



00582 9
2ej

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**INTERACCIONES NO COVALENTES
ANALGESICOS ANTIINFLAMATORIOS/CICLODEXTRINAS**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS
P R E S E N T A
CAROLINA MARTA ESCOBAR LLANOS**

ASESOR: DR. DAVID DIAZ

MEXICO, D. F.

1998

259909



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente:	Dr. Anatoli Iatsimirski
Primer Vocal:	Dr. Miguel Costas Basín
Segundo Vocal:	Dra. Silvia Castillo Blum
Tercer Vocal:	Dr. Karén Manotcharian Airapetian (IIB)
Secretario:	Dr. Luis Miguel Trejo Candelas
Primer Suplente:	Dr. Ramón Garduño Juárez
Segundo Suplente:	Dra. Laura Gasque Silva

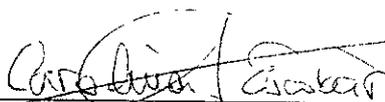
Sitio donde se desarrolló la tesis:

Laboratorio 213 del Departamento de Química Inorgánica.

División de Estudios de Posgrado.

Facultad de Química. U.N.A.M.

Candidato al grado:


M. en C. Carolina M. Escobar LLanos

Asesor:


Dr. David Díaz

Agradecimientos:

En primer lugar quiero agradecer a David Díaz por brindarme la oportunidad de hacer el doctorado con él en México, por toda su ayuda, sus enseñanzas, su confianza y por su amistad.

A los miembros del jurado por revisar y evaluar esta tesis.

A PADEP (proyectos 005309, 005334, 005322) por el apoyo financiero.

A DGAPA por la beca concedida para realizar este trabajo.

Al Dr. Guillermo Mendoza Díaz, de la Facultad de Química de la Universidad de Guanajuato, por la realización de la gran mayoría de los espectros de resonancia magnética nuclear que aparecen en esta tesis.

Al Dr. Carlos Jaime Cardiel, del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Barcelona, por permitirme realizar una estancia en su laboratorio para hacer experimentos de resonancia magnética nuclear.

A la Dra. Isabel Valverde Monseny, del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Barcelona, por su ayuda durante mi estancia en esa Facultad.

Al Dr. Ramón Vicente Castillo, del Departamento de Química Inorgánica de la Facultad de Química de la Universidad Central de Barcelona, por su amabilidad y atención, y por permitirme realizar allí experimentos de resonancia magnética nuclear durante mi estancia en Barcelona.

A la M. en C. Nuria Esturau Escofet, de la USAI, por la realización de algunos de los espectros de resonancia magnética nuclear de esta tesis.

Al Dr. Jesús Guzmán García por la amabilidad y el valioso apoyo que recibí en toda ocasión.

A la Dra. Lena Ruíz Azuara por su ayuda desde mi primera estancia en esta Facultad y por sus continuas atenciones.

A la Dra. Silvia Castillo Blum por su amistad y sus valiosos consejos.

Al Dr. Anatoli Iatsimirski por sus acertadas e invaluable opiniones.

Al Dr. Jesús Gracia Mora por su ayuda, por la revisión de este trabajo y por sus comentarios.

A la M. en C. María Josefa Bernad Bernad por su ayuda y por la revisión crítica de esta tesis.

Al personal de Control Escolar por su excelente atención.

A la Sra. Agustina López Velasco, de la biblioteca de posgrado, por toda su ayuda.

A Joseph Döshner por sus clases de inglés y por la revisión de mis artículos.

También quiero agradecer a los laboratorios que nos donaron sustancias: CERESTAR USA Inc. (α -ciclodextrina, γ -ciclodextrina y β -ciclodextrina-hidroxipropilada); ARANCIA S.A. de C.V. (β -ciclodextrina); SYNTEX S.A. de C.V. (Naproxén) y BOEHRINGER INGELHEIM PROMECO S.A. de C.V. (Ibuprofén).

Y finalmente, agradezco a todas las personas que con su amistad han hecho de esta importante etapa de mi vida algo inolvidable.

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Abstract	3
3. Introducción	5
3.1. Requerimientos, pasos y fuerzas que conducen a la complejación	10
3.1.1. Requerimientos para la complejación	10
3.1.1.1. Compatibilidad geométrica	10
3.1.1.2. Polaridad y carga de la molécula huésped	10
3.1.1.3. Medio de reacción	11
3.1.2. Pasos que conducen a la complejación	14
3.1.3. Fuerzas que gobiernan la complejación	15
4. Antecedentes	19
4.1. Analgésicos anti-inflamatorios	19
4.2. Interacciones intermoleculares y la química supramolecular	21
4.3. Fuerzas intermoleculares en disolución	23
5. Planteamiento del problema	26
6. Objetivos	28
7. Resultados y discusión	29
7.1. Fenoprofén	31
7.1.1. Espectros de absorción y emisión	31
7.1.2. Espectros de resonancia magnética nuclear	42
7.1.3. Valores de otros parámetros termodinámicos	47
7.1.4. Estudio de la mecánica molecular	50

7.2. Naproxén	53
7.2.1. Espectros de absorción y emisión	53
7.2.2. Espectros de resonancia magnética nuclear	63
7.2.3. Valores de otros parámetros termodinámicos	66
7.2.4. Estudio de la mecánica molecular	69
7.3. Ibuprofén	70
7.3.1. Espectros de absorción y emisión	70
7.3.2. Espectros de resonancia magnética nuclear	72
7.3.3. Valores de otros parámetros termodinámicos	74
7.3.4. Estudio de la mecánica molecular	76
7.4. Ketoprofén	77
7.4.1. Espectros de absorción	77
7.4.2. Espectros de resonancia magnética nuclear	82
7.4.3. Valores de otros parámetros termodinámicos	87
7.4.4. Estudio de la mecánica molecular	89
7.5. Indometacina	93
7.5.1. Espectros de absorción	93
7.5.2. Espectros de resonancia magnética nuclear	99
7.5.3. Valores de otros parámetros termodinámicos	103
7.5.4. Estudio de la mecánica molecular	105
7.6. Fenilbutazona y oxifenbutazona	107
7.6.1. Espectros de absorción	107
7.6.2. Espectros de resonancia magnética nuclear	114
7.6.3. Valores de otros parámetros termodinámicos	118
7.6.4. Estudio de la mecánica molecular	121
8. Conclusiones y perspectivas	123
8.1. Conclusiones generales	123
8.2. Conclusiones particulares	124
8.3. Comparación total de los parámetros termodinámicos obtenidos	131
8.4. Perspectivas de trabajos futuros	133

Abreviaturas

- abs., absorción,
- CD/s, ciclodextrina/s,
- disol. bf., disolución buffer,
- DMSO, dimetilsulfóxido,
- ϵ , coeficiente de extinción o absortividad molar,
- ef. hidrof., efecto hidrofóbico,
- ef. solvof., efecto solvofóbico,
- fen, fenopropén,
- HP- β -CD, β -ciclodextrina-hidroxipropilada,
- [huésped \subset CD_x] y huésped / CD_x, molécula huésped incluida en x moléculas de CD, donde x = 1 ó 2,
- ibup, ibuprofén,
- indo, indometacina,
- isobut., cadena isobutílica,
- K(1:1), constante de interacción de complejos tipo SL,
- K(1:2), constante de interacción de complejos tipo SL₂,
- K_{ap}, constante aparente de interacción,
- keto, ketopropén,
- napx, naproxén,
- oxifen, oxifenbutazona,
- phen, fenilbutazona,
- SL, complejo tipo 1:1 (una molécula huésped con una molécula de ciclodextrina),
- SL₂, complejo tipo 1:2 (un molécula huésped con dos moléculas de ciclodextrinas),
- S_o, solubilidad,
- ΔH_{int} , variación entálpica de interacción,
- ΔS_{int} , variación entrópica de interacción,
- 25%, 50% y 75%, mezclas del 25% DMSO/agua, 50% DMSO/agua y 75% DMSO/agua,
- v W., interacciones de van der Waals.

Abreviaturas y términos de resonancia magnética nuclear

- δ , desplazamiento químico,
- 1D y 2D, monodimensional y bidimensional,
- NOE, Nuclear Overhauser Enhancement,
- NOESY, Nuclear Overhauser Enhancement (and Exchange) Spectroscopy,
- ppm, partes por millón,
- RMN, Resonancia Magnética Nuclear,
- ROESY, Rotating Frame Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy.

Abreviaturas y términos de fluorescencia

- cps, cuentas por segundo,
- Φ , eficiencia cuántica,
- ems., emisión,
- I_0 , intensidad de la fluorescencia, a una determinada longitud de onda, en ausencia de ciclodextrina,
- I , intensidad de la fluorescencia, a una determinada longitud de onda, en presencia de ciclodextrina.

1. Resumen

Esta tesis está dedicada al estudio de la formación de complejos de inclusión en DMSO, agua y disoluciones DMSO/agua (25, 50, 75% v/v) entre diferentes ciclodextrinas y algunos fármacos con capacidad anti-inflamatoria. Estos complejos se estudiaron por el método espectral o de espectrofotometría directa, y fueron empleadas las espectroscopías electrónicas de absorción y emisión (en la región UV), así como la resonancia magnética nuclear de protón como técnicas instrumentales para comprobar su formación.

Se obtuvieron 489 constantes de interacción para diferentes temperaturas (288, 293, 298, 303 y 310 K) y los cinco medios de reacción. Se detectaron complejos de inclusión con estequiometrías 1:1 y 1:2 (una molécula huésped con una molécula de ciclodextrina y una molécula huésped con dos moléculas de ciclodextrinas, respectivamente). A partir de las constantes de interacción a diferentes temperaturas se calcularon los valores de otros parámetros termodinámicos ($\Delta H_{\text{interacción}}$ y $\Delta S_{\text{interacción}}$). También, se determinaron los valores de solubilidad a 298 K de todos los huéspedes en los diferentes medios de reacción.

A pesar de la heterogeneidad estructural de estos analgésicos anti-inflamatorios, resultaron ser excelentes moléculas huéspedes para las ciclodextrinas, en los medios de reacción estudiados. Se pudo detectar y estudiar la formación de complejos de inclusión para casi todos los sistemas estudiados.

Una de las enseñanzas más importantes de este estudio es que el disolvente juega un papel relevante en el proceso de inclusión. Nuestros sistemas de estudio están constituidos por ciclodextrina-huésped-disolvente; ciclodextrina-huésped (complejo de inclusión) y el disolvente como el tercer componente del sistema. Este tercer componente estabiliza o desestabiliza al complejo de inclusión formado.

El propósito principal de este trabajo fue investigar el tipo de interacciones que ocurren entre algunos analgésicos anti-inflamatorios (fenopropén, naproxén, ibuprofén, ketoprofén, indometacina, fenilbutazona y oxifenbutazona) con α -CD, β -CD, γ -CD y β -ciclodextrina-hidroxipropilada, a diferentes temperaturas y en distintos medios de disolución. Cuando se determina la estequiometría de los complejos formados, se

conocen las posibles estructuras de las nuevas especies obtenidas, los valores de las constantes de interacción, y algunos otros parámetros termodinámicos, es posible establecer el tipo de interacción o interacciones moleculares que están presentes en cada sistema de reacción.

El efecto solvofóbico y las interacciones de van der Waals son las principales fuerzas responsables de la formación y estabilización de los complejos de inclusión aquí estudiados. Esto supone que el efecto entrópico y la buena relación de tamaños entre la molécula huésped y el anfitrión, respectivamente, son factores importantes en estos procesos de complejación.

A partir de los estudios complementarios de mecánica molecular fue posible obtener las estructuras de mínima energía de los complejos de inclusión. Éstas estructuras optimizadas están de acuerdo con las geometrías determinadas experimentalmente.

2. Abstract

This thesis refers to the study of the inclusion complexes in DMSO, water and DMSO/water (25, 50, 75% v/v) solutions among different cyclodextrins and some anti-inflammatory drugs. These complexes have been studied from spectral or direct spectrophotometry method, by electronic absorption and emission spectroscopies (within UV region), as well as by $^1\text{H-NMR}$ to investigate the inclusion complex formation.

489 binding constants have been obtained for five different temperatures (288, 293, 298, 303 and 310 K) and five reaction media. 1:1 and 1:2 complexes were detected (one guest molecule with one cyclodextrin molecule and one guest molecule with two cyclodextrin molecules, respectively). The values of other thermodynamic parameters ($\Delta H_{\text{interaction}}$ and $\Delta S_{\text{interaction}}$) were calculated from the obtained binding constant values at different temperatures. Also, solubility values, at 298 K, were determined for all guest molecules in the different reaction media.

In spite of the structural heterogeneity of these anti-inflammatory agents, they are excellent guest molecules for the cyclodextrins in these reaction media. It was possible to obtain inclusion complexes for almost all the studied systems.

The solvent plays a valuable role in the inclusion process. Our studied systems are constituted by cyclodextrin-guest-solvent; cyclodextrin-guest (inclusion complex) and the solvent like the third component of the system. This third component stabilizes or unstabilizes the formed inclusion complex.

The main purpose of this thesis was to investigate the kind of interactions that exist between some anti-inflammatory drugs (fenopufen, naproxen, ibuprofen, ketoprofen, indomethacin, phenylbutazone and oxyphenbutazone) with α -CD, β -CD, γ -CD and hydroxypropyl- β -cyclodextrin, at different temperatures and in different solution media. When the formed complex stoichiometry is determined, the possible new species structures, the binding constants, and some other thermodynamical parameters are known, it is possible to establish the type of molecular interaction or interactions that are present in each reaction system.

The solvophobic effect and van der Waals interactions are the main responsible forces in the formation and stabilization of these inclusion complexes. This assumes

that the entropic effect and the optimum size ratio of the guest and host molecules, respectively, are important factors in the complexation process.

On the basis of complementary molecular mechanics studies it was possible to obtain the optimized energy structures of the inclusion complexes. These optimized structures are in good concordance with the experimental geometries.

3. Introducción

La característica principal de las asociaciones entre moléculas es que no se producen mediante la formación de enlaces químicos propiamente dichos, fijos y estables, sino que en ellas intervienen interacciones más débiles, que son las fuerzas intermoleculares. Las interacciones que se producen entre moléculas diferentes, únicamente aquellas que son suficientemente intensas producen agregados moleculares específicos y estables, y son las que se deben tener en cuenta especialmente al estudiar las asociaciones moleculares. Es importante insistir en que las asociaciones moleculares suelen ser, en general, mucho más débiles que los enlaces químicos ordinarios. De ello derivan sus características mucho más dinámicas y más fácilmente modificables por efecto de agentes externos. Ésta es precisamente la causa de su capacidad funcional. Tal propiedad resulta esencial en el comportamiento de los sistemas que presentan actividad biológica, puesto que un buen número de estos procesos están gobernados por las asociaciones moleculares.^{1, 2}

Las ciclodextrinas son carbohidratos cíclicos formados por glucosas unidas mediante enlaces α -(1-4) glucosídicos.³ Las más conocidas son la α -, β - (y sus derivados) y γ -ciclodextrinas que están formadas por 6, 7, y 8 unidades de glucosa respectivamente, figura 1. Las ciclodextrinas presentan forma tronco-cónica cuya cavidad muestra propiedades hidrofóbicas y los bordes exteriores resultan ser hidrofílicos.⁴

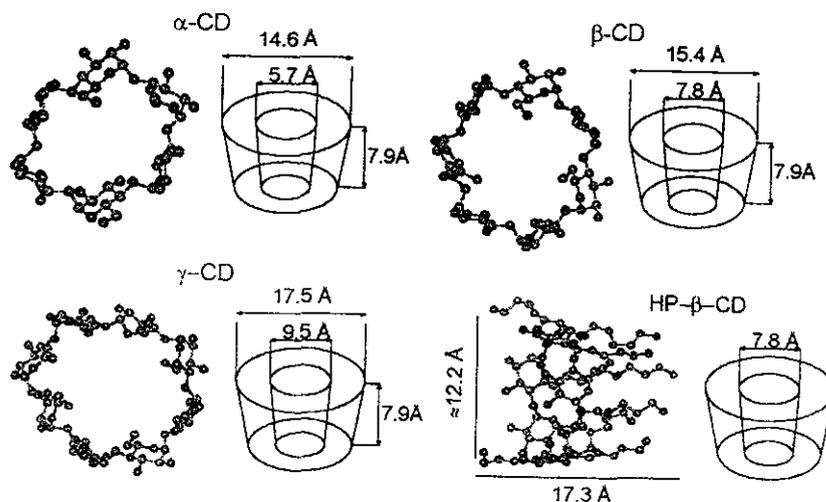


Figura 1. Estructuras de α -, β -, γ - y HP- β -ciclodextrinas.

Una de las propiedades más importantes de estas ciclodextrinas es la capacidad de formar complejos de inclusión con moléculas con carácter hidrófobo y cuyo tamaño sea adecuado para entrar en la cavidad la ciclodextrina.⁵⁻⁷

Los parámetros termodinámicos calculados para el proceso de ciclización de las ciclodextrinas aparece en la siguiente tabla:

Ciclodextrinas	Variables Termodinámicas		
	ΔH (cal/mol)	ΔS (u.e)	ΔG (cal/mol)
α -ciclodextrina	+ 6.600	+ 14.4	+ 2.290
β -ciclodextrina	+ 4.410	+ 9.1	+ 1.710
γ -ciclodextrina	+ 4.400	+ 8.1	+ 1.990

Tabla 1. Parámetros termodinámicos del proceso de ciclización de las ciclodextrinas a 298 K.⁸

Presentan energías libres superiores a las de las correspondientes cadenas lineales de glucosa. Esto indica que el proceso de ciclización es termodinámicamente desfavorable. También, para esta transformación se sabe que los valores de entalpía aumentan y muestran la magnitud de la inestabilidad generada por la ciclización. Por otro lado, los valores de entropía son favorables para este proceso, lo que probablemente refleja la reorganización de la estructura del agua alrededor de la cadena glucosídica durante el proceso de ciclización.⁸

Las principales propiedades fisicoquímicas de las ciclodextrinas puras y de uno de los derivados de β -ciclodextrina se resumen en la siguiente tabla:

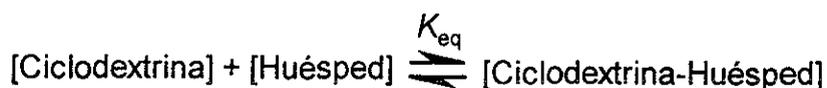
	Ciclodextrinas			
	α -CD	β -CD	γ -CD	HP- β -CD
Nº de glucosas	6	7	8	7
Peso molecular	972	1135	1297	>1300 (*)
Solubilidad en agua (g/100 mL a 25°C)	14.5	1.85	23.2	>50
Diámetro interno de la cavidad (Å)	≈5.7	≈7.8	≈9.5	
Profundidad (Å)	≈7.9 – 8	≈7.9 – 8	≈7.9 – 8	≈17.3
Volumen (Å) ³	≈174	≈262	≈427	
Nº de moléculas de agua en el interior de la cavidad	6	11	17	
pKa	12.3	12.2	12.1	
Punto de fusión (°C)	275	280	275	295-300

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de las ciclodextrinas.⁹ (*)Grado de sustitución = 9.

La cavidad de la ciclodextrina está ocupada por moléculas de agua. La interacción polar-apolar las hace energéticamente desfavorables como moléculas huésped. Por esta razón, estas moléculas de agua pueden ser reemplazadas por moléculas huéspedes menos polares que el agua y así formar el denominado complejo de inclusión, establecido sólo por fuerzas físicas y no por enlaces covalentes.^{4, 10, 11}

Los complejos moleculares están formados por la asociación de dos o más moléculas que interactúan; estas moléculas se denominan huésped y anfitrión. El huésped es la molécula interactuante cuyas propiedades físicas o químicas son observadas experimentalmente. El cambio observado en las propiedades del huésped es una función de la concentración del anfitrión.¹¹

La consideración más importante referida a las asociaciones huésped-anfitrión, además de que son las interacciones no covalentes las que intervienen en la formación de estos complejos de inclusión, es que el proceso de asociación-disociación que ocurre en disolución está en equilibrio y se cuantifica mediante una constante de equilibrio (K_{eq}).¹¹



La descripción termodinámica de la formación de complejos moleculares se basa en la constante de equilibrio, que recibe en este caso particular el nombre de constante de estabilidad o de interacción. El hecho de que esta constante pueda ser calculada, suele considerarse como una de las pruebas más convincentes acerca de la existencia de interacción entre ciclodextrina y huésped.¹¹ La complejación es un proceso dinámico muy dependiente de la estructura del huésped. Si la inclusión de la molécula huésped en la cavidad vacía de la ciclodextrina es considerable, se formará un complejo de inclusión y no ocurrirá la complejación de otra molécula huésped. En este caso el desplazamiento del equilibrio será hacia un incremento de la concentración de complejo.¹²

Las cicloamilosas constituyen un buen sistema para el estudio tanto de las constantes de interacción ciclodextrina-huésped, como para el conocimiento de otros parámetros termodinámicos que pueden ser fácilmente medibles a partir de estos sistemas.¹³ Además, es posible modificar estos oligosacáridos, y determinar el efecto

que sobre la interacción huésped-ciclodextrina tienen los cambios de estructura del anfitrión.¹⁴⁻¹⁹

Las propiedades fisicoquímicas de la molécula huésped pueden verse alteradas si ésta se encuentra situada en el ambiente hidrófobo de la cavidad de la ciclodextrina. Estas alteraciones pueden ser convenientes en ciertas formulaciones farmacéuticas. Un fármaco puede disolverse mejor y más rápido, aumentar su solubilidad, tener una mejor biodisponibilidad, disminuir sus efectos secundarios y también ser más estable.⁹

20

Las fórmulas estructurales de los analgésicos anti-inflamatorios estudiados se presenta a continuación en la figura 2 y algunas de sus propiedades se reflejan en la tabla 3.

Moléculas Huésped	Solubilidad en Agua	Punto de Fusión (°C)	pK _a
Naproxén (Diocodal, Dysmenagit, Equiproxen)	prácticamente insoluble	152-154	4.2
Ibuprofén (Adran, Advil, Amibufen)	relativamente soluble	75-77.5	4.4
Fenoprofén (Fenopron, Fepron, Feprona)	2.5 mg/mL (a 37°C)	105-110	4.5
Ketoprofén (Alrheumat, Alrheumun, Dexal)	ligeramente soluble	93-96	4.6
Indometacina (Amuno, Artracin, Indacin)	prácticamente insoluble	158-162	4.5
Fenilbutazona (Flexazone, Azolid, Bizolin)	0.7 mg/mL (a 22.5°C)	104-107	4.5
Oxifenbutazona (Hidroxifenilbutazona, Crovaril, Flogitolo)	prácticamente insoluble	≈96	4.7, 11.18

Tabla 3. Propiedades de los analgésicos anti-inflamatorios y algunos de sus nombres comerciales.²¹

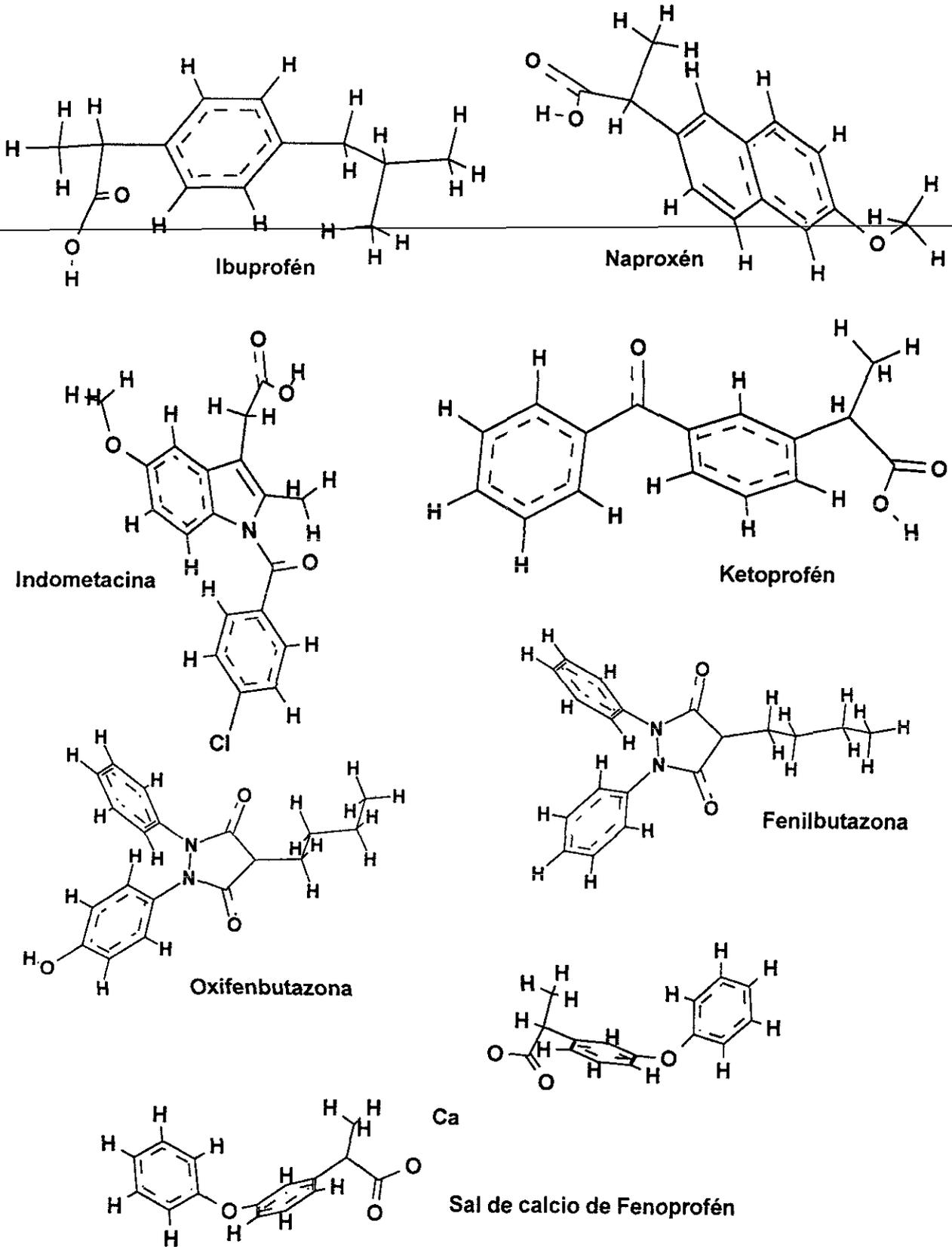


Figura 2. Fórmulas estructurales de los analgésicos anti-inflamatorios estudiados.

3.1. Requerimientos, pasos y fuerzas que conducen a la complejación

3.1.1. Requerimientos para la complejación

Se pueden formar complejos moleculares de gran estabilidad cuando existen características estructurales y electrónicas favorables entre los sitios de unión de las dos moléculas interactuantes.

3.1.1.1. Compatibilidad geométrica

Pueden evaluarse las tres diferentes explicaciones acerca del origen de la energía de interacción ciclodextrina-huésped. Éstas son: la liberación de la energía de tensión del anillo de la cicloamilosa, la liberación del agua del interior de la cavidad de la ciclodextrina y las interacciones de dispersión de London.

Las dos primeras explicaciones sugieren que esto ocurre en el momento que el huésped se incluye en la cavidad de la ciclodextrina. La molécula huésped que realice con más eficacia este proceso mostrará una mayor intensidad de interacción con el anfitrión. Este huésped será el que mayor superficie de contacto ofrezca al interior de la cavidad de la ciclodextrina, o en otras palabras, el que sea más eficaz rellenando la cavidad.²² El huésped puede estar total o parcialmente incluido en la cavidad de la ciclodextrina. Si el huésped es demasiado grande, simplemente no ajustará en el interior de la ciclodextrina,^{4, 9} o a la inversa, si el huésped es demasiado pequeño, la asociación-disociación serán tan rápidas que la interacción con la ciclodextrina será muy pequeña. En general, la estabilidad de estos complejos de inclusión aumenta cuando la mayor proporción hidrófoba del huésped está en contacto con la cavidad de la ciclodextrina.⁹

3.1.1.2. Polaridad y carga de la molécula huésped

La importancia en la complejación de las interacciones dipolo-dipolo para el conocimiento de la geometría del complejo de inclusión ha sido ya establecida. La carga del huésped y la dirección en la que ocurre la inclusión, son de gran importancia para la estabilidad de los complejos ciclodextrina-huésped formados.^{22, 23} Su conocimiento ayudaría a aclarar la relación entre la dirección de la inclusión del

huésped y la selectiva orientación de éste en el proceso de inclusión. Usualmente la complejación de una sección iónica del huésped es mucho menos estable que la complejación de una sección no ionizada, ya que la cavidad hidrófoba de la ciclodextrina favorece la inclusión de la sección no cargada de la molécula que sea menos polar que el agua.^{22, 24}

3.1.1.3. Medio de reacción

La teoría del campo de reacción de L. Onsager tiene el gran mérito de haber tomado en cuenta por primera vez la correlación entre la molécula y su entorno.²⁵

Los mayores efectos que pueden ser considerados cuando un par de moléculas aisladas están rodeadas de moléculas de disolvente en un líquido son los siguientes:²⁶

- la energía de interacción electromagnética de las moléculas es modificada por el efecto del medio; por ejemplo, las interacciones electrostáticas son reducidas por un factor ϵ_m , en donde ϵ_m es la constante dieléctrica del medio,
- la estructura del disolvente líquido se perturba por la presencia de las moléculas del soluto. Hay un cambio en la energía por el cambio de unas interacciones por otras,
- las redistribuciones locales de la estructura del líquido suelen dar lugar a variaciones de entropía significativas. En rigor, el estudio de las interacciones intermoleculares debería tener en cuenta la variación de energía libre de Gibbs, promediada sobre todas las configuraciones posibles de las moléculas del disolvente,¹
- las distribuciones de carga eléctrica de las moléculas del soluto son modificadas debido a las interacciones con moléculas del disolvente. Esto da lugar a modificaciones en las interacciones entre las moléculas del soluto.

Cualquier teoría que trate de explicar la solvatación de un ion en un medio polar debe reconocer que hay al menos dos contribuciones a la energía de solvatación. La primera es la energía electrostática que puede ser interpretada macroscópicamente a través de la permitividad relativa o microscópicamente a través de la interacción de la carga del ion y los momentos dipolares de las moléculas del disolvente, y la segunda contribución es a partir de enlaces covalentes entre el ion y las moléculas del disolvente, que es descrita más simplemente en términos de fuerzas de transferencia de carga.²⁷

El disolvente es un sistema molecular, más que un medio continuo y homogéneo, y como tal, está sometido a la acción de las fuerzas intermoleculares. En disolución, además de las interacciones soluto-soluto, son posibles las interacciones soluto-disolvente (solvatación) y disolvente-disolvente. De especial interés químico es el problema de determinar si las interacciones soluto-disolvente prevalecerán sobre las interacciones soluto-soluto, o viceversa.^{27, 28}

Más interés en disolventes polares no acuosos surge a partir de la variación que puede ser obtenida en la estabilidad química de los solutos.²⁷

El medio de disolución es un factor importante a tener en cuenta en el proceso de complejación.²⁹⁻³⁸ Barb³⁹ y Emslie⁴⁰ y colaboradores consideraron la posibilidad de que la absorptividad del complejo de inclusión puede variar con la composición del disolvente, además de con la concentración de la molécula anfitriona. En el caso de moléculas anfitrionas solubles, como son las ciclodextrinas, un paso para la complejación de una molécula huésped es el desplazamiento de las moléculas del disolvente que rodean a dicha molécula huésped.⁴¹

El equilibrio general del proceso se representa como:



y puede suponerse que ocurre en las siguientes etapas elementales:



donde S es el huésped, L la ciclodextrina y M el disolvente; SM y LM representan las especies solvatadas y MM describe las interacciones disolvente-disolvente. La etapa 1 representa al equilibrio concerniente al complejo de inclusión.¹¹

Si las interacciones de solvatación de las especies y las disolvente-disolvente son intensas, éstas pueden dominar el proceso y las interacciones intermoleculares SL pueden tener poca importancia.

La variación de energía libre del conjunto para este proceso se describe como:¹¹

$$\Delta G_{\text{total}} = \Delta G_{\text{MM}} + \Delta G_{\text{SM}} + \Delta G_{\text{SS}}$$

ΔG_{MM} es la contribución de las interacciones disolvente-disolvente,

ΔG_{SM} incluye todas las interacciones de los solutos con el disolvente, todos los fenómenos de solvatación (sustrato-disolvente, ligante-disolvente y complejo-disolvente). Pueden estabilizar o desestabilizar el sistema.

ΔG_{SS} incluye todas las contribuciones soluto-soluto.

Si las interacciones MM son muy débiles el efecto de solvatación será también pequeño. Si las interacciones MM son muy fuertes, el término ΔG_{MM} puede ser el único que contribuye a la ΔG_{total} .

La disminución del área superficial expuesta al disolvente durante la formación del complejo de inclusión es un importante factor que contribuye a la estabilización termodinámica del complejo.³⁶

Estudios termodinámicos indican que los complejos de inclusión con ciclodextrinas son menos estables en disolventes orgánicos puros o en mezclas agua-disolvente orgánico que en agua pura.^{36, 42}

Sinanoglu argumenta que el cambio de energía libre, asociado a la formación de un complejo de inclusión en disolución, es proporcional a la modificación del área superficial durante la reacción y a la tensión superficial del disolvente.⁴² Esta tensión superficial, como su nombre indica, es una fuerza que opera sobre una superficie y actúa de forma perpendicular y hacia el interior de la interfase de la superficie, tendiendo a disminuir el área de la interfase.^{42(a)} En general, una reacción que se lleva a cabo con una disminución en el área superficial total expuesta al disolvente, como es el desplazamiento de una molécula huésped del medio de disolución a la cavidad de la ciclodextrina, tendrá una variación de energía libre favorable en un disolvente con alta tensión superficial.⁴² Junto con los resultados de Örstan, entre otros autores, se indica que cuando se adiciona al agua otro disolvente que disminuye la tensión superficial del primero, como son el etanol y la formamida, la estabilidad de los complejos con ciclodextrinas también disminuye. Se considera la tensión superficial del disolvente como una propiedad crítica del medio de disolución en la determinación termodinámica de los complejos con ciclodextrinas.^{36, 42}

3.1.2. Pasos que conducen a la complejación

El proceso de complejación comprende las siguientes etapas elementales:^{3, 43-45}

1^a- Expulsión de las moléculas de agua de alta energía situadas en la cavidad de la ciclodextrina. El enlace de hidrógeno entre las moléculas de agua origina una estructura tetraédrica en el seno del líquido. Cada molécula de agua tiende a estar rodeada por otras cuatro en coordinación tetraédrica, a una distancia de unos 2.8 Å, con una capa próxima a 4.8 Å y una tercera capa a 5.8 Å.¹ Debido a que las moléculas de agua incluidas en la cavidad de la ciclodextrina no tienen espacio suficiente para establecer su coordinación tetraédrica, y además, se encuentran en un medio ambiente hidrófobo, es por ello que se denominan moléculas de agua de alta energía. Como el agua de la cavidad de la ciclodextrina es "*rica entálpicamente*", un cambio negativo en la entalpía llevaría a la interacción entre las moléculas huésped-CD por la expulsión de agua de la cavidad.

Si la expulsión del agua de la cavidad fuera la mayor fuerza para la complejación, los sustratos con similar geometría expulsarían cantidades equiparables de agua, y por tanto tendrían valores semejantes de sus constantes de interacción. Sin embargo, en ocasiones no es así, puesto que el espacio que resta en la cavidad de la ciclodextrina, no ocupado por el huésped incluido, es demasiado pequeño para ser ocupado por moléculas de agua, y esto lleva a que la expulsión de éstas sea total.²²

2^a- Pérdida de la capa de hidratación del huésped. Las especies hidrófobas pueden ser "*extraídas*" del agua e incluidas en la cavidad de la ciclodextrina, con el consecuente cambio en sus propiedades fisicoquímicas.

3^a- Liberación de la energía debida a la tensión del anillo de la ciclodextrina.

4^a- Reorganización de la estructura del agua. La interacción hidrofóbica presenta sobre todo cambios estructurales en el agua. Hay que romper fuertes interacciones entre las moléculas de agua por la presencia de moléculas o residuos no polares, es decir, de grupos químicos que no participan en la formación de enlaces de hidrógeno y que por tanto perturban la orientación típica del agua pura.¹

3.1.3. Fuerzas que gobiernan la complejación

Si dos moléculas están relativamente lejos, siempre hay una fuerza atractiva entre ellas. Y si las moléculas están relativamente cerca, siempre hay una fuerza de repulsión que tiende a separarlas. Existe una distancia de equilibrio o van der Waals a la cual la fuerza es cero.²⁶

El concepto más importante concerniente a la representación de fuerzas entre dos moléculas es expresado en función de la energía potencial. Nosotros primero consideramos la situación más simple en que dos átomos, a y b interactúan; cada uno de ellos está formado por un núcleo de carga positiva rodeado por una nube electrónica de simetría esférica cargada negativamente. Cuando los dos átomos están infinitamente separados y no interaccionan, la energía total es la suma de las energías de los átomos por separado,

$$E_{tot}(\infty) = E_a + E_b$$

si los dos átomos están separados por una distancia finita (r), y ahora consideramos la interacción entre ellos, entonces hay una contribución extra a la energía del sistema. Así la energía total ahora es:

$$E_{tot}(r) = E_a + E_b + U(r)$$

y la contribución a la energía total surge de la interacción que es conocida como la energía potencial del par intermolecular, y es:

$$U(r) = E_{tot}(r) - E_a - E_b = E_{tot}(r) - E_{tot}(\infty)$$

Esta diferencia de energía es numéricamente igual al trabajo hecho para juntar dos átomos desde una distancia infinita a la distancia r y es dada por:

$$F(r) = -\frac{dU}{dr}$$

Por convención la F es positiva cuando es repulsión y negativa cuando es atracción.⁴⁶

En general la energía intermolecular y la fuerza dependerán de la orientación de las moléculas y de su separación. Se debe hacer un esfuerzo mayor para conocer el origen de estas interacciones.

Las fuerzas de interacción entre moléculas son de naturaleza fundamentalmente electromagnética. En primera aproximación, las dos magnitudes más importantes implicadas son el momento dipolar y la polarizabilidad.¹ El momento dipolar se origina cuando los centros de carga positiva y de carga negativa de la molécula no coinciden.

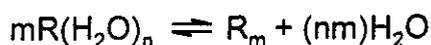
Las fuerzas de interacción de largo alcance son el tipo más general de fuerzas intermoleculares.

Las fuerzas dipolo-dipolo son las que se producen entre moléculas con momento dipolar permanente. Reciben también el nombre de van der Waals. Las moléculas que carecen de momento dipolar permanente pueden resultar polarizadas por el campo eléctrico creado por el momento dipolar de la otra molécula o por efecto de un campo eléctrico externo. Se crea una interacción dipolo-dipolo inducido. Las interacciones dipolo inducido-dipolo inducido se producen entre moléculas que carecen de momento dipolar permanente. Tienen su origen en la aparición de dipolos instantáneos que surgen como consecuencia de desplazamientos rápidos y aleatorios de los electrones. Es el principal tipo de fuerzas de atracción de largo alcance. Reciben también el nombre de fuerzas de dispersión de London, por quien fueron identificadas en 1930.^{1, 26}

Cuando las moléculas se encuentran a distancias intermedias, otro tipo de fuerzas que tiene especial interés en las asociaciones moleculares son las interacciones de transferencia de carga y la formación de puentes de hidrógeno, cuyo papel estructural en macromoléculas es de enorme importancia.^{26, 47}

Otra fuerza dominante de la interacción entre moléculas es la interacción hidrofóbica o solvofóbica. El efecto solvofóbico es quizá el factor más importante en la organización de los constituyentes moleculares de la materia viva en entidades estructurales complejas, como las membranas celulares. Es igualmente importante en la formación de detergentes micelares y otros fenómenos que ocurren en disolución acuosa. Algunas manifestaciones del efecto hidrofóbico son la formación de micelas, películas superficiales, bicapas de lípidos y la interacción de proteínas con ligantes hidrofóbicos.⁴⁸

El agua tiene un papel fundamental en la formación de los complejos de inclusión con ciclodextrinas, ya que la hidratación del complejo está energéticamente más favorecida en comparación con la hidratación de los componentes del complejo por separado. Esta es otra manifestación de la interacción hidrofóbica.⁴ Se produce la formación de un agregado, R_m , reduciéndose el número de moléculas de agua en su vecindad inmediata.⁴⁹



Las sustancias hidrófobas se definen como sustancias solubles en una gran cantidad de disolventes no polares, pero escasamente solubles en agua.⁴⁸

El efecto del disolvente en la asociación de moléculas de soluto puede ser discutido en términos del proceso de disolución. La descripción informada por W. P. Jencks⁵⁰ indica que cuando una molécula de soluto se disuelve en un disolvente, por ejemplo agua, primero se forma una cavidad en el disolvente para albergar al soluto. La formación de esta cavidad requiere de la separación de las moléculas de agua que están unidas mediante puentes de hidrógeno. Este paso es energéticamente desfavorable. Posteriormente, el soluto se sitúa en la cavidad donde interactúa con las moléculas de agua. Si el soluto no puede formar puentes de hidrógeno, la energía libre favorable de interacción del soluto con las moléculas de agua será demasiado pequeña para compensar la energía libre desfavorable de la formación de la cavidad. Consecuentemente, las moléculas de agua se dispondrán alrededor del soluto de forma que establezcan el mayor número de puentes de hidrógeno entre ellos. Esto llevará a una disminución de la entalpía y en la entropía de la disolución.

Pero cuando dos solutos se asocian en agua, este proceso va acompañado por un aumento en la entropía, que es la principal fuerza gobernadora del proceso de asociación de moléculas de agua. Este es el efecto hidrofóbico.^{42, 48}

En todo caso conviene subrayar que el efecto hidrofóbico no se debe, como sugiere su nombre de modo equívoco, a que las moléculas de agua y de soluto se repelen entre sí, ni tampoco a una atracción muy fuerte entre las moléculas de soluto, sino a que la atracción entre las moléculas de agua, que como consecuencia de la estructura de este líquido, es mayor que las atracciones soluto-soluto o soluto-disolvente.^{4, 51} La estructura del agua juega un papel importante en la energía libre de

formación de interacciones hidrofóbicas, contribuyendo con entalpías y entropías favorables de interacción.⁵² Debido a la dependencia de esta estructura del agua con la temperatura, la entalpía de formación de interacciones hidrofóbicas es también dependiente de la temperatura.⁵²

Son innumerables los artículos publicados en donde se proponen varias explicaciones para interpretar las fuerzas que intervienen en el proceso de complejación con ciclodextrinas. Todos coinciden en que la interacción entre huésped y anfitrión puede estar regida por fuerzas de van der Waals (dipolo-dipolo), por fuerzas de dispersión de London (dipolo inducido-dipolo inducido), por la interacción o efecto hidrofóbico (solvofóbico) y por la formación de puentes de hidrógeno. Además, debido a las características inherentes a la propia ciclodextrina, la liberación de la tensión del anillo y la expulsión de las moléculas de agua de alta energía de la cavidad de la ciclodextrina, son procesos importantes que colaboran significativamente en la complejación.^{50, 53-64(a)}

4. Antecedentes

4.1. Analgésicos anti-inflamatorios

La inflamación es un mecanismo de defensa en respuesta a varias infecciones o estímulos metabólicos. Las manifestaciones iniciales de la inflamación fueron reconocidas por las primeras civilizaciones y descritas por Celsus en el siglo primero como calor, rubor, tumor y dolor.⁶⁵

En recientes décadas ha habido un progreso en la aparición de compuestos anti-inflamatorios activos, desde las pirazolonas en los años cuarenta, los corticoides en los cincuenta, hasta la familia de fármacos anti-inflamatorios no esteroídicos desarrollada durante la década de los años sesenta. En los años ochenta, de los fármacos anti-inflamatorios no esteroídicos, varios miembros de la familia de los ácidos arílicos de conformación no planar fueron ya producidos por varios laboratorios.⁶⁵

Los ácidos α -fenil-propiónicos sustituidos constituyen la mayor familia de fármacos anti-inflamatorios aril acídicos. Entre ellos están el fenoprofén, naproxén, ibuprofén y ketoprofén. Las terminaciones "profen" y "fenac" se usan generalmente para denominar ácidos fenilpropiónicos y ácidos fenilacéticos, respectivamente.⁶⁵ Las características químicas básicas y la relación estructura-actividad de los ácidos fenilpropiónicos se estudia en términos de sus grupos estructurales: la cadena lateral del ácido propiónico, los sustituyentes fenílicos y el segundo grupo propiónico.⁶⁵

El original ácido 1-bencil indol-3-acético fue descubierto al tratar de usar estructuras relacionadas con los metabolitos de la serotonina para actividad anti-inflamatoria. Tras la evaluación de 350 derivados indólicos, la indometacina fue finalmente descubierta como un potente agente anti-artrítico. Desde 1964 la indometacina ha sido ampliamente usada y ha permanecido como un standard clínico en la evaluación de nuevos fármacos anti-inflamatorios no esteroídicos. Ha servido también como una valiosa herramienta en numerosos experimentos bioquímicos-farmacológicos, especialmente en la investigación de prostaglandinas. Como potente inhibidor de la biosíntesis de prostaglandinas, la indometacina se usó frecuentemente para decidir la posible implicación de las prostaglandinas en varios procesos biológicos *in vitro* e *in vivo*.⁶⁵

Tras la segunda guerra mundial, el químico alemán Hans Stenzl sintetizó la fenilbutazona, 1,2-difenil-4-n-butilpirazolidín-3,5-dion. Este compuesto formaba sales solubles en agua. La fenilbutazona se incorporó al mercado en 1952 bajo el nombre comercial de Butazolidin, presentando una remarcable propiedad antireumática.⁶⁶ Su acidez (pK_a 4.5), su vida media (72h en hombre) y la configuración no planar de los anillos fenílicos, fueron características significativas que marcaron el inicio de la investigación de nuevos agentes anti-inflamatorios.⁶⁵

Los dos principales metabolitos de la fenilbutazona se forman en el hígado; uno por hidroxilación de la cadena butílica y el otro por hidroxilación de la posición *para* de uno de los anillos fenílicos. Este último metabolito es la oxifenbutazona que presenta una potencia anti-inflamatoria comparable a la de la fenilbutazona, aunque se considera más tóxica por presentar un lento metabolismo.⁶⁷

La incidencia de efectos laterales e indeseables ocasionados por los fármacos anti-inflamatorios a menudo alcanzan el 40% o porcentajes mayores, relacionados con problemas gastro-intestinales. Esto puede complicar seriamente la propia terapia. Los fármacos analgésicos anti-inflamatorios son consumidos en grandes cantidades por la población. La toxicidad gastrointestinal es uno de los problemas más comunes que se manifiestan durante el tratamiento con este tipo de sustancias, pudiendo producir ulceración gástrica y hemorragias.⁶⁸ Al ser poco solubles en el medio gástrico, permanecen durante un largo periodo de tiempo en contacto directo con la pared del estómago. Esto provoca una irritación local y en tratamientos prolongados pueden ocasionar úlcera gastrointestinal.

El origen de la toxicidad que producen los analgésicos anti-inflamatorios se piensa que es debida a la total inhibición de la secreción de prostaglandina dando como resultado una deficiencia de secreción de bicarbonato que normalmente protege la superficie epitelial contra la acidez gástrica.⁶⁸

Si estos anti-inflamatorios se complejan con ciclodextrinas, la forma complejada del fármaco se disuelve más rápidamente y muestra una absorción acelerada; además, no está en contacto directo con la mucosa gástrica y hasta que se disuelve se mantiene encapsulado en la matriz de la ciclodextrina.^{3, 69, 70}

Así, la investigación de los fármacos anti-inflamatorios no esteroídicos está en estado de transición, explorando nuevas direcciones para una nueva generación de agentes antiartríticos. La aceptación médica de los nuevos fármacos anti-inflamatorios no esteroídicos indica claramente la necesidad de una mejora en la terapia.⁶⁵

4.2. Interacciones intermoleculares y la química supramolecular

Cuando se asocian dos o más especies se plantean nuevas preguntas, ¿cuál es la estructura del agregado formado?, ¿con qué fuerza se han unido sus componentes?, ¿cuál es la selectividad de dicha asociación?. En 1894 Emil Fischer fue el primero en darse cuenta del problema y en entender su naturaleza. La especificidad de la reacción de un enzima con su sustrato lo conduce a la conclusión de que para reconocerse y reaccionar, las moléculas de sustrato y receptor debían acoplarse como la llave a su cerradura. Emil Fischer estableció las bases de una nueva conceptualización de la química, la de las interacciones entre dos o más especies químicas, cuyo campo se extiende más allá de la molécula y que se denominó (un siglo más tarde) química supramolecular. Esta química comprende las asociaciones entre dos o más moléculas en las que una actúa como anfitrión y la otra como huésped.⁷¹

La química supramolecular es un campo relativamente nuevo, interdisciplinario, que incluye características químicas, físicas y biológicas de especies químicas que se mantienen unidas y organizadas por interacciones intermoleculares no covalentes.⁷²⁻⁷⁴ Se dirige hacia un total entendimiento de los sistemas biológicos a nivel molecular y a la formación de complejos estructurales sumamente organizados con funciones predecibles, o, en palabras de J. M. Lehn, a mecanismos moleculares.⁷⁵ Las funciones de las supramoléculas cubren tanto el reconocimiento, como la catálisis y el transporte. Para que ocurra la unión selectiva entre huésped y anfitrión se requiere de características estéricas y electrónicas complementarias por parte de los dos componentes, así como un balance de rigidez y flexibilidad.⁷⁶

La química supramolecular se desarrolló en los años sesenta, época en que se descubrieron toda una serie de sustancias naturales capaces de complejar en su estructura cationes alcalinos o alcalinotérreos.⁷⁷ En 1967, C. Pedersen, descubrió accidentalmente una familia de compuestos cíclicos sintéticos, los éteres corona,

capaces de complejar selectivamente cationes de distinto tamaño en función del tamaño del macrociclo.⁷⁸ Paralelamente J. M. Lehn y su equipo elaboraron otras moléculas de tipo jaula, llamadas criptatos, que poseen una cavidad tridimensional.⁷⁹

Las primeras realizaciones de la química supramolecular se orientaron hacia el diseño de estructuras receptoras que evitarían una reacción posterior con los sustratos complejados. Los receptores en la formación de complejos de inclusión muestran una estructura similar en cuanto a que presentan una cavidad, en cuyo interior pueden albergar una molécula huésped.

Las ciclodextrinas son importantes porque forman parte de una serie homogénea de moléculas anfitrionas solubles en agua que pueden ser empleadas para estudiar las interacciones moleculares débiles.^{4, 11}

El origen de las ciclodextrinas, obtenidas a partir de oligosacáridos, se debe a Villiers, quien en 1891 las aisló a partir de la hidrólisis y ciclización del almidón por la acción de la enzima ciclodextrin transglucosilasa (CTG). Sin embargo, fue más tarde cuando Schardinger entre 1903 y 1911 informó la estructura definitiva de estos compuestos, presentando las ciclodextrinas como oligosacáridos cíclicos.⁹ K. Freudenberg en 1938 notificó que estas ciclodextrinas estaban constituidas por unidades de glucosa unidas por enlaces α -(1-4). En 1954, el equipo de F. Cramer, de la Universidad de Heidelberg, había demostrado que la forma tronco-cónica de estas moléculas les permitía complejar diversas moléculas dentro de su cavidad.⁷⁷

Los resultados experimentales obtenidos para sistemas supramoleculares que involucran a las ciclodextrinas son a menudo bastante complicados. En muchos casos la propiedad a valorar se ve muy influenciada por la concentración de las especies presentes en disolución, presumiblemente porque se forman diferentes tipos de complejos de inclusión.^{80, 81}

Los complejos de las cicloamilosas o ciclodextrinas, en el área de la química supramolecular, representan una clase de complejos de inclusión que han encontrado ya varias aplicaciones industriales, farmacéuticas y analíticas.^{1, 82}

La imposibilidad de formular fármacos poco solubles en agua, en una forma de administración apropiada, ha limitado seriamente la aplicación de varios agentes terapéuticos útiles. Varias técnicas se han propuesto para solucionar este problema

incluyendo el uso de cosolventes orgánicos, emulsiones, liposomas, micelas y dispersiones sólidas.^{48, 83-85} Una atractiva alternativa a estos métodos es el uso de ciclodextrinas.⁸⁶ Las ventajas de su utilización potencial, su disponibilidad y las buenas razones económicas juegan un papel decisivo en el interés de la industria farmacéutica por las ciclodextrinas. Esto se ve reflejado en el elevado número de publicaciones referentes a este tema, de las que sólo citamos una mínima parte.⁸⁷⁻⁹³

4.3. Fuerzas intermoleculares en disolución

Desde que se conoce la existencia de átomos y moléculas el hombre ha especulado sobre la naturaleza de las fuerzas que ocurren entre ellas. Filósofos atomistas griegos y romanos vieron las fuerzas en términos concretos y consideraron la fuerza de interacción entre las moléculas.²⁶

La idea de las fuerzas intermoleculares tiene una larga historia. El concepto de molécula como punto fuente de fuerzas de atracción y de repulsión fue primero formulado por Boscovich en 1783. Él reconoció que las moléculas se deben repeler cuando se encuentran a una pequeña separación, pero asumió que la atracción y la repulsión alternan dependiendo de la distancia. Más tarde se estableció el punto de vista de la repulsión entre moléculas a corta distancia y de atracción entre moléculas a larga distancia, que fue claramente expuesto por Clausius en 1857.⁴⁶

Maxwell incorporó a la descripción del comportamiento cinético de los gases la idea de que las moléculas ejercen fuerzas unas sobre otras. Boltzmann recurrió a una serie de leyes de fuerzas intermoleculares las cuales contenían componentes de atracción. En 1873 van der Waals desarrolló una ecuación de estado para un gas cuyas moléculas se suponían eran esferas rígidas impenetrables rodeadas por un campo de fuerzas atractivas. El trabajo de van der Waals demostró que la existencia de fases condensadas proceden de fuerzas atractivas entre moléculas, y a la vez que la pequeña compresibilidad de estas fases condensadas resulta de fuerzas de repulsión que actúan a corto alcance.⁴⁶

Desde finales del siglo XIX una cantidad considerable de trabajo ha estado dedicado a la conexión entre las propiedades de la materia y las fuerzas intermoleculares.⁴⁶

Sólo con la elucidación de la estructura electrónica de átomos y moléculas y el desarrollo de la teoría cuántica en los años veinte fue posible entender el origen de las fuerzas intermoleculares. Se ha establecido que todas las fuerzas intermoleculares son de origen electrostático. Por esta razón ha sido útil clasificar las interacciones intermoleculares en diferentes categorías con el mismo origen fundamental. Así, como resultado de esta clasificación se encontraron términos como fuerzas iónicas, fuerzas de van der Waals, hidrofóbicas, puentes de hidrógeno y fuerzas de solvatación,²⁶ a menudo acompañado por una división en interacciones fuertes y débiles y de corto, medio y largo alcance.¹

Actualmente existe un gran interés por entender estos fenómenos en términos de fuerzas operativas. Este asunto ha llegado a extenderse de tal forma que se ha desarrollado una tendencia para las diferentes disciplinas a adoptar su propia terminología y conceptos, para enfatizar aspectos bastante diferentes de interacciones que son esencialmente el mismo. Por ejemplo, en química y biología el énfasis se sitúa casi enteramente en fuerzas de corto alcance alrededor de átomos y moléculas, raramente extendido a más de una o dos distancias atómicas. El lenguaje del presente en la biología molecular está lleno de términos como son apilamiento molecular, interacción específica y mecanismos de llave-cerradura.⁹⁴

El entendimiento de la naturaleza y la intensidad de las fuerzas que existen entre las moléculas de soluto en disolución es de fundamental importancia para la comprensión de los mecanismos de reacción. Las expresiones referidas a los gases pueden ser juiciosamente empleadas cuando se trata de explicar resultados experimentales para sistemas en disolución, aunque hay que tener en cuenta que el rango de las interacciones es bastante diferente.^{64(a)} La característica más importante de todas las fuerzas intermoleculares en disolución acuosa es que estas fuerzas son tan dependientes de las propiedades de este disolvente como de la naturaleza e intensidad de las fuerzas intermoleculares por si mismas.⁵⁰

Las fuerzas intermoleculares no covalentes en el agua son principalmente una consecuencia de la fuerte interacción entre las moléculas de agua unas con otras, más que la directa interacción entre las moléculas de soluto.⁵⁰

Por otro lado, los estudios de complejación relacionados con las ciclodextrinas en medios no acuosos son muy escasos. Los primeros datos acerca de constantes de interacción de complejos [huésped \subset β -ciclodextrina] en DMSO fueron informados por parte de Siegel y Breslow en 1975.⁹⁵ El dimetilsulfóxido (DMSO) es un disolvente polar, no hidroxílico, extremadamente higroscópico y miscible con el agua en todas las proporciones. A pesar de los amplios estudios realizados sobre las propiedades del DMSO, la naturaleza de las interacciones entre DMSO y agua aun no se comprenden totalmente. Se han propuesto varias interpretaciones. Por ejemplo, unos datos se explicaron en base a una fuerte, pero no direccional interacción dipolo-dipolo o a la formación de puentes de hidrógeno.⁹⁶ El DMSO puede formar dos o tres puentes de hidrógeno con las moléculas de agua y el átomo de oxígeno del DMSO siempre acepta los protones. Los puentes de hidrógeno formados entre DMSO y agua son más fuertes que los existentes entre las moléculas de agua.⁹⁷

El dimetilsulfóxido tiene una amplia gama de acciones farmacológicas como son los efectos anti-inflamatorio y analgésico local, agente bacteriostático, diurético, tranquilizante y la permeabilidad a través de las membranas.⁹⁸ Presenta baja toxicidad cuando se administra tanto por vía oral como por vía cutánea, subcutánea, intravenosa e intraperitoneal.⁹⁸

Estas características del dimetilsulfóxido, junto con el valor de su constante dieléctrica (48.9 a 20°C y 46.4 a 25°C),⁹⁷ su tensión superficial, que comparativamente con la del agua es menor (46.2 y 72.8 mJm⁻², respectivamente)^{42, 42(a)} la estabilidad de sus mezclas con agua a todas las proporciones,⁹⁷ y la extremadamente débil interacción que presenta con el interior de la cavidad de las ciclodextrinas (0.41 \pm 0.04 en 10% DMSO/agua y 0.37 \pm 0.04 en 20% DMSO/agua, con α -CD⁹⁹ y 0.0018 mmol⁻¹dm³ en DMSO, con β -CD¹⁰⁰) hacen del DMSO y de las mezclas DMSO/agua medios de reacción interesantes para el estudio de la formación de los complejos de inclusión entre las ciclodextrinas y los analgésicos anti-inflamatorios no esteroídicos.

Estudios más recientes de ciclodextrinas en medios no acuosos como cloroformo, dimetilformamida y dimetilsulfóxido fueron informados por Kobayashi,¹⁰¹ Danil de Namor *et al.*¹⁰² y otros.¹⁰³⁻¹⁰⁵

5. Planteamiento del problema

La organización de los sistemas biológicos es frecuentemente el resultado de las asociaciones moleculares debido a las fuerzas intermoleculares no covalentes. Enzimas, anticuerpos, genes, ionóforos y otros sistemas biológicos poseen sitios receptores que pueden selectivamente unir sustratos dando lugar a un reconocimiento molecular muy específico. La investigación sobre las interacciones entre huésped y anfitrión de estructura y composición química conocida son de gran interés y muy útiles, ya que nos pueden ayudar a elucidar cuáles son los factores que controlan la interacción sustrato-receptor en sistemas biológicos, y pueden llegarse a crear especies nuevas y procesos químicos nuevos.¹⁰⁶

A pesar de la amplia gama de aplicaciones que tienen las ciclodextrinas y sus derivados, y la gran variedad de moléculas que se pueden incluir en las cicloamilosas, así como la importancia que en los campos de la bioquímica y la farmacia tienen los analgésicos anti-inflamatorios, no se han realizado estudios sistemáticos, en disolución, relacionados con las interacciones de carácter no covalente entre estos dos tipos de moléculas. Se han preparado complejos de inclusión de ciclodextrinas y fármacos analgésicos anti-inflamatorios,¹⁰⁷⁻¹¹⁰ pero no se conocen los correspondientes parámetros termodinámicos involucrados en el proceso de complejación ni la afinidad que tienen estas moléculas huéspedes por las cavidades de las ciclodextrinas.

Las dosis aplicadas de los fármacos analgésicos anti-inflamatorios son relativamente altas, debido a su baja absorción. Como ya mencionamos anteriormente, la toxicidad gástrica es uno de los problemas principales que se manifiestan durante el tratamiento con este tipo de sustancias.⁶⁵ Su complejación con ciclodextrinas, moléculas anfitrionas, que por su parte sólo presentan efectos tóxicos tras la administración de cantidades muy elevadas,^{4, 20} mejora la absorción de la molécula huésped, permitiendo de este modo la disminución de su dosis.

Las dosis administradas de ciclodextrina son relativamente bajas, y en el jugo gástrico se produce una rápida disociación del complejo. La absorción del huésped se ve fuertemente acelerada, mientras que de la ciclodextrina sólo se absorbe una

insignificante cantidad a través del tracto intestinal y será posteriormente metabolizada por la microflora del colon.⁴

La influencia de la temperatura, del medio de reacción, de la estructura del huésped y de su polaridad, hace que estas interacciones ciclodextrina-huésped presenten un gran interés desde el punto de vista de la química supramolecular sobre un problema fundamental, la naturaleza de los enlaces químicos que intervienen en la formación y en la estabilidad de los complejos de inclusión.

La importancia que tiene la aplicación de estos fármacos analgésicos anti-inflamatorios se pone de manifiesto al conocer su elevado consumo por parte de la población. La superposición de las alteraciones celulares en el organismo provoca dolor, inflamación y destrucción de tejidos por causa de una gran variedad de enfermedades, entre ellas la artritis, que afecta prácticamente a un 7% del total de la población mundial. Por otro lado, el consumo anual en los Estados Unidos de América por consumo de fármacos anti-artríticos ascendió a trescientos millones de dólares en 1978, y en 1981 se duplicó.⁶⁵ Estas cifras son un ejemplo que revela la importancia económica y la necesidad de abatir los costos de producción y comercialización de los fármacos anti-inflamatorios.

6. Objetivos

Objetivo general

• Obtener datos experimentales y teóricos que ayuden a establecer los factores que determinan las interacciones en disolución de fenoprofén, naproxén, ibuprofén, ketoprofén, indometacina, fenilbutazona y oxifenbultazona con α -ciclodextrina, β -ciclodextrina, γ -ciclodextrina y β -ciclodextrina-hidroxipropilada.

Objetivos particulares

- Obtener parámetros espectrales y a partir de ellos determinar las constantes de interacción de los complejos de inclusión, así como otras magnitudes termodinámicas de interacción (ΔH , ΔS , ΔG).
- Determinar la influencia del medio de disolución sobre el proceso de complejación.
- Elucidar la posible geometría de los complejos formados en disolución.
- Establecer las diferencias conformacionales y energéticas de los analgésicos anti-inflamatorios, las ciclodextrinas y sus respectivos complejos de inclusión.

7. Resultados y discusión

Entre los métodos propuestos para estudiar los complejos de inclusión seleccionamos el espectral o de espectrofotometría directa.^{11, 111-113} Su requerimiento esencial es la presencia de cambios espectrales que ocurren como consecuencia de la formación de los complejos de inclusión. Algunas de las ventajas que nos ofrecen los estudios en disolución son:

- se puede determinar con mayor precisión y facilidad la relación estequiométrica entre las moléculas huésped y anfitrión,
- es posible evaluar las constantes de interacción, y por tanto, los valores de ΔG , ΔH y ΔS ,
- es más fácil determinar el tipo de fuerzas que favorecen la interacción entre los analgésicos anti-inflamatorios y las ciclodextrinas sin preocuparse por las fuerzas que mantienen la cohesión de los sólidos.

Aunque hay una gran variedad de publicaciones referentes a los distintos tipos de fuerzas involucradas en la formación y estabilización de los complejos de inclusión entre ciclodextrinas e innumerables moléculas huésped, es muy difícil lograr comprender las fuerzas que surgen debido a la interacción ciclodextrina-huésped, si la posición del huésped en el interior de la cavidad lipofílica de la ciclodextrina no está claramente establecida. Generalmente ocurre que el huésped está parcialmente libre y parcialmente incluido en la cavidad de la ciclodextrina, y también manifiesta un movimiento oscilatorio dentro de la cavidad, teniendo una variación periódica de distancias intermoleculares con respecto a la posición de equilibrio. La posibilidad de evaluar cuantitativamente las fuerzas intermoleculares que intervienen en la orientación, formación y estabilización de complejos de inclusión no es un trabajo fácil debido a la intrínseca dificultad del sistema.

A partir de las diferencias de intensidades entre los patrones espectrales (para valores determinados de λ) obtenidos mediante las espectroscopías electrónicas de absorción y emisión, se calcularon las constantes de interacción aplicando las ecuaciones 1 y 2 que aparecen en el apéndice 10.1, con la representación gráfica de la propiedad valorada, ΔY , frente a la variación de la concentración de ciclodextrina. Los

valores de las constantes de interacción y los de otros parámetros termodinámicos están tabulados a lo largo de esta sección para cada una de las moléculas huésped.

La resonancia magnética nuclear de protón ayuda a esclarecer si la nueva especie formada en disolución es un verdadero complejo de inclusión o si se trata simplemente de una asociación entre los dos componentes. A partir de los resultados obtenidos por esta técnica se determinaron las estructuras de los complejos de inclusión, las cuales se optimizaron mediante mecánica molecular, encontrándose estructuras de mínima energía en cada caso.

La presente exposición de resultados se elaboró considerando cada molécula huésped por separado y presentando para cada una de ellas los experimentos realizados, resultados obtenidos, discusión referente a las fuerza intermoleculares y estudios de mecánica molecular.

Respecto a las fuerzas intermoleculares puntualizaremos que hay algunos ejemplos de interacciones intermoleculares en disolución acuosa que no pueden fácilmente ser incluidos en interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, o de transferencia de carga, pues presentan valores tanto de entropía como de entalpía negativos. Estas fuerzas representan el tipo de interacciones definido por W. P. Jencks como interacciones hidrofóbicas "no clásicas".⁵⁰ Es necesario anotar que para los resultados obtenidos en este trabajo hablaremos en términos de interacciones de van der Waals y no de solvofobia "no clásica" cuando nos refiramos a estos valores de entalpía y entropía.

Tomando en cuenta que el pK_a de todas las moléculas huésped está entre 4.2 y 5.2, es necesario puntualizar que todas ellas, excepto fenilbutazona y oxifenbutazona, se encontrarán en forma ionizada en los diferentes medios de disolución empleados.

La presencia del anión carboxilato, en las moléculas huésped que lo contienen, y el dipolo de las ciclodextrinas, ayudarán a establecer la orientación de la inclusión del huésped en el interior de la cavidad de la ciclodextrina. En el caso de fenilbutazona y oxifenbutazona, los dipolos de estas moléculas huésped y de las ciclodextrinas son los que determinarán la geometría de sus complejos de inclusión. La gran mayoría de los complejos de inclusión estudiados presentan una estequiometría tipo 1:1 (SL). Sólo en once de los sistemas preparados se puede hablar de complejos tipo 1:2 (SL₂).

7.1. Fenoprofén

El fenoprofén es uno de los componentes de la familia de fármacos anti-inflamatorios fenilpropiónicos.⁶⁵ Se presenta como polvo blanquecino, sin olor, bastante estable al medio ácido, al medio básico y al calor. Es un efectivo agente anti-inflamatorio, pero causa alteraciones a nivel gastrointestinal.¹¹⁴ El fenoprofén es producido por el laboratorio Lilly.¹¹⁵

7.1.1. Espectros de absorción y emisión

Todos los compuestos químicos absorben energía de al menos una región del espectro de radiación electromagnética. La energía a la que ocurre la absorción depende de la disponibilidad de los niveles electrónico, vibracional y rotacional de energía de la molécula. Cuando la absorción es en la región UV-visible del espectro (200-700 nm), las transmisiones ocurren entre niveles electrónicos de energía. Las moléculas absorben energía sólo cuando el fotón incidente tiene una energía exactamente igual a la diferencia de energía entre los dos estados permitidos; el fotón promueve la transición de un electrón de un estado de menor energía a otro de mayor energía. Antes otro fotón puede ser absorbido y el estado excitado debe perder esta energía y revertirla al estado basal. Comúnmente, este proceso reversible es rápido ($< 10^{-12}$ s) y ocurre por pérdida de energía a estados vibracionales y rotacionales dentro de la misma molécula, y por colisiones con otras moléculas (especialmente con el disolvente).¹¹⁶

De una disolución que contiene huésped, S, en presencia de anfitrión, L, medimos una propiedad Y de la disolución en función de L, la concentración total de anfitrión. Cuando una propiedad medida de una disolución de mezcla de solutos S y L no es igual a la suma de los valores de la propiedad de las disoluciones de S y L por separado, esto indica que algún tipo de interacción ha tenido lugar entre ellos. El comportamiento de no aditividad se atribuye a la reacción química, con la formación de una o más nuevas especies, que llamamos complejos moleculares. La descripción cuantitativa de estos sistemas involucra la evaluación de las constantes de equilibrio.¹¹

Teniendo en cuenta la estructura y composición del fenoprofén, se investigó su grado de disociación en disolución. Por estudios de conductimetría sabemos que el

fenopropén está en forma disociada en disolución acuosa, como un electrolito tipo 1:1.¹¹⁷

Es posible pensar en las siguientes etapas de equilibrio de disociación,



A partir del primer equilibrio, correspondiente a la disociación de un electrolito tipo 1:1, los complejos de inclusión a los que se hace referencia para el caso de esta sal de calcio, son aquellos en los que la inclusión se lleva a cabo a través del anillo bencénico del huésped.¹¹⁸ Las secciones iónicas del mismo ayudan a orientar la molécula, provocando la inclusión del anillo bencénico, y quedando de esta forma el anión y el catión en contacto con el disolvente.

En disoluciones con $\text{pH} < \text{pK}_{a_{\text{fen}}}$ (4.5) es posible su protonación. Aparece una banda extra en 338 nm, figura 3, que en los medios de disolución en estudio no aparece. La asignación de esta banda concuerda con la protonación del grupo carboxilato.

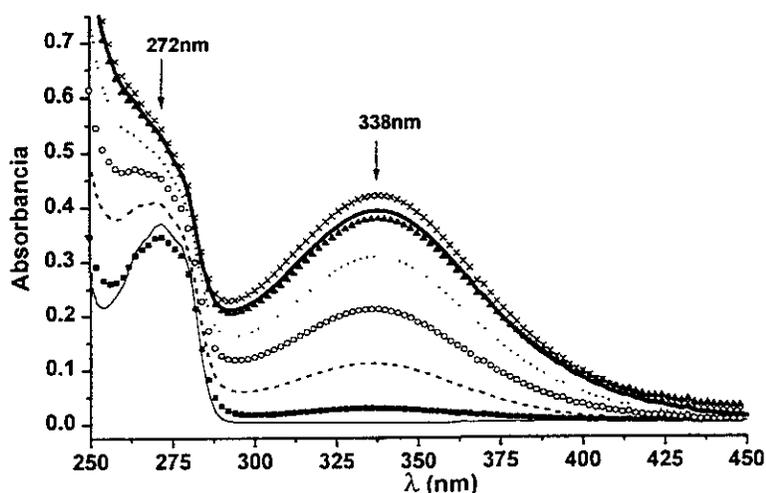


Figura 3. Espectros de absorción electrónica en la región UV-vis de fenopropén a 298 K. (—) fen^- en agua y (■), (---), (○), (⋯⋯), (▲), (▬) y (X) son fen^- en agua + volúmenes crecientes de HCl (de 0.2 mL a 1.4 mL).

Un ejemplo está en los espectros obtenidos para las curvas de calibrado donde la banda correspondiente a 338 nm está ausente (figura 4). Esto nos confirma que efectivamente en los medios de disolución en estudio, esta sal de calcio del fenopropén se encuentra en forma disociada, y por los estudios de conductimetría ya sabemos que es como un electrolito tipo 1:1 en disolución acuosa.

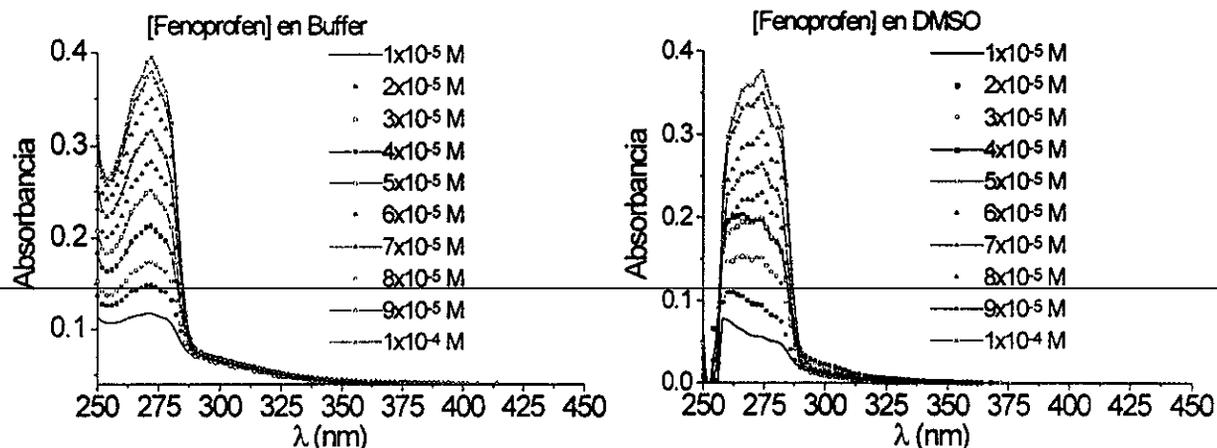


Figura 4. Espectros UV a 298 K correspondientes a las curvas de calibrado de fenopropén en buffer pH 7.5, izquierda, y DMSO, derecha.

En las tablas 4-7 se exponen los valores de 86 constantes aparentes de interacción de los sistemas con fenopropén, obtenidas a partir de la ecuación 1 (ver apéndice 10.1).

Temperatura (K)	Medio de Disolución			
	Buffer pH 7.5 $K_{ap}(1:1)$	25% DMSO $K_{ap}(1:1)$	50% DMSO $K_{ap}(1:1)$	75% DMSO $K_{ap}(1:1)$
288	1000 ± 150	1500 ± 500		
293	700 ± 160	890 ± 75	2900 ± 700	3100 ± 300
298	250 ± 20	810 ± 95	2400 ± 500	2400 ± 700
298 (ems.)	480 ± 50	450 ± 75	2500 ± 1000	2700 ± 300
303		700 ± 100	2000 ± 400	1600 ± 100
310	150 ± 20	660 ± 40	1300 ± 100	760 ± 45

Tabla 4. Constantes aparentes de interacción del sistema [fenopropén \subset α -CD] $^{-}$, (M^{-1}).

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 $K_{ap}(1:1)$	25% DMSO $K_{ap}(1:1)$	50% DMSO $K_{ap}(1:1)$	75% DMSO $K_{ap}(1:1)$	DMSO $K_{ap}(1:1)$
288	2600 ± 500		2500 ± 500		4000 ± 1000
293	1300 ± 100	3300 ± 2500	1100 ± 100	600 ± 200	1500 ± 300
298	1000 ± 100	2000 ± 900	900 ± 200	350 ± 25	900 ± 300
298 (ems)	1000 ± 100	4000 ± 2000	2200 ± 100	570 ± 30	630 ± 70
303	650 ± 30	1400 ± 400	180 ± 10	220 ± 10	240 ± 40
310	385 ± 9	1000 ± 400		185 ± 7	

Tabla 5. Constantes aparentes de interacción del sistema [fenopropén \subset β -CD] $^{-}$, (M^{-1}).

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 K_{ap} (1:1)	25% DMSO K_{ap} (1:1)	50% DMSO K_{ap} (1:1)	75% DMSO K_{ap} (1:1)	DMSO K_{ap} (1:1)
288	65 ± 4	1300 ± 200			4000 ± 2000
293	59 ± 3	600 ± 100	3800 ± 400		3600 ± 800
298	52 ± 2	380 ± 50	2900 ± 200		1300 ± 200
298 (ems.)	63 ± 1	530 ± 40	2200 ± 200	1700 ± 200	810 ± 90
303		330 ± 50	1500 ± 300		
310	43 ± 1	310 ± 60	1200 ± 200		1100 ± 300

Tabla 6. Constantes aparentes de interacción del sistema [fenopropfen \subset γ -CD]⁻, (M⁻¹).

Temperatura (K)	Medio de Disolución			
	Buffer pH 7.5 K_{ap} (1:1)	25% DMSO K_{ap} (1:1)	50% DMSO K_{ap} (1:1)	75% DMSO K_{ap} (1:1)
288	1700 ± 200		2000 ± 300	1700 ± 200
293	1000 ± 100		1800 ± 400	690 ± 70
298	700 ± 40	294 ± 2	810 ± 40	480 ± 80
298 (ems.)	1200 ± 100	590 ± 60		280 ± 25
303	367 ± 6			300 ± 60
310	300 ± 20		700 ± 200	

Tabla 7. Constantes aparentes de interacción del sistema [fenopropfen \subset HP- β -CD]⁻, (M⁻¹).

Tras realizar las mediciones de forma repetitiva (cada valor de absorbancia es el valor promedio de cinco mediciones, y cada serie de tubos se repitió tres veces), no fue posible obtener, a determinadas temperaturas y en determinados medios de disolución, valores confiables de las constantes aparentes de interacción de algunos sistemas con fenopropfen⁻. Los valores de absorbancia y/o emisión no se ajustaron a ninguna de las ecuaciones empleadas para el cálculo de estas constantes. Esta es la razón de la ausencia de algunos valores de K_{ap} en las tablas 4-7.

El estudio de las constantes de interacción a diferentes temperaturas tiene como fin principal llegar a determinar los parámetros termodinámicos, que nos proporcionan la información necesaria para conocer qué interacciones son las que están implicadas, en cada caso particular, en el proceso de inclusión.^{42, 61, 119}

Mientras que para propósitos analíticos con materiales no reaccionantes los espectros de absorción son casi independientes de la temperatura, en estudios de equilibrio químico es realmente esencial que el compartimiento de la celda se mantenga a temperatura constante, ya que la constante de equilibrio puede variar considerablemente con la temperatura.¹²⁰

En este estudio de complejación, en disolución buffer, β -CD y HP- β -CD generan complejos más estables con fenopropfen⁻. Sus constantes aparentes de interacción son

mayores que las que se presentan en el caso de α -CD y γ -CD en el mismo medio de disolución. Es oportuno indicar que el diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina juega un papel importante en el proceso de inclusión.^{4, 6, 11} Debido al pequeño diámetro interno de la cavidad de la α -CD y el gran tamaño del diámetro interno de la cavidad de la γ -CD, $\approx 5.7 \text{ \AA}$ y $\approx 9.5 \text{ \AA}$, respectivamente,³ éstas muestran menor capacidad para formar complejos de inclusión que la β -CD y la HP- β -CD. Generalmente, las moléculas hidrófobas que tienen anillos bencénicos, se adaptan mejor en la cavidad de la β -CD y en la de su derivado hidroxipropilado, debido a la adecuada relación de tamaños entre la sección incluida de la molécula huésped y el diámetro interno de la cavidad de la β -CD ($\approx 7.8 \text{ \AA}$).¹²¹ Esto significa que hay un buen espacio para que las moléculas de fen⁻ interactúen con el interior de la cavidad de la β -CD. En disolución buffer, la afinidad de fen⁻ por la HP- β -CD es comparable a la que muestra por la β -CD. En este medio de disolución la presencia de las cadenas hidroxipropílicas no influye en la estabilización del complejo de inclusión [fen \subset HP- β -CD].

Si comparamos los valores de K obtenidos a 298 K, las espectroscopias electrónicas de absorción y emisión en la región UV-visible, podemos ver que son algo diferentes. Esta observación no es nueva, hay informes concernientes con este asunto. Por ejemplo, K. A. Connors *et al.*¹²² muestran una tabla con valores de constantes de interacción para el sistema formado por ácido benzoico y α -CD. Estos valores de K son diferentes entre sí, aunque son aproximadamente del mismo orden. En nuestro caso los valores de K_{ap} obtenidos también son del mismo orden. No hay una explicación satisfactoria sobre estas diferencias entre las constantes de interacción obtenidas por diferentes métodos para el mismo sistema de reacción, únicamente se puede atribuir a la diferente sensibilidad de las técnicas espectroscópicas empleadas para el estudio de las disoluciones.

La figura 5 muestra una representación gráfica de la variación de las constantes aparentes de interacción en función de la temperatura, y los ajustes no lineales obtenidos a partir de la ecuación 1 (ver apéndice 10.1). Mediante esta figura y las tablas 4-7 podemos apreciar la fuerte dependencia de las constantes aparentes de interacción con la temperatura. La figura 5 indica que en el sistema [fenoprofén \subset HP- β -

CD], al incrementar la temperatura, el equilibrio de estas disoluciones no se ha desplazado totalmente hacia la dirección de la formación del complejo 1:1.

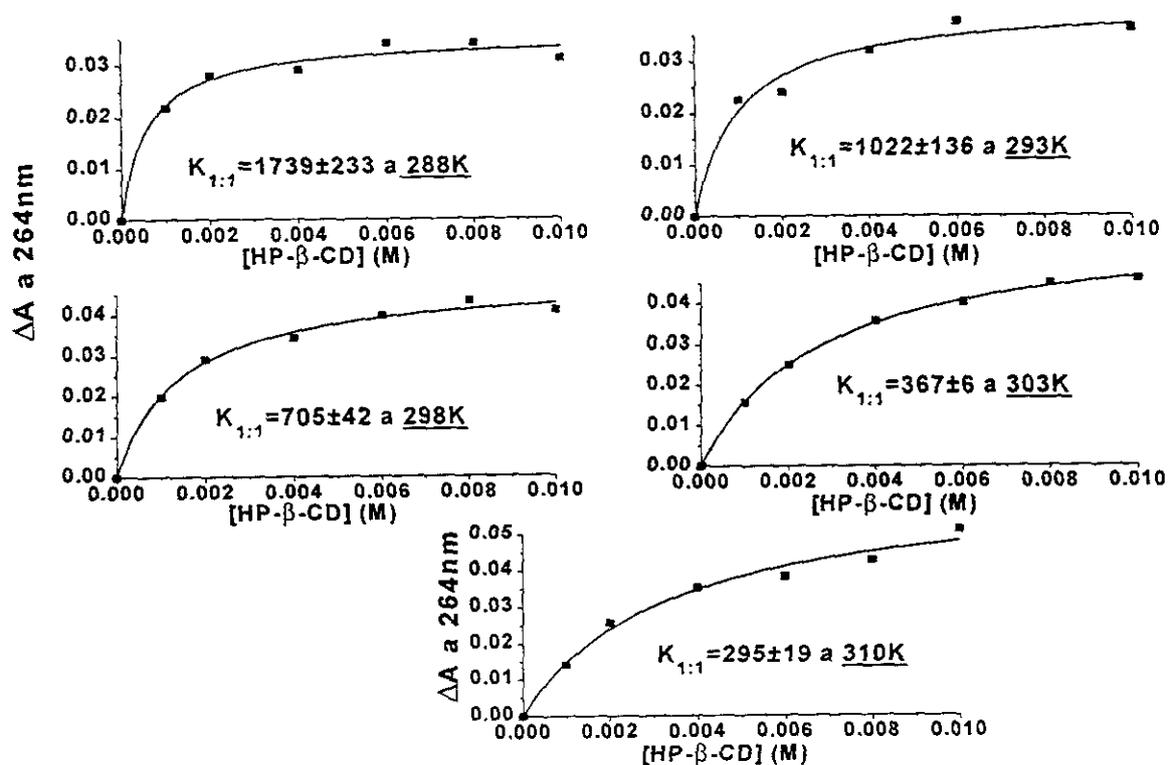


Figura 5. Sistema [fenoprofén \subset HP- β -CD] en disolución buffer. Obtención de los valores de $K_{1:1}$ a las diferentes temperaturas de trabajo por espectroscopía de absorción electrónica en la región UV.

Los complejos de inclusión con ciclodextrinas son especies muy dinámicas en disolución y alcanzan un equilibrio asociación-disociación dependiente de la temperatura, con valores de constantes aparentes de interacción que disminuyen al incrementar la temperatura. La explicación de esta tendencia es referente al aumento de la movilidad molecular con la temperatura, son directamente proporcionales. En otras palabras, el incremento de la temperatura provoca la disociación de estos complejos,¹²³ disminuyendo su tendencia a la saturación.

Las ciclodextrinas que tienen menor tamaño de diámetro externo de cavidad (α -CD y HP- β -CD) no muestran interacción significativa con fenoprofén en DMSO, lo que manifiesta la importancia del tamaño de la cavidad de la ciclodextrina en este medio de disolución. Obtuvimos los mayores valores de K en DMSO con γ -CD ($K_{\gamma\text{-CD}} > K_{\beta\text{-CD}}$).

Justamente sucede lo contrario en disolución buffer, donde la intensidad de la

interacción entre fenopropén⁻ y ciclodextrina disminuye al aumentar el diámetro interno de la cavidad del anfitrión y esto se observa claramente con el pequeño valor de la constante aparente de interacción [fen \subset γ -CD]⁻, $K_{1,1} = 52 \pm 2$. La superficie de contacto entre fen⁻ y γ -CD es muy pequeña, es decir, la distancia entre la sección de fen⁻ incluida y las paredes internas de la cavidad de la γ -CD es muy grande, y por ello, la interacción es muy pequeña.⁶¹ En la mezcla 25% DMSO/agua los menores valores de K corresponden a la interacción con HP- β -CD, probablemente por el impedimento estérico provocado por las cadenas hidroxipropílicas ($K \beta$ -CD > $K \alpha$ -CD > $K \gamma$ -CD > K HP- β -CD).

El comportamiento con respecto al disolvente es muy significativo, aunque no es el factor que contribuye de forma primordial en la formación de estos complejos de inclusión (ver tabla 8). La figura 6 ayuda a explicar algunos de los resultados con fen⁻. En algunos casos, como el sistema [fen \subset α -CD]⁻, el valor de la constante aparente de interacción en los distintos medios de disolución se incrementa al aumentar la solubilidad del fenopropén⁻ en dichos medios. Esto involucra a las interacciones de van der Waals como fuerzas formadoras de estos complejos de inclusión [fen \subset α -CD]⁻ en los distintos medios de disolución^{22, 42, 50} (ver tabla 8 en la sección correspondiente al cálculo de valores de otros parámetros termodinámicos).

Los valores de la solubilidad, S_o , de fenopropén⁻ están graficados en la figura 6.

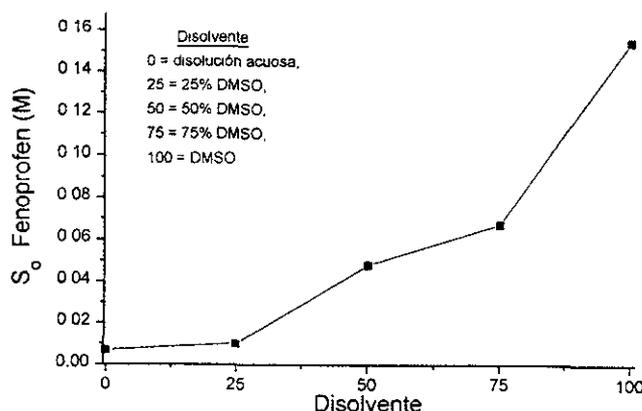


Figura 6. S_o experimentales (fenopropén⁻) en los diferentes medios de disolución a 298 K.

Los datos de espectroscopía de fluorescencia a menudo ofrecen una muy valiosa información acerca de las interacciones huésped-anfitrión.

En algunas moléculas, particularmente sistemas rígidos conjugados, la pérdida de energía del estado excitado por vibración o rotación puede ser lenta. En este caso, el estado excitado puede perder energía, por ejemplo, por emisión de un fotón. Si la emisión es a partir del estado excitado singlete, este fenómeno se conoce como fluorescencia; si la emisión es a partir del estado excitado triplete, es fosforescencia. Para observar fluorescencia, el tiempo de vida del estado excitado debe ser aproximadamente 10^{-9} s, y para fosforescencia de 10^{-3} s. Durante el tiempo de vida del estado excitado, generalmente alguna pérdida de energía no radiativa ocurre anteriormente a la emisión de la energía del fotón. Esto ocasiona que la energía del fotón emitido sea menor que la energía del fotón absorbido; la fluorescencia o fosforescencia es a una longitud de onda mayor que la correspondiente a la excitación. Mientras todas las moléculas absorben fotones, relativamente pocas florecen o fosforecen significativamente a temperatura ambiente, y estas últimas propiedades son especialmente útiles para mezclas complejas.¹¹⁶

La fluorescencia es la emisión de radiación absorbida por una molécula. Si la radiación de excitación tiene una longitud de onda que difiere de la longitud de onda de absorción, menor energía radiante será absorbida y consecuentemente menos será emitida. Todas las moléculas poseen una propiedad característica que se describe por un número llamado eficiencia cuántica, Φ . Ésta es la proporción de energía total emitida por cuantos de energía absorbidos. Una molécula que no florece es aquella cuya eficiencia cuántica es cero, o tan próxima a cero que la fluorescencia no se puede medir.¹²⁴

La interacción entre fenopropfen⁻ y ciclodextrinas puede ser también estudiada mediante la espectroscopía de fluorescencia. Al incrementar la concentración de la ciclodextrina, la intensidad de la emisión también se incrementa. La literatura contiene publicaciones donde se argumenta que los aumentos de la intensidad de la fluorescencia y/o los desplazamientos de la longitud de onda con emisión máxima indican la formación de complejos de inclusión.^{59, 81, 125-127}

Los espectros mostrados en la figura 7 se realizaron en disolución buffer a pH 7.5 y 298 K. La longitud de onda de excitación fue de 278 nm y el ancho de la abertura de la rendija o "SLIT" fue 0.8. La figura insertada muestra la típica dependencia

hiperbólica entre la intensidad de la emisión y la concentración variable de α -ciclodextrina.

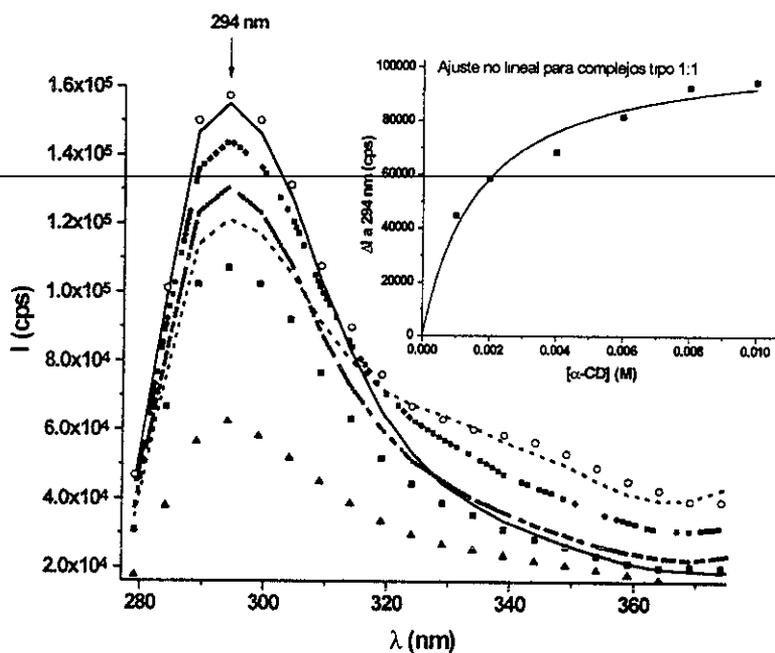


Figura 7. Espectros de emisión del sistema [fenopropén \subset α -ciclodextrina] $^-$ en disolución buffer de pH 7.5 a 298 K. [Fen] $^-$ = cte = 1×10^{-5} M y [α -CD] es, (\blacktriangle) 0 M; (\blacksquare) 1×10^{-3} M; (---) 2×10^{-3} M; (-·-·-) 4×10^{-3} M; (· · ·) 6×10^{-3} M; (—) 8×10^{-3} M; (○) 1×10^{-2} M.

El fenómeno del aumento de la fluorescencia con las ciclodextrinas se atribuye principalmente a la distribución, abundancia y al bloqueo de las especies excitadas de los procesos de apagamiento y decaimiento no radiativo que ocurren en el seno de la disolución.¹²⁸ Debido a la capacidad de las CDs para formar complejos de inclusión, las moléculas atrapadas quedan aisladas del exterior,¹²⁹ así hay una disminución de los grados de libertad rotacional en el medio hidrofóbico de la cavidad de la CD; una parte de la molécula de fen $^-$ está protegida de las colisiones y sus estados excitados son bloqueados del proceso de apagamiento.¹³⁰

El entorno de la molécula puede influir fuertemente sobre la fluorescencia de moléculas poliatómicas. En muchas moléculas polares el estado excitado es más polar que el estado basal. Consecuentemente, un aumento en la polaridad del disolvente produce una mayor estabilización del estado excitado que del estado basal, lo que provoca un cambio de ambos espectros (absorción y fluorescencia) a menor energía o a mayores longitudes de onda cuando la constante dieléctrica del disolvente se incrementa. Estos cambios están caracterizados por la naturaleza específica de la interacción soluto-disolvente, siendo importantes:

- las interacciones dipolo permanente_{soluto}—dipolos inducidos_{disolvente},
- las interacciones dipolo permanente_{disolvente}—dipolos inducidos_{soluto} y
- las interacciones dipolos inducidos_{soluto}—dipolos inducidos_{disolvente} cuando ni el soluto ni el disolvente poseen dipolos permanentes.

El espectro de fluorescencia puede verse afectado por cualquiera de estas interacciones, que se engloban de forma general dentro del término “efecto electrostático del disolvente”. El estado basal y el estado excitado envueltos en la absorción y fluorescencia son distintos. De acuerdo con ello, no hay razón para esperar una correspondencia precisa entre los efectos del disolvente sobre la absorción y sobre la fluorescencia.¹²⁴

Muchos compuestos que presentan marcada fluorescencia en disolventes orgánicos, en disolventes acuosos disminuye considerablemente esta propiedad. Un ejemplo de todo lo mencionado anteriormente lo tenemos en la figura 8 donde se observan los cambios espectrales producidos por la interacciones existentes entre las moléculas de soluto y las del disolvente, teniendo en cuenta la proporción de DMSO en las diferentes mezclas. Hay un leve desplazamiento de los máximos a mayor longitud de onda al incrementarse la proporción de agua en las mezclas.

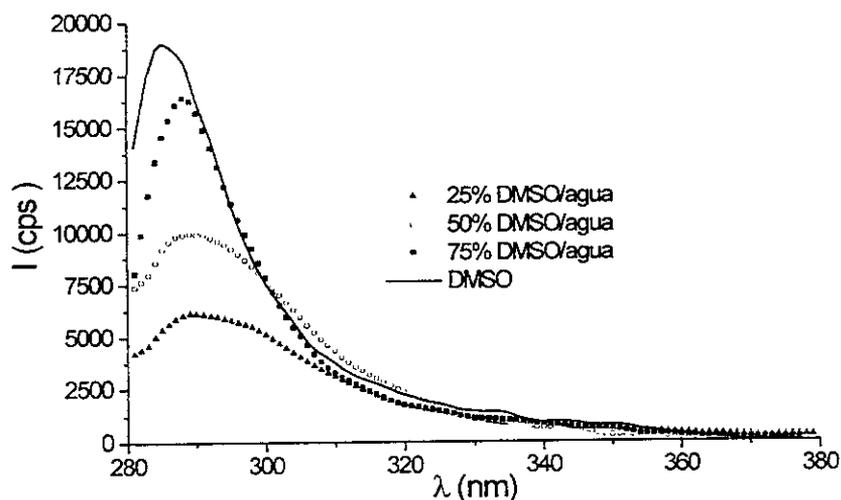


Figura 8. Espectros de emisión de fenoprofén (1×10^{-5} M) a 298 K, en los diferentes medios de disolución que contienen DMSO.

Se conocen cuatro tipos comunes de apagadores de la fluorescencia: la temperatura, el oxígeno, la concentración y las impurezas. Los que en nuestro caso pueden influir más son los cambios producidos por el aumento de la temperatura y la

presencia del oxígeno en el sistema, ya que la concentración de trabajo ha permanecido siempre constante para todos los sistemas, y todas las disoluciones se prepararon con las máximas precauciones para evitar impurezas. El aumento de la temperatura en el sistema se traducen en un aumento en la movilidad molecular y la existencia de colisiones, lo que consecuentemente roba la energía de la molécula. La fluorescencia máxima es disminuida debido a la disipación de energía por transiciones de energía vibracional. También, el oxígeno presente en disolución a una concentración de 10^{-3} M, normalmente reduce la fluorescencia en un 20%.¹²⁴

Al agregar ciclodextrinas a estas disoluciones, el aumento de la intensidad de emisión es significativo, véase por ejemplo la figura 7. La cavidad de la ciclodextrina se comporta de forma similar a los disolventes orgánicos no polares debido a sus características hidrofóbicas.¹³¹

El efecto del aumento de la concentración de ciclodextrina sobre el espectro de absorción del fenopropén⁻ se muestra en la figura 9.

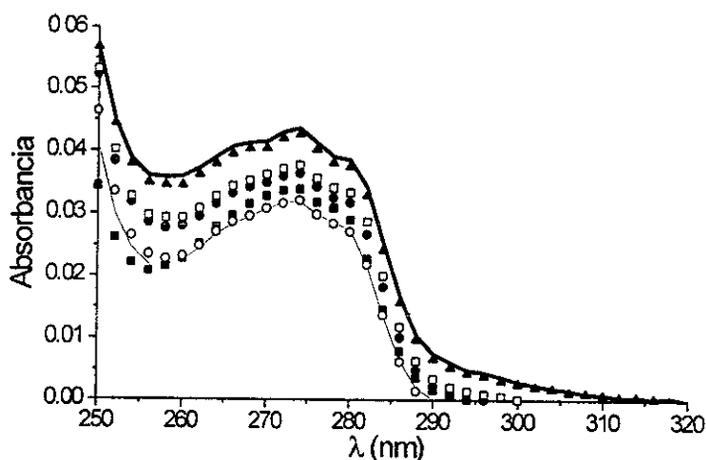


Figura 9. Influencia de la concentración de HP-β-CD sobre los espectros de absorción de fen⁻ en 25% DMSO/agua a 288 K. [fen⁻] = cte = 1×10^{-5} M. [HP-β-CD]: (—) = 0, (○) = 1×10^{-3} M, (■) = 2×10^{-3} M, (●) = 4×10^{-3} M, (□) = 6×10^{-3} M, (▲) = 8×10^{-3} M, (▬) = 1×10^{-2} M.

La absorción de fen⁻ aumenta con la concentración de HP-β-CD, en este caso a 288 K en 25% DMSO/agua. Este comportamiento se presentó también a las otras temperaturas de trabajo. Dicha modificación de los espectros refleja la formación de una nueva especie en disolución, indicando la existencia de interacción entre el huésped y el anfitrión en disolución.^{11, 18}

7.1.2. Espectros de resonancia magnética nuclear

Para que exista resonancia magnética nuclear es necesario que un núcleo tenga espín nuclear, y como resultado de éste, un momento magnético. Es necesario también, someter a estos núcleos a la presencia de un campo magnético en el que se efectúan dos fenómenos: orientación en el campo y movimiento precesional. El número posible de orientaciones se da en la expresión

$2I + 1 =$ orientaciones, donde I es el espín nuclear.

Corresponde a cada orientación una energía potencial determinada, dada por:

$$E_p = \mu H_0 \cos \theta$$

en donde H_0 es la intensidad del campo magnético y θ el ángulo formado por cada orientación respecto al campo magnético.¹³²

Los núcleos con una orientación, dada por efecto de su movimiento angular, tenderían a disminuir el ángulo θ , y a orientarse paralelamente al campo magnético. Esto no se efectúa, debido a que los núcleos se sujetan al llamado movimiento precesional. La velocidad precesional es proporcional al campo magnético aplicado. Es importante notar que, independientemente de la velocidad de precesión, existe un equilibrio dinámico entre las diferentes orientaciones del núcleo. Este equilibrio dinámico está regido por la ecuación de Boltzmann. En el caso específico del núcleo del átomo de hidrógeno, al aplicar la ecuación de Boltzmann para las dos posibles orientaciones, y resolverla a 9400 gauss y temperatura ambiente, se tiene

$$\frac{N_{+1/2}}{N_{-1/2}} = e^{-\frac{2\mu H_0}{kT}} = 1.0000066 \quad \text{en donde,}$$

$k =$ constante de Boltzmann,

$T =$ temperatura absoluta,

En ausencia de campo magnético, la relación es la unidad y $N_{+1/2} = N_{-1/2}$.¹³²

Para resolver las señales de un espectro monodimensional (1D), sólo se necesita conocer, junto con la asignación de las bandas, el ancho espectral y la anchura de cada multiplete. En cambio, los espectros bidimensionales (2D) muestran

un mapa de señales que representa las interacciones que ocurren simultáneamente entre los átomos.¹³³

El espectro NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy) muestra picos negativos en su diagonal (correspondiente a la inversión de un experimento monodimensional) y señales que indican la interacción por distancia entre átomos (NOEs).¹³³ Mediante el espectro NOESY se comprueba la capacidad para establecer interacciones entre los átomos a través del espacio, bastante independiente de las interacciones debidas a los enlaces. Un aumento en la intensidad de la interacción es un NOE positivo, y una disminución en la intensidad de la interacción es un NOE negativo.

En el espectro ROESY (Rotating Frame Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy), la evolución de las señales que indican la interacción entre átomos por proximidad, tienen lugar bajo la influencia de un campo de espín, con una efectiva precesión de frecuencia.¹³³ Hay un giro constante de la muestra, mejorando la visualización de las señales que indican la interacción interatómica, a través del espacio, especialmente en muestras que presentan baja solubilidad.

Los estudios de resonancia magnética nuclear de protón con fenopropén⁻ han sido unos de los más completos que se han realizado en este trabajo. Se llevaron a cabo experimentos en D₂O con α -, β - y γ -ciclodextrina, y en DMSO-*d*₆ únicamente con β -ciclodextrina.

En la figura 10 aparece un espectro de tipo ROESY del sistema [fenopropén⁻ \subset β -CD]⁻ en D₂O. En este caso es posible observar el característico desplazamiento de la banda correspondiente al H-5 de la β -ciclodextrina, situado en el interior de la cavidad, ($\delta(\beta$ -CD): 3.66 ppm y δ ([fen \subset β -CD]⁻): 3.62 ppm), que verifica la formación de un complejo de inclusión.^{118, 134, 135} Respecto a los hidrógenos del fenopropén⁻, H-6, 3, 2, y 5, muestran también interacción con la β -ciclodextrina. H-1 del fenopropén⁻ interactúa con la cavidad y con la sección externa de la β -ciclodextrina, situación que manifiesta el proceso de asociación-disociación como equilibrio dinámico. El H-7 del fenopropén⁻ muestra interacción con el borde estrecho de la β -ciclodextrina. Esto nos indica que la inclusión es por la parte ancha de la cavidad de la β -ciclodextrina y a través del anillo

bencénico no sustituido del fenopropén⁻, ya que el grupo carboxilato es el que determina la orientación de la inclusión.

La parte derecha de la figura 10 refleja la modificación que se presenta en las bandas correspondientes al fenopropén⁻ cuando éste interacciona con la β -CD en D₂O. Es posible observar claros desplazamientos de las bandas correspondientes a los hidrógenos del anillo bencénico. Estos cambios están más claramente marcados en las bandas de H-2 y H-5. También ocurre que las bandas de H-1 y H-5 intercambian su posición en el espectro.¹¹⁸

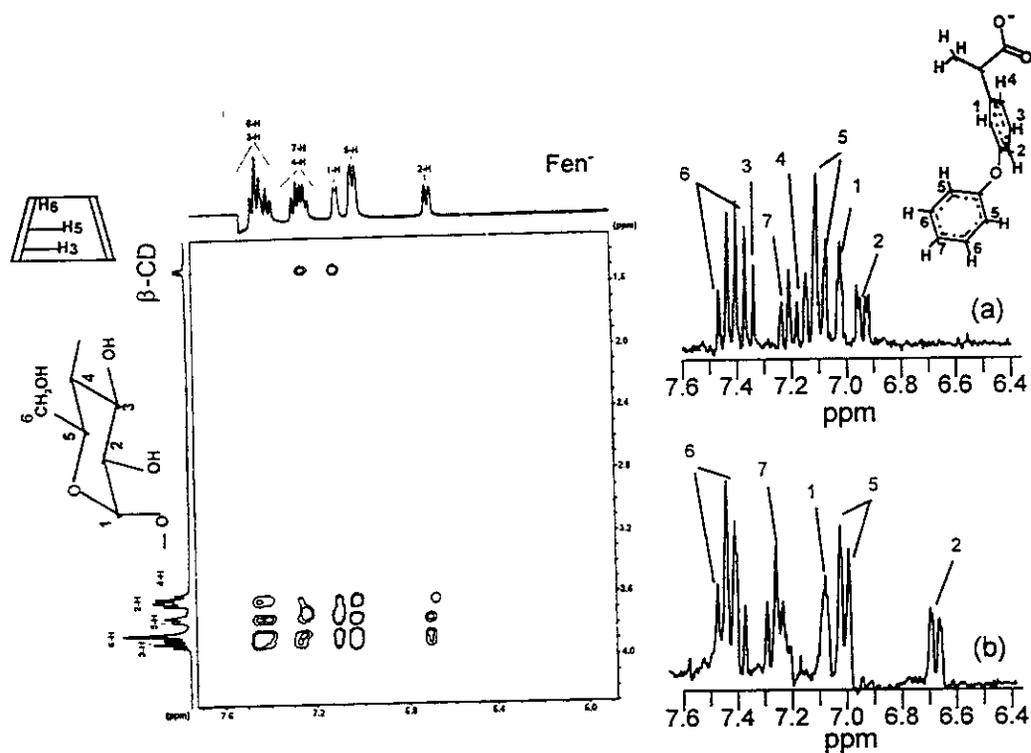


Figura 10. Izquierda, espectro ROESY a 400.13 MHz y 298 K del sistema [fen⁻ β -CD]⁻ en D₂O. Derecha, espectros ¹H-RMN en D₂O; (a) fen⁻, (b) [fen⁻ β -CD]⁻.

Los cambios con α -CD y γ -CD no son tan evidentes. La figura 11 muestra los espectros ¹H RMN para los sistemas con α -CD, γ -CD y sus complejos de inclusión correspondientes. Ambos sistemas manifiestan el desplazamiento de la banda correspondiente al 5-H de la CD (0.03 ppm para α -CD y 0.08 ppm para γ -CD). Se puede notar una modificación general de las señales que tienden a poner de manifiesto la interacción entre fen⁻ y α -CD y fen⁻ y γ -CD,⁹¹ además, las señales correspondientes a los protones externos de estas CD están notablemente modificadas, lo que indica que

la inclusión de la molécula huésped no es total. El diámetro interno de γ -CD, $\approx 9.5 \text{ \AA}$, es bastante grande para incluir la molécula de fen^- . La geometría del complejo $[\text{fen} \subset \gamma\text{-CD}]^-$ puede considerarse similar a la del complejo $[\text{fen} \subset \beta\text{-CD}]^-$, es decir, el anillo bencénico es la sección de fen^- involucrada en el proceso de inclusión con γ -CD. Las bandas correspondientes a los hidrógenos externos de la γ -CD están poco modificadas. Figura 11 (c) y (d).

Debido a este gran tamaño del diámetro interno de la cavidad de γ -CD, hay un espacio demasiado grande entre el anillo bencénico incluido de fen^- y la sección interna de la cavidad, por tanto, la superficie de contacto entre las dos moléculas será pequeña, debido a la gran distancia entre la pared interna de la γ -CD y la sección incluida del fenopropén⁻, y esto contribuye a una débil interacción. Este hecho se puede constatar con los valores de las constantes aparentes de interacción que se obtuvieron a partir de los datos de absorción y emisión para el sistema $[\text{fen} \subset \gamma\text{-CD}]^-$ en disolución buffer (tabla 6). Sus constantes aparentes de interacción son menores que las obtenidas para el sistema $[\text{fen} \subset \beta\text{-CD}]^-$, lo cual significa que β -CD forma complejos de inclusión más estables con este anti-inflamatorio que γ -CD.

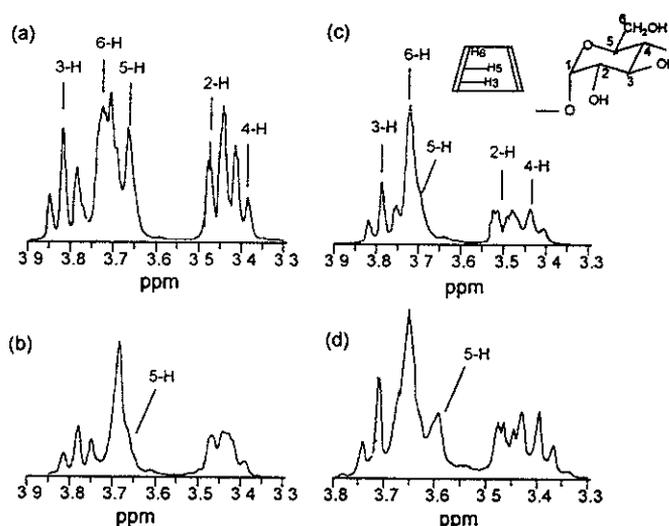


Figura 11. Espectros ^1H -RMN a 300 MHz y 298 K en D_2O . (a) α -CD, (b) $[\text{fen} \subset \alpha\text{-CD}]^-$; (c) γ -CD, (d) $[\text{fen} \subset \gamma\text{-CD}]^-$.

Por el contrario, la α -CD tiene menor tamaño de diámetro interno de la cavidad, $\approx 5.7 \text{ \AA}$. Los espectros del complejo $[\text{fen} \subset \alpha\text{-CD}]^-$ y de la α -CD, figura 11 (a) y (b),

muestran las señales correspondientes a los hidrógenos externos considerablemente modificadas. Probablemente, debido al menor tamaño y a la presencia de la glucosa ortogonal de la α -CD,⁴⁴ presenta más impedimento para la inclusión de fen⁻. De este modo, la interacción entre fen⁻ y α -CD puede ser con los hidrógenos externos de la α -CD y el anillo bencénico de fen⁻ se incluirá en menor proporción que en el caso de β -CD y γ -CD. En general, la β -CD forma complejos más estables que la α -CD. Este hecho se puede también constatar con los valores de las constantes aparentes de interacción que se obtuvieron a partir de los datos de absorción y emisión para el sistema [fen \subset α -CD]⁻ en disolución buffer (tabla 4).

Todo este estudio de resonancia magnética nuclear confirma que β -CD forma mejores complejos con fen⁻ en medio acuoso que α -CD y γ -CD.

Las posibles estructuras de los complejos de inclusión de fenopropén⁻ con α -CD, β -CD y γ -CD en disolución acuosa las podemos observar en la figura 14, en la sección correspondiente a mecánica molecular.

Por otro lado, es importante mostrar el efecto que tiene el medio de reacción sobre la estructura del complejo de inclusión. Mediante los espectros de la figura 12 observamos la interacción entre fenopropén⁻ y β -CD en DMSO.

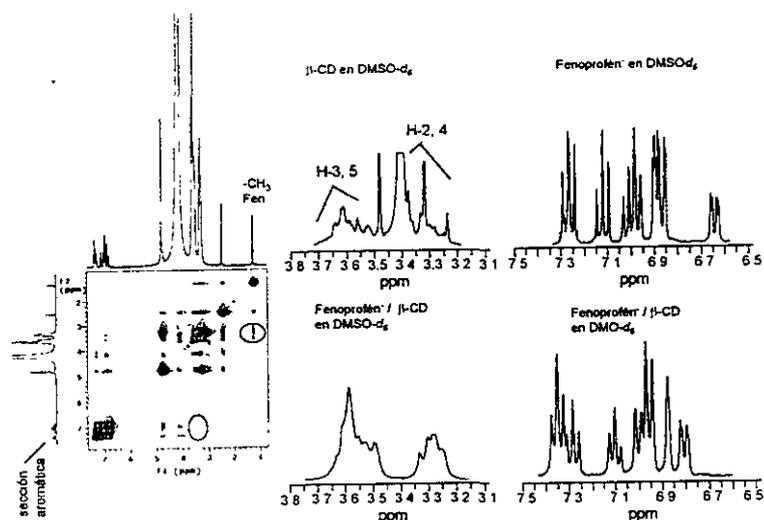


Figura 12. Espectros RMN a 300 MHz y 298 K en DMSO- d_6 . Izquierda, espectro NOESY del sistema [fen \subset β -CD]⁻. Centro, modificación de las bandas de β -CD en el sistema [fen \subset β -CD]⁻. Derecha, modificación de las bandas de fenopropén⁻ en el sistema [fen \subset β -CD]⁻.

El desplazamiento y desdoblamiento de las bandas correspondientes a los hidrógenos de la sección aromática del fenopropfen⁻ (figura 12, derecha), así como la modificación en las bandas de β -CD tanto de sus hidrógenos externos como internos (figura 12, centro) nos confirman la existencia de esta interacción. El espectro NOESY (figura 12, izquierda) presenta a la sección aromática, principalmente a través del H-5 del anillo bencénico (señal en 7 ppm), y al grupo metilo del fenopropfen⁻ como los principales participantes en la interacción.

Se hicieron experimentos de resonancia magnética nuclear de protón del fenopropfen⁻ puro en los diferentes medios de disolución para verificar que efectivamente la especie huésped con la que estábamos trabajando era la misma en los distintos medios de disolución. Los espectros de absorción y emisión de fenopropfen⁻ en disolución buffer, DMSO y en las diferentes mezclas DMSO/agua presentan la misma forma y la posición de las bandas permanece invariable. Estos sencillos experimentos garantizan que estamos trabajando con la misma especie en todos los medios de disolución.

7.1.3. Valores de otros parámetros termodinámicos

En general, los valores de entropía y entalpía son el resultado de diversas etapas elementales y factores: liberación de las moléculas de agua de alta energía del interior de la cavidad de la CD, liberación de la tensión del anillo de la CD, profundidad de la inclusión, solvatación del huésped o solvofilia (efecto del disolvente) y superficie de contacto entre huésped y anfitrión.

En la tabla 8 se exponen los valores de otros parámetros termodinámicos de los sistemas con fenopropfen⁻, obtenidos a partir de las ecuaciones 3 y 4 (ver apéndice 10.2).

CD	Medio de Disolución									
	buffer pH 7.5		25% DMSO		50% DMSO		75% DMSO		DMSO	
	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}
α -CD	-15.75	-0.041	-3.24	+0.0024	-8.42	-0.013	-15.28	-0.036		
β -CD	-14.86	-0.036	-11.86	-0.025	-27.86	-0.081	-13.18	-0.032	-30.16	-0.088
γ -CD	-3.34	-0.003	-15.53	-0.040	-13.24	-0.029			-10.53	-0.020
HP- β -CD	-14.78	-0.037			-8.45	-0.014	-18.99	-0.051		

Tabla 8. Variables termodinámicas de los sistemas con fenopropfen⁻ (ΔH_{int} , kcal/mol; ΔS_{int} , kcal/mol K).

Los valores ausentes de ΔH_{int} y ΔS_{int} en los sistemas con fenopropén⁻, son debidos a la falta de valores de constantes aparentes de interacción, que son necesarias para calcular estos parámetros termodinámicos.

Poniendo atención en los valores expuestos en la tabla 8, es fácil comprobar que el proceso de inclusión entre estas ciclodextrinas y el fenopropén⁻ no está controlado entrópicamente,²² la contribución es principalmente entálpica, mostrando cambios favorables de entalpía ($\Delta H_{int} < 0$) y cambios desfavorables de entropía ($\Delta S_{int} < 0$). Esto sugiere que las interacciones de van der Waals son las principales fuerzas que contribuyen a la estabilidad de los complejos de inclusión con esta molécula huésped.^{22, 42, 136} Entre las fuerzas de interacción propuestas para el fenómeno de inclusión con ciclodextrinas, sólo el efecto solvofóbico está gobernado por la entropía, $\Delta S_{int} > 0$, y a veces $\Delta H_{int} > 0$.⁸⁹ Este efecto por sí mismo está gobernado por un aumento en la entropía de las moléculas del disolvente como resultado de la exclusión de las moléculas de soluto, un proceso que va acompañado por un aumento en el grado de libertad de las moléculas de disolvente.^{22, 50}

A la vista de los valores obtenidos de las variables termodinámicas, y como ya se dijo anteriormente, con respecto al comportamiento de las K_{ap} con el disolvente, el medio de disolución no es el factor principal en la formación de los complejos de inclusión con fenopropén⁻, aunque la interacción que se presenta entre el grupo carboxilato, que está en contacto con el medio de disolución, puede estabilizar la estructura del complejo de inclusión formado, mediante interacciones con los momentos dipolares de las moléculas del disolvente.²⁷

En la figura 13 se representan típicas gráficas de van't Hoff que nos informan del comportamiento termodinámico de los distintos complejos de inclusión. Estas gráficas en 50% DMSO/agua no son curvas (excepto para HP- β -CD), indicando esto que estas interacciones huésped-ciclodextrinas no son sólo controladas por la entropía, donde contribuye mayoritariamente las interacciones solvofóbicas.²²

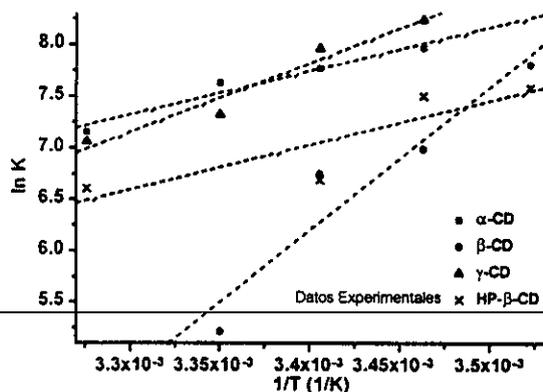


Figura 13. Gráficas de van't Hoff de los sistemas de fenopropén con α -, β -, HP- β -, y γ -ciclodextrinas en mezcla del 50% DMSO/agua; (■) $R = 0.9775$; (●) $R = 0.9532$; (▲) $R = 0.9755$; (X) $R = 0.8784$.

La gráfica correspondiente a la β -ciclodextrina tiene una pendiente muy diferente y refleja una diferencia notable con respecto a las otras ciclodextrinas; presenta un valor de ΔH_{int} más negativo que el resto, lo que indica la mayor influencia de las interacciones de van der Waals en la formación de este complejo de inclusión.^{42, 136} Las presentaciones gráficas correspondientes a las especies $[\text{fen} \subset \alpha\text{-CD}]^-$, $[\text{fen} \subset \text{HP-}\beta\text{-CD}]^-$ y $[\text{fen} \subset \gamma\text{-CD}]^-$, son muy parecidas, principalmente las pendientes entre α - y HP- β -CD. Este similar comportamiento es probablemente debido al comparable diámetro externo de la cavidad entre estas dos CDs, considerando que el diámetro externo, y consecuentemente la profundidad de la HP- β -CD, comienzan a partir de sus grupos hidroxipropilos, ya que esta hidroxipropilación significa una extensión del cono de la β -CD que acentúa su carácter hidrófobo.^{121, 137} Los valores más negativos de entalpía se observan en los sistemas $[\text{fen} \subset \beta\text{-CD}]^-$ en 50 % DMSO/agua y en DMSO. En estos casos la superficie de contacto entre el huésped y la β -CD es mayor y por tanto las interacciones de van der Waals se incrementan.^{42, 136}

En disolución buffer los valores de la entalpía de interacción muestran que la intensidad de la interacción en el caso de α -, β - y HP- β -CD es mayor que en el caso de γ -CD. El valor de ΔH_{int} para los complejos con α -, β - y HP- β -CD es mucho menor que para la ciclodextrina de mayor tamaño de diámetro interno. Es muy fácil comprobar en este medio de disolución la influencia del tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina. Por ello la γ -CD manifiesta menor capacidad para formar complejos de inclusión estables que las otras ciclodextrinas de menor diámetro. La superficie de

contacto entre el interior de la cavidad de la γ -CD y la sección incluida del fenoprofén⁻ es menor en comparación con la que presentaría con el interior de las otras tres ciclodextrinas, debido a la gran distancia entre ambos componentes del complejo en el complejo de inclusión formado, como ya se comentó anteriormente. Esto mismo se cumple en sistemas en 75% DMSO/agua y DMSO, pero en estos casos las ciclodextrinas de menor tamaño de diámetro externo muestran menor valor de ΔH_{int} , poniendo de manifiesto la mayor intervención de las interacciones de van der Waals.

En los casos de 25% y 50% DMSO/agua esto no ocurre. Es posible pensar que en estos dos medios de disolución no influye de forma tan marcada el tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina. En estos casos los valores de ΔH_{int} disminuyen cuando aumenta el diámetro de la cavidad de la ciclodextrina:

en 25%: $\Delta H_{int} \gamma\text{-CD} < \Delta H_{int} \beta\text{-CD} < \Delta H_{int} \alpha\text{-CD}$,

en 50%: $\Delta H_{int} \beta\text{-CD} < \Delta H_{int} \gamma\text{-CD} < \Delta H_{int} \text{HP-}\beta\text{-CD} \leq \Delta H_{int} \alpha\text{-CD}$.

Será factible pensar en estos casos que la expulsión de las moléculas de agua de alta energía de la cavidad de las ciclodextrinas y la liberación de la tensión del anillo, provocado por la inclusión, intervienen de forma más importante.^{50, 58} En el caso del sistema [fen \subset α -CD]⁻ en 25% DMSO/agua la contribución solvofóbica se hace presente por la contribución entrópica, $\Delta S = +0.0024$, aunque este valor es muy pequeño.

7.1.4. Estudio de la mecánica molecular

Con base en los resultados de resonancia magnética nuclear en medio acuoso, se realizó el estudio de mecánica molecular de fenoprofén⁻ con α -, β - y γ -ciclodextrinas (ver apéndice 10.5).

La contribución energética total a la formación de los complejos de inclusión de fenoprofén⁻ con estas ciclodextrinas presenta los valores de mayor estabilidad con las estructuras expuestas en la figura 14, en donde el proceso de inclusión se lleva a cabo a través de la parte ancha de la cavidad de las ciclodextrinas. Esto mismo ya lo

habíamos observado en los experimentos de resonancia magnética nuclear realizados para estos sistemas.

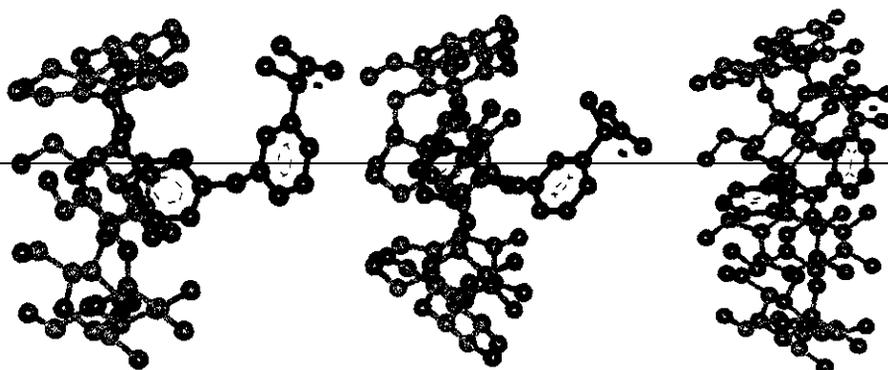


Figura 14. Posible estructura de los complejos de inclusión en medio acuoso de fenopropén⁻ con α -, β - y γ -CD, respectivamente.

La proporción de fenopropén⁻ incluido en el interior de la cavidad de la ciclodextrina aumenta con el incremento del diámetro interno de la ciclodextrina, es decir, $[\text{fen} \subset \gamma\text{-CD}]^- > [\text{fen} \subset \beta\text{-CD}]^- > [\text{fen} \subset \alpha\text{-CD}]^-$, pero en cambio, cuanto menor es el tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina, mayor es la superficie de contacto entre la molécula huésped y la parte interior de la cavidad del anfitrión. Esto apoya el hecho de que las interacciones de van der Waals son las principales fuerzas estabilizadoras de estos complejos de inclusión, como ya se había considerado con anterioridad en los estudios relacionados con el cálculo de los parámetros termodinámicos $\Delta H_{\text{int.}}$ y $\Delta S_{\text{int.}}$. Estas interacciones de van der Waals se presentan con mayor intensidad en el caso de $[\text{fen} \subset \beta\text{-CD}]^-$, tabla 9, lo que puede explicar el mayor valor de las constantes aparentes de interacción que aparecen con este sistema (ver tablas 4, 5 y 6).

Contribuciones Energéticas (kcal/mol)	Complejos		
	$[\text{fen} \subset \alpha\text{-CD}]^-$	$[\text{fen} \subset \beta\text{-CD}]^-$	$[\text{fen} \subset \gamma\text{-CD}]^-$
Contribución energética total para la complejación	21.314	23.735	18.658
Contribución de van der Waals	21.627	23.589	19.267

Tabla 9. Contribución a la estabilización de los complejos de inclusión de fenopropén⁻ con α -, β - y γ -CD.

Considerando por separado ambos componentes de los complejos expuestos en la tabla 9 (a 7 Å de separación el huésped de la ciclodextrina en todos los sistemas, para el fenoprofén⁻ y para todos los demás huéspedes), sus energías totales son 88.072 kcal/mol para α -CD, 101.094 kcal/mol para β -CD y 173.628 kcal/mol para γ -CD. Con esta información y con los valores correspondientes a la contribución energética total para la complejación expuesta en la tabla 9, podemos indicar que estas especies son más estables en forma complejada.

Todas las estructuras de los complejos de inclusión formados con β -ciclodextrina-hidroxipropilada derivan únicamente de los cálculos de mecánica molecular, debido a la falta de evidencia experimental que en cuanto a la geometría de la complejación con esta ciclodextrina tenemos.

La posible estructura del complejo de inclusión [fen \subset HP- β -CD]⁻ que deriva de estos estudios de mecánica molecular se presenta en la figura 15.

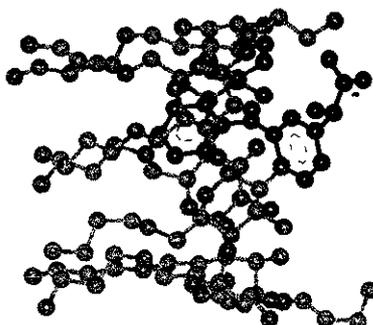


Figura 15. Posible estructura del complejo de inclusión en medio acuoso de fenoprofén⁻ con HP- β -CD.

La energía total del sistema formado por ambos componentes del complejo por separado, 103.992 kcal/mol, pone de manifiesto la mayor estabilidad del sistema cuando ambos componentes están formando el complejo de inclusión, cuya energía total es de 92.802 kcal/mol. La diferencia en la contribución energética total para la complejación hace que la especie complejada sea más estable que la no complejada.

7.2. Naproxén

El naproxén es otro de los derivados fenilpropiónicos que forman parte de la familia de los fármacos anti-inflamatorios aril ácidos. Es un agente anti-inflamatorio tan eficaz como el fenoprofén, pero también con el inconveniente de que provoca alteraciones a nivel gastrointestinal.⁶⁵ El naproxén es producido por los laboratorios Syntex, Liomont, Fustery, Streger y Degort's.¹¹⁵

7.2.1. Espectros de absorción y emisión

Los valores de las constantes de interacción con naproxén⁻, obtenidas a partir de la ecuación 1 (ver apéndice 10.1), se exponen en las tablas 10-13.

Temperatura (K)	Medio de Disolución			
	25% DMSO K(1:1)	50% DMSO K(1:1)	75% DMSO K(1:1)	DMSO K(1:1)
288		420 ± 40	7500 ± 2700	2200 ± 700
293		720 ± 70	4700 ± 1800	3200 ± 1600
298		2100 ± 200	2600 ± 400	6000 ± 2500
298 (ems.)	6000 ± 1000	1900 ± 500	2100 ± 400	5300 ± 200
303			1100 ± 200	
310		3500 ± 1300	700 ± 100	7000 ± 5000

Tabla 10. Constantes de interacción del sistema [naproxén \subset α -CD]⁻, (M⁻¹).

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 K(1:1)	25% DMSO K(1:1)	50% DMSO K(1:1)	75% DMSO K(1:1)	DMSO K(1:1)
288	490 ± 10		500 ± 80		11000 ± 5000
293	460 ± 60		500 ± 100	1300 ± 200	
298	800 ± 70		820 ± 50	690 ± 10	8000 ± 4000
298 (ems)	650 ± 20	4300 ± 900	880 ± 40	540 ± 40	9000 ± 3000
303	1700 ± 300				3000 ± 1000
310	1600 ± 300		1800 ± 500	300 ± 75	

Tabla 11. Constantes de interacción del sistema [naproxén \subset β -CD]⁻, (M⁻¹).

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 K(1:1)	25% DMSO K(1:1)	50% DMSO K(1:1)	75% DMSO K(1:1)	DMSO K(1:1)
288	430 ± 80		460 ± 65		
293			460 ± 80	4000 ± 1000	400 ± 50
298	770 ± 20		900 ± 100	2700 ± 300	900 ± 300
298 (ems.)	460 ± 70	2300 ± 200	570 ± 30	3800 ± 800	550 ± 50
303	1900 ± 500			2000 ± 500	2600 ± 200
310	2300 ± 800		1100 ± 200	1400 ± 300	3000 ± 600

Tabla 12. Constantes de interacción del sistema [naproxén \subset γ -CD]⁻, (M⁻¹).

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 K(1:1)	25% DMSO K(1:1)	50% DMSO K(1:1)	75% DMSO K(1:1)	DMSO K(1:1)
288	2000 ± 300		220 ± 20		
293	1300 ± 200		480 ± 50		6000 ± 3000
298	1000 ± 100		1400 ± 300		2600 ± 300
298 (ems.)	960 ± 50	3700 ± 300	2200 ± 300	1900 ± 200	
303	800 ± 100				1800 ± 800
310			3300 ± 700		510 ± 20

Tabla 13. Constantes de interacción del sistema [naproxén \subset HP- β -CD]⁻, (M⁻¹).

Como se mencionó en el caso del fenoprofén⁻, a pesar de las sucesivas repeticiones en las mediciones, no fue posible obtener los valores de las constantes de interacción de los sistemas con naproxén⁻ para ciertas temperaturas y determinados medios de disolución. Los valores de absorbancia no se ajustaron a ninguna de las ecuaciones empleadas para el cálculo de las constantes de interacción. Esta es la razón de la ausencia de algunos valores de K en las tablas 10-13.

Los valores de K calculados a partir de los resultados obtenidos por espectroscopía electrónica de absorción y por espectroscopía de fluorescencia, para un mismo sistema, son diferentes entre sí, aunque son aproximadamente del mismo orden. Insistimos en que no hay una explicación satisfactoria sobre las diferencias existentes entre las constantes de interacción obtenidas por diferentes métodos espectroscópicos para el mismo sistema de reacción, únicamente es posible pensar en la diferente sensibilidad de las técnicas empleadas para hacer las mediciones de las disoluciones.

Nuevamente se refleja la influencia de la temperatura en la formación de los complejos de inclusión. El incremento o decremento de los valores de las constantes de interacción lleva a un comportamiento endotérmico o exotérmico del sistema y a una mayor o menor espontaneidad en el proceso de formación de los complejos de inclusión, que se reflejará posteriormente en los valores de las variables termodinámicas.^{123, 138}

Trabajando con disoluciones en las que las concentraciones de los componentes permanecen constantes, la variación de la absorbancia con la temperatura es muy pequeña. La figura 16 muestra un ejemplo de la influencia de la temperatura sobre los espectros de absorción del sistema [napx \subset β -CD]⁻ en disolución buffer.

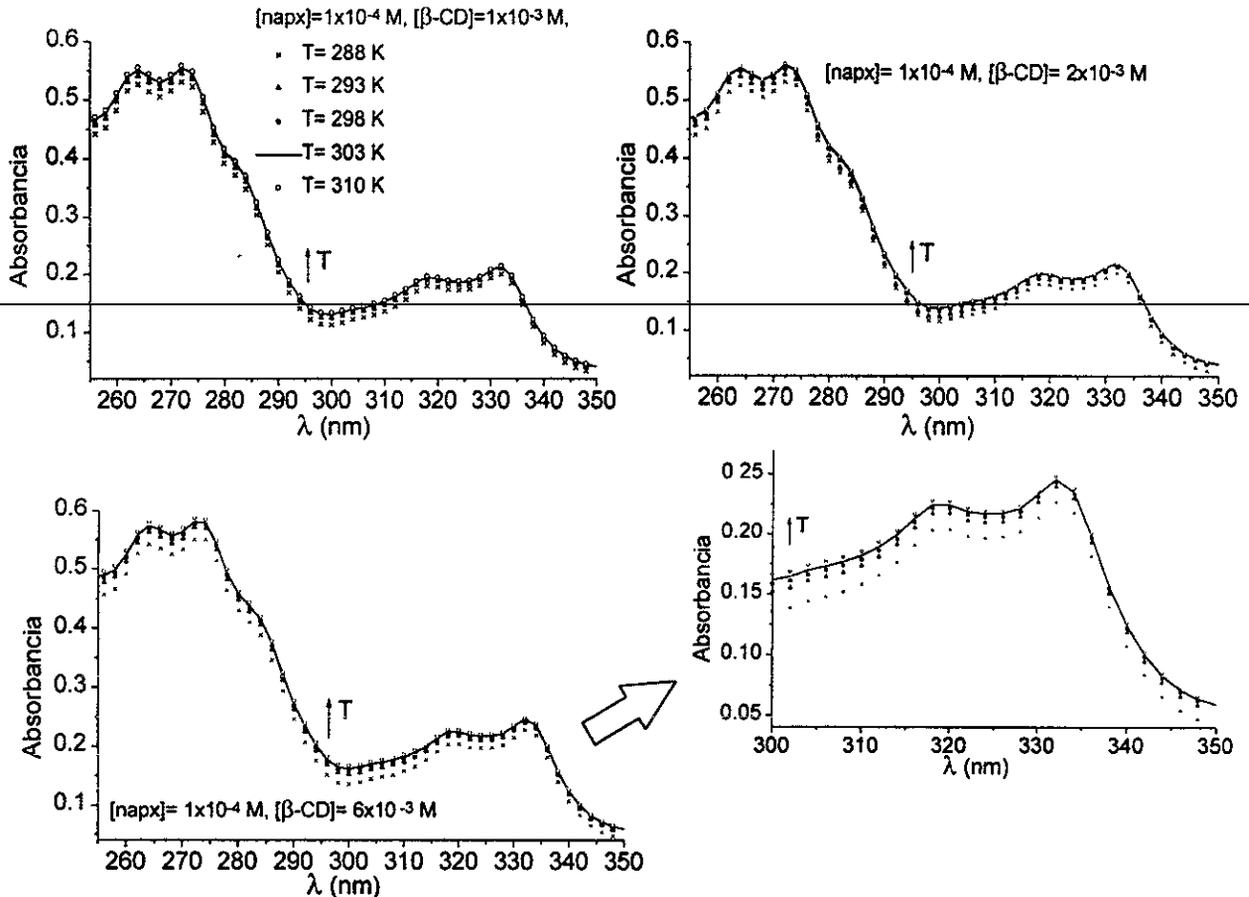


Figura 16. Espectros ultravioleta del sistema [naproxén \subset β -CD] en disolución buffer a diferentes temperaturas. Inserción (a), ampliación de la zona 300 nm – 350 nm del espectro correspondiente a $[\beta\text{-CD}] = 6 \times 10^{-3}$ M.

En este caso, al aumentar la temperatura se incrementa el valor de la constante de interacción, y también el valor de sus desviaciones standard (ver tabla 11).

La modificación de K con la temperatura nos está indicando probablemente el distinto comportamiento del huésped y el anfitrión en el complejo de inclusión, influyendo de manera notable sobre la movilidad de los componentes del sistema. No se puede generalizar sobre un comportamiento concreto, pues es el comportamiento de las moléculas huésped, anfitrión y disolvente el que se ve afectado.^{123, 138}

Se observa en la figura 17 aumento tanto de la absorción como de la emisión con el incremento de la concentración de β -ciclodextrina.

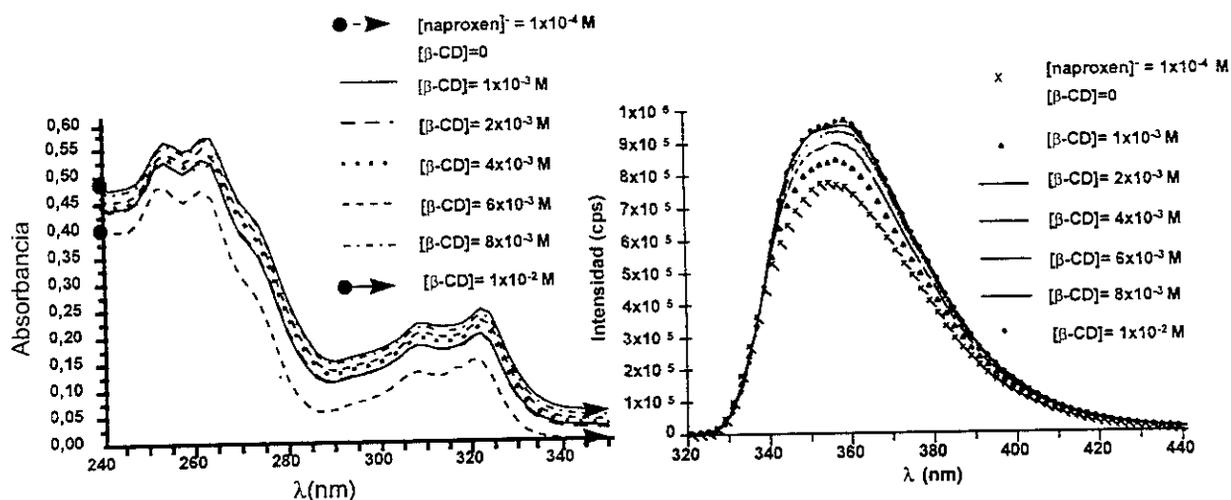


Figura 17. Espectros de absorción (izquierda) y de emisión a λ_{exc} de 264 nm (derecha) a 298 K del sistema [naproxén \subset β -ciclodextrina] en disolución buffer.

Aunque aquí sólo se haga referencia a las disoluciones buffer, el naproxén muestra los cuatro máximos de absorción en todos los medios de disolución en estudio. Estos máximos fueron los que se emplearon como longitudes de onda de excitación en los experimentos de fluorescencia.

El espectro de emisión o fluorescencia de un compuesto resulta de la reemisión de radiación absorbida por las moléculas. La eficiencia cuántica y la forma del espectro de emisión son independientes de la longitud de onda de excitación. Si la longitud de onda de excitación es diferente a la longitud de onda de absorción, menos energía radiante será absorbida y, consecuentemente, menos será emitida. La intensidad de la fluorescencia variará con la intensidad de absorción de las moléculas.¹²⁴

Muchos son los sistemas que presentan hipercromicidad al existir interacción entre moléculas huéspedes y CDs. Este comportamiento se manifiesta en todos los complejos de inclusión formados con naproxén en disolución buffer y en 25% DMSO/agua. En la figura 18 se refleja un ejemplo de este comportamiento a través del sistema [napx \subset HP- β -CD] en disolución buffer.

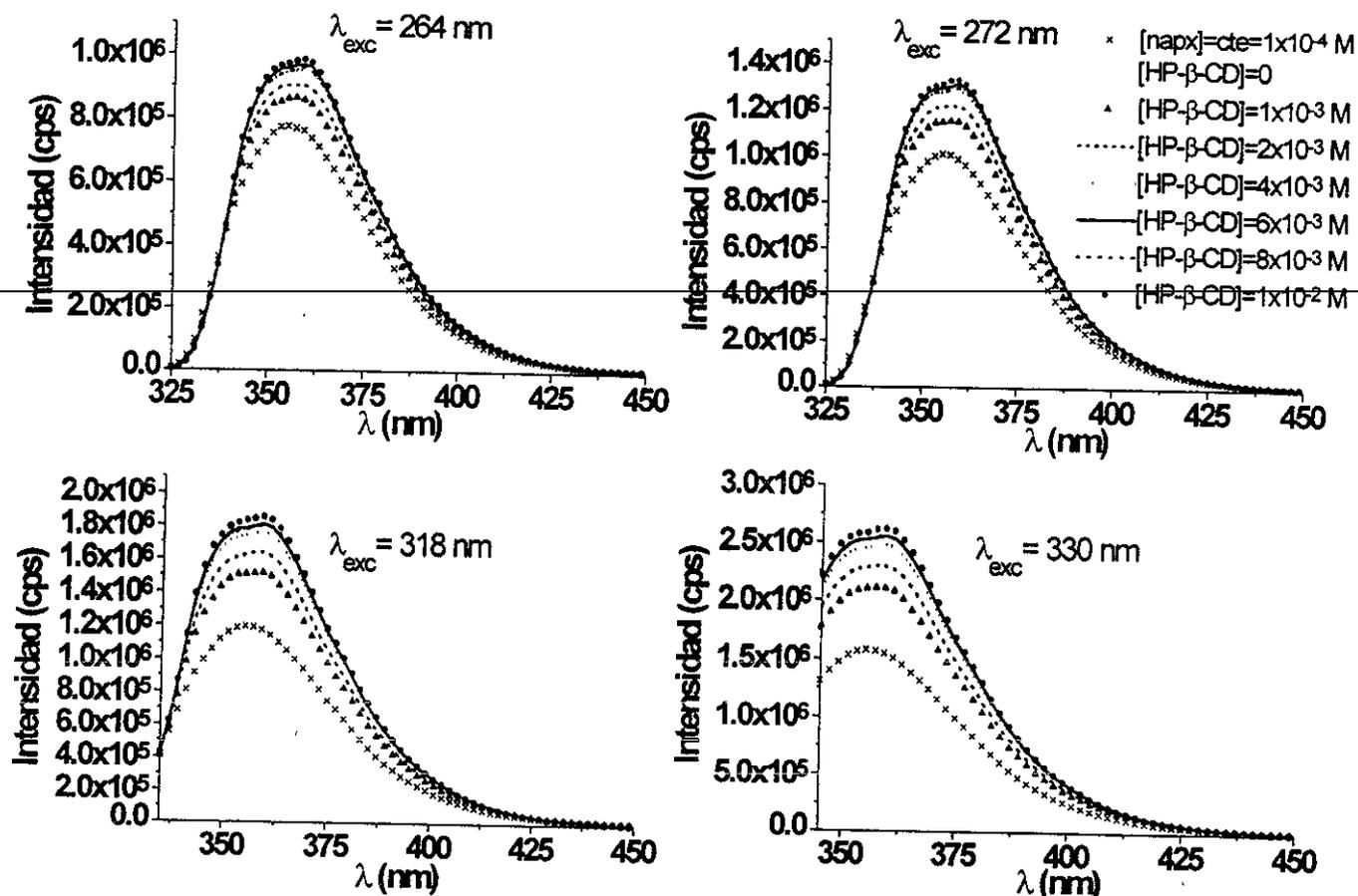


Figura 18. Espectros de emisión a 298 K del sistema [napx⁻ HP-β-CD]⁻ en disolución buffer a las cuatro longitudes de excitación de naproxén⁻.

Como ya se dijo anteriormente para el caso del fenoprofen⁻, el fenómeno del aumento de la fluorescencia con las ciclodextrinas se atribuye principalmente a la distribución, abundancia y al bloqueo de las especies excitadas de los procesos de apagamiento y decaimiento no radiativo que ocurren en el seno de la disolución.¹²⁸ Debido a la capacidad de las CDs para formar complejos de inclusión, las moléculas atrapadas quedan aisladas del exterior,¹²⁹ así hay una disminución de los grados de libertad rotacional en el medio hidrofóbico de la cavidad de la CD; una parte de la molécula de napx⁻ está protegida de las colisiones y sus estados excitados son bloqueados del proceso de apagamiento.¹³⁰

La modificación en la intensidad como consecuencia de la formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas se pone en ocasiones de manifiesto a través de cambios hipocrómicos.^{11, 90, 139}

La fluorescencia de una molécula orgánica puede verse afectada por las interacciones no sólo con el disolvente, sino también con otros solutos. El apagamiento o *quenching* es la reducción de la fluorescencia por un proceso de desactivación competitiva, resultante de la interacción específica entre un fluoróforo y otra sustancia presente en el sistema.¹²⁴

Los complejos de inclusión de naproxén⁻ con las diferentes ciclodextrinas, formados en 50% DMSO/agua, 75% DMSO/agua y en DMSO, exhiben este hipocromismo. El efecto que ocasiona el aumento de la concentración de ciclodextrina sobre el espectro de emisión de naproxén⁻ se presenta en la figura 19 mediante cambios hipocrómicos, inducidos por la presencia de β -CD en 50% y 75% DMSO/agua.

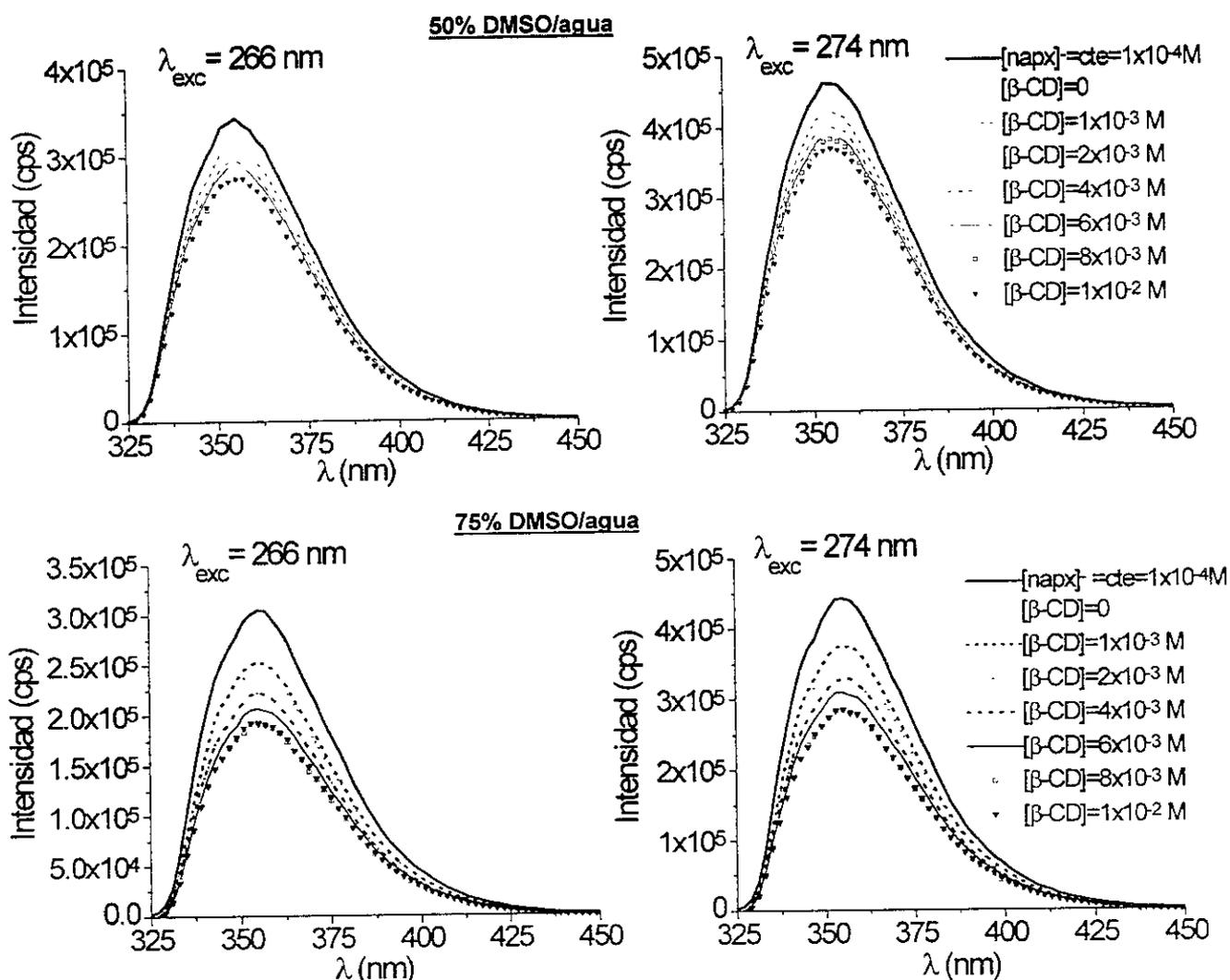


Figura 19. Espectros de emisión a 298 K de los sistemas $[\text{napx}^- \subset \beta\text{-CD}]^-$ en 50% DMSO/agua, arriba, y 75% DMSO/agua, abajo.

El espectro correspondiente al naproxén solo muestra mayor intensidad de emisión que los espectros correspondientes al sistema $[\text{napx} \subset \beta\text{-CD}]$; en estos dos medios de disolución la $\beta\text{-CD}$ se comporta como agente apagador de la fluorescencia.

Es importante hacer notar que el tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina influye en los procesos de apagamiento. Por ejemplo, en los estudios realizados por G. Patonay y colaboradores,¹²⁸ la $\alpha\text{-CD}$ manifiesta gran capacidad para apagar la fluorescencia del pireno; en este caso la $\alpha\text{-CD}$ no puede incluir totalmente la molécula huésped. Estos resultados sugieren que el proceso de apagamiento en sistemas con ciclodextrinas está directamente relacionado con el proceso de complejación.

La intensidad de la emisión de los espectros en DMSO es mayor que la intensidad de la emisión en los otros medios de disolución. Además, en DMSO el complejo de inclusión $[\text{napx} \subset \alpha\text{-CD}]$ muestra el mismo comportamiento que el expuesto en la figura 19, el espectro correspondiente al naproxén solo muestra mayor intensidad de emisión que los espectros correspondientes al sistema $[\text{napx} \subset \alpha\text{-CD}]$. Esto determina a la $\alpha\text{-CD}$ como el agente apagador de la fluorescencia en este proceso de inclusión. En cambio, los complejos $[\text{napx} \subset \beta\text{-CD}]$ y $[\text{napx} \subset \gamma\text{-CD}]$ también en DMSO, exhiben un comportamiento diferente. En ambos casos el incremento de la concentración de ciclodextrina provoca una disminución progresiva de la fluorescencia, pero siempre el espectro correspondiente al naproxén solo muestra menor intensidad de emisión que los espectros de naproxén con ciclodextrinas. De esta forma el naproxén estará menos protegidos de los procesos de apagamiento, los grados de libertad rotacionales serán mayores y consecuentemente habrá más colisiones que conducen nuevamente a disminuir la intensidad de la fluorescencia.¹³⁰ Esto identifica al medio de disolución como el agente apagador de la fluorescencia.

Los procesos de modificación de la intensidad de la fluorescencia pueden ser descritos por la relación lineal entre la intensidad relativa de la emisión y la concentración del agente modificador de la fluorescencia^{128, 140} (ver apéndice 10.3). En el caso de la representación de la figura 20, este agente modificador de la fluorescencia

es la β -CD, que particularmente en los medios de disolución 50% y 75% DMSO/agua actúan como agente apagador. Se supone que el apagamiento ocurre como resultado de la interacción específica entre un fluoróforo y el agente apagador. La formación con apagamiento de un complejo será un caso especial de modificación de la eficiencia cuántica (Φ).¹²⁸

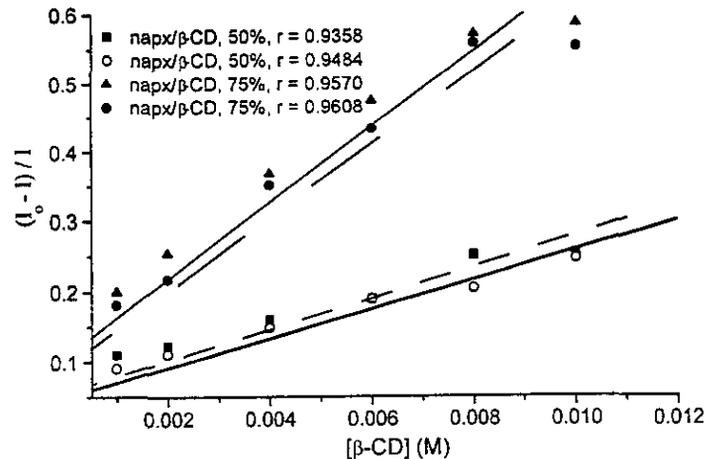


Figura 20. Linealidad del proceso de apagamiento de naproxén en presencia de β -ciclodextrina en 50% y 75% DMSO/agua a 298 K. (■) y (▲) a $\lambda_{exc.} = 266$ nm; (○) y (●) a $\lambda_{exc.} = 274$ nm.

Esta misma representación lineal se puede graficar para los casos donde la intensidad de la emisión se incrementa con la presencia de ciclodextrinas.

La intensidad de la fluorescencia de un fluoróforo puede ser apagada por la formación del complejo fluoróforo-agente apagador en el estado basal (apagamiento estático) y por la formación del complejo fluoróforo-agente apagador en el estado excitado (apagamiento dinámico). Estos complejos pueden o no emitir su propia intensidad de emisión característica, que será probablemente diferente de la emisión de la molécula original. Básicamente, estas reacciones de apagamiento son por transferencia de energía o por un proceso de transferencia de electrones. El mecanismo de apagamiento de la fluorescencia no se puede determinar solamente a partir de las mediciones de fluorescencia. La formación del complejo en el estado basal reduce la intensidad de la fluorescencia por competencia por la absorción o radiación incidente con las moléculas no complejadas.^{140, 141}

El disolvente es un factor importante que afecta el comportamiento de los sistemas con ciclodextrinas. La figura 21 refleja cómo la presencia de DMSO incrementa la intensidad de la emisión.

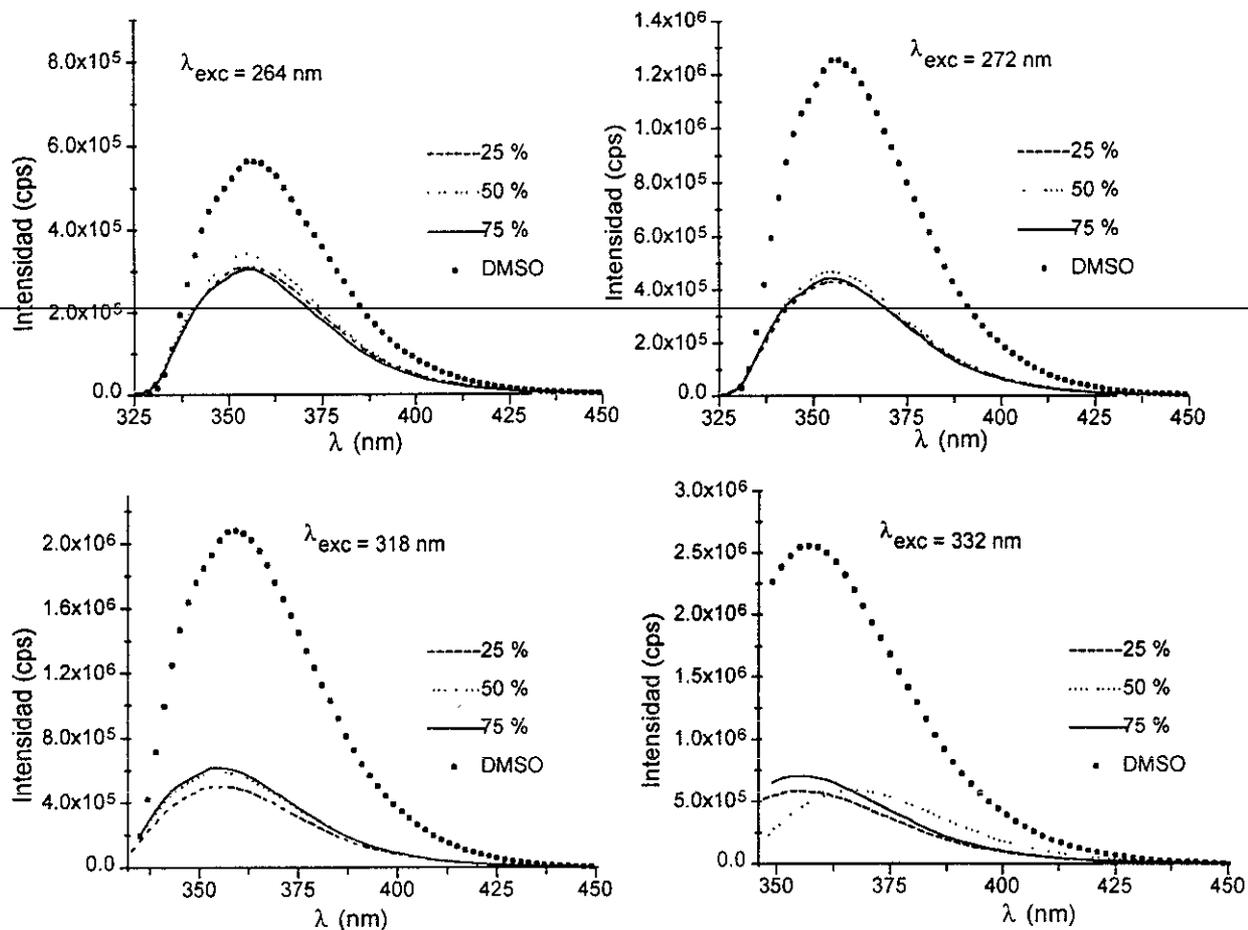


Figura 21. Espectros de emisión a 298 K de naproxén⁻ (1×10^{-4} M) en DMSO puro y en las mezclas DMSO/agua.

Como ya se comentó anteriormente para el caso del fenopropén⁻, la temperatura y la presencia del oxígeno son los tipos de apagadores de la fluorescencia que más pueden influir sobre nuestros sistemas. El aumento en la movilidad molecular y la existencia de colisiones provocadas por el aumento de la temperatura en el sistema, roba la energía de la molécula. La fluorescencia máxima disminuye debido a la disipación de energía por transiciones de energía vibracional. También, el oxígeno presente en disolución, en concentraciones del orden de 10^{-3} M, normalmente reduce la fluorescencia en un 20%.¹²⁴

La figura 22 reúne las representaciones gráficas de los ajustes no lineales, obtenidos a partir de la ecuación 1 (ver apéndice 10.1), correspondientes a complejos de tipo 1:1 con β -CD en disolución buffer, donde se ponen de manifiesto los valores de las constantes de interacción para las distintas longitudes de onda de excitación empleadas.

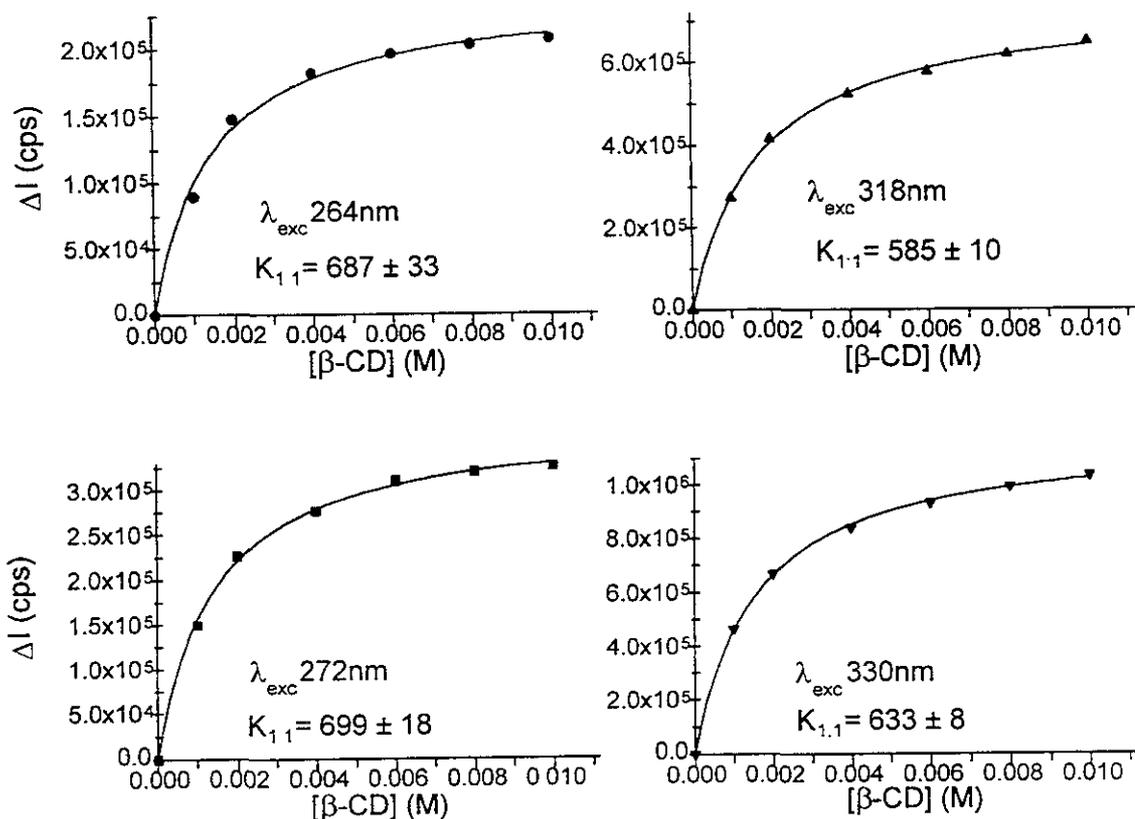


Figura 22. Ajustes no lineales para el sistema $[\text{naproxén}^- \subset \beta\text{-CD}]^-$ en buffer pH 7.5 obtenidos a partir de valores de emisión en diferentes longitudes de onda de excitación, a 298 K.

Encontramos que el valor de la constante de interacción es independiente de la longitud de onda y esto sugiere que sólo un tipo de complejo está presente en la disolución.¹¹

El comportamiento de los sistemas compuestos por CDs y el naproxén⁻ en los distintos medios de disolución empleados parece aleatorio. En gran parte de los casos las K aumentan o disminuyen paralelamente con la solubilidad de naproxén⁻ ($S_{o(\text{DMSO})}$ 0.245 M > $S_{o(75\%)}$ 0.116 M > $S_{o(\text{buffer})}$ 1.68×10^{-2} M > $S_{o(50\%)}$ 9.8×10^{-3} M > $S_{o(25\%)}$, 2.34×10^{-3} M) obteniendo valores mayores de K en DMSO y/o mezcla 75% DMSO/agua. Esto permite suponer que las interacciones de van der Waals son las más importantes fuerzas estabilizadoras de los complejos de inclusión con naproxén⁻ en estos dos medios de disolución; este hecho se ve apoyado por los resultados obtenidos para los otros parámetros termodinámicos (ver tabla 14).^{22, 42, 136}

En cuanto a lo que se refiere a la influencia que ejerce el tamaño del diámetro interno de la cavidad de las ciclodextrinas en la estabilidad del complejo de inclusión,

se puede observar claramente que en 50% DMSO/agua este factor es dominante ($K \alpha\text{-CD} > K \text{HP-}\beta\text{-CD} > K \beta\text{-CD} > K \gamma\text{-CD}$). En tanto que para 25% DMSO/agua y DMSO, este factor también contribuye de manera importante, aunque no se puede determinar de forma tan precisa. En disolución buffer y 75% DMSO/agua este orden de K se ve alterado:

en disol. bf.: $K \text{HP-}\beta\text{-CD} > K \gamma\text{-CD} > K \beta\text{-CD}$,

en 75%: $K \alpha\text{-CD} > K \gamma\text{-CD} > K \text{HP-}\beta\text{-CD} > K \beta\text{-CD}$,

en estos casos el tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina no es el factor esencial en la formación del complejo de inclusión. Podemos pensar que la expulsión de las moléculas de agua de alta energía del interior de la cavidad de la ciclodextrina y la liberación de la tensión del anillo del anfitrión son los factores que participan primordialmente en la formación de estos complejos de inclusión,^{50, 58} que son posteriormente estabilizados por las fuerzas de van der Waals y/o el efecto solvofóbico (ver tabla 14).

7.2.2. Espectros de resonancia magnética nuclear

Se han realizado experimentos de RMN únicamente con β -ciclodextrina y naproxén en D_2O y en $\text{DMSO-}d_6$. Como se muestra en la figura 23, hay interacción entre naproxén y β -CD en medio acuoso. No hay desplazamiento de la banda correspondiente al H-5 situado en el interior de la cavidad de la β -CD próximo a la parte estrecha, pero en cambio si hay una notable modificación de las bandas correspondientes al H-3, también localizado en el interior de la cavidad de la CD, pero próximo a la parte ancha.

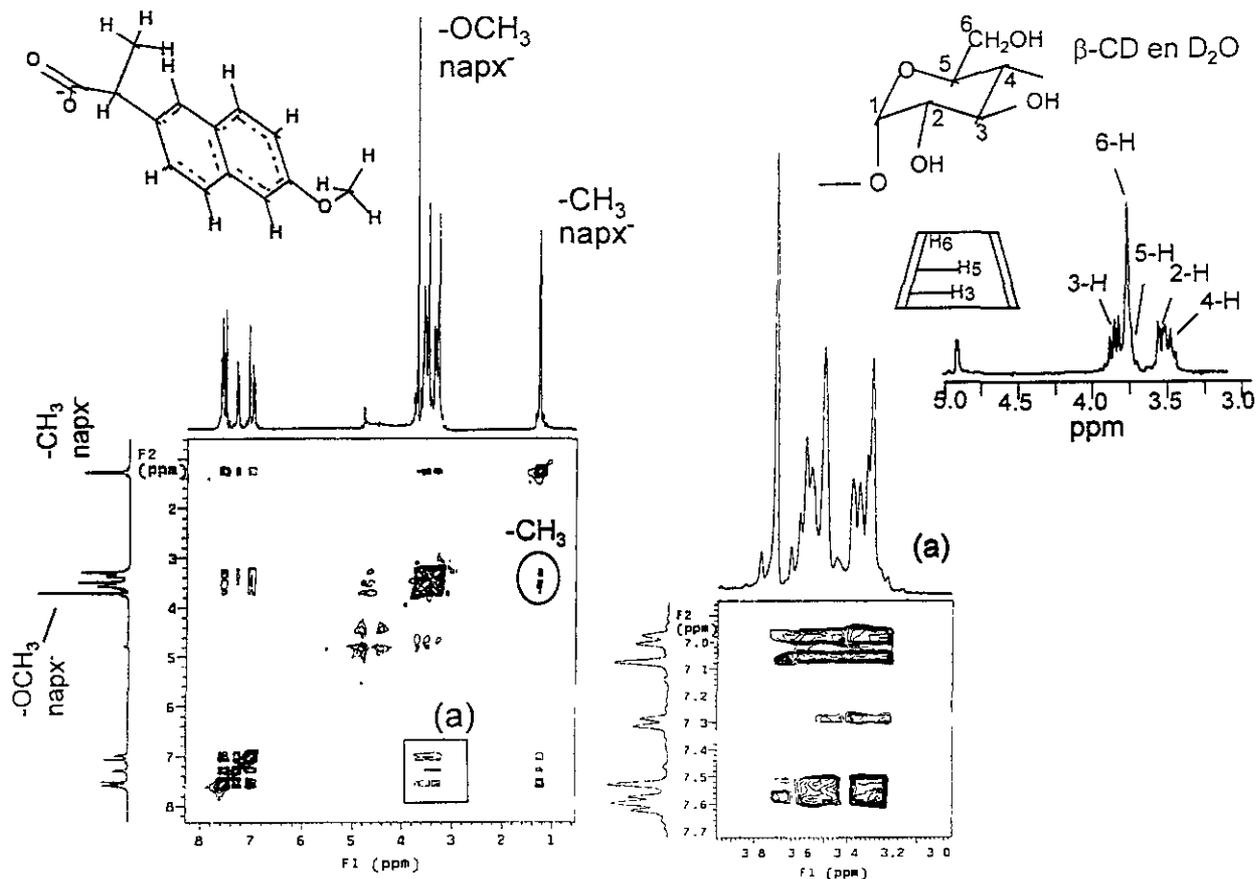


Figura 23. Espectros a 300 MHz y 298 K. NOESY general y (a) una vista parcial del sistema [naproxén \subset β -CD] en D_2O . La inserción en el extremo superior derecho muestra el espectro 1H RMN de β -CD en D_2O .

Las bandas que si manifiestan considerable modificación son las correspondientes a los hidrógenos externos de la β -CD, H-2 y H-4.

La sección aromática del naproxén⁻, a través del grupo -OCH₃, es la que está directamente involucrada en la inclusión (figura 23 (a)). El ion carboxilato dirige la orientación de la inclusión en el proceso de complejación, quedando esta sección cargada fuera de la cavidad de la β -CD, en contacto con el disolvente, y permitiendo la inclusión del otro extremo del naproxén⁻. Es este grupo metóxido el que estará más próximo al H-5 del interior de la cavidad de la β -CD. Como ya comentamos, en los espectros expuestos no se observa el desplazamiento de la banda correspondiente al H-5 de la β -CD. Probablemente debido al menor tamaño del grupo metóxido en comparación con los anillos aromáticos, a pesar de estar en el interior de la cavidad, interactúa muy débilmente con el H-5 de la cavidad de la β -CD, y por ello, a pesar de haber inclusión, el característico desplazamiento de la banda del H-5 no aparece.

La figura 23 también muestra la interacción entre β -CD y el grupo metilo del naproxén⁻. Esta interacción se pone de manifiesto a través de la sección interna y externa de la β -CD. Es factible pensar en que efectivamente la inclusión se lleva a cabo a través de la parte ancha de la β -CD y por el extremo del naproxén⁻ que contiene el grupo metóxido, quedando en la parte externa el grupo metilo que principalmente interactúa con la sección externa de la β -CD.

La posible estructura de este complejo de inclusión [napx \subset β -CD]⁻ en disolución acuosa la podemos observar en la figura 26, correspondiente a la sección de mecánica molecular.

En la figura 24 se ilustra la interacción entre β -CD y naproxén⁻ en DMSO, a través del desplazamiento y desdoblamiento de las bandas correspondientes a los hidrógenos de la sección aromática de esta molécula huésped.

Los valores de $K(1:1)$ del sistema [naproxén \subset β -CD]⁻ en DMSO son considerablemente mayores que en disolución buffer, ver tabla 11, y el desplazamiento y desdoblamiento de las bandas de naproxén⁻ es también más pronunciado.

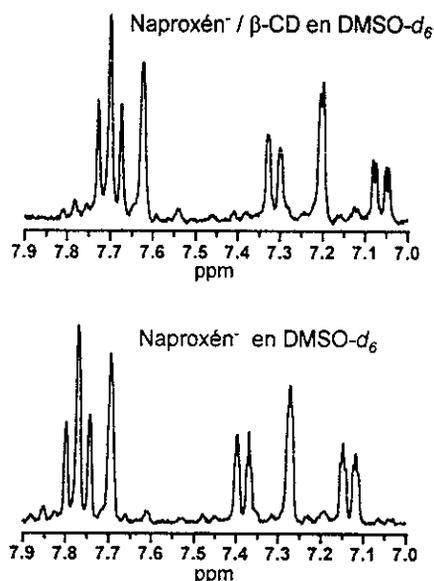


Figura 24. Espectros ¹H-RMN de naproxén⁻ y [naproxén \subset β -ciclodextrina]⁻ en DMSO-d₆ a 300 MHz y 298 K.

Las fuerzas responsables de la interacción $[\text{napx} \subset \beta\text{-CD}]^-$ en disolución acuosa y en DMSO son diferentes (ver tabla 14). En medio acuoso el efecto hidrofóbico es el mayor contribuyente,^{22, 50, 89} y en el caso del DMSO, son las interacciones de van der Waals.^{22, 42, 136} Estas últimas actúan más intensamente que las primeras, a juzgar por la magnitud de las constantes de interacción (ver tabla 11).

7.2.3. Valores de otros parámetros termodinámicos

La tabla 14 pone de manifiesto el comportamiento termodinámico de los sistemas con naproxén⁻, obtenidos a partir de las ecuaciones 3 y 4 (ver apéndice 10.2).

CD	Medio de Disolución							
	buffer pH 7.5		50% DMSO		75% DMSO		DMSO	
	ΔH_{int}	ΔS_{int}						
α -CD			+25.77	+0.10	-19.89	-0.051	+8.57	+0.048
β -CD	+11.81	+0.053	+10.88	+0.049	-15.36	-0.038	-29.47	-0.081
γ -CD	+14.52	+0.062	+8.01	+0.039	-11.34	-0.022	+22.33	+0.088
HP- β -CD	-9.62	-0.018	+21.85	+0.087			-25.27	-0.068

Tabla 14. Variables termodinámicas de los sistemas con naproxén⁻ (ΔH_{int} , kcal/mol; ΔS_{int} , kcal/mol K).

Los valores ausentes de ΔH_{int} y ΔS_{int} en los sistemas con naproxén⁻, son debidos a la falta de valores de constantes de interacción, que son necesarias para calcular estos parámetros termodinámicos.

El grupo carboxilato del naproxén⁻, que permanece fuera de la cavidad de las ciclodextrinas, está en contacto con el medio de disolución, y de esta forma estabiliza la estructura del complejo de inclusión mediante interacciones con los momentos dipolares de las moléculas del disolvente.²⁷

Entre las fuerzas de interacción propuestas para el fenómeno de la complejación con ciclodextrinas, sólo el efecto solvofóbico está gobernado por la entropía, $\Delta S_{\text{int}} > 0$, acompañado del aumento del grado de libertad de las moléculas del disolvente.^{22, 50, 89}

Únicamente para el caso de los sistemas en 75% DMSO/agua es donde podemos hablar de una contribución totalmente entálpica, según el criterio indicado por R. J. Bergeron.²² En 75% DMSO/agua los valores de ΔH_{int} y ΔS_{int} manifiestan que las interacciones de van der Waals son las que mayoritariamente participan en la

estabilización de estos complejos.^{42, 136} Precisamente, a menor tamaño de diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina hay menor valor de $\Delta H_{int.}$, lo que apoya el hecho de que la superficie de contacto entre el naproxén⁻ y la cavidad de las ciclodextrinas es mayor cuando menor es el tamaño de la cavidad del anfitrión, debido a la mayor proximidad entre la pared interna de la cavidad de la ciclodextrina y la sección incluida del naproxén⁻.⁶¹ Esto provoca que la entalpía se haga cada vez más negativa, acompañada de valores cada vez más negativos de entropía, lo que manifiesta la fuerte participación de las interacciones de van der Waals en el proceso de inclusión.²²

Es evidente que en este medio de disolución, 75% DMSO/agua, el tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina juega un papel muy importante en la formación de complejos de inclusión estables con naproxén⁻. En la tabla 11, el valor promedio de las constantes de interacción del sistema $[napx \subset \beta\text{-CD}]^-$ en 50% y 75% DMSO/agua es menor que en los otros medios de disolución, lo cual explica la menor interacción existente entre $\beta\text{-CD}$ y naproxén⁻ en estos disolventes.

Esto mismo es también aplicable a los sistemas $[napx \subset \text{HP-}\beta\text{-CD}]^-$ en buffer y $[napx \subset \text{HP-}\beta\text{-CD}]^-$ y $[napx \subset \beta\text{-CD}]^-$, en DMSO donde ambas variables termodinámicas son negativas. Es en estos 6 sistemas donde el medio de disolución participa menos intensamente en el proceso de complejación, ya que el efecto solvofóbico es la única fuerza controlada entrópicamente. El tipo de interacciones que participan más intensamente en estos sistemas son las de van der Waals. En el resto de los casos es el efecto solvofóbico el que está principalmente relacionado con este proceso.

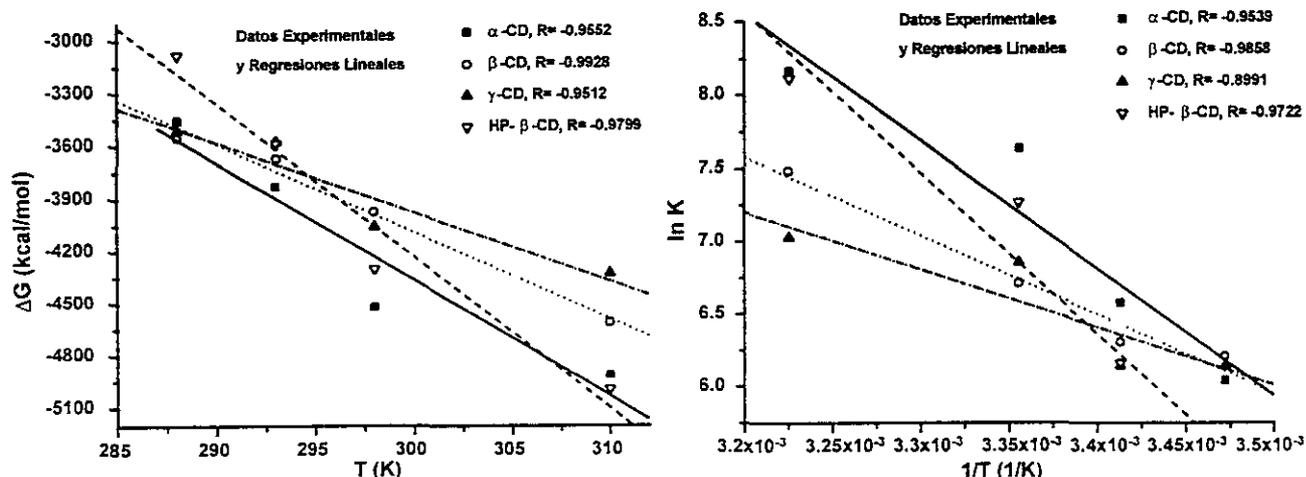


Figura 25. Izquierda, representación lineal en 50% DMSO/agua requerida para la obtención de las variables termodinámicas. Derecha, gráficas de van't Hoff de naproxén con α -, β -, γ - y HP- β -CD en 50% DMSO/agua. Regresiones lineales: (—) α -CD, (•••) β -CD, (- - -) γ -CD y (- -) HP- β -CD.

En la figura 25, en el caso de $[\text{napx} \subset \gamma\text{-CD}]^-$ se observa que está más alejado de la linealidad que el resto de los sistemas ($R = -0.8988$). Sus valores de entalpía y entropía son inferiores al resto de las CDs en el mismo medio de disolución (ver tabla 14). De todos los sistemas en 50% DMSO/agua, el correspondiente a γ -CD presenta menores magnitudes de ΔH_{int} y ΔS_{int} , indicando esto que el efecto solvofóbico colabora en menor proporción en la estabilización de este complejo de inclusión. De igual modo observamos que el valor promedio de las constantes de interacción a las diferentes temperaturas para $[\text{napx} \subset \gamma\text{-CD}]^-$ en 50% DMSO/agua es inferior a las constantes de interacción con el resto de las CDs en el mismo medio de disolución (ver tablas 10-13), y así mismo se cumple que cuanto menor es el tamaño del diámetro de la cavidad de la ciclodextrina, mayor es la constante de interacción ($K_{\alpha\text{-CD}} > K_{\text{HP-}\beta\text{-CD}} > K_{\beta\text{-CD}} > K_{\gamma\text{-CD}}$). Esto nos lleva a considerar la importante relación entre el grado de interacción y el diámetro de la cavidad de la CD en este medio de disolución.

Por el contrario, en disolución buffer los mayores valores de las variables termodinámicas para el sistema $[\text{napx} \subset \gamma\text{-CD}]^-$ están de acuerdo con los valores promedios obtenidos de K (ver tablas 11 y 12) que son mayores en este caso para γ -CD que para β -CD. Ambos sistemas están gobernados por la entropía, $\Delta S_{\text{int}} > 0$, lo que pone de manifiesto la importancia del disolvente en estos procesos de inclusión.^{22, 50, 89}

7.2.4. Estudio de la mecánica molecular

Los cálculos de mecánica molecular del sistema $[\text{napx} \subset \beta\text{-CD}]^-$ se realizaron a partir de los resultados obtenidos previamente por resonancia magnética nuclear en medio acuoso (ver apéndice 10.5).

La contribución total de energía para la estabilización del complejo $[\text{napx} \subset \beta\text{-CD}]^-$ es de 2.154 kcal/mol menor cuando este complejo de inclusión se forma a través de la parte ancha de la $\beta\text{-CD}$, como se muestra en la figura 26, que está de acuerdo con lo que ya informamos en sus estudios de ^1H RMN en medio acuoso.

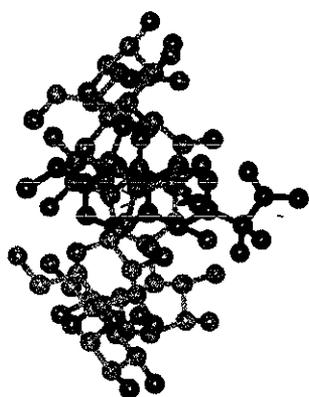


Figura 26. Posible estructura del complejo de inclusión en medio acuoso de naproxén⁻ con $\beta\text{-CD}$.

La posible estructura del complejo de inclusión $[\text{napx} \subset \text{HP-}\beta\text{-CD}]^-$ se muestra en la figura 27. Con la contribución energética a la complejación, 11.831 kcal/mol, consideramos la especie complejada más estable que la especie formada por ambos componentes del sistema por separado, que presentan éstos una energía total de 103.945 kcal/mol.

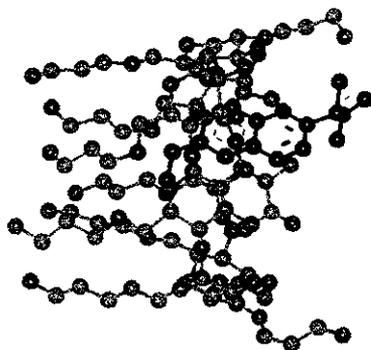


Figura 27. Posible estructura del complejo de inclusión en medio acuoso de naproxén⁻ con $\text{HP-}\beta\text{-CD}$.

7.3. Ibuprofén

El ibuprofén es otro derivado fenilpropiónico ampliamente usado como agente anti-artrítico. Presenta una eficacia anti-inflamatoria moderada, menor que la del naproxén.⁶⁵ El ibuprofén es producido por los laboratorios Riker, Upjohn, Boehringer Ingelheim Promeco, Hoechst y Diba.¹¹⁵

7.3.1. Espectros de absorción y emisión

Con esta molécula huésped sólo se obtuvieron resultados para los estudios realizados en disolución buffer. En el resto de los medios de disolución (DMSO, y mezclas del 25%, 50% y 75% DMSO/agua), aparentemente no existe interacción entre el ibuprofén⁻ y α -, β -, γ -CDs y HP- β -CD.

Se repitieron sucesivamente los experimentos, tanto por espectroscopía UV-vis como por fluorescencia, y el espectro obtenido para el ibuprofén⁻ solo en cada medio de disolución no se modificó ni en intensidad ni en desplazamiento al agregar ciclodextrinas a la disolución. Esto es indicativo de que no hay interacción entre estas dos moléculas, ya que una característica de la existencia de interacción es la modificación de los espectros UV-vis o de fluorescencia al agregar la especie anfitriona a la disolución.¹¹ Por todo esto no fue posible ajustar los valores obtenidos de absorbancia y/o emisión a ninguna de las expresiones empleadas para el cálculo de la constante de interacción.

En disolución buffer obtuvimos complejos de inclusión tipo 1:1: [ibup \subset α -CD]⁻, [ibup \subset β -CD]⁻, [ibup \subset γ -CD]⁻. No hay interacción entre ibuprofén⁻ y HP- β -CD.

La influencia de la temperatura sobre el valor de la constante de interacción de estos sistemas la podemos ver en la tabla 15, y su representación gráfica a partir de los ajustes no lineales obtenidos a partir de la ecuación 1 (ver apéndice 10.1), en la figura 28.

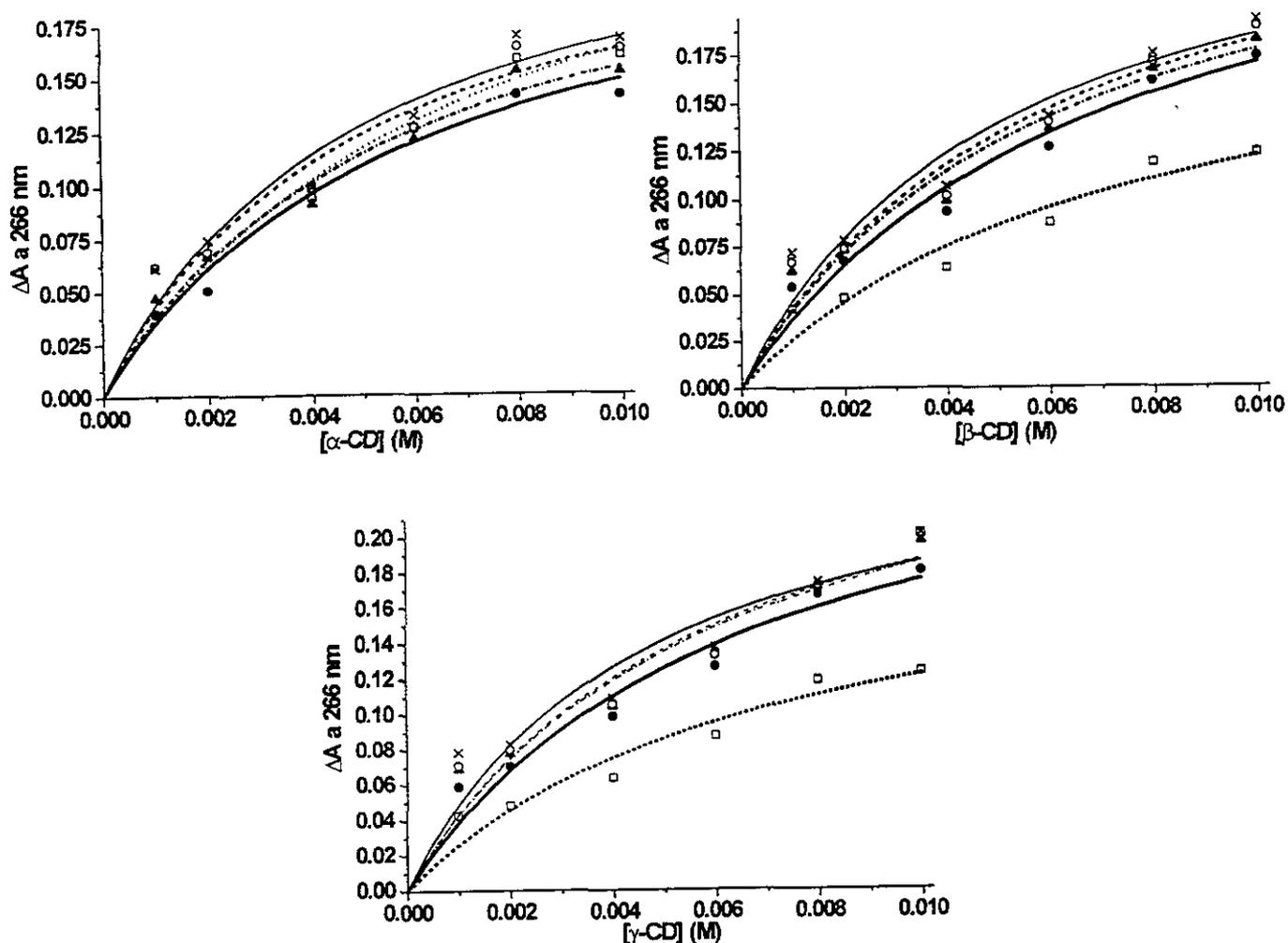


Figura 28. Ajustes no lineales de los sistemas de ibuprofén con α -, β - y γ -CD, en buffer pH 7.5, a las diferentes temperaturas de trabajo. (\square , ...) 288 K, (\bullet , ---) 293 K, (\blacktriangle , ---) 298 K, (\circ , ---) 303 K, y (\times , ---) 310 K.

No hay diferencias substanciales en los espectros UV a distintas temperaturas, al igual que tampoco las hay en las representaciones gráficas de los ajustes no lineales de los complejos tipo 1:1. Su forma no se ve afectada por los cambios en las proporciones ibup⁻-CDs.

Temperatura (K)	Buffer pH 7.5		
	α -CD $K(1:1), M^{-1}$	β -CD $K(1:1), M^{-1}$	γ -CD $K(1:1), M^{-1}$
288	153 ± 6	140 ± 10	140 ± 10
293	176 ± 9	150 ± 20	150 ± 10
298	190 ± 10	170 ± 10	170 ± 15
298 (ems.)	540 ± 80	800 ± 100	190 ± 10
303	210 ± 20	170 ± 10	170 ± 20
310	210 ± 20	200 ± 20	220 ± 25

Tabla 15. Constantes de interacción de los sistemas [ibuprofén \subset α -CD]⁻, [ibuprofén \subset β -CD]⁻ e [ibuprofén \subset γ -CD]⁻.

No hay una explicación satisfactoria sobre estas diferencias entre las constantes de interacción obtenidas por diferentes métodos para el mismo sistema de reacción, únicamente pensar en la diferente sensibilidad de las técnicas empleadas para las mediciones de las disoluciones.

A juzgar por los valores obtenidos de las constantes de interacción (tabla 15) se puede admitir que el tamaño del diámetro interno de la cavidad de las ciclodextrinas, en este caso, no es un factor condicionante para la complejación de ibuprofén⁻, ya que no existe diferencia sustancial entre la magnitud de las constantes de interacción con las tres ciclodextrinas.

En comparación con los valores de constantes de interacción obtenidos con las otras moléculas huéspedes y estas ciclodextrinas (α -, β - y γ -CD), las $K(1:1)$ reflejadas en la tabla 15 son relativamente bajas. Son varias las publicaciones que revelan valores pequeños de constantes de interacción cuando moléculas huéspedes con cadenas alquílicas se complejan con ciclodextrinas, y es esta sección alquílica la que está involucrada en el proceso de complejación.¹⁴²⁻¹⁴⁵ Véase la estructura del ibuprofén⁻ en la figura 29 correspondiente a la sección de resonancia magnética nuclear.

El menor valor de la constante de interacción se manifiesta con la ciclodextrina que presenta mayor diámetro interno (γ -CD). Esta observación implica que la superficie de contacto^{36, 61} entre la sección incluida de la molécula huésped y la pared interna de la cavidad del anfitrión, junto con el equilibrio dinámico asociación-disociación³ que involucra el proceso de complejación en disolución, son factores importantes a considerar con el fin de conocer la estabilidad de la complejación.

7.3.2. Espectros de resonancia magnética nuclear

La estructura del ibuprofén tiene una cadena alquílica formando parte de la sección hidrófoba involucrada en la complejación. La parte iónica de la molécula huésped selecciona la dirección de la orientación en el proceso de inclusión. El grupo carboxilato queda en contacto con el medio de disolución, incluyéndose en la cavidad de la ciclodextrina la parte no cargada del huésped. De acuerdo con la figura 29, se

aprecia claramente la modificación de las bandas correspondientes al H-3 de la β -CD, al igual que se observa notable cambio en las bandas correspondientes a los hidrógenos externos de la CD (H-2 y H-4). El NOESY también señala una débil interacción entre el ibuprofén⁻ y la β -CD en disolución acuosa.

Tanto la sección aromática como la cadena isobutílica del ibuprofén⁻ se incluyen en la cavidad de la β -CD y quedan de este modo protegidas del medio de disolución y de los grupos hidroxilos de la periferia del anfitrión.

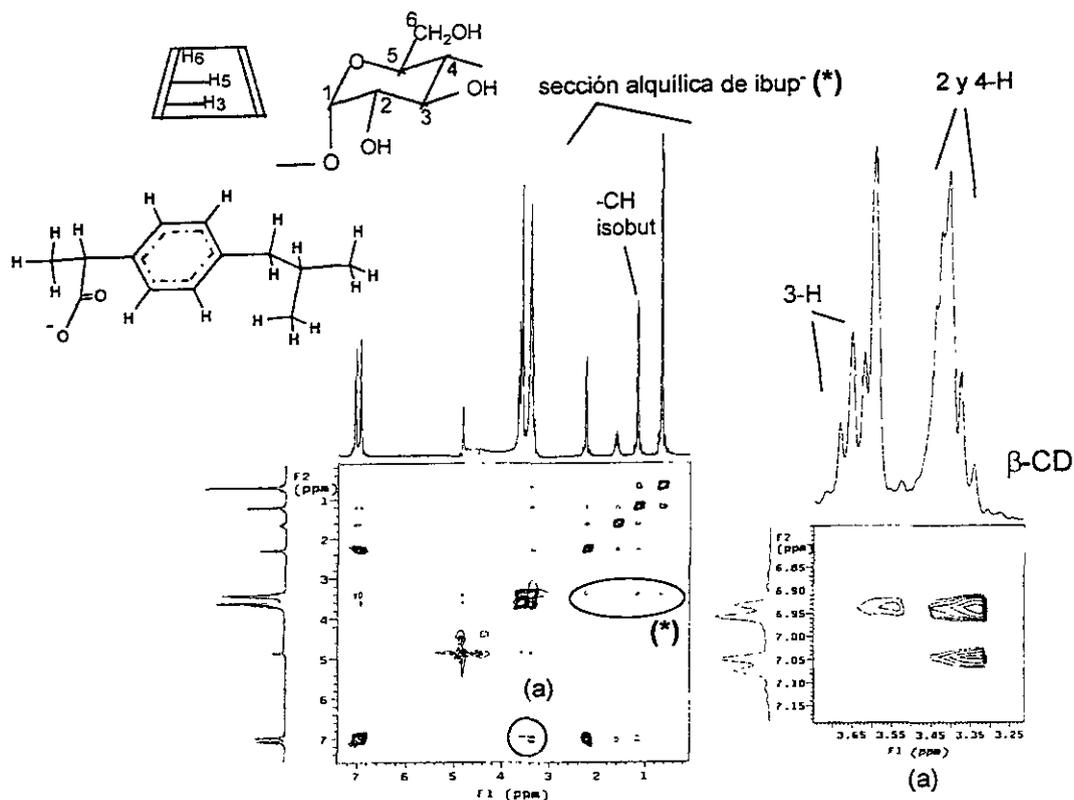


Figura 29. Espectros NOESY a 300 MHz y 298 K de $[\text{ibuprofén} \subset \beta\text{-CD}]^-$ en D_2O .

La interacción con el H-3, localizado en el interior de la cavidad de la β -CD próximo a la parte ancha, es en parte debida a la sección del benceno que interactúa al incluirse y también a la cadena isobutílica. Esta cadena isobutílica se incluye totalmente, pero debido a la diferente dimensión entre el diámetro interno de la cavidad de la β -CD, ≈ 7.8 Å, y la sección más ancha incluida de esta cadena, ≈ 4.3 Å, es muy probable que la interacción con el H-5 de la β -CD sea tan pequeña que por ello no aparece el característico desplazamiento de la banda correspondiente a este H-5 del anfitrión.

Podemos tener una idea de la estructura de este complejo de inclusión con la figura 31 de la sección correspondiente a la mecánica molecular.

La sección externa de la β -CD se ve afectada por la interacción con los hidrógenos de la cadena isobutílica. Al incluirse completamente esta cadena isobutílica, el grupo $-\text{CH}_2$ y el anillo bencénico permanecen incluidos en la cavidad próximos al H-5 y H-3, respectivamente, mostrándose sólo la interacción con el H-3 de β -CD ya que el grupo $-\text{CH}_2$ interactúa muy ligeramente con el H-5 del interior de la cavidad del anfitrión. El grupo $-\text{CH}$ muestra una pequeña señal de interacción con el H-6 de la β -CD, quedando los grupos metilos próximos a éste en la parte externa de la ciclodextrina y son éstos los que interaccionarán con los hidrógenos externos del anfitrión.

Debido a la gran distancia entre la sección de la molécula huésped incluida y la pared interna de la cavidad de las ciclodextrinas, la superficie de contacto entre ambos componentes del complejo de inclusión formado es pequeña.⁶¹ Esta puede ser la explicación de los valores pequeños de las constantes de interacción expuestas en la tabla 15.

La profundidad de las CDs es $\approx 7.9 \text{ \AA}$ y la longitud de la sección hidrófoba de esta molécula huésped es $\approx 6.6 \text{ \AA}$, por tanto, es perfectamente factible pensar en la inclusión de toda esta sección. La dimensión de ambas moléculas no es impedimento para el proceso de complejación.

7.3.3. Valores de otros parámetros termodinámicos

Los valores de las variables termodinámicas reflejados en la tabla 16 indican un comportamiento favorable entrópicamente ($\Delta S_{\text{int}} > 0$) y desfavorable entálpicamente ($\Delta H_{\text{int}} > 0$).²²

CD	Buffer pH 7.5	
	ΔH_{int}	ΔS_{int}
α -CD	+ 2.76	+ 0.019
β -CD	+ 2.82	+ 0.019
γ -CD	+ 3.29	+ 0.021

Tabla 16. Variables termodinámicas de los sistemas con ibuprofén (ΔH_{int} , kcal/mol; ΔS_{int} , kcal/mol K).

Como resultado de la poca superficie de contacto que existe entre ibuprofén⁻ y β-CD en el complejo [ibup ⊂ β-CD]⁻, las fuerzas de van der Waals no tienen prácticamente ninguna contribución en la estabilidad del complejo.^{22, 146}

El disolvente tiene gran importancia en este proceso de inclusión, lo que señala la presencia de las interacciones hidrofóbicas en la formación de los complejos de inclusión de ibuprofén⁻.^{22, 50, 89, 147}

En la figura 30 se exponen las gráficas de van't Hoff de los sistemas con ibuprofén⁻ que informan del comportamiento termodinámico de los distintos complejos de inclusión. En ella se refleja que el comportamiento con γ-CD difiere de las otras dos ciclodextrinas.

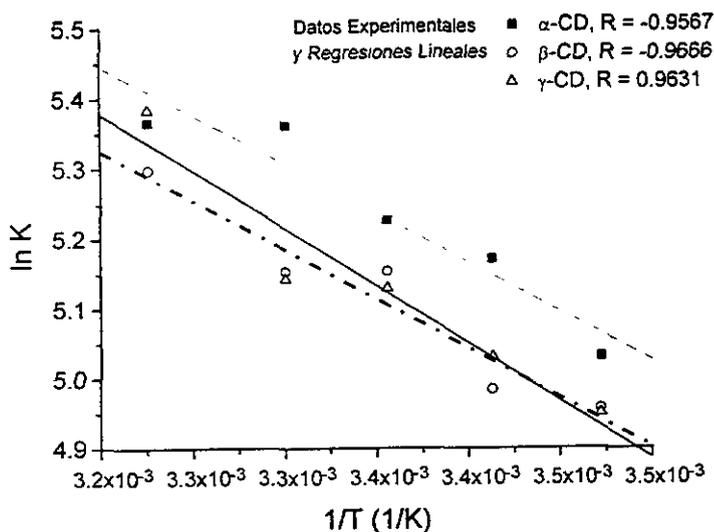


Figura 30. Gráficas de van't Hoff de los sistemas con ibuprofén⁻. (---) α-CD, (-·-) β-CD y (—) γ-CD.

La superficie de contacto entre ibuprofén⁻ y γ-CD es probablemente menor que la correspondiente con α- y β-CD, razonamiento que parece lógico considerando que la γ-CD es la de mayor tamaño de diámetro interno de cavidad, y por tanto la distancia entre la pared interna de la γ-CD y la sección incluida del ibuprofén⁻ es grande. Es por esto que la entropía para el complejo [ibup ⊂ γ-CD]⁻ es mayor que en [ibup ⊂ α-CD]⁻ e [ibup ⊂ β-CD]⁻, al disminuir la superficie de contacto entre las dos moléculas se incrementa la variable entrópica del proceso, hecho que está gobernado por un incremento en el

grado de libertad de las moléculas del disolvente y por la restricción rotacional impuesta por la complejación del huésped en la cavidad de la ciclodextrina.^{22, 50, 61}

7.3.4. Estudio de la mecánica molecular

Los cálculos de mecánica molecular (ver apéndice 10.5) realizados con el ibuprofén⁻ se muestran a continuación.

La diferencia de contribución energética en la formación del complejo [ibup ⊂ β-CD]⁻ por la parte ancha y por la parte estrecha de la β-CD es muy pequeña, 0.112 kcal/mol, (23.232 kcal/mol al incluirse por la parte ancha de la β-CD y 23.344 kcal/mol al incluirse por la parte estrecha de la β-CD). Como ya se dijo anteriormente en los estudios realizados de resonancia magnética nuclear, la sección de ibuprofén⁻ que se incluye es el anillo bencénico y la cadena isobutílica. Esto lo podemos observar en la figura 31.

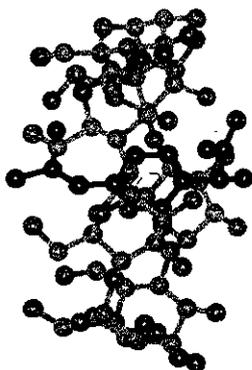


Figura 31. Posible estructura del complejo de inclusión en medio acuoso de ibuprofén⁻ con β-CD.

La mayor interacción es con el anillo bencénico; la sección alquílica ofrece poca superficie de contacto al interior de la cavidad de la β-CD, debido a la gran distancia que hay entre la pared interna de la cavidad del anfitrión y dicha cadena alquílica del ibuprofén.

7.4. Ketoprofén

El ketoprofén es un agente anti-inflamatorio de la familia de los ácidos fenilpropiónicos, con una eficacia clínica comparable a la del ibuprofén, pero con más efectos adversos.⁶⁵ Se presenta como polvo ligeramente coloreado, sin olor ni sabor e irritante al tacto.¹⁴⁸ El ketoprofén es producido por los laboratorios Medix y Rhône-Poulenc.¹⁴⁵

7.4.1. Espectros de absorción

Los valores de las constantes de interacción con ketoprofén, obtenidas a partir de las ecuaciones 1 y 2 (ver apéndice 10.1), se exponen en las tablas 17-20.

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 $K(1:1)$	25% DMSO $K(1:1)$	50% DMSO $K(1:1)$	75% DMSO $K(1:1)$	DMSO $K(1:1)$
288	370 ± 30	4200 ± 600	8000 ± 3000	8000 ± 3000	
293	360 ± 50	2300 ± 600	7100 ± 1000	4000 ± 2000	1300 ± 500
298	320 ± 50	3600 ± 700	7000 ± 1000	2000 ± 600	900 ± 200
303	280 ± 40	3300 ± 600	6000 ± 2000	1200 ± 400	310 ± 60
310	230 ± 20	3000 ± 500	5100 ± 400	1000 ± 300	190 ± 25

Tabla 17. Constantes de interacción del sistema [ketoprofén \subset α -CD]⁺, (M⁻¹).

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 $K(1:1)$	25% DMSO $K(1:1)$	50% DMSO $K(1:1)$	75% DMSO $K(1:1)$	DMSO $K(1:1)$
288		5000 ± 700	3100 ± 200	6000 ± 1000	3500 ± 300
293	2400 ± 500	6000 ± 1000		8000 ± 3000	3200 ± 300
298	2000 ± 500	5800 ± 800	5000 ± 2000	6000 ± 1000	2900 ± 400
303	1400 ± 400	5700 ± 700	5000 ± 3000	4600 ± 900	2700 ± 200
310	700 ± 60	5800 ± 500	5000 ± 2000	3500 ± 1000	

Tabla 18. Constantes de interacción del sistema [ketoprofén \subset β -CD]⁺, (M⁻¹).

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 $K(1:1), M^{-1}$	25% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	50% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	75% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	DMSO $K(1:2), M^{-2}$
288		880 ± 90	9000 ± 6000	2300 ± 500	22000 ± 3000
293	3300 ± 300	700 ± 20	7000 ± 2500		
298	2500 ± 400	920 ± 45	4000 ± 1000	1200 ± 200	16000 ± 1000
303	2100 ± 400	800 ± 70		1100 ± 200	16000 ± 1000
310	1600 ± 200	890 ± 60	1000 ± 300	700 ± 200	16000 ± 2000

Tabla 19. Constantes de interacción del sistema [ketoprofén \subset γ -CD]⁺.

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 $K(1:2), M^{-2}$	25% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	50% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	75% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	DMSO $K(1:2), M^{-2}$
288	7500 ± 400		500 ± 200		
293	6700 ± 300		320 ± 70	2300 ± 700	5200 ± 300
298	5900 ± 400	1600 ± 400	270 ± 30	1100 ± 400	3200 ± 800
303	5500 ± 400	4990 ± 30	220 ± 30	910 ± 70	2800 ± 500
310	2600 ± 100	1700 ± 300	210 ± 30		1300 ± 300

Tabla 20. Constantes de interacción del sistema [ketoprofén \subset HP- β -CD].

El ketoprofén⁻ no presenta fluorescencia en ninguno de los medios de disolución estudiados, ni en las condiciones de trabajo utilizadas.

Como en los casos anteriores de fenoprofén⁻ y naproxén⁻, a pesar de las sucesivas repeticiones en las mediciones, no fue posible obtener valores de constantes de interacción de los sistemas con ketoprofén⁻ a determinadas temperaturas. Los valores de absorbancia no se ajustaron a ninguna de las ecuaciones empleadas para el cálculo de las constantes de interacción, por eso hay ausencia de algunos valores de K en las tablas 17-20.

De los sistemas de estudio sólo tres presentan constantes de interacción de tipo 1:2, éstos son [keto \subset γ -CD₂]⁻ en DMSO y [keto \subset HP- β -CD₂]⁻ en buffer y en DMSO. El resto de los sistemas en estudio con este anti-inflamatorio tienen constantes de interacción correspondientes al tipo 1:1.

El tipo de gráficos para la obtención de constantes de interacción para complejos de tipo 1:1 de algunos de los sistemas de ketoprofén⁻ se exponen en la figura 32.

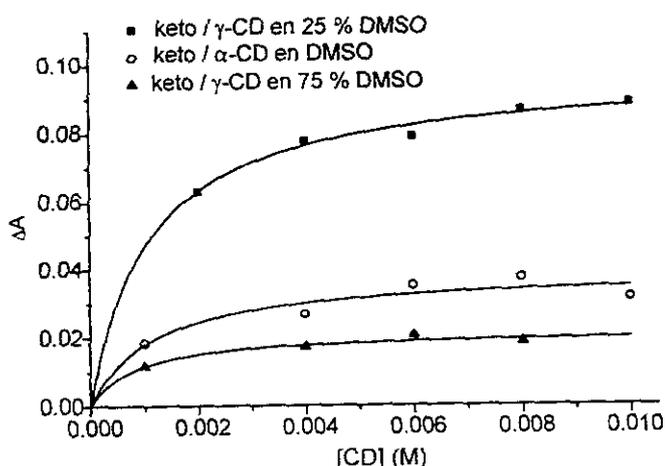


Figura 32. Ajustes no lineales de diversos sistema de ketoprofén⁻ a 298 K.

Un ejemplo que muestra el efecto del incremento de la concentración de ciclodextrinas sobre los espectros de absorción de ketoprofén⁻ se puede observar en la figura 33.

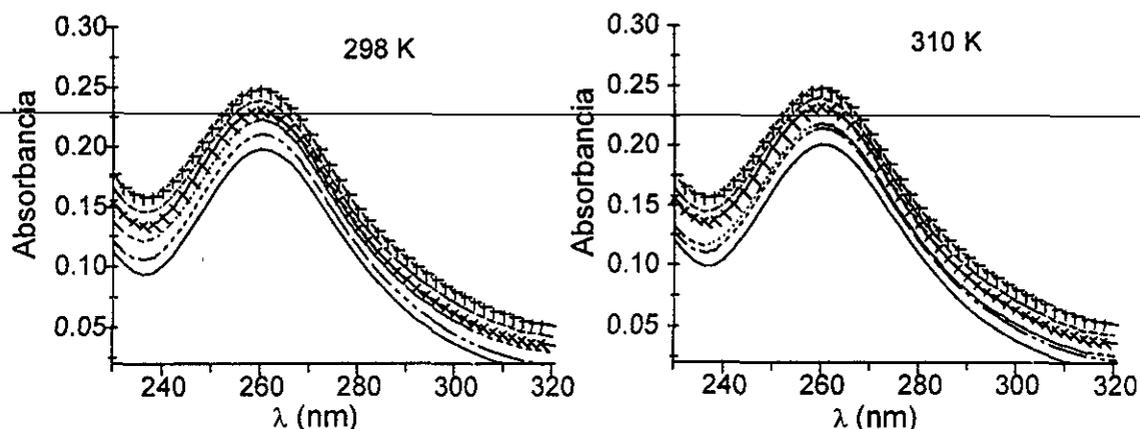


Figura 33. Efecto de la concentración de γ -CD sobre el espectro UV de ketoprofén⁻, en buffer pH 7.5, a 298 K y 310 K. Concentración de keto⁻ = 1×10^{-5} M. Concentraciones de γ -CD: (—) = 0, (- -) = 1×10^{-3} M, (- · -) = 2×10^{-3} M, (x) = 4×10^{-3} M, (- · · -) = 6×10^{-3} M, (+) = 8×10^{-3} M.

La γ -CD induce el incremento de la absorción de ketoprofén⁻ a diferentes temperaturas. Éste es un comportamiento común que indica la formación de un complejo de inclusión entre huésped y anfitrión.^{11, 18, 42} Estos cambios espectrales muestran la formación de una nueva especie en disolución con absorptividad molar diferente de la del ketoprofén⁻ solo.

En disolución buffer, ketoprofén⁻ con α -CD, muestra valores de constantes de interacción menores que con β -, γ - y HP- β -CD. El diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina juega un papel importante en el proceso de inclusión.^{19, 61} Debido al pequeño tamaño del diámetro interno de la cavidad de la α -CD (≈ 5.7 Å), ésta presenta menor capacidad para formar complejos de inclusión que β -CD y γ -CD con moléculas huéspedes con anillos bencénicos. Generalmente moléculas hidrofóbicas que poseen anillos bencénicos se acoplan mejor en β -CD y sus derivados debido a la adecuada relación de tamaños entre huésped y anfitrión.¹²⁵

En disolución buffer las constantes de interacción de ketoprofén⁻ con γ -CD son mayores que las obtenidas con β -CD y por supuesto que las obtenidas con α -CD. Es posible pensar en una inclusión total de la molécula de ketoprofén⁻ en la cavidad de la γ -CD. Así, el grupo cetónico interactúa con el interior de la cavidad de la γ -CD y los

grupos carboxilato y metilo actúan con la sección externa de la γ -CD. El carboxilato probablemente interaccionará fuertemente con el disolvente estabilizando la estructura del complejo de inclusión, mediante interacciones con los momentos dipolares de las moléculas del disolvente.²⁷ Esto se confirmará posteriormente con los estudios hechos en resonancia magnética nuclear. La mayor superficie hidrofóbica del ketoprofén⁻ está en contacto con la cavidad hidrófoba de la γ -ciclodextrina, lo que termodinámicamente se traduce en una disminución de la variable entrópica⁴² (ver tabla 21).

Ketoprofén⁻ con HP- β -CD forma un complejo del tipo SL_2 en este mismo medio de disolución. Podríamos pensar en la posibilidad de formación de puentes de hidrógeno entre los radicales hidroxipropílicos de la HP- β -CD y el carboxilato del ketoprofén⁻, hecho que produciría un aumento en la estabilidad de estos complejos de inclusión.^{47, 50, 60} De este modo esta molécula huésped presenta con la HP- β -CD la posibilidad de interacción por ambos extremos. Un ejemplo de la posible estructura del complejo $[\text{keto} \subset \text{HP-}\beta\text{-CD}_2]$ en disolución acuosa se presenta en la sección de mecánica molecular (figura 42).

Los valores promedio de las constantes de interacción en 25% y 75% DMSO llevan el mismo orden, y ocurre prácticamente lo mismo en buffer y DMSO,

en 25%: $K(\beta\text{-CD}) > K(\alpha\text{-CD}) > K(\text{HP-}\beta\text{-CD}) > K(\gamma\text{-CD})$,

en 75%: $K(\beta\text{-CD}) > K(\alpha\text{-CD}) > K(\text{HP-}\beta\text{-CD}) > K(\gamma\text{-CD})$,

en disolución buffer: $K(\text{HP-}\beta\text{-CD}) > K(\gamma\text{-CD}) > K(\beta\text{-CD}) > K(\alpha\text{-CD})$,

en DMSO: $K(\gamma\text{-CD}) > K(\text{HP-}\beta\text{-CD}) > K(\beta\text{-CD}) > K(\alpha\text{-CD})$.

Cuando el tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina es un factor importante en la formación de los complejos de inclusión, como ocurre para el primer grupo de disolventes (25% y 75% DMSO/agua), generalmente la β -CD forma complejos más estables que las otras ciclodextrinas debido a la buena relación de tamaños huésped- β -ciclodextrina. En ambos medios de disolución los complejos con γ -CD manifiestan menor estabilidad que los complejos con β -CD. Esta menor estabilidad está inducida por el mayor tamaño del diámetro interno de la cavidad de la γ -CD, que lleva a una menor superficie de contacto entre ketoprofén⁻ y γ -CD (debido a la gran

distancia entre la sección incluida del ketoprofén⁻ y la pared interna de la cavidad de la γ -CD), y con ello una disminución en la variable entrópica del proceso (tabla 21).^{36, 61}

En el caso de α -CD y HP- β -CD, con el orden de magnitud de las constantes de interacción K (α -CD) > K (HP- β -CD), manifiestan la mayor capacidad de la α -CD para incluir la sección hidrófoba del ketoprofén⁻ en 25% y 75% DMSO/agua. La carga negativa del ketoprofén⁻ lo orienta y hace que se incluya a través de su anillo bencénico, permaneciendo el grupo carboxilato en contacto con el disolvente. Este anillo bencénico frente a las cadenas hidroxipropiladas de la HP- β -CD encuentra más impedimento para la inclusión que el que pudiera encontrar frente a la α -CD que carece de estas cadenas.

El segundo grupo de disolventes anteriormente mencionados (disolución buffer y DMSO), considerando que es viable que el mayor valor de la constante de interacción corresponde a la estequiometría 1:2 (SL_2), la expulsión de las moléculas de agua del interior de la cavidad de las ciclodextrinas es la mayor contribución a la formación de los complejos de inclusión.^{50, 58} Cuantas más moléculas de agua sean expulsadas del interior de la cavidad de la ciclodextrina, la profundidad de la inclusión puede ser mayor porque el huésped se encuentra con menor impedimento.²²

Considerando la solubilidad de ketoprofén⁻ en los diferentes medios de disolución en estudio (figura 34), a partir de los valores obtenidos de las constantes de interacción con las distintas ciclodextrinas en los distintos disolventes, se muestra que la formación de estos complejos de inclusión se ve directamente afectada por la presencia del disolvente.

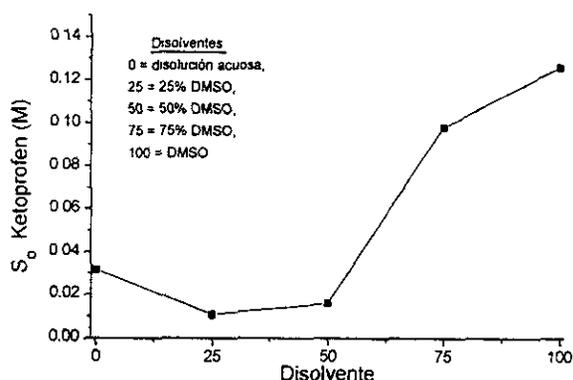


Figura 34. S₀ experimentales (ketoprofén⁻) en los diferentes medios de disolución a 298 K.

Esto se observa claramente en el caso de α -CD donde los mayores valores de K se encuentran en 50% y 25% DMSO/agua, que son justamente los medios de disolución donde la solubilidad de ketoprofén⁻ es menor. El efecto solvofóbico participa de forma esencial en la formación de estos complejos de inclusión (ver tabla 21).

De forma no tan clara como en α -CD observamos prácticamente el mismo comportamiento con β -CD:

con α -CD: $K_{50\%} > K_{25\%} > K_{75\%} > K_{\text{DMSO}} > K_{\text{disol. bf.}}$

con β -CD: $K_{25\%} > K_{75\%} > K_{50\%} > K_{\text{DMSO}} > K_{\text{disol. bf.}}$

El disolvente no tiene carácter primordial para la formación de complejos entre ketoprofén⁻ y HP- β -CD:

con HP- β -CD: $K_{\text{disol. bf.}} > K_{\text{DMSO}} > K_{25\%} > K_{75\%} > K_{50\%}$.

Como se mencionó anteriormente, la probabilidad de formación de puentes de hidrógeno con una segunda molécula de HP- β -CD estabilizaría fuertemente estos complejos de inclusión tipo 1:2.^{47, 50, 60}

7.4.2. Espectros de resonancia magnética nuclear

La figura 35 muestra una clara interacción entre β -CD y la sección aromática del ketoprofén⁻. El característico desplazamiento de la banda correspondiente al 5-H que revelaría la formación de un complejo de inclusión^{118, 134, 135, 149-151} no aparece, pero las señales correspondientes al H-3 de la β -CD y la sección aromática de ketoprofén⁻ están significativamente modificadas, lo que indica la formación de un complejo de inclusión entre el ketoprofén⁻ y la β -CD a través de la parte ancha de este anfitrión. El anión carboxilato orienta al ketoprofén⁻ y le obliga a incluirse por su sección aromática, quedando el grupo carboxilato en contacto con el disolvente, estabilizando así la estructura del complejo de inclusión formado mediante interacciones con los momentos dipolares de las moléculas del disolvente.²⁷

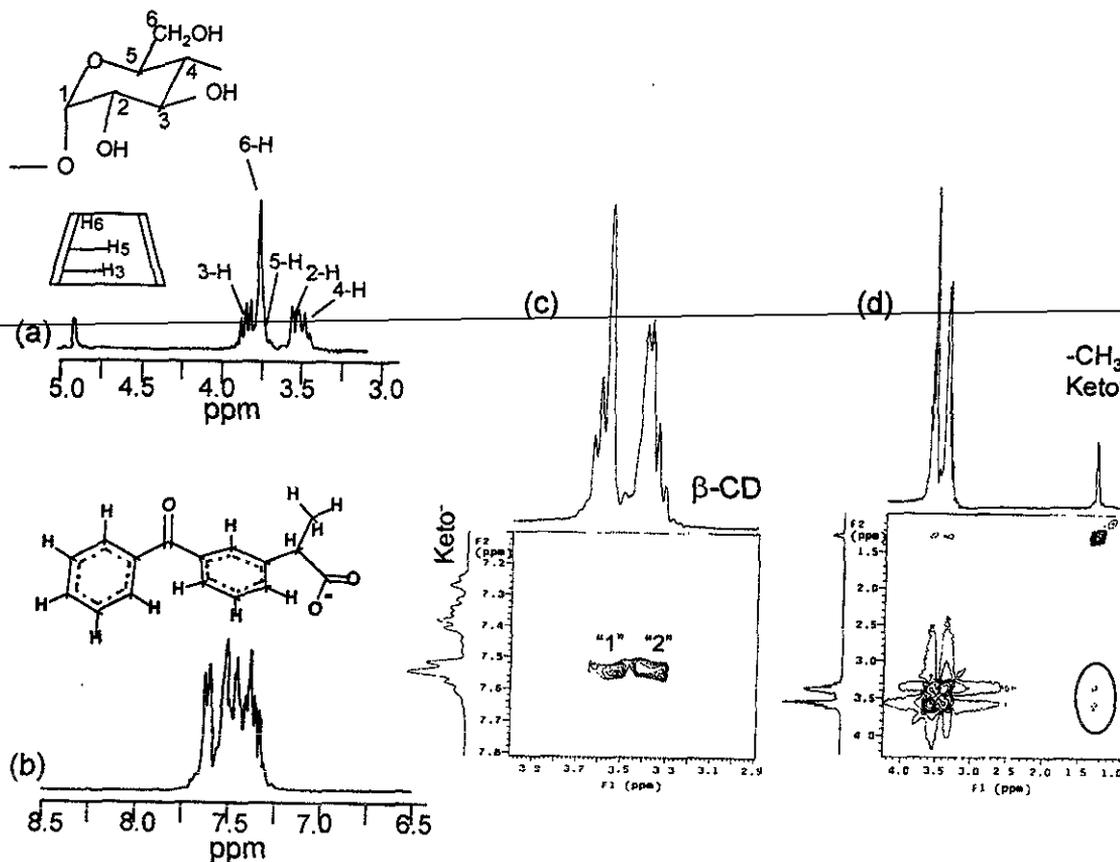


Figura 35. Espectros ^1H -RMN a 300 MHz y 298 K en D_2O . (a) β -CD, (b) sección aromática de ketoprofén $^-$, (c) y (d) NOESY de [ketoprofén $^-$ \subset β -CD].

El espectro NOESY refleja que ketoprofén $^-$ interactúa con la sección interna "1" y externa "2" de la β -CD a través de la sección aromática, figura 35 (c), y una segunda interacción muy débil del grupo metilo, figura 35 (d), del huésped. Por ello, es posible considerar una inclusión incompleta de la molécula de ketoprofén $^-$ en la cavidad de la β -CD. Sólo el anillo bencénico de ketoprofén $^-$ se incluye en la cavidad de la β -CD por la parte ancha y la sección del huésped que queda fuera interactúa con el disolvente y la parte externa de la β -CD.

La interacción entre ketoprofén $^-$ y α -CD en disolución acuosa se presenta en la figura 36. Las señales correspondientes a la sección externa de la α -CD están escasamente modificadas. Es posible pensar en una ligera interacción entre las dos moléculas, hecho que se ve confirmado con los pequeños valores de las constantes de interacción expuestas en la tabla 17. Probablemente el anillo bencénico está sólo parcialmente incluido.

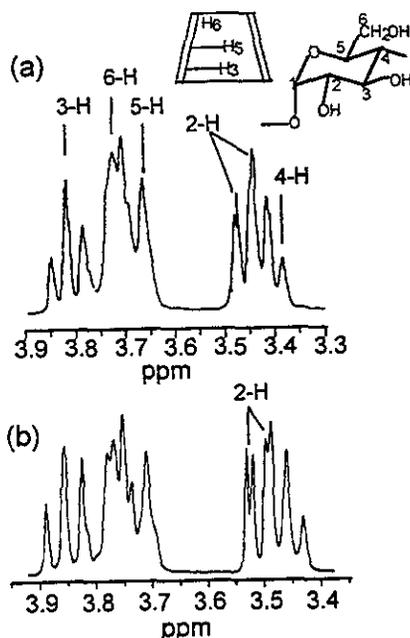


Figura 36. Espectros ¹H-RMN a 300 MHz y 298 K en D₂O. (a) α-CD, (b) [ketoprofén ⊂ α-CD].

En cambio, con γ-CD la interacción es mayor que con α- y β-CD. La figura 32 muestra el desplazamiento de la banda del H-5 de la γ-CD que confirma la formación del complejo de inclusión.¹⁴⁹⁻¹⁵¹ El desdoblamiento de la banda correspondiente al grupo metilo del ketoprofén⁻ (figura 37, derecha) es la característica más significativa de esta interacción que sólo con γ-CD es posible apreciar.

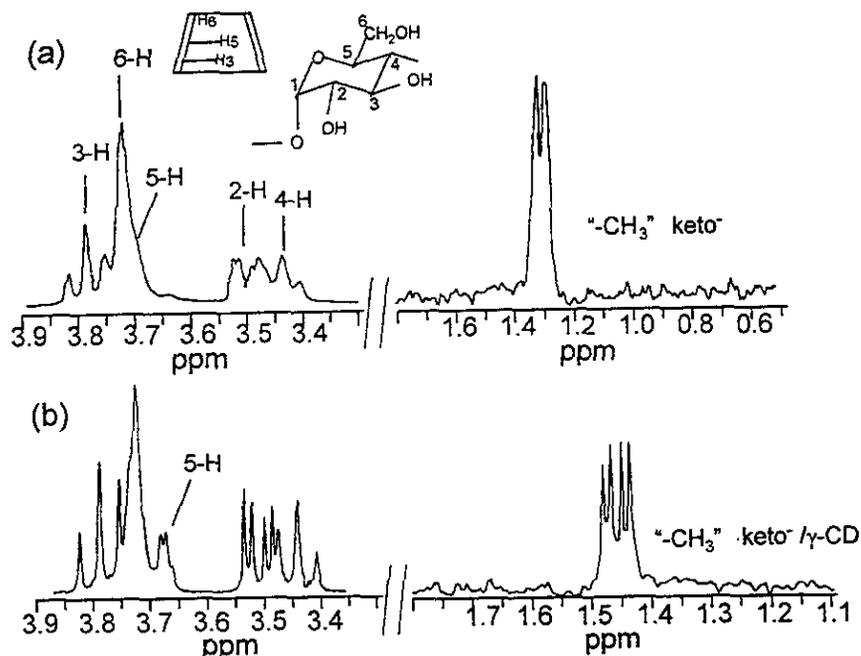


Figura 37. Espectros ¹H-RMN a 300 MHz y 298 K en D₂O. (a) γ-CD, (b) [ketoprofén ⊂ γ-CD], (derecha) modificación de la banda correspondiente al grupo metilo de ketoprofén⁻.

Debido al tamaño del diámetro interno de la cavidad de la γ -CD, el ketoprofén⁻ probablemente está completamente incluido en la γ -CD, y así el grupo metilo también está interactuando con esta molécula anfitriona. Por eso, se observa el desdoblamiento de esta banda.^{152, 153} La mayor parte de la superficie hidrofóbica de ketoprofén⁻ está en contacto con la sección hidrofóbica de la ciclodextrina, lo que asegura la mayor estabilidad del complejo de inclusión.

Las posibles estructuras de los complejos de inclusión de ketoprofén⁻ en disolución acuosa las podemos observar posteriormente en la figura 41, correspondiente a la sección de mecánica molecular.

En DMSO- d_6 se refleja una apreciable variación, no tanto en lo que se refiere a desplazamientos, sino a la forma y desdoblamiento de las bandas. La figura 38 exhibe interacción entre ketoprofén⁻ y β -CD en este medio de disolución.

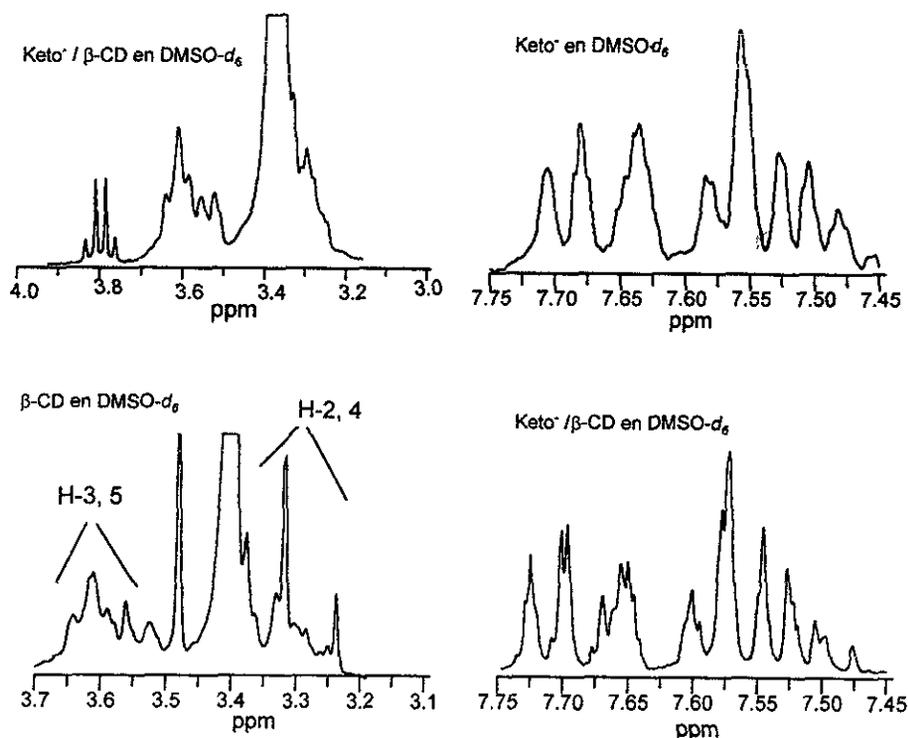


Figura 38. Espectros ^1H -RMN a 300 MHz y 298 K de ketoprofén⁻, β -CD y [ketoprofén⁻ \subset β -CD]⁻ en DMSO- d_6 . Modificación de las bandas de β -CD (izquierda) y de las bandas de ketoprofén⁻ (derecha).

Una señal de ^1H RMN indica la presencia de varios protones equivalentes. El desdoblamiento de éstas, pertenecientes a la sección aromática de ketoprofén⁻, manifiesta que estos protones equivalentes están interactuando.^{152, 153} Tanto la sección externa como la interna de la β -CD están involucradas en esta interacción, pero

hay una mayor modificación de las bandas correspondientes a los hidrógenos externos de esta β -CD.

Tras observar que efectivamente hay interacción entre ketoprofén⁻ y β -CD en este medio orgánico, con el espectro NOESY podemos analizar qué secciones de ambas moléculas son las que hacen posible la existencia de este complejo de inclusión.

La figura 39 nos muestra el espectro NOESY completo del sistema en estudio. La zona marcada en el NOESY completo como (a), ampliada a su derecha, y la señal correspondiente al $-\text{CH}_3$ del ketoprofén⁻, son los que revelan de forma evidente la existencia del complejo de inclusión en estas condiciones de trabajo.

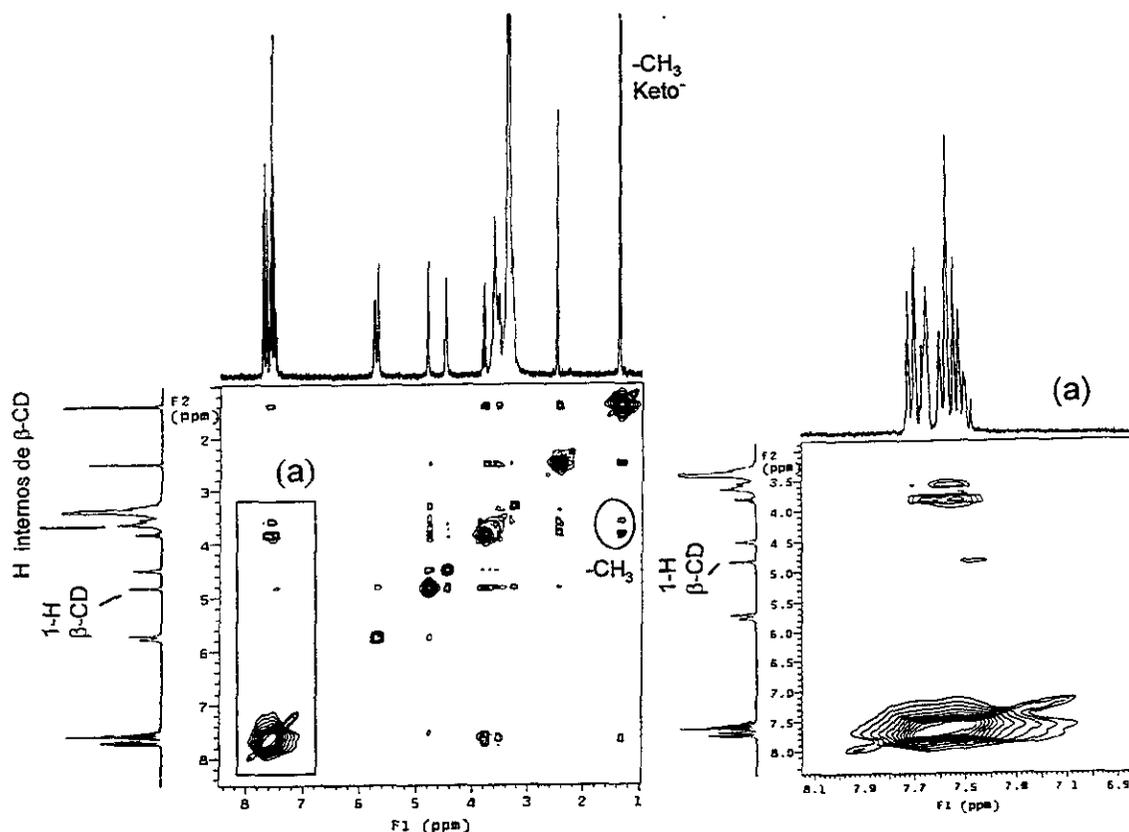


Figura 39. NOESY a 300 MHz y 298 K de $[\text{keto} \subset \beta\text{-CD}]^-$ en $\text{DMSO}-d_6$.

Los hidrógenos internos de la cavidad de la β -CD son los que muestran mayor interacción con el ketoprofén⁻ en DMSO. Tanto la sección aromática del ketoprofén⁻ como el grupo metilo están incluidos en la cavidad de la β -CD a través de su parte ancha (figura 39). El H-1 de la β -CD manifiesta interacción con la sección aromática de

ketoprofén⁻, reforzando esto el hecho de que la inclusión es a través de la parte ancha de la β -CD.

Las constantes de interacción correspondientes a los sistemas [keto \subset β -CD]⁻ en buffer y en DMSO a 298 K, expuestas en la tabla 18 de este capítulo, presentan magnitudes bastante similares. Puede pensarse en una geometría del complejo de inclusión muy parecida en ambos medios de disolución (aunque las fuerzas de interacción que contribuyan a su formación sean distintas) puesto que en ambos disolventes la sección aromática de ketoprofén⁻ y el grupo metilo son los directamente implicados en la formación del complejo de inclusión. Como se observa en la ya mencionada tabla 18, la constante de interacción de este sistema en DMSO es un poco mayor que la que se presente en disolución buffer. Esta diferencia puede radicar en que en el caso del complejo en DMSO, el grupo metilo del ketoprofén⁻ está interaccionando más intensamente con la β -CD (ver el NOESY completo de la figura 39), y en cambio, en medio acuoso, esta interacción es mucho más débil (ver la figura 35 (d)).

7.4.3. Valores de otros parámetros termodinámicos

En la tabla 21 se muestran otros parámetros termodinámicos de los sistemas con ketoprofén⁻, calculados a partir de las ecuaciones 3 y 4 (ver apéndice 10.2).

CD	Medio de Disolución									
	buffer pH 7.5		25% DMSO		50% DMSO		75% DMSO		DMSO	
	$\Delta H_{int.}$	$\Delta S_{int.}$	$\Delta H_{int.}$	$\Delta S_{int.}$	$\Delta H_{int.}$	$\Delta S_{int.}$	$\Delta H_{int.}$	$\Delta S_{int.}$	$\Delta H_{int.}$	$\Delta S_{int.}$
α -CD	-5.08	-0.0056	-2.86	+0.066	-3.77	+0.0048	-21.37	-0.056	-21.35	-0.058
β -CD	-13.48	-0.030	+1.11	+0.021	+4.31	+0.031	-3.40	+0.006	-3.04	+0.0057
γ -CD	-7.61	-0.009	-0.19	+0.013	-18.15	-0.045	-9.50	-0.018	-2.67	+0.011
HP- β -CD	-3.64	+0.005			-8.12	-0.016	-16.07	-0.039	-13.76	-0.030

Tabla 21. Variables termodinámicas de los sistemas con ketoprofén⁻
($\Delta H_{int.}$, kcal/mol; $\Delta S_{int.}$, kcal/mol K).

Una vez más, los valores ausentes de $\Delta H_{int.}$ y $\Delta S_{int.}$ en los sistemas con ketoprofén⁻, son debidos a la falta de valores de constantes de interacción, que son necesarias para calcular estos parámetros termodinámicos.

Entre las fuerzas propuestas responsables del fenómeno de inclusión con ciclodextrinas sólo la interacción hidrofóbica está gobernada por la entropía, $\Delta S_{int} > 0$ y a veces $\Delta H_{int} > 0$.^{22, 50, 89}

La figura 40 refleja el comportamiento termodinámico de dos de los sistemas de ketoprofén⁻ que marcan la diferente tendencia de las constantes de interacción con temperatura, contribuyendo así en mayor o menor grado la presencia del disolvente en la estabilización del complejo de inclusión.

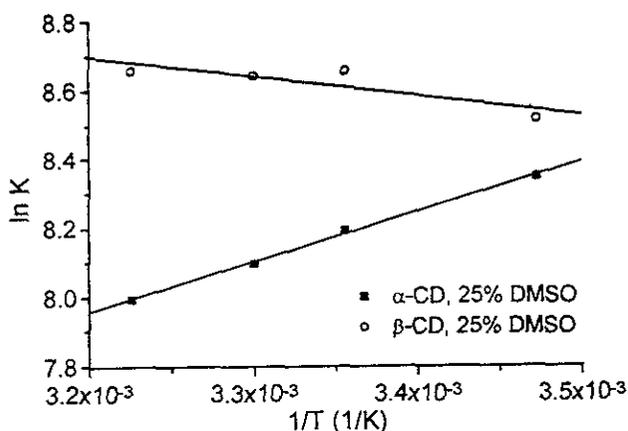


Figura 40. Gráficas de van't Hoff de los sistemas de ketoprofén⁻ con α-CD y β-CD en 25% DMSO/agua.

En el caso de los complejos de inclusión con β-CD, en todos los medios de disolución la interacción está gobernada por la entropía, excepto en disolución buffer donde las interacciones de van der Waals están más intensamente involucradas, $\Delta H_{int} < 0$ y $\Delta S_{int} < 0$.^{22, 42, 136} La solubilidad de ketoprofén⁻ en los distintos medios de disolución es diferente, las fuerzas involucradas en el proceso de inclusión en los diferentes medios de disolución son también diferentes, y, consecuentemente, no se puede admitir que la geometría encontrada para el complejo en disolución buffer se encontrará necesariamente en DMSO y en las mezclas DMSO/agua.

En 25% y 50% DMSO/agua la solubilidad del ketoprofén⁻ es menor (1.07×10^{-2} M y 1.57×10^{-2} M, respectivamente) que en medio acuoso (3.17×10^{-2} M). En 75% DMSO/agua y DMSO la solubilidad de este anti-inflamatorio aumenta considerablemente (9.8×10^{-2} M y 0.126 M, respectivamente). El efecto solvofóbico se pone claramente de manifiesto en los complejos de inclusión de ketoprofén⁻ con α-, β-,

y γ -CD en 25% DMSO/agua.^{22, 50, 89} Es en este medio de disolución donde el ketoprofén⁻ presenta menor solubilidad (ver figura 34).

En 50% los sistemas [keto \subset γ -CD]⁻ y [keto \subset HP- β -CD]⁻ son la excepción de la contribución solvofóbica como fuerza gobernadora. El gran tamaño del diámetro interno de la cavidad de la γ -CD y los grupos hidroxipropilos de la HP- β -CD hacen que mayor proporción de superficie hidrófoba de ketoprofén⁻ interactúe con la sección hidrofóbica de estas moléculas anfitrionas. Es así como las interacciones de van der Waals se incrementan, jugando aquí un papel importante.

En el caso de 75% DMSO/agua y DMSO, al considerar la estructura del complejo de inclusión [keto \subset β -CD]⁻ diferente a la propuesta para el medio acuoso, es factible pensar que la solvatación de ketoprofén⁻ es mayor al presentar una solubilidad mayor en estos medios de disolución. La mayor intervención de las interacciones de van der Waals en los complejos [keto \subset α -CD]⁻ y [keto \subset HP- β -CD]⁻ manifiesta que en estos disolventes el tamaño del diámetro interno de la cavidad de las ciclodextrinas es importante, contribuyendo a ello de forma esencial la liberación de las moléculas de agua de la cavidad de la ciclodextrina.^{50, 58}

En general, las interacciones de van der Waals, relacionadas con la superficie de contacto entre el huésped y el interior de la cavidad de la ciclodextrina, se presentan con mayor frecuencia en la estabilización de los complejos de inclusión de ketoprofén⁻ con las ciclodextrinas cuyo tamaño de diámetro externo es pequeño, α -CD y HP- β -CD, (mayor superficie de contacto) o es grande, γ -CD, (mayor proporción de ketoprofén⁻ se incluye), pero que es apropiado para la adecuada inclusión de ketoprofén⁻.

7.4.4. Estudio de la mecánica molecular

Mediante los cálculos de mecánica molecular fue posible obtener las geometrías de mínima energía de los complejos de inclusión de ketoprofén⁻ (ver apéndice 10.5).

En el caso de $[\text{keto} \subset \alpha\text{-CD}]^-$ la energía mínima se observó cuando el anillo bencénico está sólo parcialmente incluido en la α -CD por su parte ancha. En cambio, en el caso de $[\text{keto} \subset \beta\text{-CD}]^-$, la mínima energía se observó cuando el anillo bencénico está totalmente incluido en la cavidad de la β -CD, y en el caso de $[\text{keto} \subset \gamma\text{-CD}]^-$, cuando ambos anillos aromáticos se incluyen en la γ -CD a través de la parte ancha (figura 41).

Estos resultados están de acuerdo con los resultados obtenidos experimentalmente por resonancia magnética nuclear, y muestran que, efectivamente, la profundidad de la inclusión es diferente en los tres casos y esto depende del tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina.

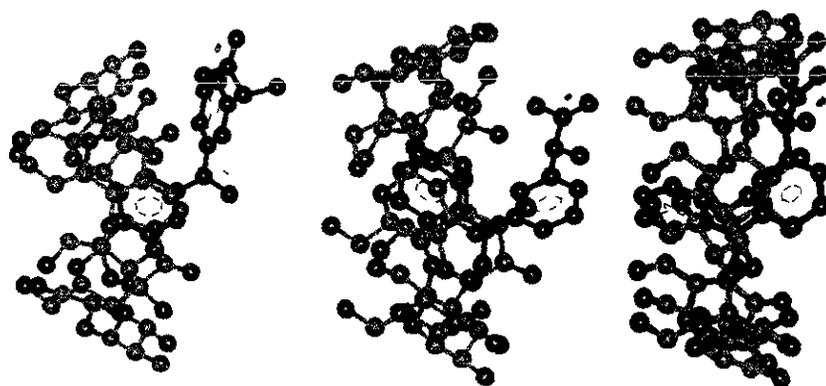


Figura 41. Posible estructura de los complejos de inclusión en medio acuoso de ketoprofén⁻ con α -, β - y γ -CD, respectivamente.

A partir del cálculo de las diferentes contribuciones energéticas, se exponen en la tabla 22 los valores de la energía total y la contribución de van der Waals al proceso de inclusión de ketoprofén⁻ en las ciclodextrinas a través de la parte ancha de este anfitrión.

Contribuciones Energéticas (kcal/mol)	Complejos		
	$[\text{keto} \subset \alpha\text{-CD}]^-$	$[\text{keto} \subset \beta\text{-CD}]^-$	$[\text{keto} \subset \gamma\text{-CD}]^-$
Contribución energética total para la complejación	46.778	12.251	19.505
Contribución de van der Waals	26.622	15.035	21.869

Tabla 22. Contribución energética a la estabilización de los complejos de inclusión de ketoprofén⁻ con α -, β - y γ -CD.

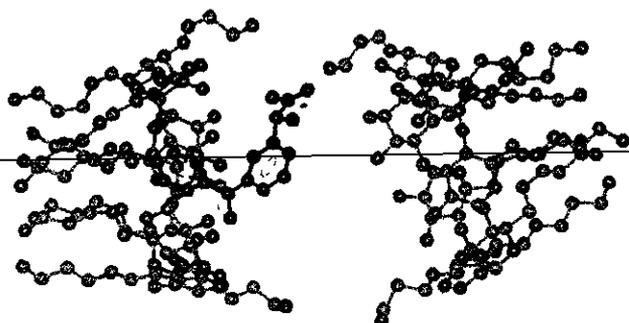
Las energías totales de las especies formadas por ambos componentes del complejo separados, manifiestan mayor inestabilidad que cuando se considera la especie formada por el complejo de inclusión, y estas energías son del orden de 103.010 kcal/mol para los casos de α -CD y β -CD, y de 129.557 kcal/mol para el caso de γ -CD.

La contribución de las interacciones de van der Waals a la estabilización de los complejos de inclusión de ketoprofén⁻ en medio acuoso es mayor en el complejo [keto \subset α -CD]⁻, seguido de [keto \subset γ -CD]⁻ y [keto \subset β -CD]⁻. Esto apoya la hipótesis de que la superficie de contacto de ketoprofén⁻ con el interior de la cavidad de la α -CD es mayor que con el interior de la cavidad de la γ -CD y β -CD, y que las fuerzas estabilizadoras de estos complejos de inclusión en medio acuoso son mayoritariamente las interacciones de van der Waals (ver tabla 21).

Este hecho se ve afianzado con la magnitud de las constantes de interacción de estos mismos sistemas (expuestas en las tablas 17, 18 y 19). Los mayores valores de constantes de interacción en medio acuoso se presentan en la complejación de ketoprofén⁻ con γ -CD y las menores en la complejación con α -CD. Debido al diferente tamaño de diámetro interno de las ciclodextrinas, y como ya se había observado en los estudios realizados en resonancia magnética nuclear, la mayor interacción entre ketoprofén⁻ y α -CD es principalmente con la sección externa del anfitrión. La parte del anillo bencénico que se incluye en el interior de la cavidad de la α -CD manifiesta interacciones de van der Waals muy intensas. En cambio, la interacción entre ketoprofén⁻ y γ -CD y ketoprofén⁻ y β -CD es esencialmente con la sección interna de la ciclodextrina.

Las posibles estructuras del complejo de inclusión [keto \subset (HP- β -CD)₂]⁻ en medio acuoso, obtenidas a partir de los cálculos de mecánica molecular, se presentan en la figura 42.

(a)



(b)

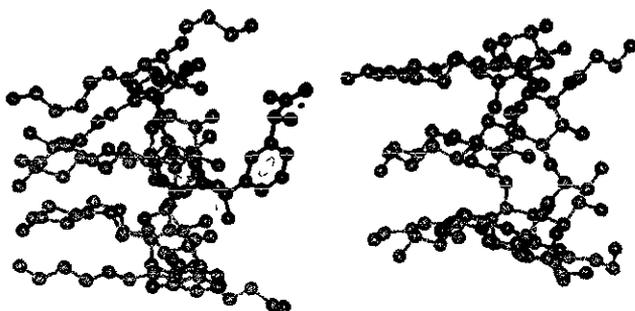


Figura 42. Posible estructura de los complejos de inclusión en medio acuoso de ketoprofén con HP- β -CD.

Comenzando los cálculos considerando un complejo de tipo 1:1, los valores de energía total que contribuyen al proceso de inclusión nos informan que la complejación del ketoprofén en la HP- β -CD se lleva a cabo por el anillo bencénico del huésped, a través de la parte ancha de esta molécula anfitriona.

Puesto que no tenemos una evidencia experimental que nos informe de cuál es realmente la estructura del complejo de inclusión que se forma entre estas dos moléculas interactuantes, debemos pensar en que las dos estructuras que se presentan en la figura 42 son posibles, ya que la interacción con la segunda molécula de β -ciclodextrina-hidroxipropilada puede ser a través de su parte ancha (figura 42 (a)) o a través de su parte estrecha (figura 42 (b)).

7.5. Indometacina

La indometacina es un fármaco anti-inflamatorio que se ha formulado en diferentes formas de administración, incluyendo las designadas a larga duración. Es un polvo de color amarillo claro y prácticamente sin olor.¹⁵⁴ Tras su administración provoca comúnmente dos efectos secundarios adversos, la irritación gastrointestinal y dolor de cabeza.⁶⁵ La indometacina es producida por los laboratorios Medix y Silanes.¹¹⁵ Es una mezcla de dos confórmers, E y Z.

7.5.1. Espectros de absorción

Los valores de las constantes de interacción de indometacina y las diferentes ciclodextrinas, en los distintos medios de disolución, obtenidas a partir de las ecuaciones 1 y 2 (ver apéndice 10.1), se muestran en las tablas 23 a 26.

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 $K(1:1), M^{-1}$	25% DMSO $K(1:2), M^{-2}$	50% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	75% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	DMSO $K(1:1), M^{-1}$
288	900 ± 200	13000 ± 1000	2100 ± 400	6000 ± 3000	500 ± 100
293	900 ± 300	13000 ± 100	2100 ± 300	4000 ± 2000	380 ± 60
298	600 ± 200	11400 ± 900	2000 ± 400	4000 ± 900	310 ± 10
303	500 ± 100	11200 ± 700	1300 ± 200	3000 ± 1000	65.0 ± 0.3
310	400 ± 100	8500 ± 400	1600 ± 200	1800 ± 100	200 ± 100

Tabla 23. Constantes de interacción del sistema [indometacina \subset α -CD].

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 $K(1:1), M^{-1}$	25% DMSO $K(1:2), M^{-2}$	50% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	75% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	DMSO $K(1:1), M^{-1}$
288		18000 ± 2000	500 ± 100	1600 ± 400	
293	4000 ± 2000	14700 ± 800	470 ± 50	1300 ± 400	17000 ± 10000
298	2600 ± 600	14000 ± 1000	360 ± 60	900 ± 200	10000 ± 4000
303	1600 ± 400	13000 ± 1000	350 ± 80	800 ± 200	7000 ± 3000
310	1200 ± 200	13000 ± 700	180 ± 35	500 ± 100	2400 ± 500

Tabla 24. Constantes de interacción del sistema [indometacina \subset β -CD].

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 $K(1:2), M^{-2}$	25% DMSO $K(1:2), M^{-2}$	50% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	75% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	DMSO $K(1:1), M^{-1}$
288	3500 ± 200	21000 ± 3000	3800 ± 700		
293	870 ± 70	19000 ± 3500	3200 ± 200	3200 ± 800	
298	532 ± 6	19000 ± 2000	3000 ± 1000	2000 ± 700	8000 ± 2000
303	300 ± 50	18000 ± 3000	2800 ± 900	1700 ± 400	2600 ± 300
310		18000 ± 3000	2700 ± 300	1300 ± 300	600 ± 150

Tabla 25. Constantes de interacción del sistema [indometacina \subset γ -CD].

Temperatura (K)	Medio de Disolución			
	25% DMSO $K(1:2), M^{-2}$	50% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	75% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	DMSO $K(1:1), M^{-1}$
288	25000 ± 3000	2500 ± 400	300 ± 15	
293	20000 ± 2000	2000 ± 1000	140 ± 6	4000 ± 1000
298	16600 ± 700	760 ± 90	132 ± 8	4000 ± 1000
303	16000 ± 1000	500 ± 100	133 ± 9	4000 ± 2000
310	16000 ± 1000	86 ± 1	126 ± 1	3900 ± 500

Tabla 26. Constantes de interacción del sistema [indometacina \subset HP- β -CD].

La indometacina⁻ no presenta fluorescencia en ninguno de los medios de disolución estudiados, ni en las condiciones de trabajo empleadas.

Como en el caso de las moléculas huéspedes anteriores, a pesar de las sucesivas repeticiones en las mediciones, no fue posible obtener, en los sistemas con indometacina⁻, valores de constantes de interacción a determinadas temperaturas. Hay ausencia de algunos valores de K en las tablas 24-26, porque los valores obtenidos de absorbancia no se ajustaron a ninguna de las ecuaciones empleadas para el cálculo de las constantes de interacción.

El efecto del aumento de la concentración de ciclodextrina sobre los espectros de absorción de indometacina⁻ se presenta en la figura 43 que revela hipocromismo inducido por la presencia de α -CD y HP- β -CD. Este efecto es también característico de la formación de un complejo de inclusión.^{11, 90, 155} Este cambio espectral muestra la formación de una nueva especie en disolución con absorptividad molar diferente a la de la indometacina⁻ sola.

En los diferentes espectros obtenidos para indometacina⁻ con seis concentraciones de α -CD y HP- β -CD se observa la diferente intensidad con respecto a la indometacina⁻ sola. Como en los casos anteriores, la diferente absorbancia entre los espectros nos permitió determinar las constantes de interacción de los distintos sistemas.

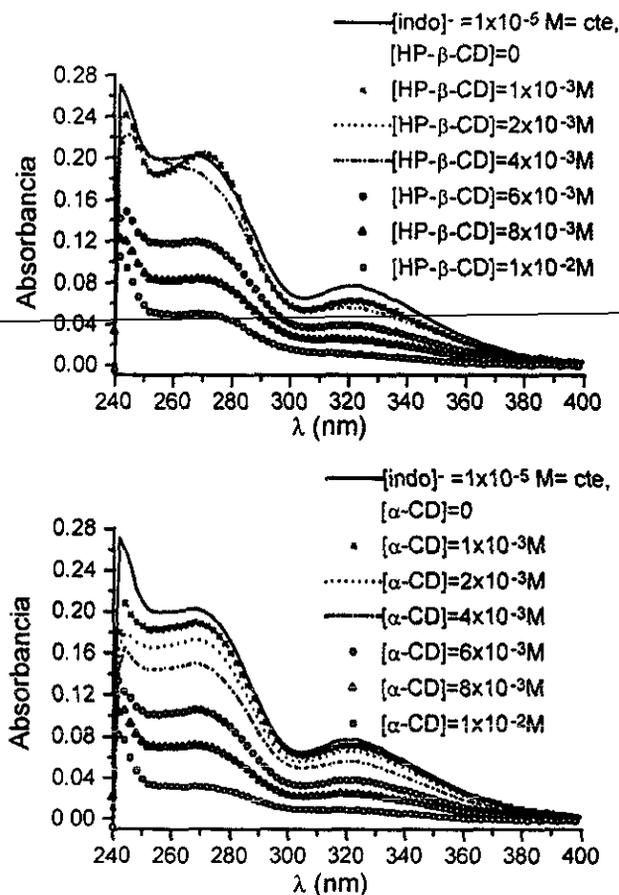


Figura 43. Espectroscopía ultravioleta de los sistemas $[\text{indometacina} \subset \text{HP-}\beta\text{-CD}]^-$ e $[\text{indometacina} \subset \alpha\text{-CD}]^-$ en 25% DMSO/agua a 298 K.

La forma característica de las gráficas de la figura 44 muestran la no saturación de los sistemas formados por α -CD e indometacina⁻ en 25% DMSO/agua. Estas gráficas se obtuvieron a partir de la ecuación 2 (ver apéndice 10.1) correspondiente al ajuste para los complejos de inclusión tipo 1:2 (SL_2).

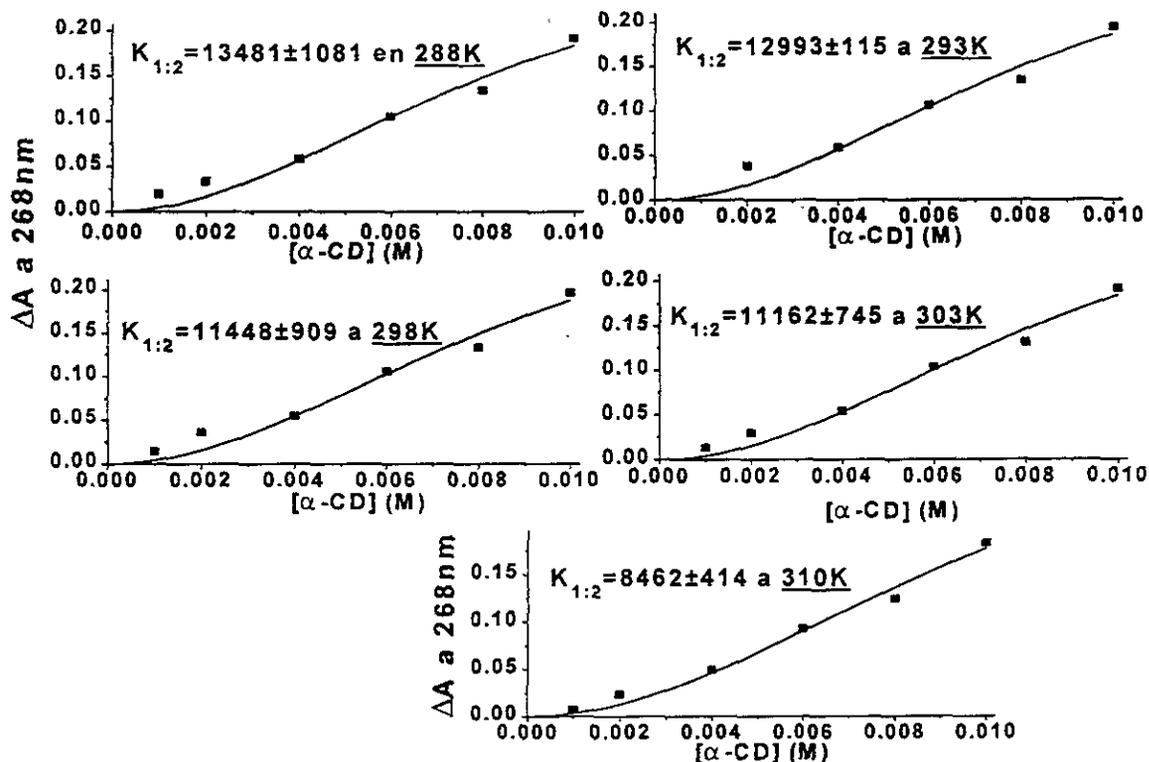


Figura 44. Sistema [indometacina \subset α -CD] $^-$ en 25% DMSO/agua. Obtención de los valores de $K_{1:2}$ a las diferentes temperaturas de trabajo a partir de espectroscopia ultravioleta.

Las constantes de interacción que obtuvimos con este sistema son grandes (ver tabla 23). El medio de reacción constituido por 25% DMSO/agua contribuye de forma significativa al incremento de la interacción con ciclodextrinas.

Como ya se había comentado, los puentes de hidrógeno estabilizan fuertemente los sistemas con ciclodextrina.^{47, 50, 60} De esta forma, se puede pensar en la posibilidad de formación de puentes de hidrógeno en todos los medios de disolución entre el ion ind^- y las CDs, a través del grupo carboxilato del sistema indólico de la indometacina $^-$ y los OH secundarios de la β -CD, y esto estabiliza fuertemente el complejo.¹⁵⁶

El orden de las constantes de interacción, en los distintos medios de disolución, teniendo en cuenta el tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina es el siguiente:

en disolución buffer: $K(\beta\text{-CD}) > K(\gamma\text{-CD}) > K(\alpha\text{-CD})$,

en 25% DMSO: $K(\gamma\text{-CD}) > K(\text{HP-}\beta\text{-CD}) > K(\beta\text{-CD}) > K(\alpha\text{-CD})$,

en 50% DMSO: $K(\gamma\text{-CD}) > K(\alpha\text{-CD}) > K(\text{HP-}\beta\text{-CD}) > K(\beta\text{-CD})$,

en 75% DMSO: $K(\alpha\text{-CD}) > K(\gamma\text{-CD}) > K(\beta\text{-CD}) > K(\text{HP-}\beta\text{-CD})$,

en DMSO: $K(\beta\text{-CD}) > K(\text{HP-}\beta\text{-CD}) > K(\gamma\text{-CD}) > K(\alpha\text{-CD})$.

El orden de las constantes de interacción considerando el medio de disolución es el siguiente:

con $\alpha\text{-CD}$: $K_{25\%} > K_{75\%} > K_{50\%} > K_{\text{disol. bf.}} > K_{\text{DMSO}}$,

con $\beta\text{-CD}$: $K_{25\%} > K_{\text{DMSO}} > K_{\text{disol. bf.}} > K_{75\%} > K_{50\%}$,

con $\gamma\text{-CD}$: $K_{25\%} > K_{50\%} > K_{\text{DMSO}} > K_{75\%} > K_{\text{disol. bf.}}$,

con $\text{HP-}\beta\text{-CD}$: $K_{25\%} > K_{\text{DMSO}} > K_{50\%} > K_{75\%}$.

Considerando la solubilidad de indometacina⁻ en los diferentes medios de disolución, representada en la figura 45, observamos que el comportamiento de las constantes de interacción con $\gamma\text{-CD}$ es prácticamente inverso al comportamiento de la solubilidad de indometacina⁻ en los diferentes medios de disolución. La disminución de la solubilidad del huésped en el disolvente y el aumento de la constante de interacción con las ciclodextrinas nos están indicando la importancia que en la formación de este complejo de inclusión tiene el medio de disolución. El efecto solvofóbico es primordial en la estabilidad de estos complejos. Por el contrario, las constantes de interacción que disminuyen con el aumento de la solubilidad de la molécula huésped manifiestan que son las fuerzas de van der Waals las que contribuyen mayoritariamente a la estabilidad del complejo de inclusión; en estos casos el disolvente no es el factor principal en la formación del complejo de inclusión.

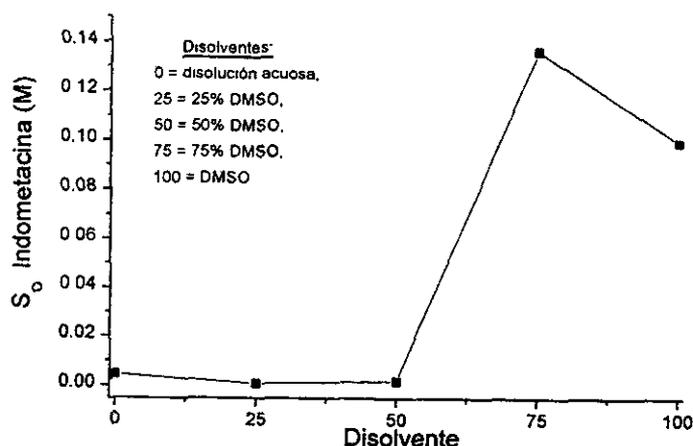


Figura 45. S_o experimentales (indometacina⁻) en los diferentes medios de disolución a 298 K.

La indometacina⁻ muestra la menor solubilidad en los medios de disolución que contienen 25% y 50% DMSO/agua. El grado de solvatación será menor y la intensidad

con la que se incluya en la ciclodextrina será mayor que en los otros medios de disolución. Es en la mezcla 25% DMSO/agua donde la indometacina⁻ muestra mayores constantes de interacción con todas las ciclodextrinas, coincidiendo esto con que es en el único medio de disolución donde se forman complejos de inclusión de tipo 1:2.

K [indo \subset HP- β -CD]⁻ es mayor que K [indo \subset β -CD]⁻ en los medios de disolución donde la indometacina⁻ presenta una menor solubilidad (25% y 50% DMSO). Por el contrario, K [indo \subset HP- β -CD]⁻ es menor que K [indo \subset β -CD]⁻ en los medios de disolución donde la solubilidad de indometacina⁻ es mayor (75% DMSO y DMSO). La hidroxipropilación efectivamente extiende la longitud del cono de la ciclodextrina acentuando su carácter hidrófobo^{121, 137} pudiendo así evitar el que salga o sobresalga el grupo carboxilato al medio de disolución, quedando de esta forma la indometacina⁻ incluida en el seno del cono de la HP- β -CD. Se puede dar la interacción del grupo carboxilato sobresaliente con los grupos OH de las cadenas hidroxipropílicas y de esta forma estabilizar el complejo.

En las disoluciones de 75% DMSO/agua la indometacina⁻ está más solvatada y por ello la inclusión está menos favorecida. Debido a la menor tendencia a incluirse que presenta la indometacina⁻ en este medio de disolución, y al impedimento que en este caso ofrecen las cadenas hidroxipropílicas de la HP- β -CD, el sistema [indo \subset HP- β -CD]⁻ en 75% DMSO/agua muestra los menores valores de constantes de interacción (ver tabla 26).

En contradicción a lo anterior, cuando se agrega DMSO al agua, las interacciones que se dan entre ambas moléculas, las dipolo-dipolo o las de puente de hidrógeno,⁹⁶ son muy fuertes (más que las interacciones agua-agua)⁹⁷ y para la formación de los complejos de inclusión donde la interacción solvofóbica es la que mayoritariamente coopera en su formación, la presencia de estas mezclas DMSO/agua contribuirá en estos casos a aumentar la estabilidad del complejo.

7.5.2. Espectros de resonancia magnética nuclear

La indometacina⁻ exhibe flexibilidad conformacional, presentando un equilibrio en disolución donde pueden existir dos isómeros conformacionales, debido al impedimento rotacional sobre el doble enlace parcial C-N.¹⁵⁶ La figura 46 muestra este equilibrio conformacional; el isómero E, con el anillo *para*-cloro-bencénico próximo al grupo metilo, H 11', y el isómero Z, con el anillo *para*-cloro-bencénico en proximidad espacial al H 7'.

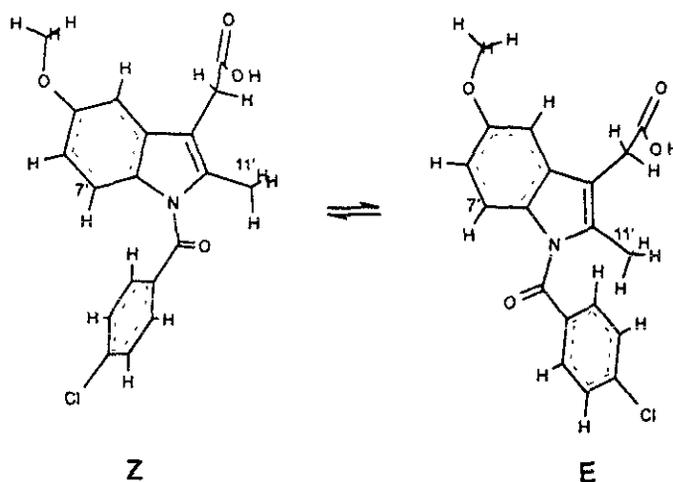


Figura 46. Equilibrio conformacional de la indometacina en disolución.

Hay dos posibles sitios de interacción de la indometacina⁻ con la cavidad de la ciclodextrina, el extremo que contiene el anillo *para*-cloro-bencénico y el extremo que presenta el sistema indólico. Es importante señalar que en ambos casos el anión carboxilato es el que dirige la orientación del huésped en el proceso de inclusión, quedando esta parte cargada del huésped en contacto con el medio de disolución, estabilizando el complejo mediante la interacción con los dipolos de las moléculas del disolvente.²⁷

El análisis de nuestros estudios en ¹H RMN en D₂O puede iniciarse a partir de las figuras 47 y 48.

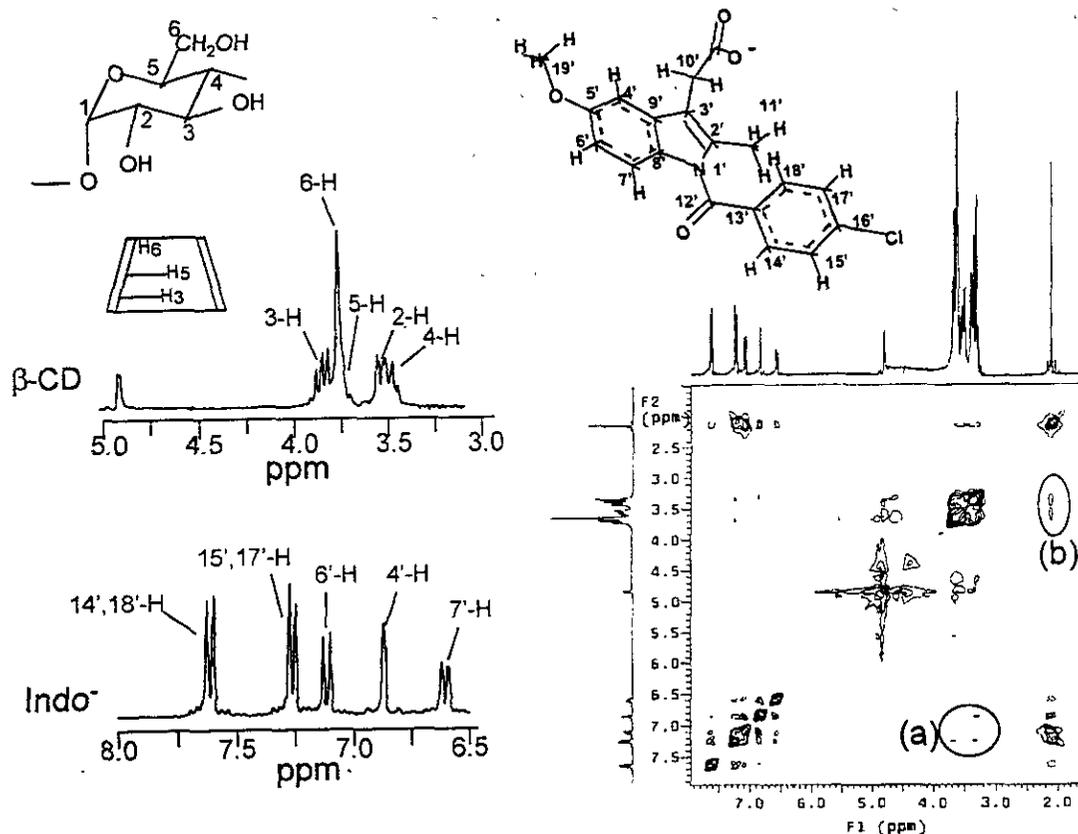


Figura 47. Espectros $^1\text{H-RMN}$ a 300 MHz y 298 K. Izquierda, espectros 1D $^1\text{H-RMN}$ de β -CD e indometacina. Derecha, NOESY del sistema [indometacina- β -CD] en D_2O .

La figura 47 manifiesta modificaciones de las bandas correspondientes a los protones de β -CD en presencia de indometacina, lo que es una clara evidencia de la formación del complejo de inclusión.^{118, 134, 135, 149-151} Las secciones marcadas como (a) y (b) dentro del NOESY del sistema [indometacina- β -CD] constituyen la figura 48. Esta figura 48 nos da la clara evidencia del proceso de inclusión.

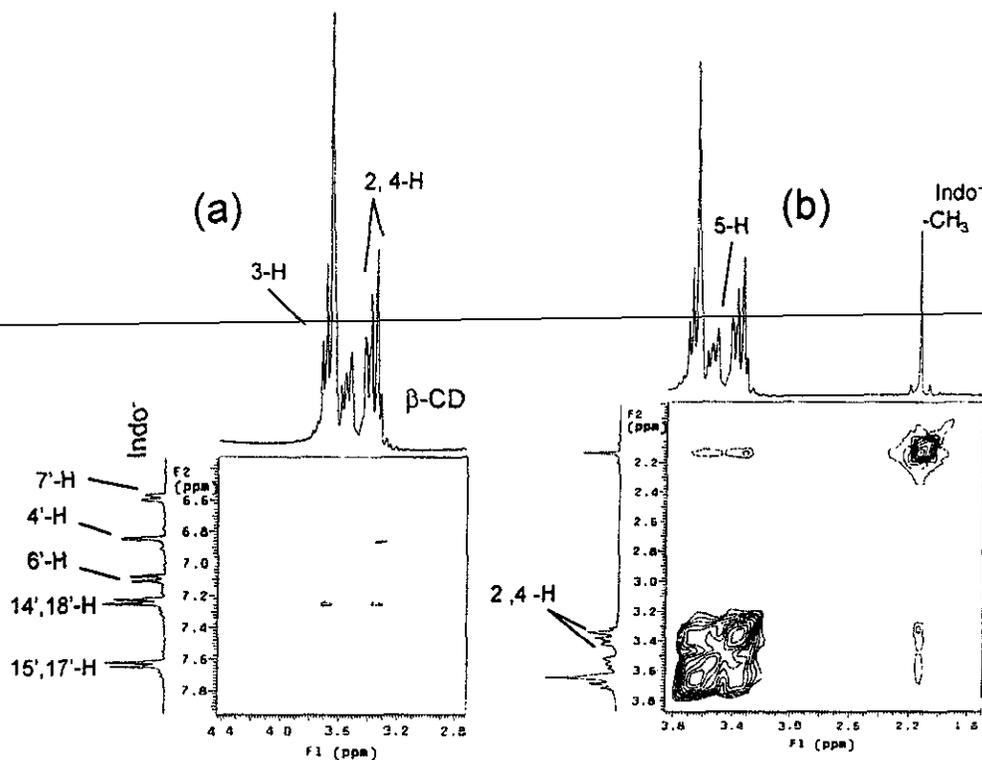


Figura 48. Ampliación de las secciones (a) y (b) del NOESY del sistema $[\text{indo} \subset \beta\text{-CD}]^-$ en D_2O a 300 MHz y 298 K

Para el caso de la figura 48 (a), los H de la indometacina⁻ involucrados en la interacción con β-CD son H-14', 18', 4' y para el caso de la figura 48 (b) son los H-11' del grupo metilo. El H-7' de la indometacina⁻ no presenta interacción con la β-CD. Estas últimas consideraciones nos llevan a pensar que el anillo *para*-cloro-bencénico próximo al grupo metilo, es el que primordialmente está implicado en el proceso de inclusión.

La figura 48 (a) muestra que los hidrógenos del anillo cloro-bencénico son los que están interaccionando con la β-CD, concretamente con el H-3 y H-4 de la β-CD. La figura 48 (b) manifiesta la interacción del grupo -CH₃ de la indometacina⁻ con los H externos de la β-CD. Se revela claramente de este modo que el anillo cloro-bencénico está profundamente insertado en la cavidad lipofílica de la β-CD a través de su parte ancha, y que el grupo metilo de la indometacina⁻ interacciona con la sección externa de este anfitrión.

La posible estructura de este complejo de inclusión se presenta en la siguiente sección, correspondiente a los estudios de mecánica molecular, figura 52 (a).

Podemos pensar que existen dos posibilidades para darse el proceso de inclusión con indometacina⁻, cada una de ellas envolviendo a un extremo de la

indometacina⁻ para formar el complejo de inclusión con β -CD, siendo el complejo con la parte del anillo cloro-bencénico el principal. Analizando la interacción existente, previamente mencionada, entre el H-4' de indometacina⁻ y la β -CD, es factible pensar en la posibilidad de una débil interacción entre los hidrógenos externos de la β -CD y el sistema indólico de la indometacina⁻ (ver figura 48 (a)).

La interacción entre indometacina⁻ y β -CD también se presenta en DMSO. La figura 49 refleja esta interacción intermolecular que se manifiesta esencialmente por el cambio en la multiplicidad de las bandas correspondientes a los hidrógenos de la β -CD y por su leve desplazamiento a mayor campo. La mayor modificación se observa en la sección correspondiente a los H-2 y 4 de β -CD, lo que indica que la interacción con la sección externa de la ciclodextrina es bastante intensa.

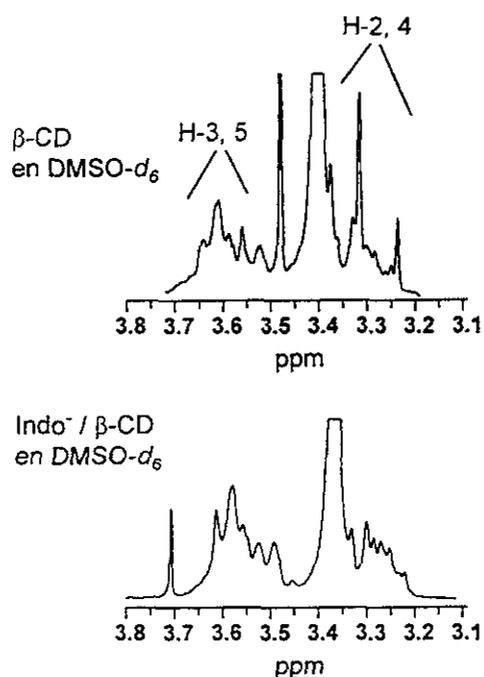


Figura 49. Espectros ^1H -RMN a 300 MHz y 298 K de β -CD e $[\text{indo} \subset \beta\text{-CD}]^-$ en $\text{DMSO-}d_6$.

7.5.3. Valores de otros parámetros termodinámicos

En la tabla 27 se exponen los valores de otros parámetros termodinámicos de los sistemas con indometacina⁻, calculados a partir de las ecuaciones 3 y 4 (ver apéndice 10.2). Éstos sugieren que las interacciones de van der Waals, regidas por cambios favorables de entalpía ($\Delta H_{int} < 0$) y cambios desfavorables de entropía ($\Delta S_{int} < 0$),^{22, 42, 136} son las más importantes fuerzas estabilizadoras de los complejos de inclusión de indometacina⁻ en la mayoría de los medios de disolución, exceptuando en 25% DMSO/agua, donde la contribución es mayoritariamente entrópica ($\Delta S_{int} > 0$).^{22, 50, 89}

CD	Medio de Disolución									
	buffer pH 7.5		25% DMSO		50% DMSO		75% DMSO		DMSO	
	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}
α -CD	-8.10	-0.014	-2.40	+0.010	-2.05	+0.0069	-9.23	-0.015	-9.28	-0.029
β -CD	-13.36	-0.029	-2.42	+0.011	-9.11	-0.019	-8.65	-0.015	-20.15	-0.049
γ -CD	-25.67	-0.073	-1.83	+0.013	-2.73	+0.007	-9.35	-0.016	-39.43	-0.114
HP- β -CD			-2.93	+0.010	-27.04	-0.077	-0.99	+0.006	-1.28	+0.012

Tabla 27. Variables termodinámicas de los sistemas con indometacina⁻ (ΔH_{int} , kcal/mol; ΔS_{int} , kcal/mol K).

Los valores ausentes de ΔH_{int} y ΔS_{int} en los sistemas con indometacina⁻, son debidos a la falta de valores de constantes de interacción, que son necesarias para calcular estos parámetros termodinámicos.

A partir de los cambios de entalpía y entropía para los sistemas en 25% DMSO/agua y en otros casos donde la contribución entrópica positiva está acompañada por una contribución entálpica negativa muy pequeña, no podemos considerar a las fuerzas de van der Waals como las principales fuerzas estabilizadoras de los sistemas. El efecto solvofóbico es el que gobierna la formación de los complejos de inclusión entre indometacina⁻ y ciclodextrinas en estas situaciones, y se ilustra claramente en 25% DMSO/agua. En este medio de disolución la solubilidad de la indometacina⁻ es menor que en el resto de los disolventes en estudio (ver figura 45).

En 50% DMSO/agua el efecto solvofóbico presenta también su máxima contribución a la estabilización de los complejos [indo \subset α -CD]⁻ e [indo \subset γ -CD]⁻.

Esta interacción solvofóbica, como ya se mencionó con anterioridad, reside en el hecho de que las fuerzas de cohesión entre las moléculas de disolvente (agua, mezcla DMSO/agua y DMSO) son más fuertes que las existentes entre las moléculas de soluto

y disolvente.^{4, 49, 51} Esto contribuye a que las constantes de interacción en medios que contienen mezcla DMSO/agua sean en ocasiones más intensas que las que se presentan en los otros medios de disolución, debido a que los puentes de hidrógeno que se forman entre el DMSO y el agua son más fuertes que los que se forman entre las moléculas de agua.⁹⁷

En los medios de disolución donde la indometacina⁻ es más soluble (DMSO y 75% DMSO/agua), los complejos de inclusión [indo ⊂ α-CD]⁻, [indo ⊂ β-CD]⁻ e [indo ⊂ γ-CD]⁻ son esencialmente estabilizados a partir de las interacciones de van der Waals.

Mediante las gráficas de van't Hoff obtuvimos los valores de las variables termodinámicas. En la figura 50 se muestra el sistema que presenta el comportamiento más homogéneo de todos los sistemas estudiados con indometacina⁻.

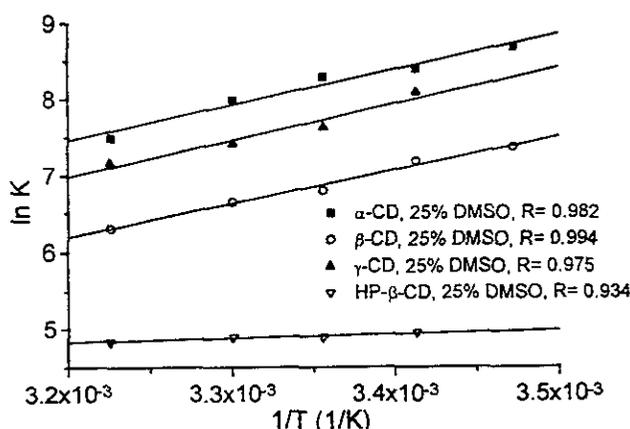


Figura 50. Gráficas de van't Hoff de los sistemas de indometacina⁻ en 25% DMSO/agua.

25% DMSO/agua es el único medio de disolución donde encontramos complejos de tipo 1:2 y donde las gráficas de van't Hoff presentan comportamiento similar, excepto los complejos [indo ⊂ HP β-CD]⁻.

Podemos decir que en el caso de 25% DMSO/agua el medio de disolución influye de igual forma sobre las distintas ciclodextrinas al formar los complejos de inclusión.

En la figura 51 se representan las gráficas de compensación entalpía-entropía para la complejación de indometacina⁻ con α-, β-, γ-CD y HP-β-CD en los distintos

medios de disolución estudiados. Estas variaciones entálpica (ΔH_{int}) graficadas frente a las variaciones entrópica (ΔS_{int}) muestran buenas correlaciones lineales.

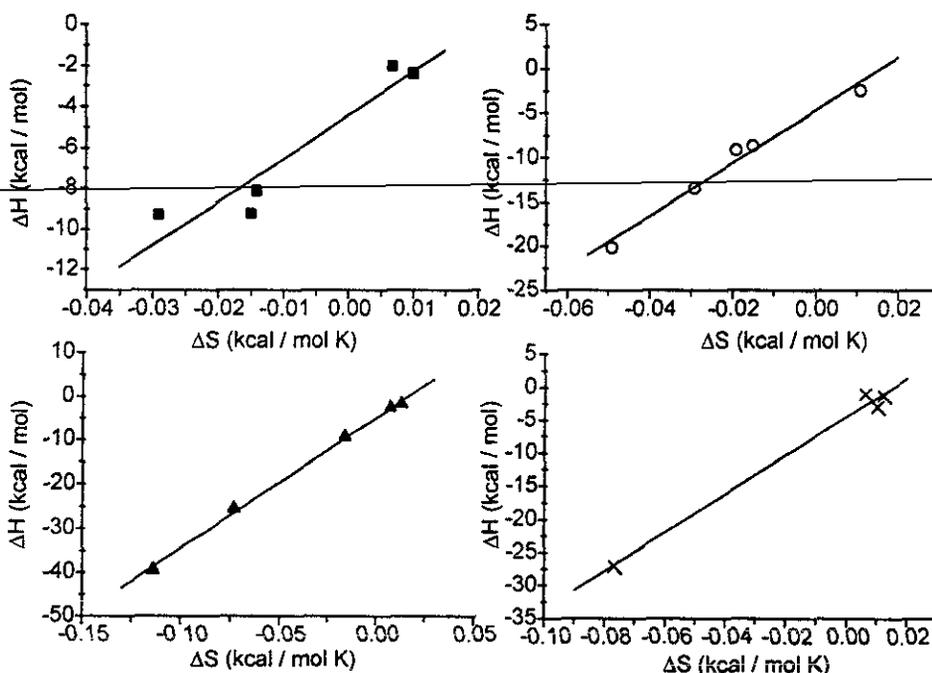


Figura 51. Relación compensatoria de variables termodinámicas de los sistemas [indo \subset CD]⁻ en los diferentes medios de disolución. (■) α -CD con $R=0.946$, (○) β -CD con $R=0.989$, (▲) γ -CD con $R=0.999$ y (X) HP- β -CD con $R=0.995$.

Las gráficas de la figura 51 indican que la interacción entre indometacina⁻ y las ciclodextrinas tiende a valores cada vez mayores de ΔH_{int} y ΔS_{int} , poniendo esto de manifiesto que la reacción de complejación está gobernada por el fenómeno de solvatación.

Estas relaciones lineales entre ΔH_{int} y ΔS_{int} indican que el cambio resultante en ΔH_{int} es proporcional al cambio en el término ΔS_{int} . El fenómeno de la inclusión en los sistemas huésped-anfitrión, causado por interacciones débiles, puede ser discutido de forma general en términos de efecto de compensación entalpía-entropía.¹⁵⁷

7.5.4. Estudio de la mecánica molecular

Basándonos en el estudio realizado en resonancia magnética nuclear en D_2O , y considerando la existencia del equilibrio conformacional que presenta la indometacina en disolución, los resultados de mecánica molecular están de acuerdo con que el

isómero Z de indometacina⁻ es 0.497 kcal/mol más estable que el isómero E, y es este isómero E de indometacina⁻ el que presenta complejos de inclusión más estables en la interacción con la β -CD. La energía total del complejo [indo (E) \subset β -CD]⁻ es 0.107 kcal/mol menor que la correspondiente al complejo [indo (Z) \subset β -CD]⁻.

La variación de energía asociada con el proceso de inclusión fue calculada para ambas posibilidades de inclusión de la molécula de indometacina⁻ (por la sección que contiene el anillo *para*-clorol-bencénico y por la sección que contiene el sistema indólico). Tanto en la inclusión del isómero E como la inclusión del isómero Z, la energía mínima total del sistema es menor cuando se produce la inclusión del anillo *para*-cloro-bencénico de la indometacina⁻.

La figura 52 muestra las estructuras de los complejos de inclusión cuando el isómero E de la indometacina⁻ se incluye a través del anillo *para*-cloro-bencénico (figura 52 (a)) y cuando se incluye a través del sistema indólico (figura 52 (b)). La estructura de la figura 52 (a) es la más probable.

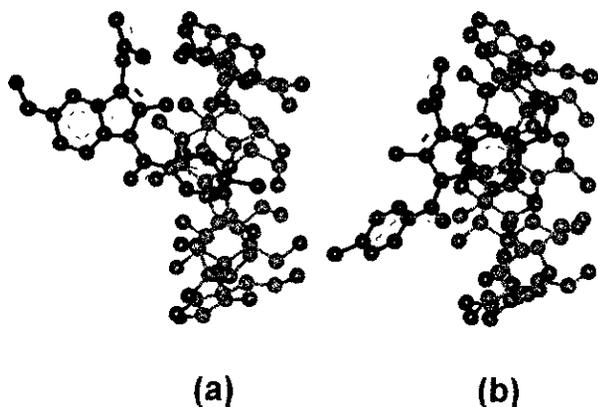


Figura 52. Posible estructura de los complejos de inclusión en medio acuoso del isómero E de indometacina⁻ con β -CD.

7.6. Fenilbutazona y oxifenbutazona

La fenilbutazona es un agente anti-inflamatorio de la familia de las pirazolidindionas. Su principal efecto adverso es la irritación gastrointestinal. La oxifenbutazona es uno de los principales metabolitos de la fenilbutazona y se considera que es más tóxico que la propia fenilbutazona.⁶⁵ Ambas sustancias se presentan como polvo de color blanco, prácticamente sin olor y con un ligero sabor amargo.^{66, 67} La fenilbutazona es producida por el laboratorio Remir.¹¹⁵

Los valores experimentales de solubilidad obtenidos para estos dos anti-inflamatorios, en los diferentes medios de disolución en estudio, se presentan a continuación. Para fenilbutazona, $S_{o(\text{buffer})}$ 2.02×10^{-2} M, $S_{o(25\%)}$ 1.26×10^{-3} M, $S_{o(50\%)}$ 1.52×10^{-3} M, $S_{o(75\%)}$ 3.4×10^{-2} M y $S_{o(\text{DMSO})}$ 7.8×10^{-2} M. Para oxifenbutazona, $S_{o(\text{buffer})}$ 6.98×10^{-3} M, $S_{o(25\%)}$ 1.35×10^{-2} M, $S_{o(50\%)}$ 5.4×10^{-2} M, $S_{o(75\%)}$ 0.117 M y $S_{o(\text{DMSO})}$ 0.205 M.

7.6.1. Espectros de absorción

Las constantes de interacción de estas dos moléculas huéspedes, obtenidas a partir de las ecuaciones 1 y 2 (ver apéndice 10.1), se muestran en las tablas 28-31 para el caso de la fenilbutazona y 32-35 para la oxifenbutazona.

Temperatura (K)	Medio de Disolución			
	Buffer pH 7.5 $K(1:2)$, M^{-2}	25% DMSO $K(1:1)$, M^{-1}	75% DMSO $K(1:1)$, M^{-1}	DMSO $K(1:1)$, M^{-1}
288	1600 ± 100	7000 ± 2000		1080 ± 60
293	2100 ± 500	4500 ± 800 (*)		580 ± 40
298	4000 ± 600	6100 ± 900	300 ± 100	540 ± 80
303	6000 ± 1000	5200 ± 900	370 ± 50	400 ± 70
310	8000 ± 1000	4700 ± 800	900 ± 400	320 ± 30

Tabla 28. Constantes de interacción del sistema [fenilbutazona \subset α -CD].

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 $K(1:1)$	25% DMSO $K(1:1)$	50% DMSO $K(1:1)$	75% DMSO $K(1:1)$	DMSO $K(1:1)$
288	3100 ± 700		1200 ± 200	360 ± 50	3700 ± 900
293	8000 ± 5000 (*)		1200 ± 200	230 ± 20	3000 ± 1000 (*)
298	7000 ± 2000	4900 ± 600	1200 ± 300	100 ± 2	1400 ± 300
303	6000 ± 1000	4000 ± 1000	1200 ± 200	50 ± 2	100 ± 1 (*)
310	4900 ± 800	3200 ± 500	1200 ± 200		450 ± 50

Tabla 29. Constantes de interacción del sistema [fenilbutazona \subset β -CD], (M^{-1}).

Temperatura (K)	Medio de Disolución			
	Buffer pH 7.5 K(1:1)	25% DMSO K(1:1)	75% DMSO K(1:1)	DMSO K(1:1)
288		7100 ± 900	7400 ± 400	590 ± 80
293		3700 ± 600	11000 ± 2000	400 ± 100
298	1900 ± 400	3600 ± 500	15000 ± 3000	230 ± 60
303	1400 ± 300	4000 ± 1000 (*)	14000 ± 2000	120 ± 30
310	1100 ± 300	2440 ± 10		

Tabla 30. Constantes de interacción del sistema [fenilbutazona \subset γ -CD], (M^{-1}).

Temperatura (K)	Medio de Disolución		
	50% DMSO K(1:1)	75% DMSO K(1:1)	DMSO K(1:1)
288	2200 ± 200	140 ± 10	1480 ± 40
293	1900 ± 200	88 ± 5	1000 ± 300
298	1800 ± 200	61 ± 5	700 ± 100
303	1619 ± 6	52 ± 3	50 ± 6 (*)
310	1400 ± 200	38 ± 2	200 ± 40

Tabla 31. Constantes de interacción del sistema [fenilbutazona \subset HP- β -CD], (M^{-1}).

Temperatura (K)	Medio de Disolución				
	Buffer pH 7.5 K(1:2), M^{-2}	25% DMSO K(1:1), M^{-1}	50% DMSO K(1:1), M^{-1}	75% DMSO K(1:1), M^{-1}	DMSO K(1:1), M^{-1}
288	4200 ± 200	510 ± 70	560 ± 30	370 ± 40	700 ± 100
293	1110 ± 40	1000 ± 300	900 ± 100	510 ± 60	6300 ± 200
298	950 ± 70	510 ± 60	1200 ± 100	600 ± 100	3300 ± 400
303	400 ± 20	700 ± 200	1200 ± 100	700 ± 100	4000 ± 2000 (*)
310	110 ± 7	700 ± 100	1600 ± 200	470 ± 60	1800 ± 400

Tabla 32. Constantes de interacción del sistema [oxifenbutazona \subset α -CD].

Temperatura (K)	Medio de Disolución		
	Buffer pH 7.5 K(1:1)	25% DMSO K(1:1)	50% DMSO K(1:1)
288	1800 ± 300	10.0 ± 0.4	220 ± 10
293	1200 ± 100	26 ± 1	240 ± 20
298	1000 ± 20	58 ± 3	260 ± 20
303	970 ± 80	61 ± 3	300 ± 30
310	600 ± 100	55 ± 3	250 ± 30

Tabla 33. Constantes de interacción del sistema [oxifenbutazona \subset β -CD], (M^{-1}).

Temperatura (K)	Medio de Disolución	
	50% DMSO K(1:1)	DMSO K(1:1)
288	1100 ± 20	1650 ± 60
293	240 ± 30	2000 ± 500 (*)
298	320 ± 40	1300 ± 100
303	490 ± 90	1300 ± 80
310	500 ± 100	1070 ± 80

Tabla 34. Constantes de interacción del sistema [oxifenbutazona \subset γ -CD], (M^{-1}).

Temperatura (K)	Medio de Disolución		
	Buffer pH 7.5 $K(1:1), M^{-1}$	50% DMSO $K(1:1), M^{-1}$	75% DMSO $K(1:2), M^{-2}$
288	700 ± 100	900 ± 100	23000 ± 3000
293	640 ± 40	1000 ± 200	11000 ± 1000
298	600 ± 100	800 ± 100	11000 ± 2000
303	530 ± 80	1200 ± 200	1700 ± 3000
310	460 ± 60	1100 ± 300	9000 ± 1000

Tabla 35. Constantes de interacción del sistema [oxifenbutazona \subset HP- β -CD].

Fenilbutazona y oxifenbutazona no presentan fluorescencia en ninguno de los medios de disolución en estudio, ni en las condiciones de trabajo empleadas.

Como en todos los casos anteriores, a pesar de la repetición en las mediciones para obtener los valores de las constantes de interacción a las distintas temperaturas y en los diferentes medios de disolución, en alguno de los casos no fue posible porque los valores obtenidos de absorbancia no se ajustaron a ninguna de las ecuaciones empleadas para el cálculo de las constantes de interacción. Por esta razón hay ausencia de algunos valores de K en las tablas 28-31 y 32-35.

Los valores de las constantes de interacción que aparecen en las tablas 28-31, 32 y 34, marcadas como (*), son valores de constantes de interacción que no se tuvieron en cuenta para el cálculo de $\Delta H_{int.}$ y $\Delta S_{int.}$, debido al alto valor de su desviación standard.

Observando los valores de las constantes de interacción correspondientes a la fenilbutazona, tablas 28-31, la mayoría de los sistemas presentan comportamiento similar, con constantes de interacción que disminuyen cuando aumenta la temperatura. Como en casos anteriores, nuevamente la explicación de esta tendencia se debe al aumento de la movilidad molecular huésped-CD que provoca la disociación de los complejos.¹²³ Lo mismo ocurre en algunos sistemas con oxifenbutazona, tablas 32-35.

Por el contrario, en otros de nuestros sistemas donde las constantes de interacción aumentan con la temperatura,¹³⁸ es posible pensar nuevamente en un aumento de la movilidad molecular, pero en este caso será la movilidad de las moléculas huésped y disolvente. El efecto solvofóbico en estas situaciones es tan fuerte que phen y oxifen formarán complejos muy estables con CDs. Esto provocará una interacción más fuerte huésped-CD que huésped-disolvente. Como resultado las constantes de interacción se incrementarán con la temperatura.

En la figura 53 se observan los cambios espectrales del sistema $[\text{phen} \subset \alpha\text{-CD}_2]$ en disolución buffer en función de la concentración de $\alpha\text{-CD}$.

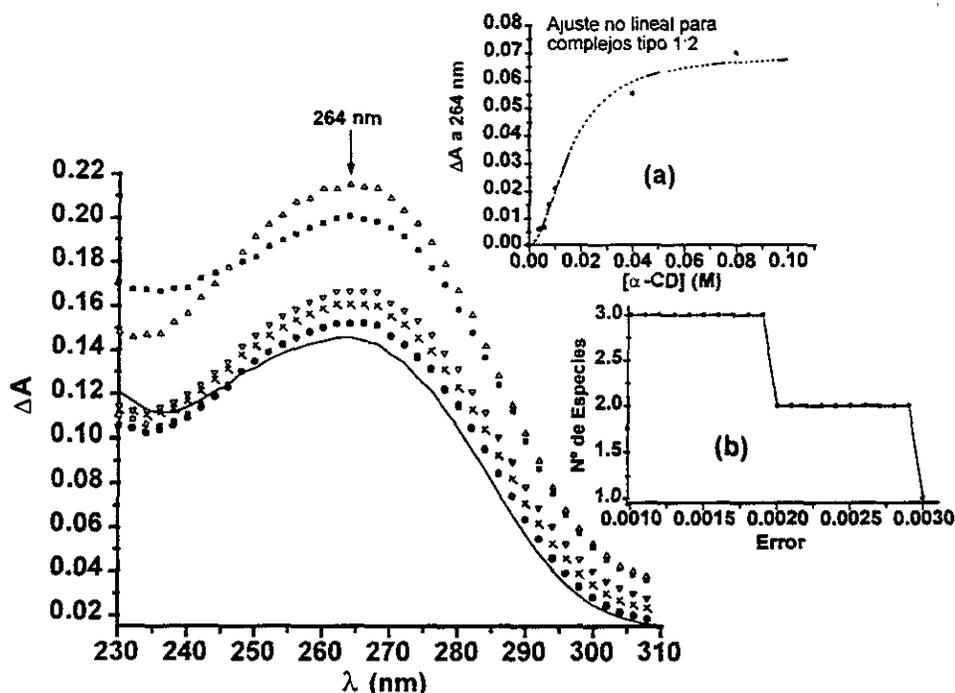


Figura 53. Espectros de absorción del sistema $[\text{phen} \subset \alpha\text{-CD}]$, $[\text{phen}] = \text{cte} = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ y $[\alpha\text{-CD}]$ es (—) 0 M; (□) $4 \times 10^{-3} \text{ M}$; (●) $6 \times 10^{-3} \text{ M}$; (X) $8 \times 10^{-3} \text{ M}$; (▽) $1 \times 10^{-2} \text{ M}$; (■) $4 \times 10^{-2} \text{ M}$; (Δ) $8 \times 10^{-2} \text{ M}$. (a) Ajuste no lineal para un complejo de inclusión de tipo 1:2; (b) cálculo del número de especies en disolución.

La inserción (a) muestra un típico ajuste no lineal correspondiente a la saturación de complejos tipo 1:2 (SL_2). La inserción (b) representa un tratamiento gráfico que proporciona evidencia de la existencia de diversas especies en disolución,¹⁵⁸ (ver apéndice 10.4). En ella nos referimos a un complejo tipo 1:2. Las tres especies en disolución son probablemente los complejos 1:1 y 1:2 y la $\alpha\text{-CD}$ libre; y las dos especies en disolución son los complejos 1:1 y 1:2. Como sugirieron Ueno *et al.*¹²⁶ y Pendergast y colaboradores¹⁵⁹ en 1981 y 1984, respectivamente, la concentración de huésped libre es tan pequeña que se puede considerar despreciable.

Tenemos otros dos casos similares, relativo al número de especies en disolución, con complejos 1:2, $[\text{oxifen} \subset \alpha\text{-CD}_2]$ en buffer y $[\text{oxifen} \subset \text{HP-}\beta\text{-CD}_2]$ en 75% DMSO. Otra vez el número de especies en disolución disminuye al incrementar el error, pero siempre correspondiente a un complejo 1:2.

En los casos de complejos 1:1, éstos generan dos especies en disolución, aparentemente el complejo 1:1 y la CD libre. Como ya se comentó anteriormente, la concentración de huésped libre puede considerarse despreciable.^{126, 159}

La figura 54 refleja típicos ajustes no lineales para complejos tipo 1:1, obtenidos a partir de los ajustes no lineales con la ecuación 1 (ver apéndice 10.1).

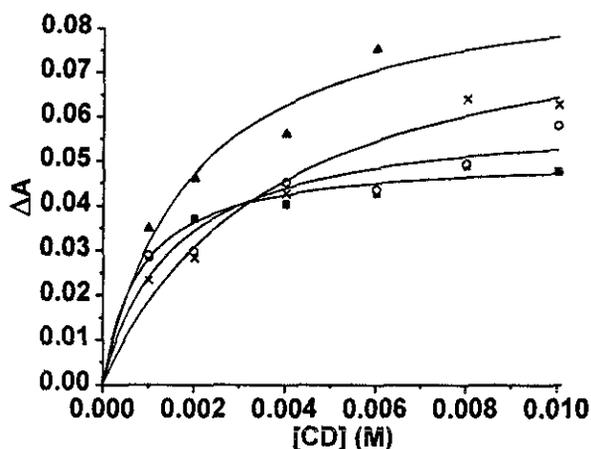


Figura 54. Típicos ajustes no lineales para complejos tipo 1:1 a 298 K. (O) [phen \subset HP- β -CD] en DMSO; (■) [oxifen \subset α -CD] en 50% DMSO; (▲) [oxifen \subset α -CD] en 25% DMSO; (X) [oxifen \subset β -CD] en 50% DMSO.

Los sistemas con oxifenbutazona muestran la misma tendencia general que los sistemas con fenilbutazona, ver tablas 32-35, donde los valores de las constantes de interacción disminuyen con la temperatura.

Por el contrario hay algunos sistemas donde el valor de la constante de interacción aumenta con el incremento de la temperatura. Es factible nuevamente pensar en un aumento de la movilidad molecular, pero en este caso será aumento de la movilidad de las moléculas huésped y disolvente.¹³⁸ El efecto solvofóbico en estos casos es tan fuerte que ambas moléculas huésped formarán complejos muy estables con las CDs. Esto provocará una mayor interacción entre las moléculas huésped-CD que entre las moléculas huésped-disolvente. Como resultado las constantes de interacción aumentarán con la temperatura.

Como ya se ha mencionado en múltiples ocasiones, el disolvente tiene notable importancia en los procesos de inclusión.²⁹⁻³⁸ Según aumenta la superficie de contacto del huésped con la cavidad de la ciclodextrina el término entálpico se hace más negativo y la contribución entrópica a la interacción es menor.⁴² En general, en el mismo medio de disolución, las constantes de interacción son mayores con las

ciclodextrina de menor diámetro externo de cavidad. Estas corresponden a la α - y la HP- β -CD. El comportamiento de los complejos de inclusión de la HP- β -CD es similar al de la α -CD. Podemos considerar que estas dos ciclodextrinas presentan semejante tamaño de diámetro externo como consecuencia del impedimento estérico que muestran las cadenas hidroxipropílicas de la HP- β -CD. Si tenemos en cuenta esta situación, el inicio de la cavidad de la HP- β -CD puede ser considerado a partir de los grupos hidroxipropilos externos. Los grupos hidroxipropilo tienen movimiento libre. Esta hidroxipropilación significa una extensión del diámetro interno de la cavidad de la β -CD, lo que acentúa su carácter hidrófobo.^{121, 137}

En todos los sistemas de estudio con estas moléculas huéspedes, sólo hay tres casos de complejos 1:2, dos de ellos con α -CD en disolución buffer con ambas moléculas huésped y [oxifen \subset HP- β -CD₂] en 75% DMSO. Como ya dijimos, en vista del tamaño del diámetro externo de la α -CD es fácil evitar el impedimento estérico. Si tenemos en cuenta la posibilidad de complejo 1:2 entre oxifen y HP- β -CD, es factible este hecho tomando en consideración que esta ciclodextrina presenta un diámetro externo semejante al de la α -CD. Una de las moléculas de HP- β -CD formará complejo con el benceno no sustituido y la otra probablemente se asociará con el grupo hidroxilo del otro anillo bencénico. Este sistema [oxifen \subset HP- β -CD₂] en 75% DMSO presenta valores de constantes de interacción mayores que los otros complejos de tipo SL₂ de estas dos moléculas huéspedes, [phen \subset α -CD₂] y [oxifen \subset α -CD₂] en disolución buffer, ver tabla 35. Este hecho sugiere la presencia de una fuerza eficiente en la estabilización de este complejo. Se puede pensar en los puentes de hidrógeno, ya que éstos estabilizan intensamente los complejos de inclusión con ciclodextrinas,^{47, 50, 60} y son posibles en este caso. Como informaron Tabushi y coautores,⁴⁴ generalmente una expansión de la cavidad hidrófoba de la ciclodextrina produce un aumento en la estabilidad de huésped. En los otros dos casos de complejos 1:2 con α -CD, esta α -ciclodextrina carece de cadenas laterales prolongadas que ayudarían a estabilizar fuertemente los complejos.

Los valores de las constantes de interacción del complejo [oxifen \subset α -CD₂] que se presentan en disolución buffer (tabla 32) presentan pequeñas magnitudes en comparación con los valores de las constantes de interacción de tipo 1:1 expuestas en

la misma tabla. A pesar de que la α -CD es una de las ciclodextrinas que tiene menor tamaño de diámetro externo, debido a la disposición de los anillos bencénicos en la estructura de la oxifenbutazona (ver la estructura de la oxifenbutazona en la figura 57 de la sección correspondiente a resonancia magnética nuclear), y al hecho de que la inclusión es a través del anillo bencénico de la oxifenbutazona, la formación de complejos 1:2 probablemente encontrará impedimento estérico entre las dos moléculas de α -CD. Por tanto, es posible pensar que la interacción existente entre dos moléculas de α -CD y una molécula de oxifenbutazona será más débil que la interacción que se presente entre una molécula de ciclodextrina y una molécula de oxifenbutazona.

Como consideraciones generales de lo contemplado con los estudios de absorción electrónica, es posible observar que las constantes de interacción de oxifenbutazona muestran menor error que las constantes de interacción de fenilbutazona. También podemos observar que ambas estructuras sólo difieren en el grupo hidroxilo que está presente en la oxifenbutazona, por ello es posible pensar que este grupo hidroxilo de la oxifenbutazona contribuye a una mayor estabilización por asociarse con las CDs o con el medio de disolución.

Se puede observar que tanto en este capítulo, correspondiente a los estudios de fenilbutazona y oxifenbutazona, como en los capítulos anteriores correspondientes a los estudios de las otras moléculas huéspedes, los valores de las constantes de interacción informados presentan valores de desviaciones standard relativamente bajas en algunos casos, y relativamente altas en otros. Diversos autores han investigado y publicado sobre los complejos de inclusión huésped-ciclodextrina, y en muchos casos los valores de las desviaciones standard correspondientes a las constantes de interacción son muy considerables.¹⁶⁰⁻¹⁶⁴ Estas discrepancias ponen de manifiesto la gran variedad de factores que están involucrados en el fenómeno de la complejación entre huésped y ciclodextrina, que hacen de estos complejos de inclusión unos sistemas complicados de estudiar por su dinámica en si.

7.6.2. Espectros de resonancia magnética nuclear

Se realizaron estudios de RMN para obtener información estructural sobre estos complejos de inclusión. Las figuras que se presentan a continuación muestran las interacciones en medio acuoso entre phen y oxifen con β -CD. En la figura 55 se analiza el sistema [phen \subset β -CD] en D_2O .

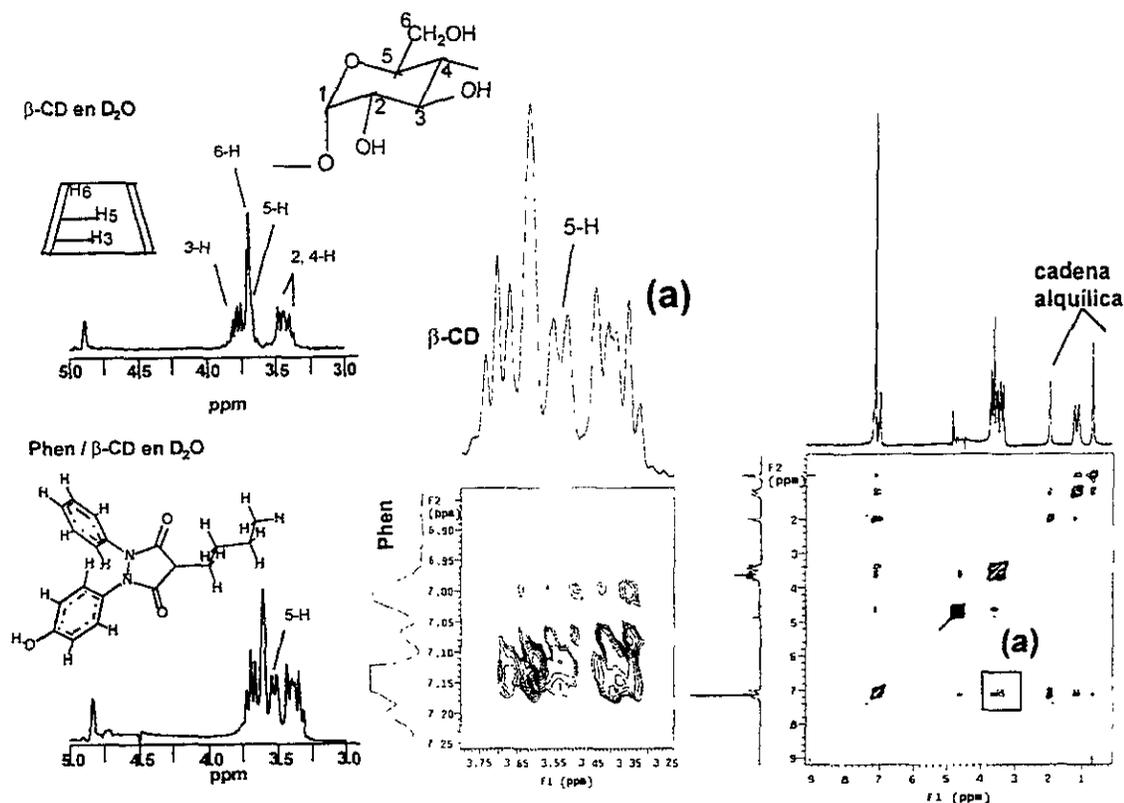


Figura 55. Espectros 1H RMN a 300 MHz y 298 K de β -CD y [fenilbutazona \subset β -CD] en D_2O . Izquierda, espectros 1D 1H RMN de β -CD y [fenilbutazona \subset β -CD]. Derecha, NOESY del sistema [fenilbutazona \subset β -CD]. Centro, ampliación de la sección (a) del NOESY del sistema [fenilbutazona \subset β -CD].

El NOESY que se presenta completo en la figura 55 manifiesta que no existe interacción entre la β -CD y la cadena alquímica de la molécula de fenilbutazona.

Se observa el claro desplazamiento de la banda correspondiente al H-5 de la β -CD (0.13 ppm) que confirma la formación del complejo de inclusión.^{118, 134, 135, 149-151} Este H-5 se localiza en el interior de la cavidad de la CD próximo a la parte estrecha. Las señales correspondientes a los H externos de la β -CD están significativamente modificados. Hay una clara señal de interacción que también se manifiesta en el espectro NOESY, y es la que se amplió (figura 47 sección (a)). Esto sugiere que hay

interacción con la sección interna y externa de la β -CD. Las bandas correspondientes al H-3 no están alteradas con respecto a la β -CD sola en D_2O . Este H-3 está en el interior de la cavidad de la CD próximo a la sección ancha. Si a esto añadimos que existe una señal donde se expone la interacción con el H-6 de la β -CD que se localiza en la proximidad de la sección estrecha de la CD, podemos asegurar que el proceso de interacción se lleva a cabo por la parte estrecha de la β -CD. Sólo uno de los anillos bencénicos se incluye (6.95 ppm - 7.25 ppm), el resto permanece en contacto con la sección externa y con el disolvente.

Debido al tamaño del diámetro interno de la β -CD y la orientación y distancia de los dos bencenos de phen, es difícil pensar en la posibilidad de un complejo [phen \subset β -CD₂]. El impedimento estérico se haría presente en esta situación.

La interacción entre β -CD y fenilbutazona en DMSO se muestra en la figura 56.

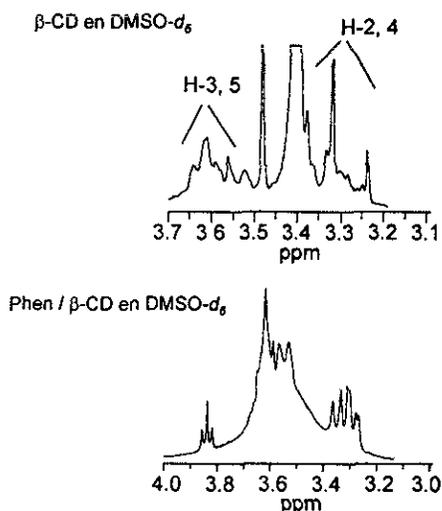


Figura 56. Espectros 1H RMN a 300 MHz y 298 K de β -CD y [fenilbutazona \subset β -CD] en $DMSO-d_6$.

Se percibe un leve desplazamiento hacia mayor campo de las bandas correspondientes a los hidrógenos internos de la β -CD, y una intensa modificación de las bandas correspondientes a los hidrógenos externos de este anfitrión. Esto es indicio de que el grado de inclusión es pequeño y que la interacción se da en su mayor parte con la sección externa de la β -CD. La interacción de estas dos moléculas en DMSO no es tan intensa como la que presentan en medio acuoso, y esto se puede afianzar observando los valores de las constantes de interacción presentes en la tabla 29 en este capítulo.

Para el caso de oxifen y β -CD en D_2O , figura 57, nuevamente el NOESY completo muestra que no existe interacción entre la β -CD y la cadena alquímica de la molécula de oxifenbutazona. También se observa el desplazamiento de la banda correspondiente al 5-H de la β -CD (0.08 ppm) confirmando así la formación del complejo de inclusión,^{118, 134, 135, 149-151} en este caso con el benceno no sustituido, cuyas bandas se encuentran entre 6.9 ppm y 7.3 ppm.

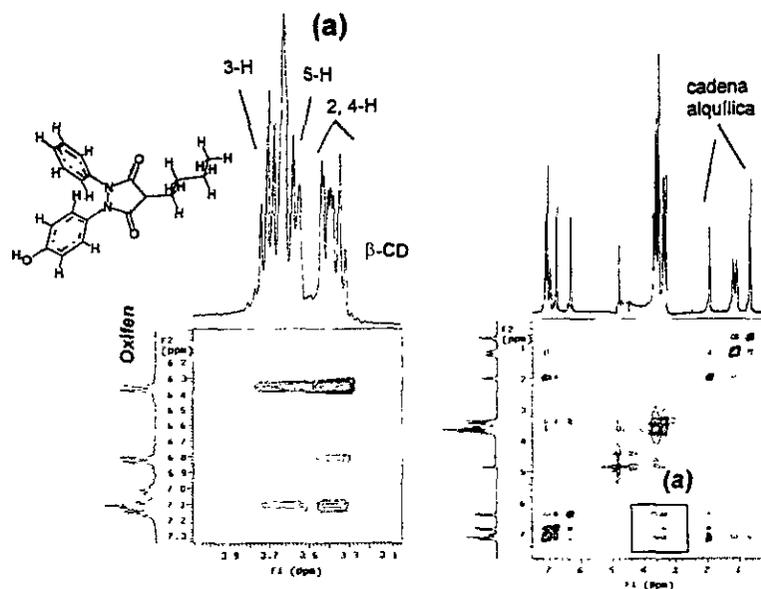


Figura 57. Espectros 2D 1H RMN a 300 MHz y 298 K del sistema [oxifenbutazona \subset β -CD] en D_2O . Derecha, NOESY del sistema [oxifenbutazona \subset β -CD]. Izquierda, ampliación de la sección (a) del NOESY del sistema [oxifenbutazona \subset β -CD].

Las señales correspondientes al H-3 de la β -CD no están modificadas. Debido a este particular y reflexionando sobre la localización del H-3 en el interior de la cavidad de la β -CD, es posible nuevamente pensar que el proceso de inclusión es por la sección estrecha de esta β -CD. El benceno no sustituido es el que presenta la interacción con el interior de la CD, la otra parte es la que permanece en contacto con la parte externa.

Las bandas que corresponden a los protones externos de la β -CD están ligeramente desplazadas y modificadas en su forma. La interacción entre β -CD y el anillo bencénico sustituido (6.3 ppm - 6.9 ppm) es principalmente con la sección externa. Una intensa señal de esta interacción se observa en el NOESY. Sólo el anillo bencénico no sustituido (6.9 ppm - 7.3 ppm) se incluye en la cavidad de la β -CD, el

7.6.3. Valores de otros parámetros termodinámicos

Los valores de ΔH_{int} y ΔS_{int} para los sistemas con phen y oxifen, obtenidos a partir de las ecuaciones 3 y 4 (ver apéndice 10.2), se presentan en las tablas 36 y 37 expuestas a continuación.

CD	Medio de Disolución									
	buffer pH 7.5		25% DMSO		50% DMSO		75% DMSO		DMSO	
	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}
α -CD	+14.09	+0.064	-3.39	+0.006			+17.17	+0.069	-9.92	-0.021
β -CD	+4.17	+0.031	-6.64	-0.005	+0.059	+0.014	-22.71	-0.067	-16.94	-0.043
γ -CD	-7.58	-0.010	-8.54	-0.012			+7.51	+0.044	-18.50	-0.051
HP- β -CD					-3.48	+0.003	-9.93	-0.025	-16.55	-0.042

Tabla 36. Variables termodinámicas de los sistemas con fenilbutazona
(ΔH_{int} , kcal/mol; ΔS_{int} , kcal/mol K).

CD	Medio de Disolución									
	buffer pH 7.5		25% DMSO		50% DMSO		75% DMSO		DMSO	
	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}
α -CD	-27.44	-0.079	-2.45	+0.021	+7.56	+0.039	+7.11	+0.036	-12.78	-0.027
β -CD	-7.73	-0.012	+21.49	+0.079	+3.49	+0.023				
γ -CD					+8.88	+0.041			-3.52	+0.003
HP- β -CD	-3.38	+0.001			+2.18	+0.021	-1.69	+0.013		

Tabla 37. Variables termodinámicas de los sistemas con oxifenbutazona
(ΔH_{int} , kcal/mol; ΔS_{int} , kcal/mol K).

Los valores ausentes de ΔH_{int} y ΔS_{int} en los sistemas con fenilbutazona y oxifenbutazona, son debidos a la falta de valores de constantes de interacción, que son necesarias para calcular estos parámetros termodinámicos.

La gráficas que a continuación se presentan en la figura 59 señalan el diferente comportamiento de estas dos moléculas huésped con las CDs en dos medios de disolución.

resto de la molécula queda en contacto con la sección externa del anfitrión y con el disolvente.

Comparando las figuras 55 (a) y 57 (a) se comprueba que las señales de los espectros NOESY son más intensas en el caso de fenilbutazona que en el caso de oxifenbutazona. Esto sugiere que en medio acuoso a 298 K la interacción [phen \subset β -CD] es más intensa que la interacción [oxifen \subset β -CD]. Esto está de acuerdo con las constantes de interacción de estos sistemas, expuestas en las tablas 29 y 33, respectivamente, $K_{[\text{phen} \subset \beta\text{-CD}]} = 7000 \pm 2000$ y $K_{[\text{oxifen} \subset \beta\text{-CD}]} = 1000 \pm 20$.

Ambos huéspedes presentan interacción con α -CD, figura 58.

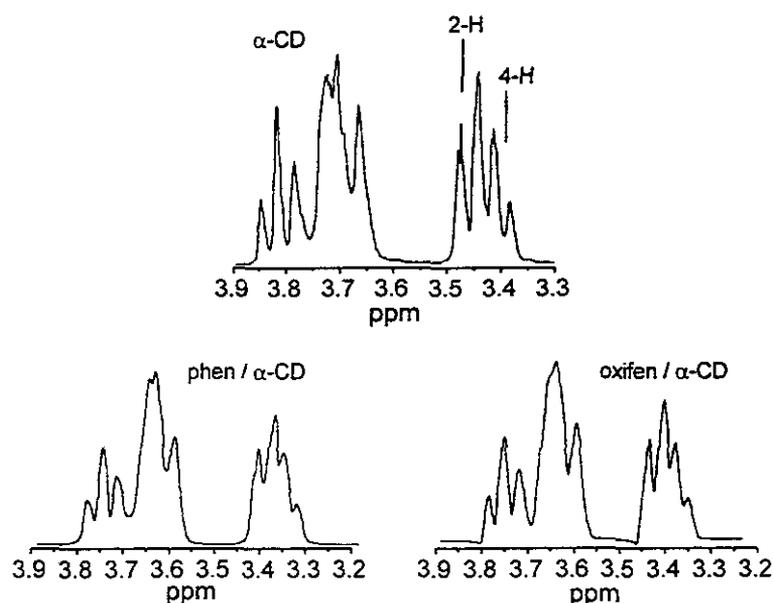


Figura 58. Modificación de las bandas de la α -CD en los espectros ¹H NMR a 300 MHz y 298 K de los sistemas [phen \subset α -CD] y [oxifen \subset α -CD] en D₂O.

El desdoblamiento y desplazamiento de bandas está más intensamente marcado en la región de los hidrógenos externos. La estequiometría obtenida para estos complejos fue de tipo 1:2 (ver tablas 26 y 30). El grado de impedimento estérico con que pudieran encontrarse las ciclodextrinas se pone de manifiesto con la significativa modificación de las bandas correspondientes a los hidrógenos externos del anfitrión y no las bandas correspondientes a los hidrógenos del interior de la cavidad. La proximidad de una ciclodextrina con otra impide la inclusión, y de esta forma quedan interaccionando por su parte externa.

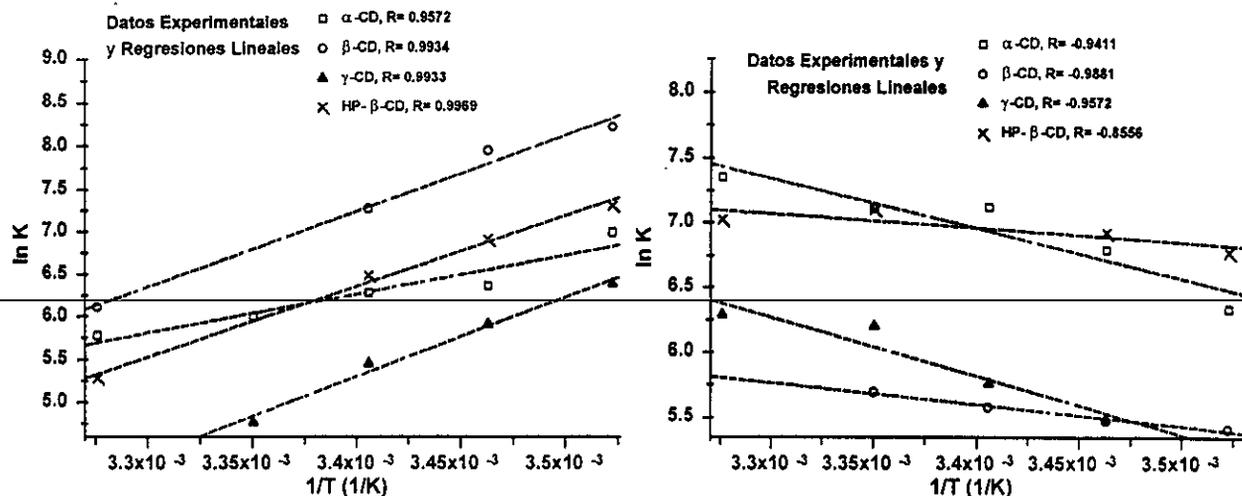


Figura 59. Gráficas de van't Hoff de los sistemas de fenilbutazona en DMSO (izquierda) y oxifenbutazona en 50% DMSO/agua (derecha).

Podemos observar el diferente comportamiento de α -CD respecto a β -, γ - y HP- β -CD en DMSO. En la tabla 36 observamos que ΔH_{int} y ΔS_{int} de este sistema [phen \subset α -CD] en DMSO son mayores que las del resto de las CDs en DMSO. Las constantes de interacción para el sistema [phen \subset α -CD] en DMSO son menores respecto a otros medios de disolución. Esto significa que la intensidad de la interacción phen-DMSO es mayor en comparación con la intensidad de la interacción DMSO-DMSO. Aquí la presencia de DMSO no juega un papel importante como contribución a la interacción solvofóbica gobernadora de la inclusión. En los otros medios de disolución, con mayores constantes de interacción que en DMSO, la intensidad de la interacción phen-disolvente es menor que la intensidad de la interacción disolvente-disolvente.

En el caso de β -, γ - y HP- β -CD la presencia de DMSO es más relevante para favorecer el proceso de inclusión, aunque los valores $\Delta H_{int} < 0$ y $\Delta S_{int} < 0$ no manifiestan a la interacción solvofóbica como fuerza guiadora de la complejación.^{42, 136}

La misma figura 59 manifiesta que el comportamiento de oxifenbutazona en 50% DMSO/agua depende del tipo de CD. Hay similitud entre el comportamiento de α - y γ -CD y de β - y HP- β -CD. Examinando los datos de la tabla 37, el proceso de inclusión es más favorable entrópicamente en 50% DMSO/agua para oxifenbutazona con α - y γ -CD que con β - y HP- β -CD. La presencia del disolvente en α - y γ -CD es muy importante. Los valores de ΔH_{int} y ΔS_{int} para los sistemas [oxifen \subset β -CD] y [oxifen \subset HP- β -CD] en 50% DMSO/agua son menos favorables para la complejación. En 50% DMSO, las

constantes de interacción con β -CD son muy pequeñas comparadas con las obtenidas con HP- β -CD. Podemos pensar en la asociación entre oxifen y los grupos hidroxipropilos externos que presenta esta HP- β -CD. Debido a esta asociación la inclusión total de la oxifen es obstruida y por tanto está obligada a mantener una gran superficie en contacto con el disolvente. Esta puede ser la razón de por qué este sistema presenta altos valores de constantes de interacción a pesar de tener un comportamiento entrópico pequeño.

A partir de las representaciones lineales obtenidas en la figura 59, es factible señalar que no solamente la entropía controla estos procesos de inclusión.²²

En general podemos decir que la contribución entrópica es decisiva en ambos procesos de complejación, más relevante en el proceso de inclusión de la oxifenbutazona que en el proceso de inclusión de la fenilbutazona.

Entre las interacciones propuestas para estos procesos, sólo el efecto solvofóbico está gobernado por la entropía, $\Delta S_{\text{int}} > 0$ y a veces $\Delta H_{\text{int}} > 0$.^{22, 50, 89} Este efecto por sí mismo está gobernado primeramente por un incremento en la entropía de las moléculas de disolvente como resultado de la exclusión de moléculas de soluto, proceso que va acompañado por un incremento en el grado de libertad de las moléculas de disolvente.^{22, 50} Hay algunos ejemplos de asociaciones intermoleculares que no pueden ser fácilmente clasificadas como electrostáticas, puente de hidrógeno, o transferencia de carga, que normalmente presentan variaciones negativas tanto de entalpía como de entropía. Para el caso de fenilbutazona, estos sistemas son [phen \subset γ -CD] en disolución buffer, [phen \subset β -CD] y [phen \subset γ -CD] en 25% DMSO, [phen \subset β -CD] y [phen \subset HP- β -CD] en 75% DMSO y [phen \subset α -CD], [phen \subset β -CD], [phen \subset γ -CD] y [phen \subset HP- β -CD] en DMSO. Para el caso de oxifen, estos sistemas son [oxifen \subset α -CD] y [oxifen \subset β -CD] en disolución buffer y [oxifen \subset α -CD] en DMSO.

Por tanto, es posible establecer a partir de estos 12 sistemas, que la principal contribución a la estabilización de estos complejos de inclusión, formados en base a la interacción $\text{dipolo}_{\text{huésped}}-\text{dipolo}_{\text{CD}}$, son las interacciones de van der Waals.^{42, 136} La superficie de contacto entre huésped y CD varía dependiendo de la profundidad de la inclusión, por consiguiente, las interacciones van de Waals pueden verse afectadas.

En el resto de los sistemas la contribución solvofóbica se manifiesta como fuerza gobernadora de los procesos de inclusión.^{22, 50, 89}

7.6.4. Estudio de la mecánica molecular

Los estudios de mecánica molecular de [phen \subset β -CD] y [oxifen \subset β -CD] basados en los experimentos previamente realizados por resonancia magnética nuclear en medio acuoso, se exponen a continuación.

Las figura 60 muestra la posible estructura de los complejos de inclusión de fenilbutazona y oxifenbutazona con β -CD. Tanto los cálculos de mecánica molecular como los resultados que obtuvimos por ^1H RMN, indican que oxifenbutazona se incluye a través de la parte estrecha de la β -CD.

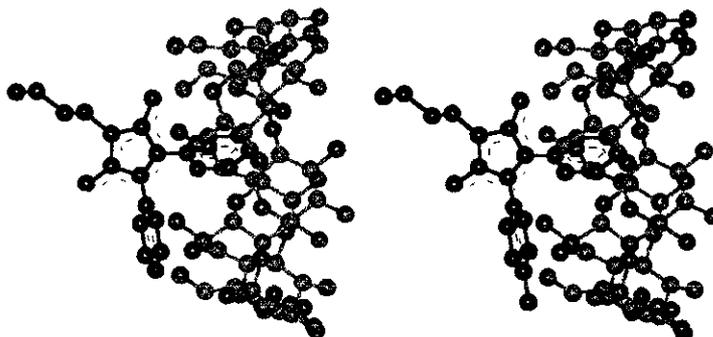


Figura 60. Posible estructura de los complejos de inclusión en medio acuoso de fenilbutazona (izquierda) y oxifenbutazona (derecha) con β -CD.

Al igual que con las otras moléculas huéspedes, los sistemas con las especies complejadas de fenilbutazona y oxifenbutazona son más estables que las no complejadas, mostrando una diferencia energética que es la que contribuye a la complejación. Esta se presenta en la tabla 38.

Contribución Energética total para la Complejación (kcal/mol)	Complejos	
	[phen \subset β -CD]	[oxifen \subset β -CD]
Por la parte ancha de la CD	19.461	20.499
Por la parte estrecha de la CD	20.459	18.511

Tabla 38. Contribución energética a la estabilización de los complejos de inclusión de fenilbutazona y oxifenbutazona con β -CD.

La estructura del complejo [oxifen \subset HP- β -CD], obtenida exclusivamente a partir de la optimización de la geometría por mecánica molecular, se expone en la figura 61.

La diferencia de energía entre la especie formada por el complejo de inclusión y la formada por los componentes del complejo por separado es pequeña, 9.179 kcal/mol. Esto nos habla de la poca interacción que existe entre ambas moléculas, y se pone de manifiesto en la pequeña magnitud que presenta la constante de interacción del sistema [oxifen \subset HP- β -CD] en agua, $K(1:1) = 600 \pm 100$ (ver tabla 35).

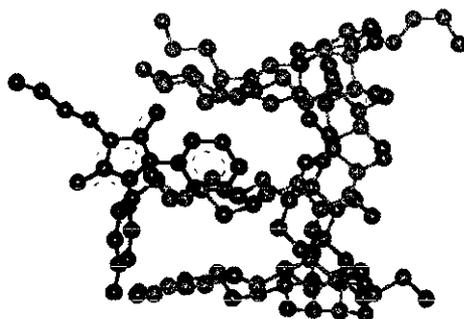


Figura 61. Posible estructura del complejo de inclusión en medio acuoso de oxifenbutazona con HP- β -CD.

8. Conclusiones

8.1. Conclusiones generales

Antes de exponer las conclusiones de este trabajo es importante recordar cuáles fueron nuestros sistemas estudiados y comparar con los resultados logrados. Se estudiaron 7 moléculas huéspedes, 4 moléculas anfitrionas, en 5 medios de reacción, a 5 temperaturas, y se determinó la solubilidad de las moléculas huéspedes en los medios de reacción mencionados. De 840 valores posibles de constantes de interacción, se lograron conocer 489.

Todas las técnicas empleadas para la determinación de los complejos de inclusión entre estos analgésicos anti-inflamatorios y las ciclodextrinas nos han dado una valiosa información. A partir de las espectroscopías electrónicas de absorción y emisión se pudo comprobar la existencia de interacción entre el huésped y el anfitrión, mediante la modificación de la intensidad, a una determinada longitud de onda, de los espectros obtenidos. A partir de esta modificación fue posible determinar las constantes de interacción. La resonancia magnética nuclear nos ayudó a establecer las posibles estructuras de los complejos de inclusión formados, en función de las interacciones entre los protones de ambas moléculas a través del espacio. La visualización de estas estructuras se realizó con el apoyo de los cálculos de mecánica molecular, que muestran una representación promedio de las estructuras de mínima energía del complejo de inclusión en disolución, consideradas a partir de los resultados obtenidos experimentalmente.

Después de analizar todos los resultados obtenidos y los objetivos propuestos en esta tesis, se pueden hacer las siguientes consideraciones generales:

- Estos analgésicos anti-inflamatorios resultaron ser excelentes moléculas huéspedes para las ciclodextrinas, en los medios de reacción estudiados. Se pudo detectar y estudiar la formación de complejos de inclusión para casi todos los sistemas estudiados.
- Indometacina, fenopropén y ketopropén son los huéspedes que manifestaron mayor afinidad por las ciclodextrinas. Naproxén, fenilbutazona y oxifenbutazona mostraron

afinidad intermedia y sólo el ibuprofén mostró una pobre afinidad por las ciclodextrinas.

- El disolvente es un componente activo en los sistemas estudiados, estabiliza o desestabiliza los complejos de inclusión formados.
- Son diversas las fuerzas intermoleculares involucradas en la formación y estabilización de los complejos de inclusión. Todas ellas han sido mencionadas a lo largo de los diferentes capítulos de este trabajo. Las fuerzas intermoleculares que se manifiestan frecuentemente son las de van der Waals y el efecto solvofóbico. A la estabilidad de estos complejos también contribuyen la expulsión de las moléculas de agua de alta energía de la cavidad de la ciclodextrina, la liberación de la tensión del anillo, los puentes de hidrógeno y otras interacciones electrostáticas.
- La carga y el momento dipolo eléctrico del huésped determina la dirección de la inclusión en el proceso de complejación. La solvatación del ion es la condición que restringe la geometría del complejo de inclusión. La parte cargada del huésped queda en el exterior de la ciclodextrina, en contacto con el disolvente, y la sección no cargada de la molécula es la que se incluye en la cavidad del anfitrión. En estas circunstancias la presencia del disolvente juega un papel fundamental como componente del sistema que ayuda a estabilizar o desestabilizar el complejo de inclusión.
- A partir de los estudios complementarios de mecánica molecular fue posible obtener las estructuras de mínima energía de los complejos de inclusión. Éstas estructuras optimizadas están de acuerdo con las geometrías determinadas experimentalmente.

8.2. Conclusiones particulares

Fenopropén

- En este caso fueron determinadas 86 constantes de interacción.
- La interacción $\text{ion}_{\text{fenopropén}^-} \text{-dipolo}_{\text{CD}}$ contribuye a establecer la geometría de los complejos de inclusión entre el fenopropén⁻ y las ciclodextrinas.

- En los sistemas con fenopropén⁻ el efecto solvofóbico no es una contribución significativa para estabilizar sus complejos de inclusión.
- Los términos ΔH_{int} y ΔS_{int} negativos sugieren que las interacciones de van der Waals son las responsables de la estabilidad de los complejos de inclusión entre fenopropén⁻ y ciclodextrinas.
- En disolución buffer, DMSO y 75% DMSO/agua, la intensidad de la interacción fenopropén⁻-ciclodextrina está directamente relacionada con la superficie de contacto entre la sección incluida del fenopropén⁻ y el interior de la cavidad de la ciclodextrina. El tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina es esencial para la formación de estos complejos de inclusión en estos medios de reacción. En esos casos las interacciones de van der Waals son las que principalmente contribuyen a la estabilización de estos complejos de inclusión. En cambio, en 25% y 50% DMSO/agua, donde el disolvente y el tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina no influyen de forma significativa en la complejación, se puede sugerir que la expulsión de las moléculas de agua de alta energía y la liberación de la tensión del anillo, son las fuerzas formadoras de los complejos de inclusión [fenopropén \subset CD] en estos disolventes.
- Esta molécula huésped sólo forma complejos de inclusión 1:1 con las ciclodextrinas en las condiciones de reacción estudiadas.

Naproxén

- Se determinaron 74 constantes de interacción entre el naproxén y las ciclodextrinas.
- El ion carboxilato de naproxén⁻ y el momento dipolo de las ciclodextrinas determinan la orientación de los complejos de inclusión [naproxén \subset CD] a través de la interacción $\text{ion}_{\text{naproxén}}\text{-dipolo}_{\text{CD}}$, obligando al naproxén⁻ a incluirse por la sección que contiene el grupo metóxido.
- El efecto solvofóbico participa en la mayoría de los procesos de estabilización de los complejos de inclusión entre naproxén⁻ y las distintas ciclodextrinas en los diferentes medios de disolución, excepto en 75% DMSO/agua, donde la estabilización se debe

de las interacciones de van der Waals. Esto mismo ocurre con β -CD y HP- β -CD en DMSO y con HP- β -CD en buffer.

- De todos los medios de disolución estudiados, únicamente en 75% DMSO/agua es clara la influencia del tamaño de la cavidad de la ciclodextrina sobre la profundidad de la inclusión de naproxén⁻. Cuanto menor es el tamaño de la cavidad de la ciclodextrina la superficie de contacto entre ciclodextrina y naproxén⁻ se incrementa, y la entalpía y entropía del proceso disminuyen.
- Este anti-inflamatorio sólo forma complejos de inclusión 1:1, y de manera resumida se muestran las principales interacciones intermoleculares en la tabla 39.

Medio de disolución	Ciclodextrinas			
	α -CD	β -CD	HP- β -CD	γ -CD
disol. bf.	—	ef. hidrof.	v W.	ef. hidrof.
50% DMSO	ef. solvof.	ef. solvof.	ef. solvof.	ef. solvof.
75% DMSO	v W.	v W.	—	v W.
DMSO	ef. solvof.	v W.	v W.	ef. solvof.

Tabla 39. Principales interacciones estabilizadoras de los complejos de inclusión de naproxén⁻.

- La participación de las interacciones de van der Waals y del efecto solvofóbico está muy igualada en los sistemas con naproxén⁻.

Ibuprofén

- En este caso se lograron determinar únicamente 18 constantes de interacción.
- La pequeña superficie de contacto entre el ibuprofén⁻ y la cavidad de las ciclodextrinas en el complejo de inclusión excluye a las fuerzas de van der Waals, como fuerzas estabilizadoras de estos complejos de inclusión. Los valores positivos de las variables termodinámicas designan al efecto hidrofóbico como la fuerza gobernadora de la formación de estos complejos de inclusión, cuya geometría se establece por la interacción ion_{ibuprofén⁻}-dipolo_{CD}.
- El ibuprofén⁻ forma los complejos 1:1 con los menores valores de constantes de interacción de todos los complejos de inclusión que se han estudiado en esta tesis.

Ketoprofén

- El ketoprofén muestra una gran afinidad por las ciclodextrinas en las condiciones de reacción estudiadas. Se determinaron 87 constantes de interacción.
- El grupo carboxilato del ketoprofén⁻ determina la orientación de la inclusión del huésped. La interacción ion_{ketoprofén}-dipolo_{CD} es que dispone la geometría de este complejo de inclusión.
- En estos casos, el tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina contribuye de forma importante en el proceso de inclusión. Las interacciones de van der Waals se presentan con mayor frecuencia en la estabilización de los complejos de inclusión de ketoprofén⁻ con α -CD, γ -CD y HP- β -CD, que son las ciclodextrinas que presentan el tamaño más apropiado para la adecuada inclusión de ketoprofén⁻. Este mismo tipo de interacciones se presentan con mayor frecuencia en las disoluciones buffer y en 75% DMSO/agua. Sólo en 25% DMSO/agua, la formación de los complejos de inclusión de ketoprofén⁻ con las diferentes ciclodextrinas está gobernada totalmente por el efecto solvofóbico, hecho que está directamente relacionado con la menor solubilidad de ketoprofén⁻ en este medio de disolución.
- El ketoprofén forma complejos de inclusión 1:1 y 1:2 bastante estables, y las principales interacciones que se presentan en los complejos se exponen en la tabla 40.

Medio de disolución	Ciclodextrinas			
	α -CD	β -CD	HP- β -CD	γ -CD
disol. bf.	v W.	v W.	v W. + ef. hidrof.	v W.
25% DMSO	v W. + ef. solvof.	ef. solvof.	—	v W. + ef. solvof.
50% DMSO	v W. + ef. solvof.	ef. solvof.	v W.	v W.
75% DMSO	v W.	v W. + ef. solvof.	v W.	v W.
DMSO	v W.	v W. + ef. solvof.	v W.	v W. + ef. solvof.

Tabla 40. Principales interacciones estabilizadoras de los complejos de inclusión de ketoprofén⁻.

- La mayor parte de los sistemas con ketoprofén⁻ son estabilizados mediante las interacciones de van der Waals. En alguno de los casos donde la contribución es por parte de las fuerzas de van der Waals y del efecto solvofóbico, simultáneamente, los valores de ΔS_{int} son positivos, pero muy pequeños, lo que pone de manifiesto la menor participación del efecto solvofóbico en estos procesos de complejación.

Indometacina

- Sin lugar a dudas la indometacina es el fármaco anti-inflamatorio que mayor afinidad muestra con las ciclodextrinas. Forma los complejos de inclusión con mayores valores de las constantes de interacción en casi todos los disolventes estudiados. Esto permitió evaluar 88 valores de constantes de interacción.
- La interacción $\text{ion}_{\text{indometacina}}\text{-dipolo}_{\text{CD}}$ dispone la geometría de los complejos de inclusión $[\text{indometacina} \subset \text{CD}]^-$.
- El efecto solvofóbico gobierna la formación de los complejos de inclusión entre indometacina⁻ y ciclodextrinas, principalmente en 25% DMSO/agua, que es el medio de disolución donde la solubilidad de la indometacina⁻ es menor.
- En los medios de disolución donde la indometacina⁻ es más soluble (DMSO, 75% DMSO/agua y disolución acuosa), los complejos de inclusión son esencialmente estabilizados a partir de las interacciones de van der Waals, influyendo considerablemente el tamaño del diámetro interno de la cavidad de la ciclodextrina.
- Los estudios de mecánica molecular nos indicaron que el isómero E de la indometacina⁻ es el que participa mayoritariamente en la complejación, y que el isómero Z es termodinámicamente más estable.
- Las principales interacciones se exponen en la tabla 41.

Medio de disolución	Ciclodextrinas			
	α -CD	β -CD	HP- β -CD	γ -CD
disol. bf.	v W.	v W.	—	v W.
25% DMSO	v W. + ef. solvof.			
50% DMSO	v W. + ef. solvof.	v W.	v W.	v W. + ef. solvof.
75% DMSO	v W.	v W.	v W. + ef. solvof.	v W.
DMSO	v W.	v W.	v W. + ef. solvof.	v W.

Tabla 41. Principales interacciones estabilizadoras de los complejos de inclusión de indometacina⁻

- Las interacciones de van der Waals participan más intensamente en la formación de los complejos de inclusión con indometacina⁻. Además, los sistemas que manifiestan colaboración simultánea de las interacciones de van der Waals y del efecto solvofóbico, en algunos casos, los valores de $\Delta S_{\text{int.}}$, a pesar de ser positivos, son tan

pequeños que manifiestan la menor interacción del efecto solvofóbico en la formación del complejo de inclusión.

Fenilbutazona y oxifenbutazona

- En estos casos se determinaron 71 valores de constantes de interacción para la fenilbutazona y 65 para la oxifenbutazona.
- La geometría de los complejos de inclusión [phen \subset CD] y [oxifen \subset CD], a diferencia de los complejos de las otras moléculas huéspedes, queda determinada por la interacción $\text{dipolo}_{\text{huésped}}\text{-dipolo}_{\text{CD}}$.
- La fenilbutazona y la oxifenbutazona forman complejos de inclusión 1:1 y 1:2 sumamente estables en casi todos los disolventes. Las principales interacciones estabilizadoras de complejos de inclusión de estos fármacos anti-inflamatorios se muestra en la tabla 42.

Medio de disolución	Ciclodextrinas			
	α -CD	β -CD	HP- β -CD	γ -CD
(phen) disol. bf. (oxifen) disol. bf.	ef. hidrof. v W.	ef. hidrof. v W.	— v W. + ef. hidrof.	v W. —
(phen) 25% DMSO (oxifen) 25% DMSO	v W. + ef. solvof. v W. + ef. solvof.	v W. ef. solvof.	— —	v W. —
(phen) 50% DMSO (oxifen) 50% DMSO	— ef. solvof.	ef. solvof. ef. solvof.	v W. + ef. solvof. ef. solvof.	— ef. solvof.
(phen) 75% DMSO (oxifen) 75% DMSO	ef. solvof. ef. solvof.	v W. —	v W. v W. + ef. solvof.	ef. solvof. —
(phen) DMSO (oxifen) DMSO	v W. v W.	v W. —	v W. —	v W. v W. + ef. solvof.

Tabla 42. Principales interacciones estabilizadoras de los complejos de inclusión de fenilbutazona y oxifenbutazona.

- En general, se puede decir que el proceso de inclusión de estos sistemas está en su mayoría gobernado entrópicamente para el caso de oxifenbutazona y entápicamente para el caso de fenilbutazona, es decir, el efecto solvofóbico participa más intensamente en el proceso de complejación de la oxifenbutazona, mientras que las interacciones de van der Waals contribuyen mayoritariamente en la formación de los complejos de inclusión con la fenilbutazona. El grupo hidroxilo de la

8.3. Comparación total de los parámetros termodinámicos obtenidos

La tabla 43 muestra de forma comparativa los valores de ΔH_{int} y ΔS_{int} de todos los sistemas estudiados en esta tesis. En ellas también se hace alusión a las diferentes fuerzas de interacción que en cada caso particular contribuyen a la formación y estabilización del complejo de inclusión.

		Sistemas							
Medio de disolución	[Fen \subset α -CD] ⁻		[Fen \subset β -CD] ⁻		[Fen \subset γ -CD] ⁻		[Fen \subset HP- β -CD] ⁻		
	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	
disol. bf.	-15.75 \pm 3.4	-0.041 \pm 0.01	-14.86 \pm 2.0	-0.036 \pm 0.01	-3.34 \pm 0.18	-0.003 \pm 610 ⁻⁴	-14.78 \pm 1.58	-0.037 \pm 510 ⁻³	
25% DMSO/agua	-3.24 \pm 0.07	+210 ⁻³ \pm 210 ⁻⁴	-11.86 \pm 1.43	-0.025 \pm 410 ⁻³	-15.53 \pm 3.0	-0.040 \pm 0.01			
50% DMSO/agua	-8.42 \pm 1.28	-0.013 \pm 410 ⁻³	-27.86 \pm 6.28	-0.081 \pm 410 ⁻³	-13.24 \pm 1.78	-0.029 \pm 510 ⁻³	-8.45 \pm 0.94	-0.014 \pm 310 ⁻³	
75% DMSO/agua	-15.28 \pm 1.92	-0.036 \pm 610 ⁻³	-13.18 \pm 2.82	-0.032 \pm 910 ⁻³			-18.99 \pm 2.62	-0.051 \pm 810 ⁻³	
DMSO			-30.16 \pm 4.06	-0.088 \pm 0.01	-10.53 \pm 2.01	-0.020 \pm 0.01			
		[Napx \subset α -CD] ⁻		[Napx \subset β -CD] ⁻		[Napx \subset γ -CD] ⁻		[Napx \subset HP- β -CD] ⁻	
disol. bf.		ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}
50% DMSO/agua	+25.77 \pm 2.5	+0.10 \pm 810 ⁻³	+11.81 \pm 2.86	+0.053 \pm 910 ⁻³	+14.52 \pm 2.94	+0.062 \pm 910 ⁻³	-9.62 \pm 0.9	-0.018 \pm 310 ⁻³	
75% DMSO/agua	-19.89 \pm 1.92	-0.051 \pm 610 ⁻³	+10.88 \pm 1.26	+0.049 \pm 410 ⁻³	+8.01 \pm 2.69	+0.039 \pm 0.01	+21.85 \pm 3.71	+0.087 \pm 0.01	
DMSO	+8.57 \pm 3.03	+0.048 \pm 0.01	-15.36 \pm 2.24	-0.038 \pm 710 ⁻³	-11.34 \pm 1.19	-0.022 \pm 310 ⁻³			
			-29.47 \pm 2.56	-0.081 \pm 210 ⁻³	+22.33 \pm 5.47	+0.088 \pm 0.02	-25.27 \pm 2.73	-0.068 \pm 910 ⁻³	
		[Ibup \subset α -CD] ⁻		[Ibup \subset β -CD] ⁻		[Ibup \subset γ -CD] ⁻			
disol. bf.	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}			
	+2.76 \pm 0.49	+0.02 \pm 210 ⁻³	2.82 \pm 0.43	+0.019 \pm 110 ⁻³	+3.29 \pm 0.54	+0.02 \pm 210 ⁻³			
		[Keto \subset α -CD] ⁻		[Keto \subset β -CD] ⁻		[Keto \subset γ -CD] ⁻		[Keto \subset HP- β -CD] ⁻	
disol. bf.	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	ΔH_{int}	ΔS_{int}	
25% DMSO/agua	-5.08 \pm 0.25	-610 ⁻³ \pm 810 ⁻⁴	-13.48 \pm 0.83	-0.030 \pm 310 ⁻³	-7.61 \pm 0.28	-910 ⁻³ \pm 910 ⁻⁴	-3.64 \pm 0.27	+510 ⁻³ \pm 910 ⁻⁴	
50% DMSO/agua	-2.86 \pm 0.09	+0.06 \pm 310 ⁻⁴	+1.11 \pm 0.47	+0.021 \pm 110 ⁻³	-0.19 \pm 210 ⁻³	+0.01 \pm 310 ⁻³			
75% DMSO/agua	-3.77 \pm 0.41	+510 ⁻³ \pm 110 ⁻³	+4.31 \pm 1.20	+0.031 \pm 410 ⁻³	-18.15 \pm 2.07	-0.045 \pm 710 ⁻³	-8.12 \pm 0.85	-0.016 \pm 310 ⁻³	
DMSO	-21.37 \pm 1.06	-0.056 \pm 410 ⁻³	-3.40 \pm 0.22	+610 ⁻³ \pm 510 ⁻⁴	-9.50 \pm 0.92	-0.018 \pm 310 ⁻³	-16.07 \pm 4.79	-0.039 \pm 0.01	
	-21.35 \pm 3.17	-0.058 \pm 0.01	-3.04 \pm 0.07	+610 ⁻³ \pm 210 ⁻⁴	-2.67 \pm 0.95	+0.01 \pm 310 ⁻³	-13.76 \pm 2.10	-0.030 \pm 610 ⁻³	

Medio de disolución	[Indo \subset α -CD] $\Delta H_{int.}$ $\Delta S_{int.}$	[Indo \subset β -CD] $\Delta H_{int.}$ $\Delta S_{int.}$	[Indo \subset γ -CD] $\Delta H_{int.}$ $\Delta S_{int.}$	[Indo \subset HP- β -CD] $\Delta H_{int.}$ $\Delta S_{int.}$
disol. bf.	-8.10 \pm 0.43 -0.014 ± 10^{-3}	-13.36 \pm 1.68 -0.029 ± 510^{-3}	-25.67 \pm 5.37 -0.073 ± 0.02	
25% DMSO/agua	-2.40 \pm 1.10 ³ $+0.01 \pm 910^{-4}$	-2.42 \pm 0.29 $+0.011 \pm 10^{-3}$	-1.83 \pm 0.37 $+0.013 \pm 10^{-3}$	-2.93 \pm 1.05 $+0.01 \pm 310^{-3}$
50% DMSO/agua	-2.05 \pm 0.68 $+710^{-3} \pm 10^{-3}$	-9.11 \pm 0.79 -0.019 ± 310^{-3}	-2.73 \pm 0.25 $+710^{-3} \pm 10^{-4}$	-0.077 \pm 0.01 $-610^{-3} \pm 910^{-4}$
75% DMSO/agua	-9.23 \pm 1.02 -0.015 ± 310^{-3}	-8.65 \pm 0.55 -0.015 ± 10^{-3}	-9.35 \pm 1.49 -0.016 ± 410^{-3}	-0.99 \pm 0.27 $+610^{-3} \pm 910^{-4}$
DMSO	-9.28 \pm 0.55 -0.029 ± 10^{-3}	-20.15 \pm 3.39 -0.049 ± 0.011	-39.43 \pm 0.64 -0.114 ± 210^{-3}	-1.28 \pm 0.48 $+0.012 \pm 10^{-3}$
[Phen \subset α -CD]				
	$\Delta H_{int.}$ $\Delta S_{int.}$	[Phen \subset β -CD] $\Delta H_{int.}$ $\Delta S_{int.}$	[Phen \subset γ -CD] $\Delta H_{int.}$ $\Delta S_{int.}$	[Phen \subset HP- β -CD] $\Delta H_{int.}$ $\Delta S_{int.}$
disol. bf.	+14.09 \pm 1.2 +0.06 \pm 410⁻³	+4.17 \pm 0.033 +0.031 \pm 10⁻⁴	-7.58 \pm 0.44 -0.010 ± 10^{-3}	
25% DMSO/agua	-3.39 \pm 0.49 $+610^{-3} \pm 10^{-3}$	-6.64 \pm 0.32 $-510^{-3} \pm 10^{-3}$	-8.54 \pm 0.97 -0.012 ± 310^{-3}	-3.48 \pm 0.34 $+0.003 \pm 10^{-3}$
50% DMSO/agua		+0.06 \pm 110⁻⁴ +0.014 \pm 310⁻⁴		-9.93 \pm 0.98 -0.025 ± 310^{-3}
75% DMSO/agua	+17.2 \pm 4.78 +0.069 \pm 0.01	-22.71 \pm 2.10 -0.067 ± 710^{-3}	+7.51 \pm 1.58 +0.04 \pm 510⁻³	-0.042 \pm 310 ⁻³
DMSO	-9.92 \pm 0.28 -0.021 ± 10^{-3}	-16.94 \pm 1.65 -0.043 ± 510^{-3}	-18.50 \pm 2.52 -0.051 ± 810^{-3}	
[Oxifen \subset α -CD]				
	$\Delta H_{int.}$ $\Delta S_{int.}$	[Oxifen \subset β -CD] $\Delta H_{int.}$ $\Delta S_{int.}$	[Oxifen \subset γ -CD] $\Delta H_{int.}$ $\Delta S_{int.}$	[Oxifen \subset HP- β -CD] $\Delta H_{int.}$ $\Delta S_{int.}$
disol. bf.	-27.44 \pm 1.67 -0.079 ± 510^{-3}	-7.73 \pm 2.48 -0.012 ± 910^{-4}		-3.38 \pm 0.04 $+0.001 \pm 10^{-4}$
25% DMSO/agua	-2.45 \pm 0.49 $+0.02 \pm 310^{-3}$	+21.49 \pm 4.99 +0.079 \pm 0.016		
50% DMSO/agua	+7.56 \pm 1.57 +0.04 \pm 510⁻³	+3.49 \pm 0.25 +0.023 \pm 810⁻³	+8.88 \pm 1.96 +0.04 \pm 610⁻³	+2.18 \pm 1.74 +0.02 \pm 510⁻³
75% DMSO/agua	+7.11 \pm 1.37 +0.04 \pm 410⁻³			-1.69 \pm 1.04 $+0.01 \pm 310^{-3}$
DMSO	-12.78 \pm 0.51 -0.027 ± 10^{-3}		-3.52 \pm 0.26 $+310^{-3} \pm 810^{-4}$	

Tabla 43. Valores de ΔH (kcal/mol) y ΔS (kcal/mol K) de interacción de todos los sistemas estudiados.

Valores en **negrita**: efecto hidrofóbico o solvofóbico. Valores en **escritura normal**: interacciones de van der Waals. Valores subrayados: intervención tanto de las interacciones de van der Waals como del efecto solvofóbico.

Las interacciones de van der Waals se presentan mayoritariamente en los sistemas con fenoprofén, ketoprofén, indometacina, y fenilbutazona. En cambio, el efecto solvofóbico es más dominante en los sistemas con ibuprofén y oxifenbutazona. La participación de las interacciones de van der Waals y del efecto solvofóbico está muy igualada en los sistemas con naproxén.

8.4. Perspectivas de trabajos futuros

- 1) Realizar un estudio más específico de la resonancia magnética nuclear multinuclear (mono y bidimensional) de los complejos de inclusión formados entre estos analgésicos anti-inflamatorios y las ciclodextrinas, para establecer de forma precisa qué grupos, tanto del huésped como del anfitrión, están involucrados en las interacciones que constituyen el complejo de inclusión, cuál es la aportación de cada uno de estos grupos a la interacción, e interpretar esta información en función de las fuerzas intermoleculares.
- 2) Como ya hemos observado en esta tesis, la magnitud de las constantes de interacción varían notablemente con la temperatura. La determinación de estas constantes de interacción a diferentes temperaturas, a partir de la espectroscopía electrónica de emisión y la resonancia magnética nuclear de protón, completaría considerablemente este trabajo de investigación.
- 3) En esta tesis se ha comprobado que el medio de disolución participa de forma importante en la formación y la estabilización de muchos de los complejos de inclusión entre estos analgésicos anti-inflamatorios y las ciclodextrinas. Utilizando otros disolventes ampliaríamos la gama de valores de constante dieléctrica y tensión superficial del medio de reacción, y de esta forma se lograría un estudio más detallado del efecto del disolvente sobre el proceso de complejación.
- 4) Puesto que estos analgésicos anti-inflamatorios resultaron ser excelentes moléculas huéspedes para las ciclodextrinas, y la metodología empleada para la formación y determinación de sus complejos de inclusión fue adecuada y tiene un extenso campo de aplicación, este trabajo se podría ampliar al resto de los fármacos analgésicos

anti-inflamatorios que tienen la misma incidencia de efectos laterales e indeseables relacionados con problemas gastro-intestinales. La administración oral de estos fármacos complejados con ciclodextrinas atenuaría estos efectos adversos y ayudaría a resolver un problema general.

9. Parte experimental

9.1. Sustancias

- *Fenopropén*, ($[\pm]$ -2-[3-fenoxifenil] ácido propiónico); sal de calcio hidratada. SIGMA.
- *Naproxén*, ((S)-6-metoxi- α -metil-2-ácido naftalen acético). Laboratorio Syntex, S.A. de C.V, México.
- *Ibuprofén*, (α -metil-4-[2-metil propil]-ácido benceno acético). Laboratorio Boehringer Ingelheim Promeco, S.A. de C.V, México.
- *Ketoprofén*, (2-[3-benzoil fenil] ácido propiónico). SIGMA.
- *Indometacina*, (1-[p-clorobenzoil])-5-metoxi-2-metil indol-3-ácido acético). SIGMA.
- *Fenilbutazona*, (4-butil-1,2-difenil-3,5-pirazolidinadiona). SIGMA.
- *Oxifenbutazona*, (4-butil-1-[4-hidroxifenil]-2-fenil-3,5-pirazolidinadiona); hidratada. SIGMA.
- α -, γ - y β -ciclodextrina-hidroxiopropilada (grado de sustitución= 9). CERESTAR, Indiana, USA.
- β -ciclodextrina. Laboratorio Arancia, México.
- Componentes del buffer acuoso (pH= 7.5): Na_2HPO_4 y KH_2PO_4 . ALDRICH; NaCl . MALLINCKRODT.
- *Agua desionizada*. El agua se destiló en un sistema Barnstead Thermolyne y se le sometió a un segundo tratamiento en un sistema Easypure RF Compact Ultrapure para obtener agua desionizada que fue con la que se trabajó.
- *DMSO*. J. T. BAKER.
- D_2O (99.9% átomos de deuterio). ALDRICH.
- DMSO-d_6 (99.9% átomos de deuterio). ALDRICH.

9.2. Preparación de los complejos de inclusión

Previo al estudio de los complejos de inclusión, se generaron las curvas de calibrado de todas las moléculas huéspedes en los diferentes medios de reacción, a partir de una serie de disoluciones de concentración conocida. Mediante estas curvas de calibrado se seleccionó la concentración de trabajo de cada molécula huésped.

Para preparar los complejos de inclusión entre ciclodextrinas y analgésicos anti-inflamatorios se utilizaron concentraciones crecientes de ciclodextrinas (10^{-3} M a 10^{-2} M) y concentraciones constantes de los analgésicos anti-inflamatorios (10^{-4} M para naproxén e ibuprofén y 10^{-5} M para el resto).

Los medios de disolución seleccionados para preparar los complejos de inclusión fueron: buffer fosfatos $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0.07895 M a pH=7.5 con una fuerza iónica constante de $[\text{NaCl}] = 0.1$ M, dimetilsulfóxido (DMSO) y mezclas de 25%, 50% y 75% DMSO/agua (en estos casos no se usaron disoluciones reguladoras del pH). Posteriormente se prepararon las disoluciones de los complejos de inclusión, disolviendo la ciclodextrina en una disolución de la concentración correspondiente del anti-inflamatorio, y la mezcla se agitó hasta la total disolución.

Una vez preparadas las disoluciones, se mantuvieron en un baño a 298 K durante 24 horas, tiempo necesario para asegurar la formación de las nuevas especies en disolución, y posteriormente medirlas.

9.3. Estudio espectroscópico

El estudio de la formación de los complejos de inclusión se realizó mediante el método desarrollado por Connors y colaboradores, el método espectral o de espectrofotometría directa.^{11, 111, 112} El método se basa en la determinación de la constante de interacción en función de la concentración de ciclodextrina.¹¹³

Si la absorción molar del complejo y del sustrato difiere en alguna longitud de onda, es posible determinar espectroscópicamente la constante de interacción.^{111, 112}

Las técnicas espectroscópicas empleadas para la valoración de las disoluciones fueron la espectroscopía electrónica de absorción en la región del ultravioleta, la espectroscopía de fluorescencia y la resonancia magnética nuclear de protón.

Los espectros electrónicos de absorción fueron adquiridos en la región del ultravioleta usando un espectrofotómetro de arreglo de diodos Hewlett Packard 8452A con una precisión fotométrica de ± 0.005 UA y una señal de ruido < 0.0002 UA. Celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico y 3 mL de volumen. La temperatura se mantuvo bajo control por un sistema peltier Hewlett Packard 89090A (± 0.1 °C). En todas las

mediciones en los diferentes medios de disolución se empleó el propio disolvente como línea base.

Los espectros de emisión se adquirieron a partir de un espectrofluorómetro Spex Fluoromax, de relación señal a ruido 550/1, acoplado a un baño recirculante Neslab-Endocal RTE-110 (± 0.1 °C) para verificar la temperatura. Celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico y 3 mL de volumen. En todos los casos las longitudes de onda de excitación empleadas fueron las longitudes de onda de máxima absorción obtenidas previamente en los espectros de absorción ultravioleta. Se trabajó con una ancho de abertura de rendija, o "SLIT", de 0.4 para obtener los espectros de emisión de naproxén e ibuprofén en todos los medios de disolución, y en el caso de fenoprofén fue de 0.8 para obtener los espectros en disolución buffer y 0.4 para DMSO y las mezclas DMSO/agua. Con "SLIT" 0.4 el fenoprofén en disolución buffer no presentaba fluorescencia.

Los estudios de ^1H RMN se llevaron a cabo en disolución de D_2O y $\text{DMSO-}d_6$ a 298 K, empleando tubos de RMN standard de 5 mm.

Los espectros 1D ^1H RMN se obtuvieron con un espectrómetro Varian Unity Plus de 300 MHz usando una frecuencia de 299.95 MHz con un pulso de 45° ($6.7 \mu\text{s}$), un ancho espectral de 3229.5 Hz y un tiempo de adquisición de 3.002 s. El número de adquisiciones colectadas dependió de la sensibilidad de la muestra y estuvo dentro del intervalo 32-128.

Los espectros 2D (NOESY) se hicieron con el mismo espectrómetro Varian Unity Plus de 300 MHz, con una sonda de banda ancha interrumpida (broad band switchable probe). Un ancho espectral de 2731.5 Hz en ambas dimensiones y un tiempo de adquisición de 0.187 s. Pulso de 90° de $13.5 \mu\text{s}$, 32 barridos para cada uno de los 128 incrementos y un tiempo de retardo entre cada barrido de 2 s con un tiempo de mezcla de 100 ms. Se hicieron dos pulsos falsos al principio del experimento para alcanzar el estado estacionario. El pulso de presaturación para la supresión de la banda de agua se aplicó durante 1.5 s al inicio de cada barrido durante el tiempo de retardo y el pico de agua residual fue filtrado digitalmente con un filtro de 135 Hz. La transformada de Fourier fue llevada a cabo con una función de ampliación de señal ($lb = -1.82$ Hz) y una Gaussiana de 0.078 s para la segunda dimensión, y para la primera dimensión la

función de ampliación de señal fue de $\Delta\nu = -1.91$ Hz y una Gaussiana de 0.079 s. Las gráficas se hicieron basadas en el modo absoluto.

2D (ROESY) se obtuvo con un Bruker ARX-400 con una frecuencia de 400.13 MHz a 300 K y un tiempo de giro optimizado a 700 ms.

Con relación al control de la temperatura, los espectros de absorción electrónica se investigaron a cinco temperaturas diferentes, 288, 293, 298, 303 y 310 K, y los espectros de fluorescencia y resonancia magnética nuclear de protón sólo a 298 K.

9.4. Estudios de conductometría

Se empleó un conductímetro digital YSI, modelo 32, con celda de vidrio con una constante de 1.0 cm^{-1} y una exactitud de $\pm 0.2\%$ en las escalas 1.0-20 y 0.1-2 milimhos, 10.0-200 y 1.0-20 micromhos y $\pm 1.0\%$ en la escala 10-200 milimhos y 0.1-2 micromhos, para medir la conductividad de las disoluciones de fenopropén a temperatura ambiente, y conocer de qué tipo de electrolito se trataba. Se compararon los valores de conductancia molar resultantes con los valores de las tablas que aparecen en el libro de R. J. Angelici.¹¹⁷

9.5. Estudios de solubilidad de los anti-inflamatorios en los diferentes medios de reacción

En cada uno de los tubos de ensayo de una serie, que contienen volúmenes iguales y fijos del medio de reacción, adicionamos una cantidad en exceso de las moléculas huéspedes. Estas disoluciones se mantuvieron a temperatura constante de 298 K y en agitación continua durante 48 horas en un baño termostataado (Lab-Line Instruments/Dubnoff Incu-Shaker).

Tras las 48 horas, las disoluciones se filtraron a través de filtros Millex-Ha Millipore de $0.45 \mu\text{m}$ de tamaño de poro, y las disoluciones obtenidas, sin precipitado alguno, se midieron espectrofotométricamente (UV-vis).

Es importante señalar que para cada molécula huésped se utilizó una serie de cuatro tubos de ensayo, y el valor considerado de la solubilidad es el valor promedio de esas cuatro mediciones.

10. Apéndices

10.1. Cálculo de las constantes de interacción

El problema de la determinación de las constantes de interacción para la formación de complejos moleculares se puede expresar del siguiente modo. Nosotros tenemos una disolución que contiene un huésped, S, en presencia de ciclodextrina, L, y medimos la propiedad Y de la disolución en función de L_t , la concentración total de ciclodextrina. El sistema se describe por las ecuaciones,

$$Y_i = f([L]_i, \eta_j)$$

$$L_{ti} = g([L]_i, \lambda_k)$$

Donde Y_i es el valor de la propiedad a medir (la variable dependiente) a una concentración total de ciclodextrina L_{ti} ; $[L]_i$ es la concentración de ciclodextrina libre y η_j y λ_k son parámetros. Se acepta que $[L]_i = L_{ti}$ cuando $L_t \gg S_t$ (S_t es la concentración total de huésped). La forma de la función y la naturaleza de los parámetros dependen del sistema de estudio y de la estequiometría considerada. Estos parámetros incluyen la constante de interacción, que son dependientes de la temperatura.¹¹

Es recomendable comprobar si un sistema establecido cumple el modelo de interacción, es decir, si los datos experimentales se ajustan bien a la correspondiente isoterma de enlazamiento. Estas ecuaciones son una forma de isoterma de unión.^{1, 11}

Considerando un sistema donde hay interacción entre huésped, S, y ciclodextrina, L, formándose una especie tipo SL, del modo



cuya constante de interacción es

$$K = \frac{[SL]}{[S]_{libre} [L]_{libre}} \quad (\text{A})$$

Por las curvas de calibrado obtenidas se da por hecho que la ley de Lambert Beer se cumple para todas las especies.

El desarrollo matemático para obtener las ecuaciones empleadas para calcular las constantes de interacción es el que se expone a continuación.

La absorbancia de una disolución formada por la concentración total de huésped, S_0 , en ausencia de ciclodextrina, es

$$(B) \quad A_{inicial} = \varepsilon_S [S]_{total}$$

y en presencia de ciclodextrina es

$$(C) \quad A_{total} = A_S + A_{SL}$$

obtenido de (A)

$$[S]_{total} = [S]_{libre} + [SL] = [S]_{libre} + K[L]_{total}[S]_{libre}$$

$$[S]_{total} = [S]_{libre} \cdot (1 + K[L]_{total})$$

$$(D) \quad [S]_{libre} = \frac{[S]_{total}}{1 + K[L]_{total}}$$

$$(E) \quad A_{total} = \varepsilon_S [S]_{libre} + \varepsilon_{SL} [SL] \quad \text{obtenido de (C)}$$

$$A_{total} = \varepsilon_S \frac{[S]_{total}}{1 + K[L]_{total}} + \varepsilon_{SL} K[L]_{total} \frac{[S]_{total}}{1 + K[L]_{total}} \quad \text{obtenido de (B), (C) y (D)}$$

$$(F) \quad \Delta A = A_{total} - A_{inicial}$$

$$(G) \quad \Delta A = \frac{\varepsilon_S [S]_{total} + \varepsilon_{SL} K[L]_{total} [S]_{total}}{1 + K[L]_{total}} - \varepsilon_S [S]_{total} \quad \text{obtenido de (B), (C), (E) y (F)}$$

$$(H) \quad \Delta A = \frac{\varepsilon_S [S]_{total} + \varepsilon_{SL} K[L]_{total} [S]_{total} - \varepsilon_S [S]_{total} - \varepsilon_S [S]_{total} K[L]_{total}}{1 + K[L]_{total}} \quad \text{obtenido a}$$

partir de de (G)

$$(I) \quad \Delta A = \frac{[S]_{total} K[L]_{total} \Delta \varepsilon}{1 + K[L]_{total}} \quad \text{donde} \quad \Delta \varepsilon = \varepsilon_{SL} - \varepsilon_S$$

La ley de Lambert Beer: $A_S = [S]_{total} \cdot \varepsilon_S$ y así $[S]_{total} = \frac{A_S}{\varepsilon_S}$

debido a esto usamos A_S en (I) en vez de $[S]_{total}$ y $\Delta \varepsilon = (\varepsilon_{SL} - \varepsilon_S) / \varepsilon_S$

$$(J) \quad \Delta A = \frac{(A_S / \varepsilon_S) K[L]_{total} \Delta \varepsilon}{1 + K[L]_{total}} \quad \text{obtenido a partir de la ley de Lambert Beer y (I)}$$

10. Apéndices

10.1. Cálculo de las constantes de interacción

El problema de la determinación de las constantes de interacción para la formación de complejos moleculares se puede expresar del siguiente modo. Nosotros tenemos una disolución que contiene un huésped, S, en presencia de ciclodextrina, L, y medimos la propiedad Y de la disolución en función de L_t , la concentración total de ciclodextrina. El sistema se describe por las ecuaciones,

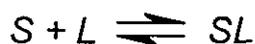
$$Y_i = f([L]_i, \eta_j)$$

$$L_{ti} = g([L]_i, \lambda_k)$$

Donde Y_i es el valor de la propiedad a medir (la variable dependiente) a una concentración total de ciclodextrina L_{ti} ; $[L]_i$ es la concentración de ciclodextrina libre y η_j y λ_k son parámetros. Se acepta que $[L]_i = L_{ti}$ cuando $L_{ti} \gg S_t$ (S_t es la concentración total de huésped). La forma de la función y la naturaleza de los parámetros dependen del sistema de estudio y de la estequiometría considerada. Estos parámetros incluyen la constante de interacción, que son dependientes de la temperatura.¹¹

Es recomendable comprobar si un sistema establecido cumple el modelo de interacción, es decir, si los datos experimentales se ajustan bien a la correspondiente isoterma de enlazamiento. Estas ecuaciones son una forma de isoterma de unión.^{1, 11}

Considerando un sistema donde hay interacción entre huésped, S, y ciclodextrina, L, formándose una especie tipo SL, del modo



cuya constante de interacción es

$$K = \frac{[SL]}{[S]_{libre}[L]_{libre}} \quad (\text{A})$$

Por las curvas de calibrado obtenidas se da por hecho que la ley de Lambert Beer se cumple para todas las especies.

El desarrollo matemático para obtener las ecuaciones empleadas para calcular las constantes de interacción es el que se expone a continuación.

La absorbancia de una disolución formada por la concentración total de huésped, S_t , en ausencia de ciclodextrina, es

$$(B) \quad A_{inicial} = \varepsilon_S [S]_{total}$$

y en presencia de ciclodextrina es

$$(C) \quad A_{total} = A_S + A_{SL}$$

obtenido de (A)

$$[S]_{total} = [S]_{libre} + [SL] = [S]_{libre} + K[L]_{total} [S]_{libre}$$

$$[S]_{total} = [S]_{libre} \cdot (1 + K[L]_{total})$$

$$(D) \quad [S]_{libre} = \frac{[S]_{total}}{1 + K[L]_{total}}$$

$$(E) \quad A_{total} = \varepsilon_S [S]_{libre} + \varepsilon_{SL} [SL] \quad \text{obtenido de (C)}$$

$$A_{total} = \varepsilon_S \frac{[S]_{total}}{1 + K[L]_{total}} + \varepsilon_{SL} K[L]_{total} \frac{[S]_{total}}{1 + K[L]_{total}} \quad \text{obtenido de (B), (C) y (D)}$$

$$(F) \quad \Delta A = A_{total} - A_{inicial}$$

$$(G) \quad \Delta A = \frac{\varepsilon_S [S]_{total} + \varepsilon_{SL} K[L]_{total} [S]_{total}}{1 + K[L]_{total}} - \varepsilon_S [S]_{total} \quad \text{obtenido de (B), (C), (E) y (F)}$$

$$(H) \quad \Delta A = \frac{\varepsilon_S [S]_{total} + \varepsilon_{SL} K[L]_{total} [S]_{total} - \varepsilon_S [S]_{total} - \varepsilon_S [S]_{total} K[L]_{total}}{1 + K[L]_{total}} \quad \text{obtenido a}$$

partir de de (G)

$$(I) \quad \Delta A = \frac{[S]_{total} K[L]_{total} \Delta \varepsilon}{1 + K[L]_{total}} \quad \text{donde} \quad \Delta \varepsilon = \varepsilon_{SL} - \varepsilon_S$$

La ley de Lambert Beer: $A_S = [S]_{total} \cdot \varepsilon_S$ y así $[S]_{total} = \frac{A_S}{\varepsilon_S}$

debido a esto usamos A_S en (I) en vez de $[S]_{total}$ y $\Delta \varepsilon = (\varepsilon_{SL} - \varepsilon_S) / \varepsilon_S$

$$(J) \quad \Delta A = \frac{(A_S / \varepsilon_S) K[L]_{total} \Delta \varepsilon}{1 + K[L]_{total}} \quad \text{obtenido a partir de la ley de Lambert Beer y (I)}$$

$$(K) \quad \Delta A = \frac{A_S K [L]_{total} \Delta \epsilon / \epsilon_S}{1 + K [L]_{total}} \quad \text{obtenido a partir de (J)}$$

Esta expresión muestra la dependencia hiperbólica con la concentración de ligando que experimenta la absorbancia.¹¹

Podemos generalizar la expresión para cualquier propiedad Y a valorar, con la dependencia de la concentración de ciclodextrina, del modo:

$$\Delta Y = \frac{Y_0 K_{11} X P}{1 + (K_{11} X)} \quad \text{Ecuación (1)}$$

$$\Delta Y = \frac{Y_0 K_{12} X^2 P}{1 + (K_{12} X^2)} \quad \text{Ecuación (2)}$$

Donde $\Delta Y = (Y_{\text{complejo}} - Y_{\text{ciclodextrina}} - Y_{\text{huésped}})$, Y_0 es el Y del huésped en ausencia de ciclodextrina, K_{11} y K_{12} son las constantes de interacción para complejos tipo SL y SL_2 , respectivamente, X es la concentración de ciclodextrina y $P = (\epsilon_{\text{complejo}} - \epsilon_{\text{huésped}}) / \epsilon_{\text{huésped}}$ ó $P = (\Phi_{\text{complejo}} - \Phi_{\text{huésped}}) / \Phi_{\text{huésped}}$.

Estas dos ecuaciones (1) y (2) fueron las empleadas para calcular los valores de las constantes de interacción K_{11} (SL) y K_{12} (SL_2) para todos los complejos de inclusión en estudio, anti-inflamatorio-ciclodextrina, en todos los medios de disolución y a las diferentes temperaturas.

Es importante señalar que la interacción entre α -CD y DMSO es extremadamente débil (0.41 ± 0.04 en 10% DMSO/agua y 0.37 ± 0.04 en 20% DMSO/agua)⁹⁹ y también entre β -CD y DMSO ($0.0018 \text{ mmol}^{-1} \text{ dm}^3$).¹⁰⁰ Por esta razón, en las ecuaciones (1) y (2) se consideró despreciable la posible interacción presente entre CDs-DMSO y CDs-mezclas DMSO/agua.

Esta ecuación para obtener la constante de interacción, K, y la absortividad molar, ϵ , o eficiencia cuántica en su caso, Φ , representa una buena elección en asociaciones moleculares. Da resultados de K y ϵ ó Φ , y aunque ligeramente más complicado que los procedimientos de ajuste lineal, se usó y se continúa utilizando para computarizar constantes de interacción.^{11, 165-167}

A partir de las isotermas de unión se obtuvieron distintas expresiones encaminadas a conseguir la linealidad de estas ecuaciones.^{1, 11} Destacan:

- Dobles recíprocos^{168, 169}

$$\frac{b}{\Delta A} = \frac{1}{S_r K_{11} \Delta \varepsilon [L]} + \frac{1}{S_r \Delta \varepsilon_{11}}$$

- Y recíproco¹⁷⁰

$$\frac{b[L]}{\Delta A} = \frac{[L]}{S_r \Delta \varepsilon_{11}} + \frac{1}{S_r K_{11} \Delta \varepsilon_{11}}$$

- X recíproco

$$\frac{\Delta A}{b[L]} = \frac{K_{11} \Delta A}{b} + S_r K_{11} \Delta \varepsilon_{11}$$

La representación gráfica de la isoterma de enlazamiento en forma directa, semilogarítmica o logarítmica proporciona un medio muy conveniente para visualizar sus características cualitativas y observar estimaciones cuantitativas de los parámetros.

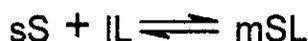
El procesamiento de los datos para el cálculo de las constantes de interacción y la obtención de las gráficas de ajustes no lineales se realizó con el programa Microcal Origin, versión 4.00 (*Microcal Software, Inc.*).

Los valores de las constantes de interacción que se presentan tabulados a lo largo de las secciones concernientes con las moléculas huéspedes, están expresadas con las cifras significativas que están de acuerdo con las desviaciones standard informadas.¹⁷¹

10.2. Cálculo de otras variables termodinámicas

Cuando una reacción química particular se verifica en ambas direcciones, se alcanza un estado de equilibrio donde el sistema aparece estacionario a una temperatura y presión determinadas. Usando el concepto de energía libre, se ha empleado la termodinámica para esclarecer los problemas del equilibrio químico.

Considerando un sistema de reacción general representada por un equilibrio entre huésped y anfitrión,



alcanza el equilibrio a una temperatura y presión exterior establecidas. Supongamos que en este sistema tiene lugar un cambio infinitesimal, de izquierda a derecha; así se consumirán dn_s moles de S, dn_l moles de L mientras que se formarán dn_m moles de SL.

El cambio de energía libre que acompaña a este proceso viene dado por

$dG_{T,p} = (\mu_m dn_m) - (\mu_s dn_s + \mu_l dn_l)$, donde μ son los potenciales químicos de las especies indicadas.

El criterio base para el equilibrio químico es el mismo que el del equilibrio de fases, es decir, la energía libre de Gibbs del sistema llegará al mínimo.²⁷

Como el sistema cerrado está en equilibrio, este cambio de energía libre deberá ser igual a cero, $\Delta G = 0$. El potencial químico μ de cualquier constituyente de una mezcla, gaseosa o líquida, se puede representar por

$$\mu = \mu^0 + RT \ln a$$

donde μ^0 es el potencial químico de la sustancia dada en el estado tipo elegido de actividad unidad, y a es su actividad en la mezcla que se considera. Si los valores de potencial químico de la ecuación anterior se llevan a la condición del equilibrio, resulta que $\Delta G^0 < 0$.¹⁷²

Se define el estado de referencia con el estado del sistema en que el coeficiente de actividad de una sustancia es la unidad. Se entiende que a se refiere al sistema en equilibrio.

$$\mu^0 = -RT \ln K \quad \text{Ecuación (3)}$$

μ^0 (que a menudo se escribe como ΔG^0) es el cambio en energía libre, por mol, acompañado de la conversión de reactivos en productos.¹¹

La ecuación (3) en la forma $\ln K = -\Delta G / RT$. El efecto de la temperatura sobre la constante de equilibrio se puede determinar derivando la ecuación (3) con respecto a la temperatura. Como K es independiente de la presión exterior, se podrá omitir la condición de presión constante y la notación de la derivada parcial que la acompaña, así que

$$\frac{d \ln K}{dT} = -\frac{1}{R} \frac{d(\Delta G^0 / T)}{dT}$$

La función de trabajo, representada por el símbolo G , se define por $G = H - TS$ donde H es el contenido energético del sistema, T es su temperatura, y S , su entropía. Con objeto de obtener una idea del significado físico de la función de trabajo, consideremos un cambio isotérmico desde el estado inicial al estado final,¹⁷²

$$G_1 = H_1 - TS_1$$

$$G_2 = H_2 - TS_2$$

$$G_2 - G_1 = (H_2 - H_1) - T(S_2 - S_1)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Ecuación (4)

G , H y S son propiedades extensivas, es decir, sus valores son proporcionales a la cantidad de materia en el sistema.

Conociendo el valor de las constantes de interacción, K , a diferentes temperaturas, y empleando las ecuaciones (3) y (4) con $R = 1.987$ cal/mol K, obtenemos los valores de las variables termodinámicas por regresión lineal.

El procesamiento de los datos para el cálculo de las otras variables termodinámicas, a partir de los valores de las constantes de interacción a las diferentes temperaturas de trabajo, se realizó con el programa Microcal Origin, versión 4.00 (*Microcal Software, Inc.*).

10.3. Procesos de modificación de la intensidad de la fluorescencia

Los procesos de modificación de la intensidad de la fluorescencia pueden ser descritos empleando una relación matemática entre los cambios de intensidad de fluorescencia y la concentración del agente que la modifica.

De forma general, la ecuación indicada a continuación viene dada por la relación de eficiencia cuántica en presencia del agente que apaga o aumenta la intensidad de la fluorescencia.¹⁴⁰ En este caso particular son las ciclodextrinas.

$$\frac{\Phi_o - \Phi}{\Phi} = \frac{Ka[S_o]}{(1-a)K[S_o]} = \frac{a}{1-a} = K_{eq}L$$

Φ_o = eficiencia cuántica en ausencia de ciclodextrina,

Φ = eficiencia cuántica en presencia de ciclodextrina,

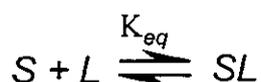
S = huésped,

L = ciclodextrina,

K = factor de proporcionalidad,

$a = \frac{[SL]}{[S_o]}$, fracción complejada

$K_{eq} = \frac{[SL]}{[S] \cdot [L]}$ del equilibrio,



La forma más habitual de presentación de esta ecuación es en función de la relación de intensidades de fluorescencia:^{128, 141}

$$\frac{I_o - I}{I} = \frac{Ka[S_o]}{(1-a)K[S_o]} = \frac{a}{1-a} = K_{eq}L$$

donde

I_o = intensidad de la fluorescencia, a una determinada longitud de onda, en ausencia de ciclodextrina,

I = intensidad de la fluorescencia, a una determinada longitud de onda, en presencia de ciclodextrina.

10.4. Cálculo del número de especies en disolución

La existencia de un punto isobéptico en una superposición de espectros, indica la presencia de al menos dos especies en disolución. Cuando hay ausencia de puntos isobépticos, esta técnica de reconocimiento del número de especies en disolución puede ser sustituida por otros métodos, entre ellos los computacionales.

En este caso particular nos referimos concretamente al método denominado de *Triangulación*.^{158, 173, 174} El método se explica a continuación.

Consideremos una serie de disoluciones numeradas de 1 a j. Cada una tiene su medida de absorbancia a un diferente valor de longitud de onda, de 1 a i. Este grupo de datos se puede presentar en forma de matriz, y ésta representará la matriz de absorbancia. La matriz de absorbancia es reducida por una serie de operaciones elementales a una matriz reducida equivalente en la que los mayores valores están en la diagonal y todos los valores por debajo de ésta son cero.¹⁷⁵ Este proceso se llama triangulación de la matriz.

El rango de la matriz viene dado por el número de valores distintos de cero en esta diagonal. Esto puede ser corregido por una matriz reducida de valores de error que contiene los valores de error esperado y procesados del mismo modo que los valores de absorbancia. La variación del rango encontrado en ambas matrices, frente a una determinada magnitud del error espectrofotométrico, indica el número de especies en la disolución.

Se realiza varias veces el cálculo de esta variación del rango de ambas matrices para distintos valores del error espectrofotométrico. Finalmente obtenemos una serie de valores que representan el número de especies en disolución frente a las distintas magnitudes de los errores espectrofotométricos aplicados. El número de especies en disolución que permanezca más tiempo presente, tras aplicar diferentes valores de error espectrofotométrico, será el número de especies más probable que estarán en la disolución.

10.5. Estudios de mecánica molecular

Se realizó el estudio de mecánica molecular de las estructuras de todos los analgésicos anti-inflamatorios (fenoprofén, naproxén, ibuprofén, ketoprofén, indometacina, fenilbutazona y oxifenbutazona), obteniéndose para cada caso una estructura de mínima energía total. Lo mismo se hizo para las estructuras de todas las ciclodextrinas empleadas (α -, β -, γ -ciclodextrinas y β -ciclodextrina-hidroxipropilada), obteniéndose de igual forma sus estructuras de mínima energía.

Posteriormente se optimizó la geometría para varias configuraciones de todas las moléculas huéspedes con α -, β -, γ -ciclodextrinas y β -ciclodextrina-hidroxipropilada, y se encontraron estructuras de complejos de inclusión de mínima energía en cada caso. Estas configuraciones son las diferentes geometrías de los distintos componentes del complejo de inclusión.

La estructura del complejo de inclusión derivada de los cálculos en mecánica molecular es una representación promedio de las estructuras del complejo en disolución.

Para todos los casos se manejó el programa HyperChem (Molecular Modeling System 4.5), con el campo de fuerza MM2 y gradiente conjugado,^{156, 176} empleando el módulo de mecánica molecular. El criterio de convergencia fue el standard, 0.1 kcal/(Å mol), en gradiente de energía.

Las estructuras de energía mínima calculadas para los sistemas previamente estudiados por resonancia magnética nuclear, fueron consideradas a partir de los resultados obtenidos experimentalmente, y los resultados logrados por mecánica molecular están de acuerdo con las geometrías obtenidas de forma experimental.

Las estructuras de los complejos de inclusión que se muestran con la β -ciclodextrina-hidroxipropilada, de grado de sustitución 9, derivan esencialmente de los cálculos realizados por mecánica molecular. Debido a la mezcla que presenta en su composición esta β -ciclodextrina-hidroxipropilada, no se realizaron sus estudios de resonancia magnética nuclear, y por tanto, no tenemos clara evidencia experimental de la geometría de sus complejos de inclusión.

11. Referencias y bibliografía

- 1.-Peral-Fernández, F. **Asociaciones Moleculares**. Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED), Madrid, **1992**, chapter 1.
- 2.-Frieden, E. **Non-Covalent Interactions: Key to Biological Flexibility and Specificity**. *J. Chem. Ed.*, **52**, **1975**, 754.
- 3.-French, D. **The Schardinger Dextrins**. *Adv. Carbohydr. Chem.*, **12**, **1957**, 189.
- 4.-Szejtli, J. **Cyclodextrin Technology**. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, **1988**, chapters 1, 2, 3.
- 5.-Duchêne, D. and Wouessidjewe, D. **Physicochemical Characteristics and Pharmaceutical Uses of Cyclodextrin Derivatives**. *Pharm. Technol.*, **1990**, 21.
- 6.-Duchêne, D. and Wouessidjewe, D. **Pharmaceutical Uses of Cyclodextrins and Derivatives**. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, **16**(17), **1990**, 2487.
- 7.-Szejtli, J. **Cyclodextrin. Properties and Applications**. *Drug Investigation* 2 (suppl. 4), **1990**, 11.
- 8.-Takahashi, K. and Ono, S. **Calorimetric Studies on Hydrolysis of Glucosides V. Heats of Hydrolysis of Cyclohexa-, Cyclohepta-, and Cyclooctaamyloses and Thermodynamic Considerations on the Cyclization Process**. *J. Biochem.*, **72**(3), **1972**, 679.
- 9.-Bekers, O.; Uijtendaal, E. V.; Beijnem, J. H.; Bult, A. and Underberg, W. J. M. **Cyclodextrins in the Pharmaceutical Field**. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **17**(11), **1991**, 1503.
- 10.-Corradini, R.; Dossena, A.; Marchelli, R.; Panagia, A.; Sartor, G.; Saviano, M.; Lombardi, A. and Pavone, V. **A Modified Cyclodextrin with a Fully Encapsulated Dansyl Group: Self-Inclusion in the Solid State and in Solution**. *Chem. Eur. J.*, **2**(4), **1996**, 373.
- 11.-Connors, K. A. **Binding Constants. The Measurement of Molecular Complex Stability**. Wiley, New York, **1987**, chapters 1, 2, 4.
- 12.-Liao, Y. and Bohne, C. **Alcohol Effect on Equilibrium Constants and Dissociation Dynamics of Xanthone-Cyclodextrin Complexes**. *J. Phys. Chem.*, **100**(2), **1996**, 734.
- 13.-Cramer, F.; Saenger, W. and Spatz, H. C. **Inclusion Compounds. XIX. The Formation of Inclusion Compounds of α -Cyclodextrin in Aqueous Solutions. Thermodynamics and Kinetics**. *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, **1967**, 14.
- 14.-Wang, Y.; Ikeda, T.; Ueno, A. and Toda, F. **Fluorescein Modified β -Cyclodextrin as a Charge Changeable Receptor**. *Tetrahedron Lett.*, **34**, **1993**, 4971.
- 15.-Fornasier, R.; Raniero, F.; Scrimin, P. and Torellato, V. **Rate and Enantioselectivity with Complexes of Activated Substrates and Simply Modified Cyclodextrins**. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1987**, 1121.
- 16.-Matsui, Y.; Fujie, M. and Hanaoka, K. **Host-Guest Complexation of Mono[6-(1-pyridinio)-6-deoxy]- α -Cyclodextrin with Several Inorganic Anions**. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **62**, **1989**, 1451.
- 17.-Iwakura, Y.; Uno, K.; Toda, F.; Onozuka, S.; Hattori, K. and Bender, M. L. **The Stereochemically Correct Catalytic Site on Cyclodextrin Resulting in a Better Enzyme Model**. *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, **1975**, 4432.
- 18.-Inoue, Y.; Liu, Y.; Tong, L. H.; Shen, B. J. and Jin, D. S. **Calorimetric Titration of Inclusion Complexation with Modified β -Cyclodextrins. Enthalpy-Entropy Compensation in Host-Guest Complexation: From Ionophore to Cyclodextrin and Cyclophane**. *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, **1993**, 10637.
- 19.-Tong, L. H.; Hou, Z. J. and Inoue, Y. **Molecular Recognition by Modified Cyclodextrins. Inclusion Complexation of Beta-Cyclodextrin 6-O-monobenzoate with Acyclic and Cyclic Hydrocarbons**. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1992**, 1253.

- 20.-Stephen, P. J.; Grant, D. J. W.; Hadgraft, J. and Parr, G. D. **Cyclodextrins in the Pharmaceutical Sciences. Part. 1: Preparation, Structure and Properties of Cyclodextrins and Cyclodextrin Inclusion Compounds.** *Acta Pharm. Tech.*, **30**(3), 1984, 213.
- 21.-**The Merck Index.** (Twelfth edition). S. Budavari, ed.; Merck and Co. Inc., Whitehouse Station, N.J., 1996.
- 22.-Bergeron, R. J. **Inclusion Compounds. Physical Properties and Applications.** J. L. Atwood, J. E. D. Davies and D. D. MacNicol, eds.; Academic Press, London, 1984, vol. 3, chapter 12.
- 23.-Bergeron, R. J.; Channing, M. A.; Gibeilly, G. J. and Pillor, D. J. **Disposition Requirements for Binding in Aqueous Solution of Polar Substrates in the Cyclohexaamylose Cavity.** *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 1977, 5146.
- 24.-Buvári, Á. and Barcza, L. **Complex Formation of Phenol, Aniline, and their Nitro Derivatives with β -Cyclodextrin.** *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2*, 1988, 543.
- 25.-Onsager, L. **Electric Moments of Molecules in Liquids.** *J. Am. Chem. Soc.*, **58**, 1936, 1486.
- 26.-Rigby, M.; Smith, E. B.; Wakeham, W. A. and Maitland, G. C. **The Forces between Molecules.** Clarendon Press, Oxford, 1986, chapter 1.
- 27.-Murrel, J. M. and Jenkins, A. D. **Properties of Liquids and Solutions.** Wiley, Chinchester, England, 1994, chapter 2.
- 28.-Chapman, K. T. and Still, W. C. **A Remarkable Effect of Solvent Size on the Stability of a Molecular Complex.** *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 1989, 3075.
- 29.-Reichardt, C. **Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry.** VCH, Weinheim, Germany, 1990, chapter 2.
- 30.-Connors, K. A. and Sun, S. **The Stability of some Molecular Complexes in Aqueous Mixed Solvents. Correlation with Solvent Surface Tension.** *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 1971, 7239.
- 31.-Kano, K.; Takenoshita, I. and Ogawa, T. **Three Component Complexes of Cycloheptaamylose. Fluorescence Quenching of Pyrenes and Naphthalenes in Aqueous Media.** *Chem. Lett.*, 1980, 1035.
- 32.-Kano, K.; Takenoshita, I. and Ogawa, T. **γ -Cyclodextrin-Enhanced Excimer Fluorescence of Pyrene and Effect of n-Butyl Alcohol.** *Chem. Lett.*, 1982, 321.
- 33.-Nelson, G.; Patonay, G. and Warner, I. M. **Effects of Selected Alcohols on Cyclodextrin Inclusion Complexes of Pyrene Using Fluorescence Lifetime Measurements.** *Anal. Chem.*, **60**, 1988, 274.
- 34.-Chatjigakis, A. K.; Donzé, C.; Coleman, A. W. and Cardot, P. **Solubility Behavior of β -Cyclodextrin in Water/Cosolvent Mixtures.** *Anal. Chem.*, **64**, 1992, 1632.
- 35.-Donzé, C.; Chatjigakis, A. and Coleman, A. W. **Co-Solvent Modulation of the Inclusion Selectivity of β -Cyclodextrin.** *J. Incl. Phenom. and Mol. Recog. in Chem.*, **13**, 1992, 155.
- 36.-Örstan, A. and Wojcik, J. F. **The Effect of Dimethylsulfoxide on the Kinetics of Azo Dye-Cyclomaltohexaose (α -Cyclodextrin) Incusion Complex Formation.** *Carbohydr. Res.*, **176**, 1988, 149.
- 37.-Gadosy, T. A. and Tee, O. S. **The Kinetics of Basic Cleavage of Nitrophenyl Alkanoate Esters by Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin in Aqueous Solution.** *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1994, 715.
- 38.-Schneider, H. J.; Kramer, R.; Simova, S. and Schneider, U. **Solvent and Salt Effects on Binding Constants of Organic Substrated in Macrocyclic Host Compounds. A General Equation Measuring Hydrophobic Binding Contributions.** *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 1988, 6442.
- 39.-Barb, W. G. **Ultraviolet Absorption and Molecular-Complex Formation of Maleic Anhydride in Aromatic Solvents.** *Trans. Faraday Soc.*, **49**, 1953, 143.

- 40.-Emslie, P. H.; Foster, R.; Fyfe, C. A. and Horman, I. **The Unreliability of Association Constants of Organic Charge-Transfer Complexes Derived from Optical Absorption Spectra-I. General Consideration.** *Tetrahedron*, 21, 1965, 2843.
- 41.-Smith, D.R. **Supramolecular Chemistry.** *Chemistry and Industry*, 1994, 14.
- 42.-Örstan, A. and Ross, J. B. A. **Investigation of β -Cyclodextrin-Indole Inclusion Complex by Absorption and Fluorescence Spectroscopies.** *J. Phys. Chem.*, 91, 1987, 2739.
(a) Heimez, P. C. **Principles of Colloid and Surface Chemistry.** Dekker, New York, 1986, chapter 6.
- 43.-Szejtli, J. **Utilization of Cyclodextrins in Industrial Products and Processes.** *J. Mater. Chem.*, 7(4), 1997, 575.
- 44.-Tabushi, I.; Kiyosuke, Y.; Sugimoto, T. and Yamamura, K. **Approach to the Aspects of Driving Forces of Inclusion by α -Cyclodextrin.** *J. Am. Chem. Soc.*, 100, 1978, 916.
- 45.-Szejtli, J. **Cyclodextrins Drug Formulations: Part 1.** *Pharm. Technol.*, 1991, 36.
- 46.-Maitland, G. C.; Rigby, M.; Smith, E. B. and Wakeham, W. A. **Intermolecular Forces. Their Origin and Determination.** Clarendon Press, New York, 1981, chapter 1.
- 47.-Allen, L. C. **Strength of Hydrogen Bond.** *J. Am. Chem. Soc.*, 97, 1975, 6921.
- 48.-Tanford, C. **The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes.** Wiley-Intescience, New York, 1980, chapter 1.
- 49.-Morawetz, H. **Macromolecules in Solution.** Wiley-Intescience, New York, 1965, chapter 2.
- 50.-Jencks, W. P. **Catalysis in Chemistry and Enzymology.** Dover Publications, New York, 1987, part II, chapters 6, 7, 8.
- 51.-Ross, P. D. and Subranian, S. **Thermodynamics of Macromolecular Association Reactions. Analysis of Forces Contributing to Stabilization.** *J. Biophys.*, 32, 1980, 79.
- 52.-Bergeron, R. J.; Pillor, G. V. and Roberts, W. P. **Thermodynamics of Cycloamylose-Substrate Complexation.** *Bioorg. Chem.*, 7(2), 1978, 263.
- 53.-Tabushi, I.; Shimokawa, K.; Shimizu, N.; Shirakata, H. and Fujita, K. **Capped Cyclodextrin.** *J. Am. Chem. Soc.*, 98, 1976, 7855.
- 54.-González-Blanco, C.; Moro, M. E.; Velázquez, M. M. and Rodríguez, L. J. **Binding of Dibenzepin to Cyclodextrin and Anionic Surfactants in Aqueous Solutions.** *IL Farmaco*, 47(5), 1992, 623.
- 55.-Kirby, A. J. **Enzyme Mechanisms, Models, and Mimics.** *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 35, 1996, 707.
- 56.-Manor, P. C. and Saenger, W. **Topography of Cyclodextrin Inclusion Complexes III. Crystal and Molecular Structure of Cyclohexaamylose Hexahydrate, the (H₂O)₂ Inclusion Complex.** *J. Am. Chem. Soc.*, 96, 1974, 3630.
- 57.-Smithrud, D. B. and Diederich, F. **Stregth of Molecular Complexation of Apolar Solutes in Water and in Organic Solvents in Predictable by Linear Free Energy Relationships: A General Model for Solvation Effect on Apolar Binding.** *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 1990, 339.
- 58.-Bergeron, R. J. and Meely, M. P. **The Role of Strain Energy in Cycloamylose Substrate Complexation.** *Bioog. Chem.*, 5, 1976, 197.
- 59.-Juziro, N. and Mayumi, N. **Inclusion Complex of 8-anilinonaphtalene-1-sulfonate with β -Cyclodextrin.** *J. Pharm. Sci.*, 80(1), 1991, 58.
- 60.-Buvári, Á. and Barcza, L. **The Effect of Hydrogen Bonds on the Inclusion Complex Formation of β -Cyclodextrin.** *Acta Chim. Hung.*, 126(4), 1989, 455.
- 61.-Matsui, Y. and Mochida, K. **Binding Forces Contributing to the Association of Cyclodextrin with Alcohol in an Aqueous Solution.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 52(10), 1979, 2808.
- 62.-Masafumi, O.; Kazuo, K.; Hisanori, S. and Hiroyasu, S. **Molecular Mechanics Studies on Inclusion Compounds of Cyanine Dye Monomers and Dimers in Cyclodextrin Cavities.** *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 1990, 5824.

- 63.-Cromwell, W. C.; Bystrom, K. and Eftink, M. R. **Cyclodextrin-Adamantanecarboxylate Inclusion Complexes: Studies of Variation in Cavity Size.** *J. Phys. Chem.*, **89**, 1985, 326.
- 64.-Schneider, H. J. **Mechanism of Molecular Recognition: Investigations of Organic Host-Guest Complexes.** *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **30**, 1991, 1417.
(a) Díaz, D.; Vargas-Baca, I. and Gracia-Mora, J. **β -Cyclodextrin Inclusion Complexes with Iodine.** *J. Chem. Edu.*, **71**, 1994, 708.
- 65.-Shen, T. Y. **Burger's Medicinal Chemistry. Part. 3. Fourth Edition.** M. E. Wolff, ed.; John Wiley, New York, 1980, chapter 62.
- 66.-Ali, S. L. **Phenylbutazone, in Analytical Profiles of Drugs Substances.** K. Florey, ed.; Academic Press, San Diego, 1991, vol. 11, p. 483.
- 67.-Al-Badr, A. A. and El-Obeid, H. A. **Oxyphenbutazone, in Analytical Profiles of Drugs Substances.** K. Florey, ed.; Academic Press, San Diego, 1984, vol. 13, p. 333.
- 68.-Skiba, M.; Morvan, C.; Duchêne, D.; Puisieux, F. and Woussidjewe, D. **Evaluation of Gastrointestinal Behaviour in the Rat of Amphiphilic-Cyclodextrin Nanocapsules, Loaded with Indomethacin.** *Int. J. Pharm.*, **126**, 1995, 275.
- 69.-Naoki, N.; Kyoto, K.; Takaaki, K.; Yasuyuki, T.; Harahisa, U. and Tsuneji, N. **Influence of Inclusion of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs with β -Cyclodextrin on the Irritation to Stomach of Rats upon Oral Administration.** *Chem Pharm. Bull.*, **26**(12), 1978, 3609.
- 70.-Saenger, W. **Cyclodextrin Inclusion Compounds in Research and Industry.** *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **19**, 1980, 344.
- 71.-Lehn, J. M. **La Química Supramolecular.** *Mundo Científico*, **10**(2), 1982, 20.
- 72.-Lehn, J. M. **Cryptates: Inclusion Complexes of Macropolycyclic Receptor Molecules.** *Pure Appl. Chem.*, **50**, 1978, 871.
- 73.-Lehn, J. M. **Supramolecular Chemistry: Receptor, Catalysts and Carriers.** *Science*, **227**, 1985, 849.
- 74.-Lehn, J. M. **Supramolecular Chemistry-Scope and Perspectives Molecules, Supermolecules, and Molecular Devices.** *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **27**, 1988, 89.
- 75.-**Frontiers in Supramolecular Organic Chemistry and Photochemistry.** H. J. Schneider and H. Dürr, eds.; with an introductory chapter by J. M. Lehn. VCH, Weinheim, Germany, 1991, preface.
- 76.-Lehn, J. M. **Perspectives in Supramolecular Chemistry from Molecular Recognition towards Molecular Information Processing and Self-Organization.** *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **29**, 1990, 1304.
- 77.-Hosseini, M. W. **La Catálisis Supramolecular.** *Mundo Científico*, **9**(89), 1989, 246.
- 78.-Pedersen, C. J. **Cyclic Polyethers and their Complexes with Metal Salts.** *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 1967, 7017.
- 79.-Dietrich, B.; Lehn, J. M. and Sauvage, J. P. **Diaza-Polyoxa-Macrocycles et Macrobicycles.** *Tetrahedron Lett.*, N. 34, 1969, 2885.
- 80.-Agbaria, R. A. and Gill, D. **Extended 2,5-diphenyloxazole- γ -cyclodextrin Aggregates Emitting 2,5-diphenyloxazole Excimer Fluorescence.** *J. Phys. Chem.*, **92**, 1988, 1052.
- 81.-Scypinski, S. and Drake, J. M. **Photophysics of Cumarin Inclusion Complexes with Cyclodextrin. Evidence for Normal and Inverted Complex Formation.** *J. Phys. Chem.*, **89**, 1985, 2432.
- 82.-Menard, F. A.; Dedhiya, M. G. and Rhodes, C. T. **Physico-Chemical Aspects of the Complexation of Some Drugs with Cyclodextrins.** *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, **16**(1), 1990, 91.
- 83.-Emerson, M. F. and Holtzer, A. **The Hydrophobic Bond in Micellar Systems. Effects of Various Additives on the Stability of Micelles of Sodium Dodecyl Sulfate and of n-Dodecyltrimethylammonium Bromide.** *J. Phys. Chem.*, **71**, 1967, 3320.

- 84.-Veiga, M. D.; Bernad, M. J. and Escobar, C. **Thermal Behaviour of Drugs from Binary and Ternary Systems.** *Int. J. Pharm.*, 89, 1993, 119.
- 85.-Veiga, M. D.; Escobar, C. and Bernad, M.J. **Dissolution Behaviour of Drugs from Binary and Ternary Systems.** *Int. J. Pharm.*, 98, 1993, 215.
- 86.-Brewster, M. E.; Estes, K. S. and Bodor, N. S. **An Intravenous Toxicity Study of 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrina, an Useful Drug Solubilizer, in Rats and Monkeys.** *Int. J. Pharm.*, 59, 1990, 231.
- 87.-Barone, G.; Castronuovo, G.; Del Vecchio, P.; Elia, V. and Muscetta, M. **Thermodynamics of Inclusion Compounds in Water.** *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, 82, 1986, 2089.
- 88.-Koehler, J. E. H.; Saenger, W. and Gunsteren, W. F. **On the Occurrence of Three-Center Hydrogen Bonds in Cyclodextrins in Crystalline Form and in Aqueous Solution: Comparison of Neutron Diffraction and Molecular Dynamics Results.** *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 6(1), 1988, 181.
- 89.-Harrison, J. C. and Eftink, M. R. **Cyclodextrin-Adamantanecarboxylate Inclusion Complexes: A Model System for the Hydrophobic Effect.** *Biopolymers*, 21, 1982, 1153.
- 90.-Ismail, S. **Interaction of Anticonvulsant drugs with alpha- and beta-Cyclodextrins II. Phenosuximide.** *S.T.P. Pharma. Sciences*, 2(2), 1992, 181.
- 91.-Djedaïni, F. and Pery, B. **Organic Shift Reagents for the NMR Analysis of Cyclodextrins.** *J. Molecular Structure*, 239, 1990, 161.
- 92.-Cabral-Marques, H. M.; Hadgraft, J. and Kellaway, I. W., **Studies of Cyclodextrin Inclusion Complexes I. The Salbutamol-Cyclodextrin Complex as Studied by Phase Solubility and DSC.** *Int. J. Pharm.*, 63, 1990, 259.
- 93.-Smith, V. K.; Ndou, T. T. and Warner, I. M. **Spectroscopic Study of the Interaction of Catechi with α -, β -, and γ -Cyclodextrins.** *J. Phys. Chem.*, 98, 1994, 8627.
- 94.-Israelachvili, J. N. **Intermolecular and Surface Forces.** Academic Press, London, 1985, chapter 1.
- 95.-Siegel, B. and Breslow, R. **Lyophobic Binding of Substrates by Cyclodextrins in Nonaqueous Solvents.** *J. Am. Chem. Soc.*, 97, 1975, 6869.
- 96.-Luzar, A. **The Contribution of Hydrogen Bonds to Bulk and Surface. Thermodynamic Properties of Dimethylsulfoxide-Water Mixtures.** *J. Phys. Chem.*, 91, 1989, 3603.
- 97.-Halstead, B. W. **The DMSO handbook.** Golden Quill Publisher, Colton, Ca, 1981, p. 31.
- 98.-Walker, M. and Campbell Douglass, W. **DMSO. The New Healing Power.** Devin-Adair Publisher, Old Greenwich, Connecticut, 1983, chapter 3.
- 99.-Gelb, R. L.; Schwartz, L. M.; Radeos, M.; Edmonds, R. B. and Laufer, D. **Cyclohexaamylose Complexation with Organic Solvent Molecules.** *J. Am. Chem. Soc.*, 104, 1982, 6283.
- 100.-Matsui, Y.; Ogawa, K.; Mikami, S.; Yoshimoto, M. and Mochida, K. **Binding and Catalytic Properties of Charged β -Cyclodextrins.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 60, 1987, 1219.
- 101.-Kobayashi, N. **Two Types of Inclusion Realised in the Complexation between p-Dimethylaminobenzoic Acid and 2,6-Dimethyl- β -Cyclodextrin.** *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1989, 1126.
- 102.-Danil de Namor, A. F.; Trabolssi, R. and Lewis, D. F. V. **Host Properties of Cyclodextrins toward Anion Constituents of Antigenic Determinants. A Thermodynamic Study in Water and in N,N-Dimethylformamide.** *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 1990, 8442.
- 103.-Tee, O. S.; Mazza, C.; Lozano-Hemmer, R. and Giorgi, J. B. **Ester Clearance by Cyclodextrins in Aqueous Dimethyl Sulfoxide Mixtures. Substrate Binding versus Transition State Binding.** *J. Org. Chem.*, 59, 1994, 7602.
- 104.-Bartik, K.; Luhmer, M.; Heyes, S. J.; Ottinger, R. and Reiss, J. **Probing Molecular Cavities in Alpha-Cyclodextrins Solution by Xenon NMR.** *J. Magnetic Resonance*, 109, 1995, 164.

- 105.-Szafram, B. and Parlackyk, J. **Preparation and Characterization of the Beta-Cyclodextrin Inclusion Complex with Sulfafurazole.** *J. Incl. Phenom. Mol. and Recog. in Chem.*, **23**, 1995, 277.
- 106.-Balzani, V. and Scandola, F. **Supramolecular Photochemistry.** Ellis Horwood, New York, 1991, chapter 10.
- 107.-Tasic, L. M.; Jovanic, M. D. and Djuric, Z. R. **The Influence of β -cyclodextrin on the Solubility and Dissolution Rate of Paracetamol Solid Dispersions.** *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**, 1992, 52.
- 108.-Puglisi, G.; Santagati, N. A.; Ventura, C. A.; Pignatello, R.; Panico, A. M. and Spampinato, S. **Enhancement of 4-biphenylacetic Acid Bioavailability in Rats by its β -cyclodextrin Complex after Oral Administration.** *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 1991, 430.
- 109.-Bole-Unduk, B.; Vernjak, K. and Zmitek, J. **Anti-inflammatory, Analgesic and Ulcerogenic Properties of S-(+)-Ibuproxam, Racemic Ibuproxam- β -Cyclodextrin and S-(+)-Ibuproxam- β -Cyclodextrin.** *J. Pharm. Pharmacol.*, **48**(11), 1996, 1153.
- 110.-Chow, D. D. and Karara, A. H. **Characterization, Dissolution and Bioavailability in Rats of Ibuprofen- β -Cyclodextrin Complex System.** *Int. J. Pharm.*, **28**, 1986, 95.
- 111.-Connors, K. A. and Mollica, J. A. **Theoretical Analysis of Comparative Studies of Complex Formation.** *J. Pharm. Sci.*, **55**, 1966, 772.
- 112.-Ramírez-López, J.; Cerezo-Galán, A. and Rodríguez-Galán, I. C. **Aspectos Cinéticos de Complejos de Inclusión con Ciclodextrinas.** *Ciencia e Industria Farmacéutica*, **6**, 1987, 325.
- 113.-Connors, K. A. and Lipari, J. M. **Effect of Cycloamyloses on Apparent Dissociation Constants of Carboxylic Acids and Phenols: Equilibrium Analytical Selectivity Induced by Complex Formation.** *J. Pharm. Sci.*, **65**, 1976, 397.
- 114.-Ward, C. E. and Schirmer, R. E. **Fenopropfen calcium, in Analytical Profiles of Drugs Substances.** K. Florey, ed.; Academic Press, New York, 1977, vol. 6, p. 161.
- 115.-**Diccionario de Especialidades Farmacéuticas.** Ediciones PLM, edición 42, México D.F., México, 1996.
- 116.-Bashford, C. L. **Spectrophotometry and Spectrofluorimetry.** D. A. Harris and C. L. Bashford, eds.; IRL Press, Oxford, England, 1987, chapter 1.
- 117.-Angelici, R. J. **Synthesis and Technique in Inorganic Chemistry.** W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1977, experiment 1.
- 118.-Uccello-Barreta, G.; Chiavacci, C. and Salvatori, P. **Stereochemistry and Dynamic of the Inclusion Complex of (S)-(+)-Fenopropfen with Cyclomaltoheptaose (β -Cyclodextrin).** *Carbohydr. Res.*, **243**, 1993, 1.
- 119.-Catena, G. C. and Bright, F. V. **Thermodynamic Study on the Effects of β -Cyclodextrin Inclusion with Anilidonaphthalenesulfonates.** *Anal. Chem.*, **61**, 1989, 905.
- 120.-Dodd, R. E. **Chemical Spectroscopy.** Elsevier Publishing, Amsterdam, 1962, chapter 5.
- 121.-Brown, S. E.; Coates, J. H.; Easton, C. J.; Lincoln, S.F.; Luo, Y. and Stephens, A. K. W. **Cyclodextrin Inclusion Complexes of Two Non-Steroidal Antiinflammatory Drugs and of an Analgesic Drug.** *Aust. J. Chem.*, **44**, 1991, 855.
- 122.-Connors, K. A.; Lin, S. F. and Wong, A. B. **Potentiometric Study of Molecular Complexes of Weak Acids and Bases Applied to Complexes of α -Cyclodextrin with *para*-Substituted Benzoic Acids.** *J. Pharm. Sci.*, **71**, 1982, 217.
- 123.-Gelb, R. I.; Schwartz, L. M.; Johnson, R. F. and Laufer, D. A. **The Complexation Chemistry of Cyclohexaamyloses.4. Reactions of Cyclohexaamylose with Formic, Acetic and Benzoic Acids and their Conjugate Bases.** *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 1979, 1869.
- 124.-Guilbault, G. G. **Practical Fluorescence. Theory, Methods, and Techniques.** Dekker, New York, 1973, chapters 1, 3.

- 125.-Mikio, H.; Masahi, I.; Kiyoshi, I. and Yoshimasa, H. **Fluorescence Enhancement of Benzene Derivatives by Forming Inclusion Complexes with β -Cyclodextrin in Aqueous Solutions.** *J. Phys. Chem.*, **85**, **1981**, 1820.
- 126.-Ueno, A.; Takahashi, K.; Hiro, I. and Osa, T. **Fluorescence Enhancement of α -naphthoxyacetic Acid in the Cavity of γ -Cyclodextrin, Assisted by a Space-Regulating Molecule.** *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1981**, 194.
- 127.-Yorozu, T.; Hoshino, M. and Imamura, M. **Fluorescence Studies of Pyrene Inclusion Complexes with α -, β - and γ -Cyclodextrin in Aqueous Solutions. Evidence for Formation of Pyrene Dimer in γ -Cyclodextrin Cavity.** *J. Phys. Chem.*, **86**, **1982**, 4426.
- 128.-Patonay, G.; Shapira, A.; Diamond, P. and Warner, I. M. **A Systematic Study of Pyrene Inclusion Complexes with α -, β -, and γ -Cyclodextrins.** *J. Phys. Chem.*, **90**, **1986**, 1963.
- 129.-Bartolus, P.; Grabner, G.; Köhler, G. and Monti, S. **Photochemistry of Cyclodextrin Host-Guest Complexes.** *Coord. Chem. Rev.*, **125**, **1993**, 261.
- 130.-Márquez, J. C.; Hernández, M and García-Sánchez, F. **Enhanced Spectrofluorimetric Determination of the Pesticide Walfarin by Means of the Inclusion Complex with β -Cyclodextrin.** *Analyst*, **115**, **1990**, 1003.
- 131.-Harada, A.; Furue, M. and Nozakuda, S. **Interaction of Cyclodextrin-Containing Polymers with Fluorescence Compounds.** *Macromolecules*, **10**, **1977**, 676.
- 132.-Joseph-Nathan, P. and Díaz Torres, E. **Elementos de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno.** Grupo Editorial Iberoamericana, México D. F., México, **1993**, capítulo 1.
- 133.-Sauders, J. K. M. and Hunter, B. K. **Modern NMR Spectroscopy. A Guide for Chemists.** Oxford University Press, Oxford, **1993**, chapter 4.
- 134.-Wang, J. and Warner, I. M. **Studies of Naproxen: β -Cyclodextrin Inclusion Complex.** *Microchem. J.*, **48**, **1993**, 229.
- 135.-Garza-González, A.; Vila-Jato, J. L.; Anguiano-Igea, S.; Otero-Espinar, F. J. and Blanco-Méndez, J. **A Proton Nuclear Magnetic Resonance Study of the Inclusion Complex of Naproxen with β -cyclodextrin.** *Int. J. Pharm.*, **106**, **1994**, 179.
- 136.-Nishijo, J.; Yasuda, M.; Nagai, M. and Ohno, E. **Interaction of 6-p-toluidinaftalene-2-sulfonate with α -Cyclodextrin.** *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, **1992**, 2591.
- 137.-Breslow, R.; Bovy, P. Y. and Hersh, C. L. **Reversing the Selectivity of Cyclodextrin Bisimidazole Ribonuclease Mimics by Changing the Catalyst Geometry.** *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, **1980**, 2115.
- 138.-Tawarah, K. M. **A Thermodynamic Study of the Inclusion Processes of α - and β -Cyclodextrins with the Acid Form of Methyl Orange and Methyl Yellow.** *J. Incl. Phenom. and Mol. Recog. in Chem.*, **14**, **1992**, 195.
- 139.-Sakar, B.; Das, U.; Bhattacharyya, S. and Bose, S. K. **The Quenching of Lumichrome Fluorescence by β -Cyclodextrin: Evidence for Inclusion Complex.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **68**, **1995**, 1807.
- 140.-Rohatgi-Mukherjee, K. K. **Fundamentals of Photochemistry.** Wiley Eastern Limited, New Delhi, **1978**, chapter 6.
- 141.-Fraiji, L. K.; Hayes, D. M. and Werner, T. C. **Static and Dynamic Fluorescence Quenching Experiments for the Physical Chemistry Laboratory.** *J. Chem. Edu.*, **69**, **1992**, 424.
- 142.-Gelb, R. I. and Schwartz, L. M. **Complexation of Carboxylic Acids and Anions by Alpha and Beta Cyclodextrins.** *J. Incl. Phenom. and Mol. Recog. in Chem.*, **7**, **1989**, 465.
- 143.-Kráľová, K. and Mitterhauszerová, L. **Association Constants of the Complexes of β -Cyclodextrin with some Aryloxyaminopropanols.** *Acta Chim. Hung.*, **129(6)**, **1992**, 885.

- 144.-Buvári, Á.; Szejtli, J. and Barcza, L. **Complexes of Short-Chain Alcohols with β -Cyclodextrin.** *J. Incl. Phenom. and Mol. Recog. in Chem.*, 1, 1983, 151.
- 145.-Tee, O. S.; Gadosy, T. A. and Giorgi, J. B. **The Binding of Alkyl Chains to β -Cyclodextrin and Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin.** *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1993, 1705.
- 146.-Andini, S.; Castronuovo, G.; Elia, V. and Gallotta, E. **Inclusion Compounds in Water: Calorimetric and Spectroscopic Studies of the Interaction of Cyclomaltohexaose (α -cyclodextrin) with Alkanols at 25°.** *Carbohydr. Res.*, 217, 1991, 87.
- 147.-Connors, K. A. and Rosanke, T. W. **Trans-cinnamic Acid- α -Cyclodextrin System as Studies by Solubility, Spectral and Potentiometric Techniques.** *J. Pharm. Sci.*, 69(2), 1980, 173.
- 148.-Liversidge, G. G. **Ketoprofen, in Analytical Profiles of Drugs Substances.** K. Florey, ed.; Academic Press, New York, 1981, vol. 10, p. 443.
- 149.-Amato, M. E.; Djedaini-Pilord, F.; Perly, B. and Scarlata, G. **High Field NMR Techniques Molecular Modelling Study of the Inclusion Complexes of the Nootropic Drug Tehilsetam (CAS-997) in Cyclodextrins.** *J. Chem. Soc., Perkin Tras. 2*, 1992, 2065.
- 150.-Azaroual-Bellianger, N. and Perly, B. **Investigation of the Dynamic of Cyclodextrins and their Inclusion Complexes in Water by Deuterium NMR.** *Magnetic Resonance in Chemistry*, 32, 1994, 8.
- 151.-Amato, M. E. and Pappalardo, G. P. **High-Field NMR Techniques and Molecular Modelling in the Study of the Complex of the Cognition Activator Seronacrine (HP-128) with Cyclodextrins.** *Magnetic Resonance in Chemistry*, 31, 1993, 455.
- 152.-Bergeron, R. J.; Channing, M. A. and McGovern, K. A. **Dependence of Cycloamylose-Substrate Binding on Charge.** *J. Am. Chem. Soc.*, 100, 1978, 2878.
- 153.-Wiese, M.; Cordes, H. P.; Chi, H.; Seydel, J. K.; Backensfeld, T. and Müller, B. W. **Interaction of Prostaglandin E₁ with α -Cyclodextrin in Aqueous Systems: Stability of the Inclusion Complex.** *J. Pharm. Sci.*, 80, 1991, 153.
- 154.-O'Brien, M.; McCauley, J. and Cohen, E. **Indomethacin, in Analytical Profiles of Drugs Substances.** K. Florey, ed.; Academic Press, San Diego, 1984, vol. 13, p. 211.
- 155.-Hamai, S. **Inclusion Compound of γ -Cyclodextrin with Coronene in Aqueous Methanol.** *J. Incl. Phenom. and Mol. Recog. in Chem.*, 11, 1991, 55.
- 156.-Fronza, G.; Mele, A.; Redenti, E. and Ventura, P. **¹H NMR and Molecular Modeling Study on the Inclusion Complex β -Cyclodextrin-Indomethacin.** *J. Org. Chem.*, 61, 1996, 909.
- 157.-Inoue, Y.; Hakushi, T.; Liu, Y.; Tong, L-H.; Shen, B-J. and Jin, D-S. **Thermodynamics of Molecular Recognition by Cyclodextrins. 1. Calorimetric Titration of Inclusion Complexation of Naphthalenesulfonates with α -, β -, and γ -Cyclodextrins: Enthalpy-Entropy Compensation.** *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 1993, 475.
- 158.-Hartley, F. R.; Burgess, C. and Alcock, R. M. **Solution Equilibria.** John Wiley, New York, 1980, chapter 2.
- 159.-Pendergast, D. D. and Connors, K. A. **Improved Competitive Indicator Methods for the Study of α -Cyclodextrin Complexes.** *J. Pharm. Sci.*, 73, 1984, 1779.
- 160.-Nozaki, T.; Maeda, Y.; Ito, K. and Kitaro, H. **Cyclodextrins Modified with Polymer Chains which are Responsive to External Stimuli.** *Macromolecules*, 28, 1995, 522.
- 161.-Frankewich, R. P.; Thimmaiah, K. N. and Hinze, W. L. **Evaluation of the Relative Effectiveness of Different Water-Soluble β -Cyclodextrin Media to Function as Fluorescence Enhancement Agents.** *Anal. Chem.* 63, 1991, 2924.
- 162.-Hackett, F.; Coteron, J. M.; Schneider, H. J. and Kazachenko, V. P. **The Complexation of Glucose and other Monosaccharides with Cyclodextrins.** *Can. J. Chem.*, 75, 1997, 52.

- 163.-Rekharsky, M. V.; Schwarz, F. P.; Tewari, Y. B.; Goldberg, R. N.; Tanaka, M. and Yamashoji, Y. **Thermodynamic and NMR Study of the Interactions of Cyclodextrins with Cyclohexane Derivatives.** *J. Phys. Chem.*, 98, 1994, 4098.
- 164.-Utsuki, T.; Hirayama, F. and Uekama, K. **Different Photodimerization Behaviour of Tranilast in α -, β - and γ -Cyclodextrin Complexes: Cavity-size Stoichiometry Dependence.** *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1993, 109.
- 165.-Deranleau, D. A. **Theory of the Measurement of Weak Molecular Complexes.I. General Considerations.** *J. Am. Chem. Soc.*, 91(15), 1969, 4044.
- 166.-Deranleau, D. A. **Theory of the Measurement of Weak Molecular Complexes.II. Consequences of Multiple Equilibria.** *J. Am. Chem. Soc.*, 91(15), 1969, 4050.
- 167.-Darrington, R. T.; Xiang, T. X. and Anderson, B. D. **Inclusion Complexes of Purine Nucleosides with Cyclodextrins. 1. Complexation and Stabilization of a Dideoxypurine Nucleoside with 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin.** *Int. J. Pharm.*, 59, 1990, 35.
- 168.-Benesi, H. A. and Hildebrand, J. M. **A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons.** *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 1949, 2703.
- 169.-Muñoz de la Peña, A.; Ndou, T.; Zung, J. B. and Warner, I. M. **Stoichiometry and Formation Constants of Pyrene Inclusion Complexes with β - and γ -Cyclodextrin.** *J. Phys. Chem.*, 95, 1991, 3330.
- 170.-Scott, R. L. **Some Comments on the Benesi-Hildebrand Equation.** *Rec. Trav. Chim.*, 75, 1956, 787.
- 171.-Manahan, S. E. **Quantitative Chemical Analysis.** Brooks/Cole, Monterey, California, 1986, pg. 55.
- 172.-Glasstone, S. **Termodinámica para Químicos.** 5ª edición. Aguilar, S.A., Madrid, 1978, chapter 13.
- 173.-Hugus, Z. Z. and ElAwady, A. A. **Determination of the Number of Species Present in a System. New Matrix Rank Treatment of Spectrophotometric Data.** *J. Phys. Chem.*, 75, 1971, 2954.
- 174.-Varga, L. P. and Veatch, F. C. **Nature of Hf-chloranilic Acid Metallochrome by Matrix Rank, Contour Mapping, and Iterative Analysis of Absorption Spectra.** *Anal. Chem.*, 39, 1967, 1101.
- 175.-Wallace, R. M. and Katz, S. M. **A Method for the Determination of Rank of the Analysis of Absorption Spectra of Multicomponent Systems.** *J. Phys. Chem.* 68, 1964, 3890.
- 176.-Salvatierra, D.; Jaime, C.; Virgili, A. and Sánchez-Ferrando, F. **Determination of the Inclusion Geometry for the β -Cyclodextrin/Benzoic Acid Complex by NMR and Molecular Modeling.** *J. Org. Chem.*, 61, 1996, 9578.

12. Anexos

Parte de esta investigación fue aceptada para publicar en los siguientes tres artículos:

- *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*,

“Spectroscopic Study of the Inclusion Complexes of Phenylbutazone and Oxyphenbutazone with Cyclodextrins in Polar Reaction Media”,

Carolina M. Escobar-LLanos, David Díaz, and Guillermo Mendoza-Díaz.

- *Pharmaceutical Development and Technology*,

“Binding, Molecular Mechanics and Thermodynamic of Cyclodextrins Inclusion Complexes with Ketoprofen in Aqueous Medium”,

David Díaz, Carolina Marta Escobar Llanos, María Josefa Bernad Bernad, and Jesús Gracia Mora.

- *Drug Development and Industrial Pharmacy*,

“Study of the Binding in an Aqueous Medium of Inclusion Complexes of Several Cyclodextrins Involving Fenoprofen calcium”,

David Díaz, Carolina Marta Escobar Llanos, and María Josefa Bernad Bernad.