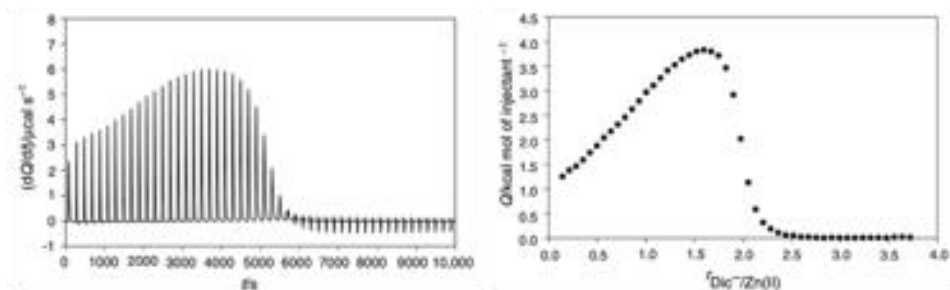


Equilibrios de complejación de fármacos/Zn(II) y fármacos/ciclodextrinas por calorimetría de titulación isotérmica

Complexation equilibrium of drugs/Zn(II) and drugs/cyclodextrins by isothermal titration calorimetry



Fuente: <https://doi.org/10.1007/s10973-018-7802-x>

Norma Rodríguez-Laguna^{a*}, Adrián Ricardo Hipólito Nájera^a, Luis I. Reyes-García^a,
Rosario Moya-Hernández^a, Alberto Rojas-Hernández^b,
Rodolfo Gómez-Balderas^a

^aUniversidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Laboratorio de Físicoquímica Analítica, Carretera Cuautitlán-Teoloyucan Km 2.5, San Sebastián Xhala, C.P. 54714, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.

^bUniversidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Departamento de Química, División de Ciencias Básicas e Ingeniería, Área de Química Analítica, Laboratorio R-105/R-107, Avenida San Rafael Atlixco 186, Colonia Vicentina, 09340 Ciudad de México, México.

*Correspondencia: Norma Rodríguez-Laguna
Universidad Nacional Autónoma de México
Correo electrónico: normarola@cuautitlan.unam.mx

Resumen

Se realizó un estudio termodinámico de la interacción entre fármacos y el ion metálicos Zn(II), así como fármacos y la interacción con ciclodextrinas en solución por calorimetría de titulación Isotérmica (ITC). Los fármacos estudiados son Diclofenaco, Indometacina, Ibuprofeno y Naproxeno; estos fármacos pertenecen a la familia de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Las ciclodextrinas estudiadas son β -ciclodextrina (β -CD), 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (2-HP- β -CD) y 2-hidroxipropil- γ -ciclodextrina (2HP- γ -CD). En este trabajo, algunos sistemas bajo estudio se hicieron a diferentes temperaturas en solución acuosa; mientras que otros sistemas se estudiaron en medio etanólico a 25 °C. Se determinaron propiedades termodinámicas como entalpía (ΔH), entropía (ΔS), energía de Gibbs (ΔG) y constante de formación ($\log \beta_i$) asociadas a las reacciones de complejación, además de la estequiometría de las especies formadas. Para determinar las propiedades termodinámicas, a partir de los resultados experimentales, se diseñó un modelo de complejación/interacción para calcular el calor Q_{calc} que se libera o absorbe durante el proceso. Los datos calculados (Q_{calc}) se ajustan a los resultados experimentales de ITC (Q_{exp}), mediante el software de análisis MicroCal PEAQ-ITC para obtener la entalpía y las constantes de formación de los complejos formados.

Palabras clave: AINEs, titulación isotérmica calorimetría, constantes de formación, temperaturas, disolvente.

Abstract

A thermodynamic study was carried out of the interaction between drugs and the metal ion Zn(II), as well as drugs and the interaction with cyclodextrins in solution by Isothermal titration calorimetry (ITC). The drugs studied are Diclofenac, Indomethacin, Ibuprofen and Naproxen; these drugs are non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). The cyclodextrins studied are β -cyclodextrin (β -CD), 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (2-HP- β -CD) and 2-hydroxypropyl- γ -cyclodextrin (2-HP- γ -CD). In this work, some systems under study were made at different temperatures in aqueous solution; other systems were studied in an ethanolic medium at 25 °C. Thermodynamic properties such as enthalpy (ΔH), entropy (ΔS), Gibbs energy (ΔG) and formation constant ($\log \beta_i$) associated with the complexation reactions; in addition the stoichiometry of the species formed, were determined. To determine the thermodynamic properties, from the experimental results, a complexation/interaction model was designed to calculate the heat Q_{calc} that is released or absorbed during the process. The calculated data (Q_{calc}) are adjusted to the experimental results of ITC (Q_{calc}), using the MicroCal PEAQ-ITC analysis software to obtain the enthalpy and the formation constants of the complexes formed.

Keywords: NSAIDs, Isothermal titration calorimetry, formation constants, temperatures, solvent.

Introducción

En el presente trabajo se estudian los fármacos Indometacina, Diclofenaco, Ibuprofeno y Naproxeno interaccionando con el ion metálico Zn(II) o con ciclodextrinas en solución por calorimetría de titulación Isotérmica (ITC) (Xavier-Júnior y col., 2018). Los sistemas fármaco-Zn(II) presentan interacciones fuertes, donde se forma un enlace químico (de tipo covalente); mientras que los sistemas fármaco-ciclodextrina presentan interacciones débiles, donde solo existen interacciones debidas a fuerzas intermoleculares. Las especies químicas estudiadas de cada sistema fueron las especies aniónicas de Indometacina, Ind^- ; Diclofenaco, Dic^- ; Ibuprofeno, Ibu^- y Naproxeno, Nap^- . El ion acetato (AcO^-) se estudio como sistema modelo por ser una estructura de menor tamaño que contiene el mismo grupo funcional (ácido carboxílico) que los fármacos estudiados. En la **Figura 1** se muestran las estructuras químicas de las especies iónicas estudiadas. Los fármacos bajo estudio pertenecen a la familia de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y presentan valores de pK_a entre 3.0 y 5.0 (Hipólito-Nájera y col., 2019) (Williams y col., 2005) (Lanas, 2016) (Junquera E, Aicart E, 1999).

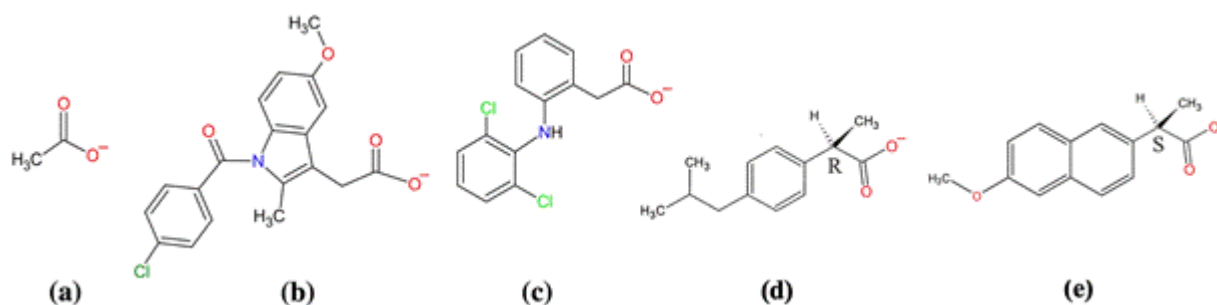


Figura 1. Estructuras químicas de los ligantes (aniónicos): a) AcO^- , b) Ind^- , c) Dic^- , d) Ibu^- y e) Nap^- .

Las ciclodextrinas estudiadas son β -ciclodextrina (β -CD), 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (2-HP- β -CD), 2-hidroxiopropil- γ -ciclodextrina (2HP- γ -CD) (**Figura 2**) (Mura, 2015). En la **Figura 3** se muestra el esquema metodológico de los sistemas químicos estudiados en el presente trabajo; en este caso L^- representa las formas aniónicas de los fármacos estudiados y al ion acetato. Los sistemas con Zn(II) fueron realizados en metanol, mientras que los sistemas con CDs se estudiaron en disolución acuosa utilizando buffer de fosfatos a pH 7.0.

Metodología

Material

Todos los reactivos se utilizaron sin tratamiento previo. Nitrato de zinc hexahidrato (99,6 %), JT Baker; indometacina (99 %), diclofenaco de sodio, acetato de sodio (99 %), ibuprofeno sódico (≥ 98 %), naproxen sódico (98.0-102.0 %), β -ciclodextrina (≥ 97 %), 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina, y 2-Hidroxiopropil- γ -Ciclodextrina (98 %), se adquirieron de Sigma-Aldrich. Fosfato de sodio dibásico anhidro (≥ 99.7 %) se adquirió de Fermont, hidróxido de sodio (98,6 %) se adquirió de Mallinckrodt

y alcohol etílico (99,95%) de JT Baker. El etanol se uso para preparar soluciones etanólicas de indometacina y diclofenaco por ser poco solubles en agua.

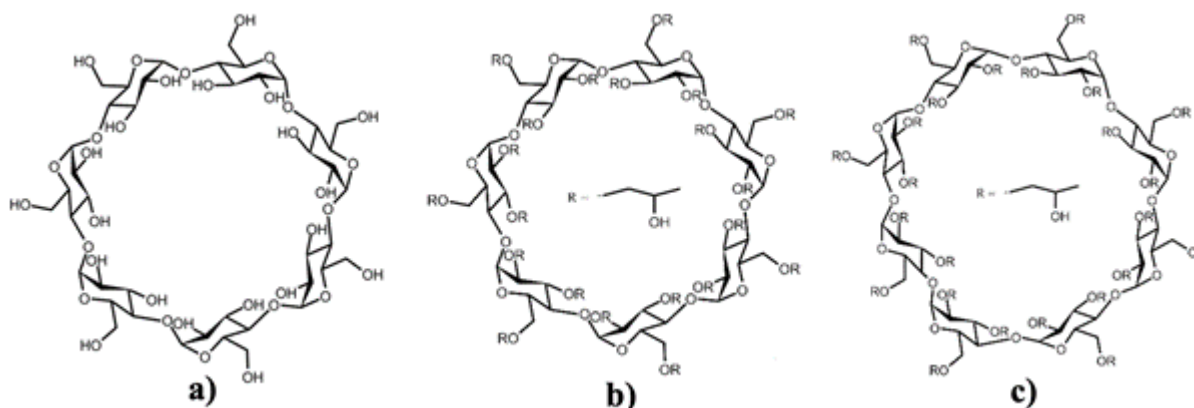


Figura 2. Estructuras químicas de a) β -CD, b) 2-HP- β -CD y c) 2-HP- γ -CD.

Fuente: doi: 10.1007/s10847-019-00915-9.

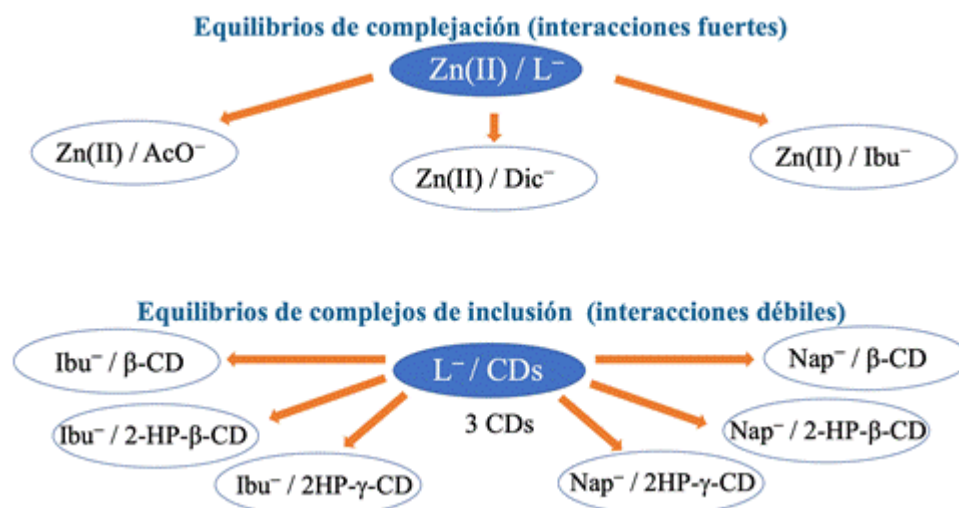


Figura 3. Clasificación de los sistemas estudiados de acuerdo al tipo de interacción que existe en el complejo formado en los sistemas fármaco-Zn(II) y fármaco-ciclodextrina.

Calorimetría de titulación Isotérmica

Las valoraciones complejométricas de los sistemas sistemas fármaco-Zn(II) y fármaco-ciclodextrina, se llevaron a cabo en un calorímetro de valoración GE-MicroCal VP-ITC (Malvern Software, 2014). Para los experimentos fármaco-Zn(II), las celdas de referencia y de muestra ($V_0 = 1.4303$ mL) se llenaron con soluciones de Zn(II) y la jeringa (284.77 mL) se llenó con la solución del fármaco. Mientras que para los sistemas fármaco-CDs, en la celda de reacción se colocó el fármaco, en la celda de referencia se colocó el buffer, y en la jeringa se colocó la ciclodextrina

correspondiente. Para cada valoración, se realizó la determinación del calor de dilución, el cual consiste en realizar la misma valoración a las mismas condiciones experimentales pero sin colocar al analito. Así, las valoraciones de los sistemas estudiados se corrigen restando los calores de dilución. En la **Tabla 1**, se muestran todas las condiciones y parámetros experimentales para los diferentes tipos de sistemas estudiados. En los termogramas que se obtienen al hacer un estudio por ITC, los picos por encima de la línea de base corresponden a una unión endotérmica, mientras que los picos por debajo de la línea de base se asocian con eventos exotérmicos.

Tabla 1. se muestran todas las condiciones y parámetros experimentales para los diferentes tipos de sistemas estudiados.

Parámetros experimentales	Zn(II)/L ⁻	L ⁻ /CDs
Total de inyecciones	50	35
Temperatura de la celda (°C)	20	25, 37
Poder de referencia (mcal s ⁻¹)	3	3
Concentración de la jeringa (mM)	10 (AcO ⁻ , Dic ⁻) 8.8 (Ind ⁻)	17.4 (CDs)
Concentración de la celda (mM)	0.5	0.563
Reactivo en la celda de referencia	Zn(II)	Buffer
Velocidad de agitación (rpm)	307	351
Volumen de inyección (mL)	5	8
Duración (s)	16	16
Espaciado (s)	400	300
Disolvente	etanol	agua
pH	—	7.0
Calor de dilución: disolución en las celdas de reacción y referencia	etanol	buffer

Resultados y Discusión

Para los sistemas Zn(II)-L⁻ se obtuvieron los termogramas $dQ_{\text{exp}}/dt = f(t)$ (a, b y c) y las curvas de enlace (d, e y f) $Q_{\text{exp}} = f(r)$ para los sistemas AcO⁻, Ind⁻ y Dic⁻ (de arriba hacia abajo) mostrados en la **Figura 4**. Estos gráficos están corregidos restando el calor de dilución; r es la relación molar entre el valorante y el analito, $r = |L^-|/|Zn(II)|$.

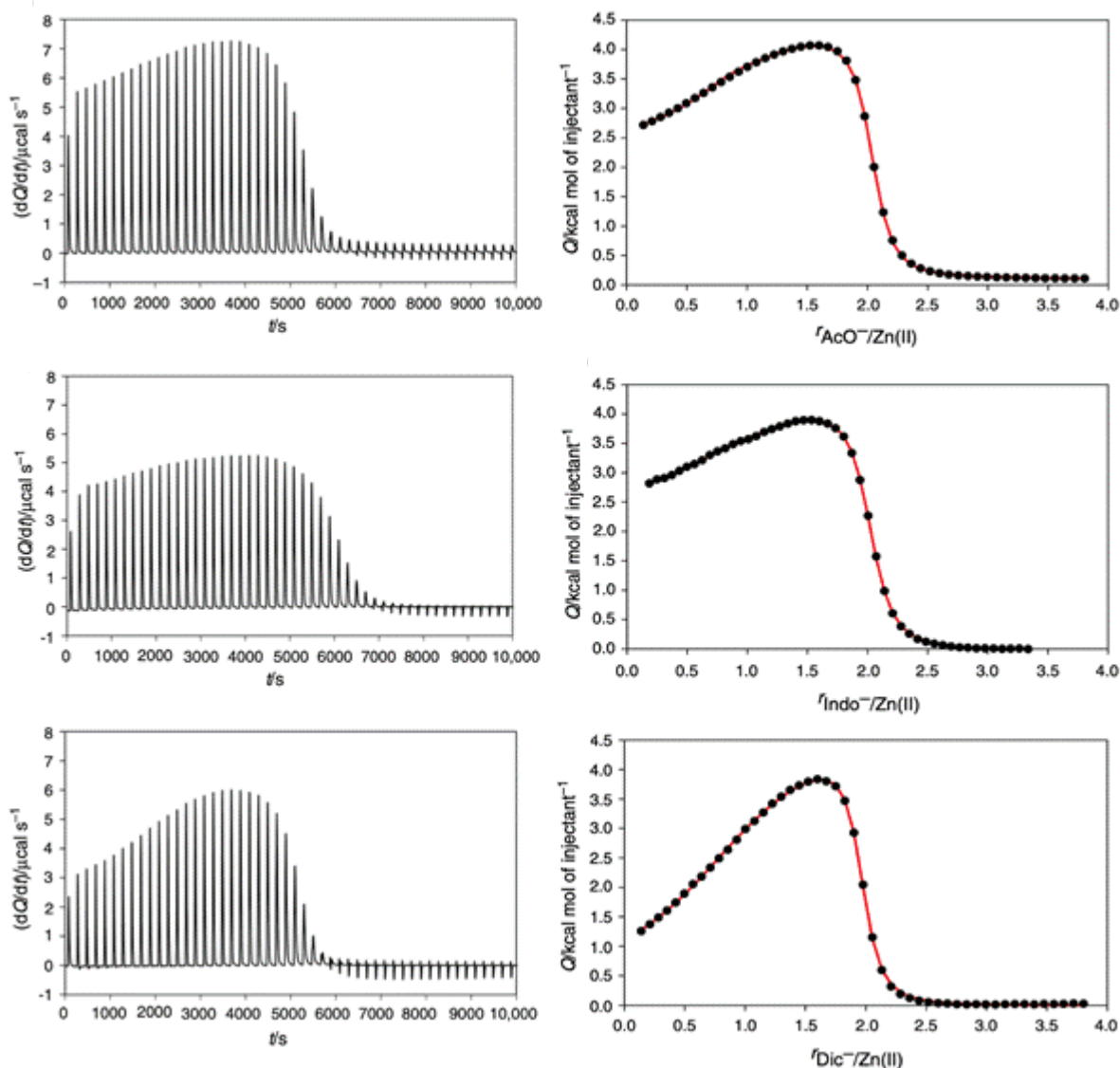


Figura 4. Titulación calorimétrica isotérmica de Zn(II) con L^- ; los paneles de la izquierda muestran los termogramas, y los de la derecha, las curvas de enlace.

De arriba a abajo $L^- = \text{AcO}^-$, Indo^- y Dic^- .

Los termogramas indican que los procesos de unión son esencialmente endotérmicos en los tres casos, y reflejan puntos de inflexión en $r = 1$ y 2 , indicando la estequiometría de los complejos formados 1:1 y 1:2. Sin embargo, solo la segunda sigmoide está más pronunciada indicando que la reacción es muy cuantitativa. Utilizando el programa PEAQ-ITC se calculó la curva teórica de las curvas de enlace, mostrando que ésta ajusta bien los datos experimentales, obteniendo de esta manera los parámetros experimentales mostrados en la **Tabla 2**. Dado que $\Delta G_j < 0$, todos los procesos

de formación son espontáneos, mientras que la entropía positiva puede reflejar el cambio en la esfera de coordinación, donde la complejación de las moléculas de etanol liberan iones a la solución aumentando la entropía del sistema.

Tabla 2. se muestran todas las condiciones y parámetros experimentales para los diferentes tipos de sistemas estudiados.

Especies formadas	Zn(AcO) ⁺	Zn(AcO) ₂	Zn(Indo) ⁺	Zn(Indo) ₂	Zn(Dic) ⁺	Zn(Dic) ₂
$\Delta H/\text{kcal mol}^{-1}$	4.56 ± 0.01	6.51 ± 0.02	4.08 ± 0.02	6.45 ± 0.05	4.92 ± 0.02	5.12 ± 0.05
$T\Delta S/\text{kcal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$	11.50 ± 0.01	21.32 ± 0.02	11.08 ± 0.02	21.63 ± 0.04	11.94 ± 0.02	20.07 ± 0.04
$\Delta G/\text{kcal mol}^{-1}$	- 6.94	- 14.81	- 7.00	- 15.18	- 7.02	- 14.95
Log β	5.575 ± 0.001	11.894 ± 0.004	5.622 ± 0.002	12.192 ± 0.009	5.640 ± 0.002	12.003 ± 0.007
U	2.4×10^{-4}		1.8×10^{-3}		4.0×10^{-4}	

La **Figura 5** muestra los potenciogramas y termogramas para la formación de los complejos de inclusión de Ibu⁻- β -CD, Ibu⁻-2-HP- β -CD, y Ibu⁻-2-HP- γ -CD a 25 °C (**Figura 5a**) y a 37 °C (**Figura 5b**). En los potenciogramas a 25 °C, el proceso de inclusión es exotérmico para los complejos Ibu⁻- β -CD y Ibu⁻-2-HP- β -CD, mientras que para el complejo Ibu⁻-2-HP- γ -CD es endotérmico. En los termogramas a 25 °C se observa que el proceso de inclusión es más cuantitativo para el complejo Ibu⁻- β -CD, seguido del complejo Ibu⁻-2-HP- β -CD, mientras que para el complejo Ibu⁻-2-HP- γ -CD es menos cuantitativo. Cabe mencionar que al utilizar 2-HP- γ -CD a 37 °C, la inclusión no se logra. Se observa que los picos son más alargados a 37 °C, indicando que el proceso es más exotérmico que a 25 °C. La **Tabla 3** muestra los parámetros termodinámicos obtenidos usando el programa PEAQ-ITC para ajustar la curva teórica a los datos experimentales.

Tabla 3. Parámetros termodinámicos: ΔH , $T\Delta S$, ΔG (kJ mol^{-1}); $\log K_{1:1}$; y K_D (M).

CD	T (°C)	ΔH	$T\Delta S$	ΔG	$\log K_{1:1}$	$K_D/10^{-4}$
β -	25	-13.20 ± 0.09	9.62	-22.90	4.011 ± 0.019	1.0
	25 ^a				3.67 ^a	
	37	-17.70 ± 0.05	5.09	-22.90	3.830 ± 0.086	1.6
2-HP- β -	25	-8.79 ± 0.04	12.30	-21.10	3.700 ± 0.013	2.0
	37	-12.90 ± 0.01	8.82	-21.70	2.674 ± 0.007	2.2
2-HP- γ -	25	-9.18 ± 0.04	22.06	-12.90	2.265 ± 0.087	60.0

^aExperimento a 16 mM

Los termogramas obtenidos con Nap⁻ (**Figura 6**), al igual que con Ibu⁻, muestran que el proceso de inclusión es más cuantitativo para el complejo Nap⁻- β -CD que para Nap⁻-2-HP- β -CD, y mucho mayor que el complejo Nap⁻-2-HP- γ -CD. Sin embargo, en el estudio con 2-HP- γ -CD solo se obtuvieron resultados calorimétricos a 25 °C y no a 37 °C. La **Tabla 4** muestra los parámetros termodinámicos obtenido usando el programa PEAQ-ITC.

Además en la **Figura 6**, los termogramas evidencian que la inclusión de Nap^- en β -CD y 2-HP- β -CD a 25 y 37 °C es un proceso exotérmico por presentar picos por debajo de la línea base. A 37 °C los picos son más pronunciados para ambas ciclodextrinas que a 25 °C, indicando que a esta temperatura el proceso es más exotérmico. A 25 °C, la interacción con 2-HP- γ -CD es inestable, ya que los picos son mucho más pequeños. Nap^- en β -CD y 2-HP- β -CD es más exotérmico y espontáneo a 37 °C que a 25 °C. El $-\Delta S$, la inclusión de Nap^- en las CDs se acompaña del desplazamiento de moléculas de disolvente de la cavidad de las CDs.

Tabla 4. Parámetros termodinámicos: ΔH , $T\Delta S$, ΔG (kJ mol^{-1}); $\log K_{1:1}$; y K_D (M).

CD	T/°C	ΔH	$-\Delta S$	ΔG	$\log K_{1:1}$	$K_D/10^{-4}$
β -	25	-14.10 ± 0.03	-1.76	-15.90	2.783 ± 0.002	16.5
	37	-14.45 ± 0.08	-1.80	-16.30	2.739 ± 0.005	18.3
2-HP- β -	25	-9.36 ± 0.07	-6.48	-15.80	2.775 ± 0.006	16.8
	25 ^a				3.15 ^a	
	25 ^b	-6.3 ± 0.2^b	-9.63 ^b	-17.2 ^b	3.01 ± 0.05^b	9.68 ^b
	37	-15.25 ± 0.14	-0.58	-15.85	2.664 ± 0.007	21.7
	35 ^b	-9.3 ± 0.2^b	-8.64 ^b	-16.5 ^b	2.79 ± 0.03^b	16.01 ^b
2-HP- γ -	25	-2.39 ± 0.50	-8.80	-11.20	1.959 ± 0.114	110.0

^a Valores determinados por fluorescencia a pH = 9 [3].
^b Valores determinados por ITC a pH = 10 [4].

Conclusiones

La calorimetría de titulación isotérmica (ITC) ha permitido estudiar la interacción entre el Zn(II) y los AINEs indometacina y el diclofenaco, así como la los sistemas β -CD y 2-HP- β -CD y 2-HP- γ -CDs. Se determinaron las propiedades termodinámicas asociadas a las reacciones de complejación, como la entalpía de formación (ΔH), la entropía (ΔS) y la energía libre (ΔG), así como la constante de equilibrio (β_j) y la estequiometría de las especies formadas.

Para que un proceso sea espontáneo, ΔH o $-\Delta S$ deberá contribuir significativamente para obtener un ΔG negativo. Para β -CD y 2-HP- β -CD, el proceso está impulsado entálpicamente, no así para la γ -CDs (a ambas temperaturas). La constante de formación K , la inclusión a 25 °C es más favorecida que a 37 °C. Comparando K para las diferentes CDs, se establece que la formación del complejo de inclusión entre Nap^- - β -CD es la más favorecida que con las demás CDs. El trabajo aportará información útil en el diseño de nuevos fármacos con agentes complejantes, que presenten mayor actividad biológica y menos efectos colaterales.

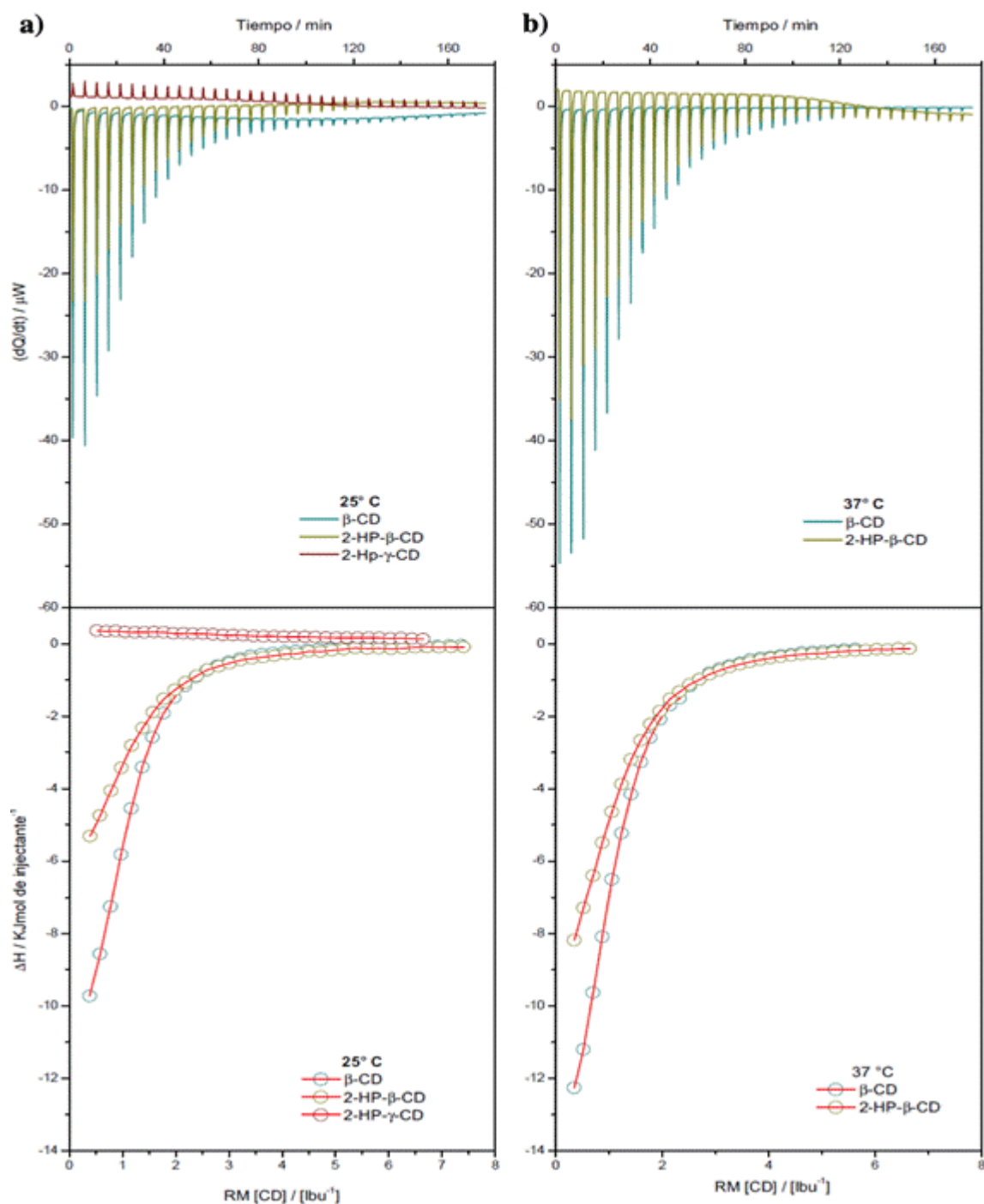


Figura 5. Termogramas (arriba) y curvas de enlace (abajo) obtenidos durante la formación de los complejos de $Ibu^{-}\beta$ -CD, $Ibu^{-}2$ -HP- β -CD, y $Ibu^{-}2$ -HP- γ -CD. a) 25 °C (panel izquierdo), b) 37 °C (panel derecho).

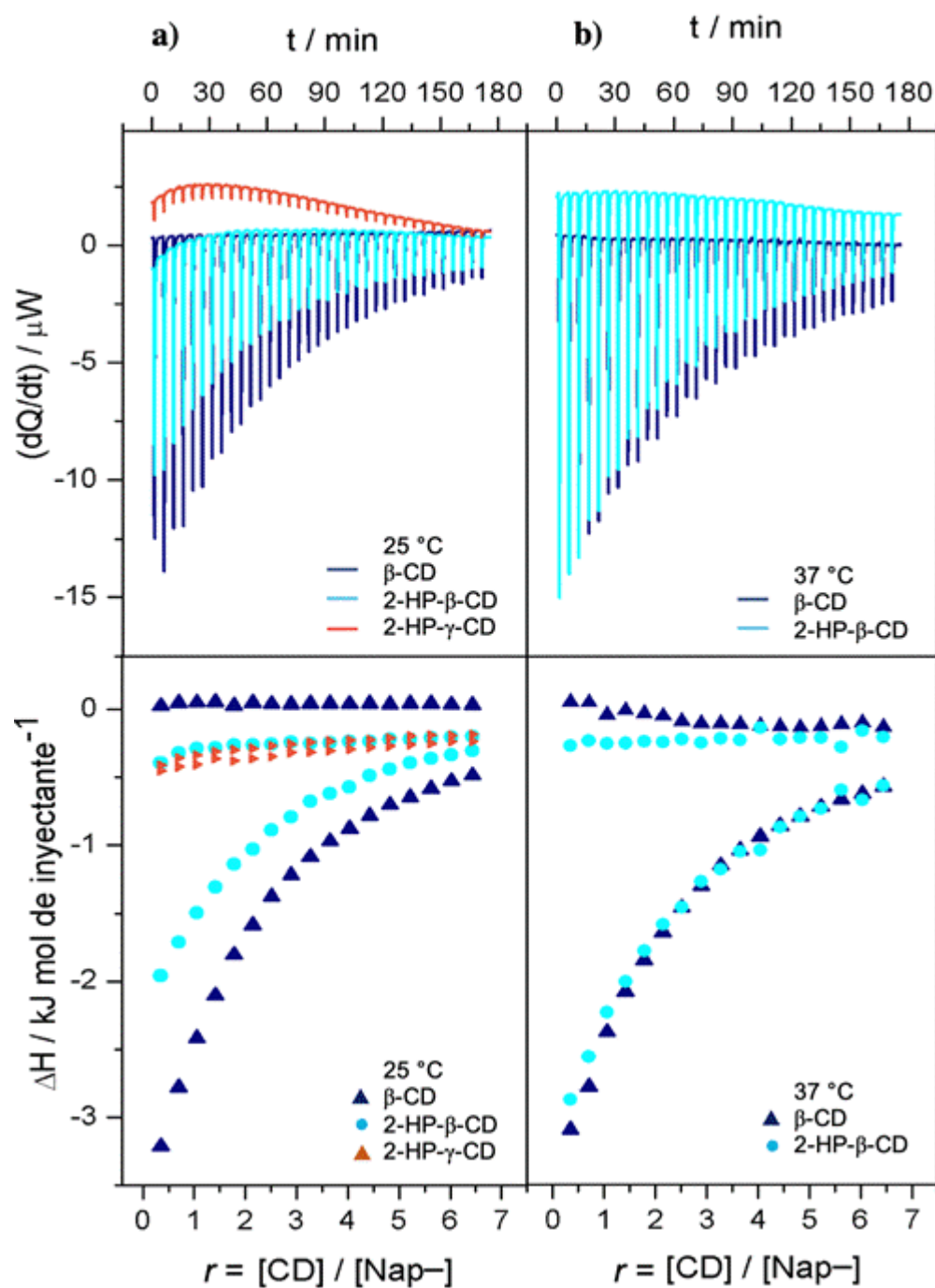


Figura 6. Termogramas (arriba) y curvas de enlace (abajo) obtenidos durante la formación de los complejos de Nap^- - β -CD, Nap^- -2-HP- β -CD, y Nap^- -2-HP- γ -CD. a) 25 °C (panel izquierdo), b) 37 °C (panel derecho).

Agradecimientos

R-L Norma y M-H Rosario agradecen a los proyectos PIAPI2035 y PAPIIT IA208221.

Referencias

Hipólito-Nájera, A., Moya-Hernández, M., Rojas-Hernández, A. & Gómez-Balderas, R. 2019. Interaction of indomethacin–cyclodextrins in water by UV–Vis and ITC. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. 95: 55-62.

Junquera, E., Aicart, E. 1999. A fluorimetric, potentiometric and conductimetric study of the aqueous solutions of naproxen and its association with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics*. 176: 169-178.

Lanas, A. 2016. NSAIDs and Aspirin. Springer. 263 Pp.

Microcal PEAQ-ITC Analysis Software 0.9.0.1252. 2014. Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, United Kingdom.

Mura, P. 2015. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 113: 226–238.

Williams, P., Molinuevo, M., Okulik, N., Jubert, A. & Etcheverry, S. 2005. Synthesis, characterization and biological properties of vanadyl(IV) complexes of diclofenac and Indomethacin: an experimental and theoretical study. *Applied Organometallic Chemistry*. 19: 711–8.

Xavier-Júnior, F., Tavares, C., Rabello, M., Hernandes, M., Bezerra, B., Ayala, A., Pessoa, O., Ximenes, R. & Santos-Magalhães, N. 2018. Elucidation of the mechanism of complexation between oncocalyxone A and cyclodextrins by isothermal titration calorimetry and molecular modeling. *Journal of Molecular Liquids*. 264: 165-172.