óxido de propileno) con un grupo trifenilmetilo de tapón en un extremo y con un grupo 2-antrilo en el otro. La fotodimerización de los grupos 2-antrilo por exposición a la luz visible ($\lambda \geq 340$ nm), dio lugar al polirotaxano que se muestra en la figura 7.13 [34].

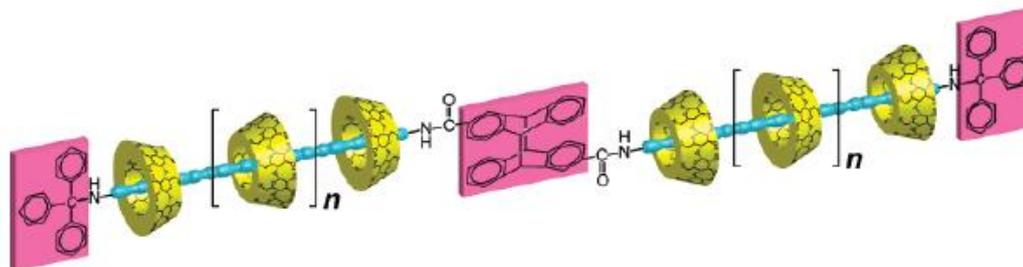


Figura 7.13. Un β -CD poliotaxano preparado por fotodimerización [34]

8. HIDROGELES DE CICLODEXTRINA

Los hidrogeles pueden absorber grandes cantidades de agua sin disolverse por lo que son plataformas especialmente adecuadas para la administración de fármacos y también de componentes de dispositivos médicos. El gran contenido en agua proporciona un ambiente adecuado para la difusión de oxígeno, nutrientes y otras moléculas pequeñas, son elásticos y exhiben una excelente biocompatibilidad.

La liberación del fármaco desde el hidrogel depende de la tortuosidad y el tamaño de malla de la red, que puede ser sintonizada para hacer más o menos fácil la expulsión del fármaco fuera de la red. Tanto en geles físicos como en químicos, si el contenido en agua es alto y las moléculas de fármaco no tienen afinidad por las cadenas de polímero, el tiempo de liberación del fármaco es bastante limitado. La carga del fármaco ha de ser llevada a cabo después de la síntesis, principalmente por inmersión de los hidrogeles en soluciones de fármacos.

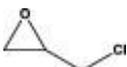
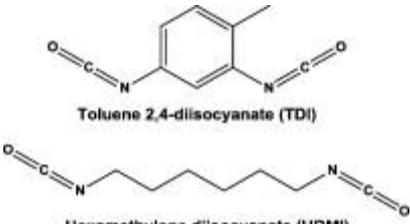
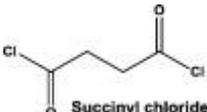
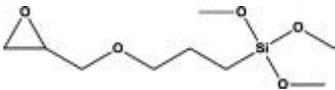
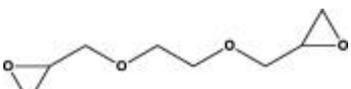
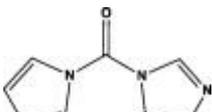
8.1. Hidrogeles por entrecruzamiento

La preparación se realiza usando CDs naturales o derivadas que se condensan con moléculas bi- o multi-funcionales. En la tabla 8.1 se indican los agentes de reticulación más comunes.

Las CDs tienen un gran número de grupos hidroxilo de reactividad diferente, como ya se ha discutido anteriormente. Los derivados de CD con sustituyentes hidroxilos mantienen el número de grupos OH reactivos. Del mismo modo o incluso más reactivos, son los derivados de CD que llevan grupos amino o carboxilo, lo que amplía la gama de agentes de reticulación. En contraste, los sustituyentes alquilo o

sulfobutilo pueden disminuir notablemente el rendimiento de la reacción. Grupos como aldehídos, cetonas, isocianatos o epóxidos como la epiclorhidrina (EPI) han demostrado ser los más adecuados. La reacción de condensación requiere comúnmente un catalizador químico, ácido o base fuerte, y un control cuidadoso de la temperatura [37].

Tabla 8.1. Agentes de reticulación más comunes empleados en la preparación de hidrogeles de CD y estructuras a las que dan lugar [37]

Agentes de reticulación	Tipo de estructura
<p data-bbox="268 689 501 723">Epiclorhidrina (EPI)</p> 	<p data-bbox="879 730 1254 797">Polímeros lineales densamente reticulados</p>
 <p data-bbox="341 969 584 992">Toluene 2,4-diisocyanate (TDI)</p> <p data-bbox="331 1081 616 1104">Hexamethylene diisocyanate (HMDI)</p>	<p data-bbox="911 954 1222 987">Nano- a macro-hidrogeles</p>
 <p data-bbox="336 1238 475 1261">Succinyl chloride</p>	<p data-bbox="858 1155 1273 1189">Microcápsulas con paredes de CDs</p>
	<p data-bbox="999 1350 1134 1384">Microgeles</p>
	<p data-bbox="911 1514 1222 1547">Nano- a macro-hidrogeles</p>
	<p data-bbox="946 1731 1185 1765">Redes tipo esponjas</p>

La epiclorhidrina es el agente más investigado para el entrecruzamiento de CDs. Posee dos grupos funcionales reactivos que, en condiciones alcalinas, pueden reaccionar con los grupos hidroxilo de las CDs o con otras moléculas de EPI. Resultando una mezcla de unidades de CDs reticuladas, unidas por la repetición de unidades de glicerilo de la polimerización con EPI (Figura 8.1) [37].

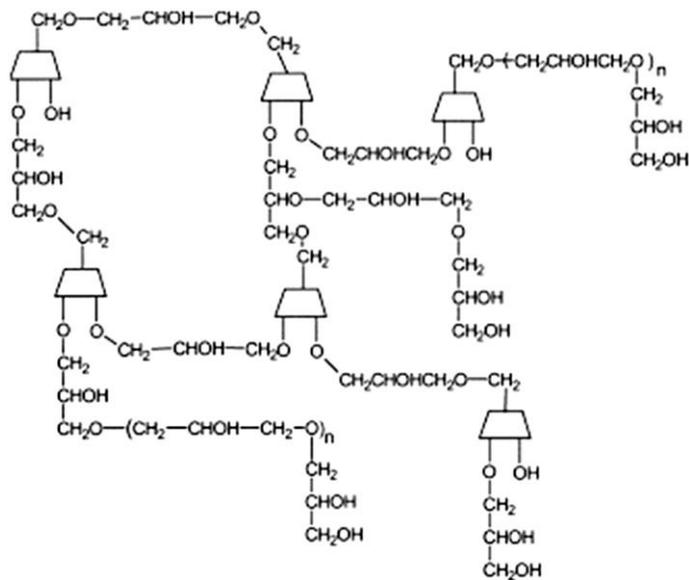


Figura 8.1. Hidrogel de EPI-CD [37]

8.2. Hidrogeles por polimerización de monómeros de CD

Como la lista de agentes de condensación y la versatilidad de los métodos de reticulación son limitados, una alternativa para obtener hidrogeles de CDs es transformar las CDs en monómeros, que después puedan ser copolimerizadas con otros monómeros acrílicos o vinílicos, por el método de radicales libres. Por lo tanto, el primer paso es la síntesis de derivados acrílicos y vinílicos de las CDs de reactividad similar a la de los otros monómeros de los hidrogeles. El elevado número de grupos hidroxilo disponibles en cada CD (18 en α -CD, 21 en β -CD y 24 en γ -CD) hace que la variedad de posibles derivados sea ilimitada. Tiene el inconveniente de que la preparación de monómeros monofuncionalizados es bastante difícil [37].

8.3. Hidrogeles de CD basados en complejos de inclusión

Los polímeros de polietilenglicol (PEG) de alto peso molecular son capaces de formar complejos de inclusión con α -CD en solución acuosa para producir hidrogeles. El enhebrado de las CDs dentro de las cadenas de polímero para formar polipseudorotaxanos se ha convertido en el método más ampliamente estudiado para diseñar hidrogeles supramoleculares basados en CDs o sus derivados (Figura 8.2) [29].

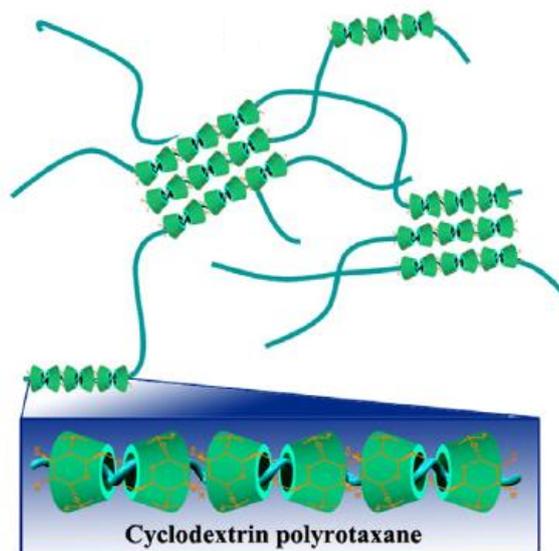


Figura 8.2. Representación esquemática de un hidrogel α -CD-PEG [29]

9. COMPLEJOS DE INCLUSIÓN CICLODEXTRINA-FÁRMACO. APLICACIONES FARMACÉUTICAS

La mayoría de los fármacos son poco solubles en agua y, consecuentemente, su absorción biológica es lenta y frecuentemente poco eficaz; son sensibles a la oxidación y pueden descomponerse por la luz y el calor. Muchas de estas moléculas son capaces de formar fácilmente complejos con las CDs, por lo que la mayoría de sus limitaciones de uso pueden quedar solventadas mediante dicha asociación.

9.1. Modelo termodinámico de los complejos de inclusión

En la cavidad central de la molécula de ciclodextrina se alinean carbonos del esqueleto de la CD y oxígenos etéreos de los residuos de glucosa. Por tanto, tiene un microambiente lipófilo en el que las moléculas huésped de tamaño adecuado pueden

ser incluidas sin que se formen o se rompan enlaces covalentes durante la formación del complejo, y que en solución acuosa se disocian fácilmente. Las moléculas libres del huésped están en equilibrio con las moléculas del complejo “*host-guest*”. El valor de las constantes de estabilidad o de equilibrio (K_c) o las de disociación (K_d) de los complejos son importantes ya que son un índice de los cambios en las propiedades físico químicas del complejo.

Los parámetros termodinámicos, energía libre estándar (ΔG), entalpía estándar (ΔH), y entropía estándar (ΔS), se han determinado para varios compuestos [38]. Estos se obtienen de la dependencia de la temperatura con la constante de estabilidad del complejo. La tabla 9.1 muestra estos parámetros para algunos fármacos.

Tabla 9.1. Entalpias y entropías estándar de algunos complejos de inclusión [39]

Cyclodextrin ^a	Drug	pH	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/(mol K))
HP- α -CD	Hydrocortisone		-32	-70
β -CD	Phenytoin, un-ionized	7	-38	-67
	Phenytoin, ionized	7	-21	-21
β -CD	Naproxen		-13	18
β -CD	Adenine arabinoside	7	-28	-64
β -CD	Adenosine	7	-21	-53
β -CD	Ibuprofen (pK_a 5.2)	2	-29	15
		4	-32	4
		5	-29	3
		6	-17	34
β -CD	Diazepam (pK_a 3.3)	2	-0.2	70
		3	-3.3	69
		4	-17	22
		6	-18	19
β -CD	Hydrochlorothiazide (pK_a 8.8 and 10.4)	5	-40	62
		8	-39	59
		9	-42	70
HP- β -CD	Acetylsalicylic acid	1	-68	-166
HP- β -CD	Acetazolamide		-18	-26
HP- β -CD	17 β -Estradiol		-71	-151
HP- β -CD	Hydrocortisone		-20	-6
HP- β -CD	Methyl acetylsalicylate	1	-55	-127
HP- β -CD	Methyl salicylate	1	-63	-144
WDM- β -CD	Acetylsalicylic acid	1	-57	-134
WDM- β -CD	Methyl acetylsalicylate	1	-20	-28
HP- γ -CD	Acetylsalicylic acid	1	-28	-56
HP- γ -CD	Methyl acetylsalicylate	1	-75	-194
HP- γ -CD	Methyl salicylate	1	-73	-176

^a HP- α -CD: (2-hydroxypropyl)- α -cyclodextrin. β -CD: β -cyclodextrin. HP- β -CD: (2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin. WDM- β -CD: mixture of maltosyl- and dimaltosyl- β -cyclodextrin (3:7). HP- γ -CD: (2-hydroxypropyl)- γ -cyclodextrin.

La formación del complejo casi siempre se asocia con una ΔH negativa grande y una ΔS que puede ser positiva o negativa. Además, la formación del complejo es en gran medida independiente de las propiedades del huésped. La asociación de las constantes de enlace con la polarizabilidad del sustrato sugiere que las fuerzas de van der Waals son importantes. Las interacciones hidrófobas se asocian a una ΔH positiva pequeña y una ΔS positiva grande, y como las interacciones hidrofóbicas son de carácter entrópico, se sugiere que no están involucradas en la formación de complejos de CDs, ya que tal como se ha indicado, se trata de procesos entálpicos. Además, para una serie de huéspedes tiende a haber una relación lineal entre la entalpía y la entropía, el aumento de entalpía se relaciona con unos valores de entropía menos negativos. Efecto, denominado compensación, que a menudo se relaciona con el agua. La principal causa impulsora de la formación de los complejos podría ser la eliminación del agua de la cavidad de las CDs, rica en entalpía. Las moléculas de agua situadas en el interior de la cavidad no pueden satisfacer sus enlaces de hidrógeno potenciales, por lo tanto, tienen mayor contenido entálpico. La energía del sistema disminuye cuando estas moléculas de agua se sustituyen por las moléculas del huésped, menos polares que el agua. La figura 9.1 ejemplifica la formación del complejo de β -CD y ácido salicílico [40].

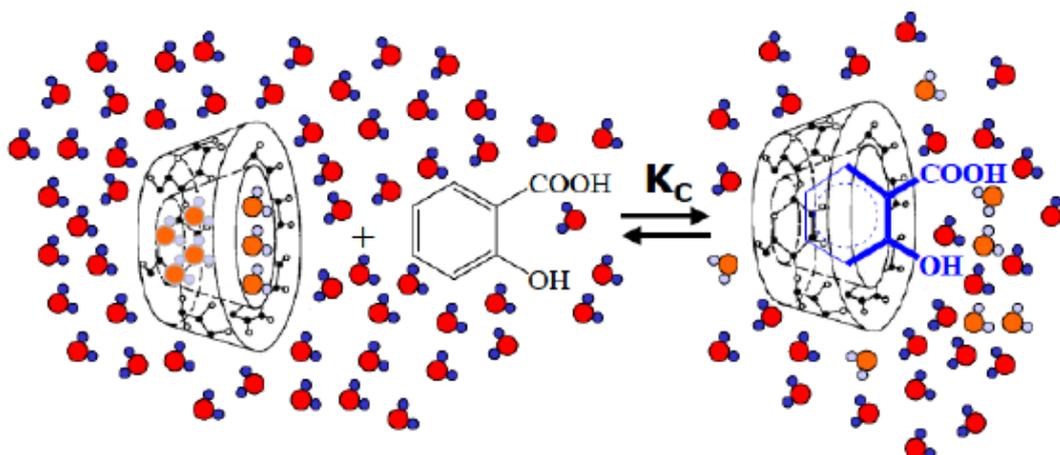


Figura 9.1. Formación del complejo de inclusión β -CD-ácido salicílico [40]

En las α -CDs se ha identificado otro mecanismo que también se cree participa en la formación del complejo. La asociación de un enlace de hidrógeno entre una molécula de agua de la cavidad y la α -CD, distorsiona la estructura cíclica de la CD. Con

lo cual la eliminación del agua incluida, por tanto, del enlace de hidrógeno asociado, está relacionada con una liberación significativa de la tensión estérica que disminuye la entalpía del sistema [39].

La capacidad de una CD para formar un complejo de inclusión depende de dos factores. El factor estérico, que depende del tamaño relativo de la ciclodextrina respecto del tamaño de la molécula huésped, y de los grupos funcionales del huésped. Y el segundo factor, son las interacciones termodinámicas entre los diferentes componentes del sistema (ciclodextrina, invitado, disolvente).

En general, hay cuatro interacciones favorables que ayudan a desplazar el equilibrio hacia el complejo de inclusión:

1) El desplazamiento de las moléculas polares de agua de la cavidad de la ciclodextrina apolar por la molécula del huésped.

2) El aumento del número de enlaces de hidrógeno por el agua desplazada de la cavidad a la disolución.

3) La reducción de las interacciones entre el huésped hidrófobo y el entorno acuoso de la solución.

4) El aumento de interacciones hidrofóbicas entre el huésped y anfitrión dentro de la cavidad apolar de la ciclodextrina.

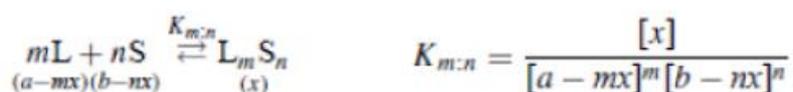
La disociación del complejo de inclusión es un proceso relativamente rápido, generalmente accionado por un gran aumento en el número de las moléculas de agua en el medio ambiente circundante. El gradiente de concentración resultante desplaza el equilibrio en la figura 7.1 a la izquierda. En sistemas altamente diluidos y dinámicos como el cuerpo humano, el huésped tiene dificultad para encontrar otra ciclodextrina libre para formar de nuevo un complejo y que queda libre en solución [8].

9.2. Constante de equilibrio y diagrama de solubilidad de fase

Las constantes de estabilidad (K_c) o de disociación (K_d) del complejo CD-fármaco proporcionan un índice de los cambios en las propiedades físico-químicas del complejo de inclusión. La mayoría de métodos para determinar la K se basan en la valoración de

los cambios de las propiedades fisicoquímicas de la molécula huésped, es decir, la molécula del fármaco con la ciclodextrina y su dependencia con la concentración. Estas propiedades incluyen la solubilidad en agua, reactividad química, la absorptividad molar y otras propiedades ópticas (como la dispersión óptica rotatoria), medidas de solubilidad de fase, desplazamientos químicos de RMN y tiempos de retención por HPLC, entre otros [41].

La constante de estabilidad (K_c) se expresa como $K_{m:n}$ para indicar la relación estequiométrica del complejo. Puede escribirse como:



También puede escribirse como:

$$K_d = \frac{[a - mx]^m [b - nx]^n}{[x]} = \frac{1}{K_c} \quad \text{or} \quad \frac{1}{K_{m:n}}$$

Uno de los enfoques más útiles y ampliamente aplicados en este contexto es el diagrama de solubilidad de fase descrito por Higuchi y Connors [42]. La solubilidad de una sustancia química en un solvente dado, a una temperatura y presión determinada, es una característica de la sustancia y se puede utilizar como criterio de identidad y pureza. Si un sustrato presenta una solubilidad mayor que la pura, evidentemente, el aumento de la solubilidad del sustrato es debido a la presencia de un segundo componente. Esta técnica se conoce como análisis de solubilidad de fase. Implica el examen del efecto de un ligando o ciclodextrina sobre el sustrato o fármaco que se solubiliza. El sustrato o fármaco se añade a varios frascos de manera que siempre esté en exceso. Este exceso de sustrato es necesario para maximizar la actividad termodinámica del sustrato disuelto. A un volumen constante de agua con el fármaco o sustrato (S) se añade CD o un ligando (L) hasta conseguir concentraciones cada vez más grandes. Los frascos permanecen a temperatura constante hasta alcanzar el equilibrio (1 semana aproximadamente). Después se retira el fármaco sólido en exceso y se ensaya la concentración total de (S). Y se construye el diagrama de solubilidad de fase de la figura 9.2, con la concentración molar de (S) en el eje Y y la concentración molar de (L) añadida en el eje X.

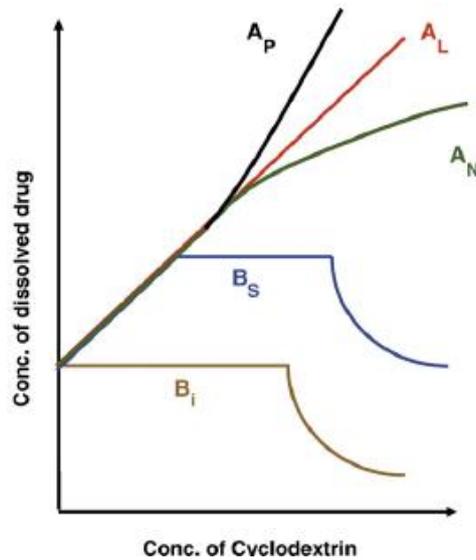


Figura 9.2. Diagramas de solubilidad de fase [41]

Este tipo de diagramas informan del tipo de complejos de inclusión formados y también permiten calcular la constante de estabilidad en sistemas del tipo A, en los que la solubilidad aumenta en función de la concentración de CD.

A_L: Representa un aumento lineal de la solubilidad en función de la concentración del ligando o ciclodextrina (L).

A_P: Representa una isoterma en el que la curva se desvía positivamente de la linealidad (la CD o ligando es proporcionalmente más eficaz a concentraciones más elevadas).

A_N: Indica una desviación negativa de la linealidad (el CD es proporcionalmente menos eficaz a concentraciones más elevadas).

Las curvas A_L son de primer orden con respecto a la ciclodextrina (L) y pueden ser de orden superior con respecto al fármaco (S), o sea, SL , S_2L , S_3L , . . . , S_mL . Si la pendiente de un sistema tipo A_L es mayor que uno, indica que los complejos son de orden superior a uno. Una pendiente inferior a uno no excluye complejos de orden superior pero se asume 1:1 en ausencia de otra información. Una curva A_P sugiere que los complejos son de orden superior a uno respecto a (L) a altas concentraciones de ligando, o sea, SL_2 , SL_3 , . . . SL_N . La desviación negativa de la linealidad puede estar

asociada a cambios inducidos por la constante dieléctrica del solvente o la auto-asociación de los (L) a altas concentraciones. Constante de equilibrio (K) para $[S_m L_n]$.

Las curvas tipo B indican la formación de complejos de limitada solubilidad en agua y se observan generalmente con β -CD. Se distinguen dos tipos B_s y B_l . El tipo B_s se interpreta como un tipo A hasta un punto en que se alcanza la máxima solubilidad del fármaco que es la suma de S_0 (solubilidad del fármaco en agua) más cualquier complejo de CD. A partir de este punto se generan complejos adicionales que precipitan [41].

La constante de estabilidad para complejos CD-fármaco cuyo diagrama de solubilidad es del tipo A se determinaría aplicando la siguiente metodología:

$$K = \frac{[S_m \cdot L_n]}{[S]^m \cdot [L]^n}; \text{ donde } [S] = [S_0] \text{ solubilidad del fármaco } S \text{ en ausencia de solubilizante}$$

$$[S]_t = [S]_0 + m \cdot [S_m \cdot L_n] \text{ Fármaco libre y complejo}$$

$$[L]_t = [L] + n \cdot [S_m \cdot L_n] \text{ Ligando total, libre y complejo.}$$

de donde se deducen las siguientes igualdades.

$$S = S_0$$

$$[S_m \cdot L_n] = \frac{[S]_t - S_0}{m}$$

$$[L] = [L]_t - n \cdot [S_m \cdot L_n]$$

S_0 fármaco soluble en ausencia de ciclodextrina.
 S_t fármaco total, libre y en complejo con CD.
 L_t CD total en un sistema de 1º orden respecto a L_n $n=1$.
 Resulta la siguiente ecuación:

$$[S]_t = \frac{m \cdot K \cdot S_0^m \cdot [L]_t}{1 + K \cdot S_0^m} + S_0$$

De la representación de $[S]_t$ frente a $[L]_t$ resulta una recta con S_0 en ordenadas

y con una pendiente: $\text{pendiente} = \frac{m \cdot K \cdot S_0^m}{1 + K \cdot S_0^m}$

Por tanto para m conocida puede calcularse K , para un 1:1 (fármaco:CD)

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

9.3. Aplicaciones farmacéuticas

Las aplicaciones farmacéuticas aparecen a mediados de 1970. Su desarrollo viene marcado por la mejora de la solubilidad de los fármacos, mejorando los disolventes que venían usándose (alcohol, propilenglicol, tensoactivos no iónicos,...) que pueden causar irritación. El nuevo enfoque sustituye compuestos potencialmente tóxicos por otros de naturales. Su comportamiento anfifílico mejora además de la solubilidad, la biodisponibilidad, estabilidad y propiedades farmacocinéticas. Las CDs son también atractivas por su versátil administración, oral, parenteral, rectal, cutánea. Además el fármaco se libera fácilmente de la CD.

En 1976 se comercializa el primer fármaco con CD en Japón, la prostaglandina E2 (PGE2/ β -CD). Hubo que esperar 12 años a que en Europa (Italia) se comercializase el Brexin (piroxicam/ β -CD) un AINE. La primera CD introducida en EEUU fue el itraconazol/2-HP β CD en solución oral, un antifúngico. Actualmente se comercializan unos 40 fármacos diferentes en todo el mundo como complejos de CDs, antiinflamatorios, antibióticos, antimicóticos, y vasodilatadores (Tabla 9.2) [43].

Toxicidad de las ciclodextrinas

Las ciclodextrinas naturales y sus derivados hidrófilos pasan a través de membranas biológicas lipófilas, como la córnea del ojo, con considerable dificultad. Incluso la lipófila RM- β -CD no penetra fácilmente en membranas lipófilas, aunque interactúa más fácilmente que los derivados hidrófilos.

Todos los estudios demuestran que las CDs administradas oralmente no son tóxicas, al no ser absorbidas en el tracto gastrointestinal. La α -CD y β -CD, a diferencia de la γ -CD, no se hidrolizan por la saliva ni las amilasas pancreáticas. Actualmente, las β -CDs son las más empleadas en formulaciones farmacéuticas y, por tanto, las CDs mejor estudiadas en humanos.

Por otro lado, las γ -CD, 2-HP-hidroxiopropil- β -CD, SBE- β -CD, β -CD sulfato sódico y G₂- β -CD parecen ser seguras, incluso en administración parenteral; en cambio, las α - β -CD y las β -CD metiladas no son adecuadas para la administración parenteral [8, 41].

Tabla 9.2. Ciclodextrinas y derivados usados como fármacos [43]

Fármaco	CD	Nombre comercial	Presentación	Compañía (País)	Indicación
Aceclofenac	β -CD	Aceclofenac-Bcyclodextrin	Tableta	Taj Pharm. (India)	AINES
Benexate	β -CD	Ulgut/Lonmiel	Cápsula	Teikoku/Shionogi (Japón)	Antiácido
Betahistine	β -CD	Betahist	Tableta	Geno Pharm (India)	Antivértigo
Cefotiam	β -CD	Pansporin-T	Tableta	Takeda (Japón)	Antibiótico
Cephalosporin (E1207)	β -CD	Meiact	Tableta	Meiji (Japón)	Antibiótico
Cetirizine	β -CD	Zyrtec	Tableta masticable	Losan Pharma/ UCB Pharma (EU/US)	Antialérgico
Cisapride	β -CD	Propusid	Supositorio	Janssen (EU)	Mobilidad gástrica
Chlordiazepoxide	β -CD	Transillum	Tableta	Gabor (Austria)	Ansiolítico
Dexamethasone	β -CD	Glymesason	Emulsión	Fujinaga (Japón)	Antiinflamatorio
Dextromethorphan	β -CD	Ryndthisol	Tableta	Synthelabo (Italia)	Antitusivo
Diphenhydramine	β -CD	Stada-Travel	Tableta masticable	Stada (Alemania)	Antihistamínico
Ethinyl estradiol	β -CD	Safyral/Beyaz/Lorina	Tableta	Bayer/Sandoz (EU)	Anticonceptivo
Flunarizine	β -CD	Fluner	Tableta	Geno Pham (India)	Antitusivo
Garlic Extract	β -CD		Grageas		
Dicloro histamina	CD	Auatralian dream	Cream	Nature's Health Connection (Australia)	Vasodilatador
Iodine	β -CD	Mena-Gargle	Solution	Kyushin (Japón)	Antiséptico
Meloxicam	α - β - γ -CD HP β CD	Mobitil	Tablet	Med.Union Pharm. (Egipto)	AINES
Menthol/camphor	β -CD	gel	Crema	MMA Elite/ Doctor Hoy's (US)	
Metronidazole	β -CD	Vandazol	Gel	Curatek/Fougera (US/Canada)	Antibiótico
Minoxidil	γ -CD	Alopexy	Solution	Pierre Fabre (EU)	Vasodilatador
Naphasoline hydrochloride	CD	Clear eyes	Gotas	Medtech (S.Africa)	Vasoconstrictor
Nicotine	β -CD	Nicorex/Nicorette	Tableta	Pierre Fabre (EU)	
Nimesulide	β -CD	Nimidex	Tableta	Novartis, others(EU)	AINES
Nitroglycerin	β -CD	Nitropen	Sublingual	Nippon Kayaku(Japón)	Isquemia
Norfloxacin and Tinidazole	β -CD	Entronor -TZ/ Noroxin	Tableta		Bactericida
Omeprazol	β -CD	Omebeta	Tableta	Betafarm (Alemania)	Bomba protones
PGE1	α -CD	Prostavasin	Intra-arterial	Schwarz/Ono (Japón)	Vasodilatador

* ver tabla 6.1 para las abreviaturas empleadas para los derivados de las CDs

Tabla 9.2. Continuación

PGE1	α -CD	Viridal/Alprostadil/Edex	Intracavernous inj.	Schwarz (Alemania)	Vasodilatador
PGE1	α -CD	Prostandin 500	infusión	Ono (Japón)	Hipotensión
PGE1- OP-1206	γ -CD	Opalmon	Tableta	Ono (Japón)	Enfermedad de Buerger
PGE2	β -CD	Prostarmon E2	sublingual	Ono (Japón)	Inducción parto
Piroxicam	β -CD	Cycladol/Brexin/Flamexin	Tableta	Chiesi (EU)	Antiinflamatorio
Piroxicam	β -CD	Cycladol/Pyrodex/Medicam	Tableta	Ranbaxy/Sun/MMC (India)	Antiinflamatorio
Piroxicam	β -CD	Brexin	Supositorios	Chiesi (EU)	Antiinflamatorio
Piroxicam	β -CD	Flogene	Líquido pediátrico	Ache (UK)	Antiinflamatorio
Refocoxib	β -CD	Rofizgel	Tabletas	Wockhardt (India)	AINES
Salicylic acid	β -CD	Own Breakout Control	Loción antiacne	Own products (US)	AINES
Thiomersal	β -CD	Vitaseptol	Gotas	Europhta (Mónaco)	Antiséptico
Tiaprofenic acid	β -CD	Surgamyl	Tabletas	Roussel-Maestrelli (Italia)	AINES
Cisapride	HP β -CD	Prepulsid	Supositorios	Janssen (EU)	Mobilidad gástrica
Diclofenac	HP β -CD	Dyolect	Solución i.v. / i.m.	Javelin Pharm. (EU)	AINES
Hydrocortisone	HP β -CD	Dexacort	Líquido	Actavis (EU)	Colutorio
Indomethacin	HP β -CD	Indocid/Indocyllir	Gotas	Chauvin/Baush & Lomb (EU)	AINES
Itraconazole	HP β -CD	Sporanox	Solución i.v.	Janssen (EU/US)	Isofagitis
Mitomycin	HP β -CD	Mitoextra	Infusión	Novartis (EU)	Antialérgico
Televancin	HP β -CD	Vibativ	Solución i.v.	Astellas/Pharma/Therevance (EU)	AINES
Perindopril tert.butylamine	HP β -CD	Perindopril Erbumine	Tableta	Sandoz (EU)	Vasodilatador
Voriconazole	HP β -CD	Erbumine	Tableta	Rhambaxy (India)	Antifúngico
Diclofenac	HP γ -CD	Vorzu	Gotas	Novartis (EU)	AINES
Tc-99 Teboroxime	HP γ -CD	CardioTec	Solución i.v.	Bracco (US)	AINES
Amiodarone	SBECD	Nexteron	Solución i.v.	Hikma	Antirrítmico
Aripiprazole	SBECD	Abilify	Solución i.m.	BMS/Otuska (US/EU)	Antipsicótico
Maropitant	SBECD	Cerenia	Solución parental	Pfizer Animal Health (US)	Antiemético
Voriconazole	SBECD	Vfend	Solución i.v.	Pfizer (US/EU)	Antifúngico
Ziprazidone	SBECD	Geodon, Zeldox	Capsulas/i.m.	Pfizer (US/EU)	Neuroléptico
Chloramphenicol	RAMEB	Clorocil	Gotas	Oftalder (Polonia)	Bactericida
Oestradiol	RAMEB	Aerodiol	Spray Nasal	Servier (EU)	Estrógeno

* ver tabla 6.1 para las abreviaturas empleadas para los derivados de las CDs

10. OTRAS APLICACIONES

El uso de las CDs es relativamente reciente, es a principios de la década de 1970 que se empieza a investigar en alimentación y cosmética. En Japón la tradición de usar productos naturales adelantó su uso casi una década, y en 1980 ya se usan industrialmente. En la década siguiente, Japón, consumió 1800 toneladas, el 80% en la industria alimenticia, un 10% en la industria cosmética y menos del 5% se utilizaron en la industria farmacéutica y agricultura. La introducción de nuevos excipientes en la industria farmacéutica es más restrictiva que otros campos.

Aparte de las importantes aplicaciones farmacéuticas comentadas en el apartado anterior, el resto de aplicaciones van desde la alimentación, catálisis, cosméticos, agricultura, medio ambiente y análisis químico hasta su utilización en biotecnología, química supramolecular y química computacional [16].

Ciclodextrinas en la industria alimenticia

Las CDs se utilizan en los procesos de alimentación con varios objetivos: (i) para proteger los componentes lipófilos de los alimentos del oxígeno, la luz, y el calor; (ii) estabilizar fragancias, sabores, vitaminas y aceites esenciales frente a la degradación; (iii) eliminar los gustos y olores desagradables; (iv) para convertir ingredientes líquidos en polvo sólido; (v) solubilizar vitaminas y colores; (vi) para controlar la liberación de ciertos ingredientes y eliminar componentes no deseados; (vii) Mantener la calidad durante el almacenamiento por mejora del envasado.

Son muchos los usos dados a las CDs en alimentación, van desde mejorar bebidas alcohólicas, como el whisky y la cerveza, a derivados de harina, como fideos, masas para empanadas y pizzas para dar elasticidad y flexibilidad a la masa. Como los sabores naturales generalmente son volátiles y se deterioran fácilmente, sus complejos forman sólidos de sabor duradero y estable en condiciones ambientales de conservación y elaboración. Los cítricos se vuelven amargos con el almacenamiento según la temperatura, el pH y el propio almacenamiento, así sucede con limonoides (limonina) y flavonoides (naringina), estos se pueden eliminar o enmascarar con CDs. Cuando la β -CD se mezcla con mantequilla fundida, forma complejos con el colesterol,

pero no con los triglicéridos, así el complejo β -CD/colesterol se retira fácilmente de la mantequilla, se consigue separar más del 90% de colesterol. Se usan como antisépticos o conservantes durante el almacenamiento. Las CDs mejoran los edulcorantes aspartamato, estevióside, glicirricina y rubusósido. En frutas y hortalizas eliminan los derivados fenólicos que causan el color pardo de degradación enzimática [8, 13, 23].

Ciclodextrinas en el campo biotecnológico

En la década de 1980 empiezan a usarse en procesos de catálisis enzimática de un sustrato en medio acuoso. Se mejora la solubilidad del sustrato en el medio acuoso y se reduce la toxicidad. La producción de la testosterona a partir del colesterol por *Lactobacillus bulgaricus*, aumentó significativamente en presencia de CD. La producción de bencilo de penicilina G, mejora por formación de complejos de los aductos ácido fenilacético y ácido 6-aminopenicilánico con M/ β -CD y M/ γ -CD, respectivamente, en presencia de *penicilina acilasa* (EC 3.5.1.11), como catalizador. Las CDs mejoran la degradación de tolueno con *Pseudomonas putida*. Mientras que el tolueno líquido es tóxico para la *Pseudomonas putida* [13, 23].

Ciclodextrinas en la industria química

En la industria química se utilizan como catalizadores para mejorar la selectividad de las reacciones, como inhibidores, y para la purificación y separación de productos. Las CDs modificadas son solubles en agua, y se utilizan en entornos acuosos como solubilizantes de compuestos lipófilos, propiedad que las convierte en agentes útiles en varios tipos de separaciones. Las CDs son ampliamente usadas en la separación de enantiómeros por HPLC o GC y otros análisis espectroscópicos. En los estudios de RMN, pueden actuar como agentes quirales y en dicroísmo circular como agentes selectivos que alteran los espectros. En agricultura se utilizan en: herbicidas, insecticidas, fungicidas, repelentes, feromonas y reguladores del crecimiento [23].

Ciclodextrinas en los cosméticos, el cuidado y aseo personal

Muchos componentes de cosméticos son casi insolubles en agua y son capaces de formar complejos de inclusión con las CDs más solubles. El agente antibacteriano y

funguicida Triclosán actúa como tópico antiséptico y desinfectante, es muy usado en aseo personal, es casi insoluble en agua y solo es algo soluble en soluciones alcalinas, y muy soluble en disolventes orgánicos, sin embargo el complejo β -CD/Triclosán es soluble en agua. Las CDs se usan en barras de desodorantes, y aromatizado de cosméticos.

Las funciones esenciales de las fragancias son proporcionar un olor agradable, enmascarar el mal olor del producto, y dar identidad al producto. Como la cantidad de fragancias en un producto disminuye rápidamente durante el almacenamiento debido a su volatilidad y escasa estabilidad, a las preparaciones cosméticas se añaden CDs. Las CDs se utilizan principalmente en estos preparados para: (i) para aumentar la solubilidad en agua de los huéspedes lipófilos; (ii) para convertir líquidos y productos aceitosos en productos polvorientos; (iii) para aumentar la estabilidad de las moléculas huésped mediante protección frente a la descomposición, oxidación, hidrólisis, o evaporación; (iv) para controlar la emisión de los huéspedes; (v) evitar o reducir de la irritación de la piel; (vi) para aislar los diversos componentes entre sí; (vii) para facilitar la absorción por la piel; (viii) para estabilizar emulsiones y suspensiones; (ix) para reducir o eliminar los olores no deseados. Se comercializan varios éteres metílicos de CDs, dimetil, trimetil y RM/ β -CD. Glucosil y maltosilo CDs son muy usadas por su solubilidad en agua. Los polímeros de CD con pesos moleculares bajos son solubles en agua, mientras que los productos de alto peso molecular son insolubles, pero capaces de hincharse. La acción antibacteriana de las CDs es muy adecuada en tratamientos de la piel, como el uso en polvos de talco. Una solución de yodo/ β -CD se puede utilizar como desodorante, para el baño, etc... La mayoría de perfumes a base de aceites esenciales (citral, citronela, rosa,...) se pueden estabilizar por complejación con CD y se pueden usar como preparados sólidos en detergentes en polvo, jabones, pasta de dientes. [8, 13, 23].

Medio ambiente

Las CDs se usan en la ciencia del medio ambiente como agentes de solubilización de contaminantes orgánicos, metales pesados, y en el tratamiento de vertidos industriales. Se elimina el 90% de triclorfón en el licor madre del insecticida.

También se usan para eliminar productos aromáticos como fenol, *p*-clorofenol y benceno. Pueden aumentar la eficacia de fungicidas por solubilización como tiabendazol, carbendazim, y fuberidazol. La β -CD favorece la producción energética a través de biomasa al acelerar su degradación. Se usan en la eliminación de los terpenoides (-)-Geosmina y (+)-2-metil-isoborneol que son de los principales responsables del olor desagradable de las plantas de tratamiento de agua [13].

Aplicaciones analíticas

Se usan en separaciones por su capacidad de discernir entre isómeros de posición, grupos funcionales y enantiómeros. Las CDs derivadas están funcionalizadas con grupos hidrófobos (metilo, propilo) e hidrófilos (sulfato, fosfato y amina secundaria) que mejoran su la capacidad de formación de complejos. Las CDs se usan en fase estacionaria o en fase móvil. Actualmente, las separaciones son una de las áreas de aplicación más importantes, electroforesis capilar y de gel, cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) [13].

11. CONCLUSIONES

Desde el descubrimiento fortuito de las ciclodextrinas, al principio "*Cellulosines*", por sus propiedades que recordaban la celulosa, hasta la década de los años 1950 se han sucedido principalmente cuatro nombres: Williers, Schärddinger, Freudenberg y Cramer a los cuales les podemos asignar el descubrimiento, síntesis enzimática, estructura y la formación de complejos. Si bien la estructura fue confirmada por rayos-X, las técnicas espectroscópicas son las de elección en el estudio de las CDs y sus derivados, especialmente la RMN. Actualmente la producción sigue siendo enzimática pero a nivel industrial, y se producen miles de toneladas anuales a resultas de lo cual el precio no es excesivo.

La importancia práctica de las ciclodextrinas no reside en ellas, sino en su capacidad de formar complejos de inclusión, especialmente de sus derivados debidamente funcionalizados para adaptarse a las necesidades requeridas. Los derivados son siempre el resultado las reacciones de los grupos hidroxilo (éteres, ésteres, aminas;...), la principal dificultad está en la regio selectividad de estos

hidroxilos. La falta de derivados específicos no impide que se use la mezcla de derivados resultante, como la RM- β -CD. Los derivados y complejos de inclusión más interesantes son los que resultan de estructuras poliméricas y supramoléculas y nanoestructuras, las estructuras poliméricas incorporan las CDs en la cadena polimérica, siendo el PEG el polímero más común, resultando diversas estructuras, en el texto se relacionan dos a modo de ejemplo. Más interesantes son las supramoléculas, principalmente rotaxanos y pseudorotaxanos, destacando su uso como máquinas moleculares. Los hidrogeles son polímeros muy especiales por sus propiedades higroscópicas. Finalmente por autoensamblaje de estos derivados resultan nanoestructuras de gran utilidad.

Las aplicaciones de los complejos de inclusión que forman están en diversos frentes, alimentación, catalizadores, análisis químico, medio ambiente, cuidado personal, farmacéutico y biomédico. El campo farmacéutico y biomédico son los más prometedores por sus posibilidades e implicación. El propósito principal de los sistemas de administración de fármacos es el suministrar la cantidad necesaria de fármaco en el lugar de destino por un período de tiempo necesario. Las ciclodextrinas son candidatos potenciales para esa función, debido a su capacidad de alterar la física, la química, y las propiedades biológicas de las moléculas huésped a través la formación de complejos de inclusión. La aplicación farmacéutica más común de las ciclodextrinas es para mejorar la solubilidad, la estabilidad y la biodisponibilidad de fármacos. Varios tipos de derivados de ciclodextrina se han preparado con el fin de extender las propiedades fisicoquímicas y la capacidad de inclusión de las CDs naturales. Por lo tanto el objetivo es centrarse en el uso de ciclodextrinas modificadas químicamente como vehículos de fármacos de alto rendimiento.

12. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Lehn J.M. *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, 1995.
- [2] "Comprehensive Supramolecular Chemistry". Atwood JL, Davies JED, Macnicol DD, Vögtle F (Editores), Pergamon, Oxford, 1996, vol. 1-11.

- [3] Szejtli, J. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *J. Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743-1753.
- [4] Yalpani, M. A survey of recent advances in selective chemical and enzymic polysaccharide modifications. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 2957-3020.
- [5] Saenger, W. Cyclodextrin Inclusion Compounds in Research and Industry. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1980**, *19*, 344-362.
- [6] Szejtli, J. Cyclodextrin Technology, Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, 1988.
- [7] Szejtli, J. Utilization of cyclodextrins in industrial products and processes. *J. Mater. Chem.* **1997**, *7*, 575-587.
- [8] Martín Del Valle, E. M. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochem.* **2004**, *39*, 1033-1046.
- [9] Walter RH, Polysaccharide Association Structures and Methods in Supramolecular Chemistry, John Wiley & Sons, New York, 2000.
- [10] Buschmann, H. J.; Schollmeyer, E. Applications of cyclodextrins in cosmetic products: a review. *J. Cosmet. Sci.* **2002**, *53*, 185-191.
- [11] Loftsson, T.; Duchene, D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int. J. Pharm.* **2007**, *329*, 1-11.
- [12] Anjana, M. N.; Sreeja C. N. A.; Jipnomon J. An updates review of cyclodextrins – An enabling technology for challenging pharmaceutical formulations. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, **2013**, *5*, 54-58.
- [13] Singh, M.; Sharma, R.; Banerjee, U. C. Biotechnological applications of cyclodextrins. *Biotechnol. Adv.* **2002**, *20*, 341-359.
- [14] Villiers, A. Sur la transformation de la féculé en dextrine par l'action du ferment butyrique, *C. R. Acad. Sci.* **1891**, *CXII*, 435-438.
- [15] Villiers, A. Sur la fermentation de la féculé par l'action du ferment butyrique. *C. R. Acad. Sci.* **1891**, *CXII*, 536-538.
- [16] Crini, G. Review: A history of cyclodextrins. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 10940–10975.

- [17] Schneider, H.; Hacket, F.; Volker Rüdiger, V. NMR Studies of Cyclodextrins and Cyclodextrin Complexes. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1755-1785.
- [18] Tafazzoli, M.; Ghiasi, M. Structure and conformation of α -, β - and γ -cyclodextrin in solution: Theoretical approaches and experimental validation. *Carbohydrate Polymers*, **2009**, *78*, 10–15.
- [19] Verónica Jiménez, V.; Alderete, J.B. Hartree-Fock and Density Functional Theory Study of α -Cyclodextrin Conformers. *J. Phys. Chem. A*, **2008**, *112*, 678-685.
- [20] Wenz, G. Cyclodextrins as Building Blocks for Supramolecular Structures and Functional Units. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **1994**, *33*, 803-822.
- [21] Martínez, M.M.; Pérez, A.; Hernández, K. Producción Enzimática de Ciclodextrinas a partir del Almidón extraído de Colocasia Esculenta, Universidad de Matanzas, **2009**, Cuba.
- [22] Alcalde, M. Modificación Química y Estabilización de Glucosiltransferasas: Ciclodextrin Glucosiltransferasa y Dextransacarasa; Universidad Complutense de Madrid. **1999**.
- [23] Das, S.K.; Rajabalaya, R.; David, S.; Khanam, J; Nanda, A. Cyclodextrins-The Molecular Container. *RJPBCS*. **2013**, *4*, 1694-1718.
- [24] Li, Z.; Wang, M.; Wang, F.; Gu, Z.; Du, G; Wu, J.; Chen, J. γ -Cyclodextrin: a review on enzymatic production and Applications. *Appl Microbiol Biotechnol.* **2007**, *77*, 245–255.
- [25] A. Biwer · G. Antranikian · E. Heinzle; Enzymatic production of cyclodextrins. *Appl Microbiol Biotechnol.* **2002**, *59*, 609–617.
- [26] Stella, V.J.; Rajewsi, A. Cyclodextrins: Their Future in Drug Formulation and Delivery. *Pharmaceutical Research* **1997**, *14*, 556-567.
- [27] Khan, A.R.; Forgo, P.; Stine, J.; D’Douza, V. Methods for Selective Modifications of Cyclodextrins. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1977-1996.
- [28] Tang, W. et al. Eds. Modified cyclodextrins for chiral separation, **2013**. Springer-Verlag Berlin Heilderberg.

- [29] Zhang, J.; Ma, P.X. Cyclodextrin-based supramolecular systems for drug delivery: Recent progress and future perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2013**, *65*, 1215–1233.
- [30] Zerkoune, L.; Angelova, A.; Lesieur, S. Nano-Assemblies of Modified Cyclodextrins and Their Complexes with Guest Molecules: Incorporation in Nanostructured Membranes and Amphiphile Nanoarchitectonics Design. *Nanomaterials* **2014**, *4*, 741-765.
- [31] Bryson, J.M.; Chu, W.J.; Lee, J.H.; Reineke, T.M. A β -cyclodextrin “click cluster” decorated with seven paramagnetic chelates containing two water exchange sites. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1505-1509.
- [32] Harada, A.; Furue, M.; Nozagura, S.I. Cyclodextrin-containing polymers. 1. Preparation of polymers. *Macromolecules* **1976**, *9*, 701-704.
- [33] Liu, Y.Y.; Zhong, Y.B.; Nan, L.K.; Tian, W. Star polymers with both temperature sensitivity and inclusion functionalities. *Macromolecules* **2010**, *43*, 10221-10230.
- [34] Wenz, G.; Bao-Hang Han; Müller, A. Cyclodextrin Rotaxanes and Polyrotaxanes. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 782-817.
- [35] Nepogodiev, S.A. Stoddart, J.F. Cyclodextrin-Based Catenanes and Rotaxanes. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1959-1976.
- [36] Harada, A.; Nishiyama, T.; Kawaguchi, Y.; Okada, M.; Kamachi, M. Preparation and characterization of inclusion complexes of aliphatic polyesters with cyclodextrins. *Macromolecules*, **1997**, *30*, 7115.
- [37] Concheiro, A.; Alvarez-Lorenzo, C. Chemically cross-linked and grafted cyclodextrin hydrogels: From nanostructures to drug-eluting medical devices. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2013**, *65*, 1188-1203.
- [38] Rekharsky, M.V.; Goldberg, R.N.; Schwarz, F. P.; Tewari, Y.B.; Ross, P.D.; Yamashoji, Y.; Inoue, Y. Thermodynamic and Nuclear Magnetic Resonance Study of the Interactions of alpha- and beta-Cyclodextrin with Model Substances: Phenethylamine, Ephedrine, and Related Substances, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8830-8840.

- [39] Loftsson, T.; Brewster, M.E. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. 1. Drug Solubilization and Stabilization. *J. Pharm. Sci.* **1996**, *85*, 1017-1825.
- [40] Magnúsdóttir, A.; Másson, M; Loftsson, T. Self Association and Cyclodextrin Solubilization of NSAIDs, *J. Incl. Phenom. Macroc. Chem.* **2002**, *44*, 213-218.
- [41] Brewster, M.E.; Loftsson, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2007**, *59*, 645-666.
- [42] Higuchi, T.; Connors, K. Phase-solubility techniques, *Adv. Anal. Chem. Instrum.* **1965**, *4*, 117-212.
- [43] Fenyvesi E. Approved pharmaceutical products containing cyclodextrins. Budapest, Hungary: CycloLab Ltd.: *Cyclodextrin News* **2013**, *27*, 1-16 (en línea). Disponible en: http://cyclolab.hu/images/CDNews/cdn_2013_feb.pdf (consulta: 2 de junio de 2016).