



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS TERMODINÁMICOS DE LA
FORMACIÓN DEL COMPLEJO DE INCLUSIÓN
DICLOFENACO - CICLODEXTRINA EN SOLUCIÓN ACUOSA**

**T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
Q U Í M I C O
P R E S E N T A:
JULIO CÉSAR MORA VILLALOBOS**



MÉXICO, D. F.

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



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: PROFESOR: SILVIA DEL SOCORRO PÉREZ CASAS
VOCAL: PROFESOR: EFRÉN HERNÁNDEZ BALTAZAR
SECRETARIO: PROFESOR: MA. GUADALUPE LEMUS BARAJAS
1ER. SUPLENTE: PROFESOR: MINERVA ESTELA TÉLLEZ ORTIZ
2° SUPLENTE: PROFESOR: TANIA CAMPOS GONZÁLEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO DE TERMOFÍSICA, DEPARTAMENTO DE FISICOQUÍMICA,
FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DRA. SILVIA DEL SOCORRO PÉREZ CASAS
ASESOR DEL TEMA

JULIO CÉSAR MORA VILLALOBOS
SUSTENTANTE

Agradecimientos

El presente trabajo fue realizado gracias al apoyo de:

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (proyecto J49811Q)

La Dirección General de Apoyo Académico de la UNAM (proyecto PAPIIT IN105107)

La Facultad de Química de la UNAM (proyecto PAIP 3290-09)

Agradecimientos

A mis padres y hermanos: por estar siempre ahí, por el amor, por el ejemplo, el cariño y la confianza.

A mis amigos: por todos esos momentos que hemos pasamos juntos.

A Isela: por el cariño, apoyo, comprensión y paciencia.

A la Dra. Silvia: por confiar en mi, por su tiempo, aconsejarme y alentarme en todo momento.

A la Maestra Guadalupe Lemus: por su colaboración en la dirección de ésta tesis.

A Elizabeth: por la amistad y su apoyo en el laboratorio.

A mis profesores: por compartir su conocimiento.

A la Facultad de Química y la UNAM: por acogerme y darme la oportunidad de formarme como profesionista.

Para:

*Mis padres: Miguel y Florinda. Mis
hermanos: Miguel y Nayeli; por su
apoyo, confianza y cariño.*

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
---------------------	---

CAPÍTULO 1 **FÁRMACOS Y ANTIINFLAMATORIOS**

1.1	GENERALIDADES DE LOS FÁRMACOS	3
1.2	ANTIINFLAMATORIOS	3
1.2.1	Antiinflamatorios no esteroides	5
1.3	DICLOFENACO	5
1.3.1	Farmacodinámica	6
1.3.2	Farmacocinética	6
1.3.3	Aplicaciones terapéuticas	6
1.3.4	Metabolismo	7
1.3.5	Contraindicaciones y precauciones	7
1.3.6	Reacciones adversas	8

CAPÍTULO 2 **CICLODEXTRINAS**

2.1	DESARROLLO HISTÓRICO DEL ESTUDIO DE LAS CICLODEXTRINAS	9
2.2	OBTENCIÓN	10
2.3	ESTRUCTURA QUÍMICA	11
2.3.1	Ciclodextrinas nativas	11

2.3.2	Ciclodextrinas modificadas	14
2.3.3	Grados de sustitución molecular	15
2.4	SOLUBILIDAD	15
2.5	COMPLEJOS DE INCLUSIÓN	16
2.6	PERFIL BIOLÓGICO DE LAS CICLODEXTRINAS	17
2.7	APLICACIONES INDUSTRIALES	18

CAPÍTULO 3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.1	MATERIAL Y EQUIPO	20
3.2	REACTIVOS	21
3.3	DESCRIPCIÓN DEL CALORÍMETRO TAM	22
3.4	MICROCALORIMETRÍA DE TITULACIÓN ISOTÉRMICA	25
3.5	METODOLOGÍA	26
3.6	CONDICIONES EXPERIMENTALES	29

CAPÍTULO 4 FUNDAMENTO TERMODINÁMICO

4.1	MODELO TAM	30
4.2	DETERMINACIÓN DE LA ENTALPÍA Y LA CONSTANTE DE EQUILIBRIO	31
4.3	DETERMINACIÓN DE LA ENERGÍA LIBRE DE GIBBS Y LA ENTROPÍA	33

CAPÍTULO 5 RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1	CICLODEXTRINAS NATIVAS A 298.15 K	36
5.2	CICLODEXTRINAS MODIFICADAS MS = 0.6 A 298.15 K	43
5.3	HP- β -CD EN FUNCIÓN DE MS A 298.15 K	51
5.4	HP- β -CD EN EL INTERVALO DE TEMPERATURA 288.15 – 318.15 K	55

CAPÍTULO 6 CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

6.1	CONCLUSIONES GENERALES DEL PROCESO DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE INCLUSIÓN DICLOFENACO – CICLODEXTRINA	62
6.2	SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS	63
	BIBLIOGRAFÍA	64

INTRODUCCIÓN

El propósito de los sistemas de liberación controlada de fármacos es transportar la cantidad adecuada de manera eficiente y efectiva en el sitio de acción farmacológica durante el periodo de tiempo necesario. Para diseñar formas de dosificación controlada, se han empleado materiales acarreadores que además minimizan las propiedades indeseables de los fármacos. Actualmente los nuevos sistemas de liberación controlada están ganando terreno en la industria farmacéutica, pues existe la necesidad de prolongar la duración del principio activo y el rendimiento terapéutico, de tal forma que se requiera de una menor dosis de medicamento. Las ciclodextrinas son candidatos potenciales para desarrollar este papel. Entre algunas de las ventajas en el uso de ciclodextrinas como acarreadores moleculares están:

- Disminuyen la posibilidad de que el fármaco sufra modificaciones químicas antes de llegar a su objetivo.
- Protegen al fármaco de mecanismos metabólicos.
- Mejoran la solubilidad del fármaco.
- Aumentan la estabilidad del fármaco en disolución.

El objetivo de esta investigación es determinar los parámetros termodinámicos de la formación de complejos de inclusión entre diclofenaco sódico y ciclodextrinas (tanto

nativas como sustituidas) en solución acuosa, de tal forma que se logre encontrar el mejor acarreador para el diclofenaco sódico.

En este estudio se emplea la técnica de microcalorimetría de titulación isotérmica para obtener de manera directa la constante de formación del complejo ciclodextrina – diclofenaco sódico y su calor de formación a 298.15 K. Con estos resultados se calculará el cambio de la energía libre de Gibbs y de la entropía del proceso. También se estudia el efecto que tiene la temperatura en la formación del complejo Ciclodextrina – Fármaco.

El presente trabajo consta de:

Introducción

Capítulo 1. En él se presenta una revisión bibliográfica sobre las generalidades de los fármacos, en especial de los antiinflamatorios.

Capítulo 2. Se refiere a características de las ciclodextrinas; estructura, propiedades fisicoquímicas, farmacología y aplicaciones.

Capítulo 3. En él se analizan los fundamentos termodinámicos y se presenta el modelo matemático para el tratamiento de datos que permiten obtener los parámetros termodinámicos experimentales.

Capítulo 4. Se describe la metodología experimental; incluye la técnica experimental empleada, equipo, material, reactivos y las condiciones experimentales.

Capítulo 5. Se reportan los resultados y análisis de los parámetros termodinámicos obtenidos.

Capítulo 6. Se presentan las conclusiones y sugerencias para trabajos futuros.

Bibliografía

CAPÍTULO 1

FÁRMACOS Y ANTIINFLAMATORIOS

Cuando se produce una lesión en cualquier tejido del organismo, sea cual sea su origen (traumatismo, infección o tumor), éste tiene un mecanismo de reparación, que es la inflamación. ^[1]

1.1 Generalidades de los fármacos

Un fármaco puede definirse como cualquier sustancia que ocasiona un cambio en la función biológica a través de sus acciones químicas. En la mayoría de los casos, la molécula del fármaco interactúa con una molécula específica del sistema biológico que desempeña una función reguladora; es decir se trata de una molécula receptora. ^[1]

Para que un fármaco sea útil como herramienta terapéutica o científica, debe actuar selectivamente sobre células y tejidos concretos. En otras palabras, debe presentar un alto grado de especificidad al lugar de unión. ^[2]

1.2 Antiinflamatorios

En la inflamación pueden presentarse tres fases: inflamación aguda, respuesta inmunitaria e inflamación crónica.

La inflamación aguda constituye la respuesta inicial a la lesión tisular; está mediada por la liberación de autacoides y suele preceder al desarrollo de la respuesta inmunitaria.

La respuesta inmunitaria se origina cuando células inmunitariamente competentes se activan en respuesta a microorganismos o sustancias antigénicas extrañas, liberadas durante la respuesta inflamatoria aguda o crónica.

La inflamación es una reacción local del organismo y constituye uno de los procesos más comunes de la enfermedad, es una reacción elemental para frenar una agresión pero muchas veces puede ser excesiva y capaz de producir daño, por lo que es necesario frenar el proceso inflamatorio, lo que puede lograrse mediante el uso de fármacos antiinflamatorios. ^{[1][2]}

El proceso de inflamación incluye una serie de fenómenos que pueden ser desencadenados por diversos estímulos (agentes infecciosos, isquemia, interacciones antígeno anticuerpo y lesiones térmicas o físicas de otra índole). Cada tipo de estímulo desencadena un patrón característico de reacción o respuesta que constituye una variante relativamente menor del mismo fenómeno. Ante un estímulo inflamatorio, se libera en el organismo ácido araquidónico, llevando posteriormente a la producción de prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos los cuales se constituyen en mediadores de la inflamación.

El tratamiento de los pacientes con inflamación incluye dos objetivos principales: en primer lugar, el alivio del dolor que con frecuencia constituye el síntoma de presentación y la principal queja continua del enfermo; en segundo lugar, la disminución o en teoría, la suspensión del proceso lesivo tisular. La reducción de la inflamación con antiinflamatorios no esteroideos (AINES) a menudo genera alivio del dolor durante periodos significativos. ^[1]

1.2.1 Antiinflamatorios no esteroides (AINES)

Los antiinflamatorios no esteroides (AINES) constituyen un grupo de fármacos que se encuentran entre los de mayor oferta por parte de la industria farmacéutica y con un patrón de prescripción muy frecuente por los profesionales de salud. Los AINES inhiben la biosíntesis de las prostaglandinas y otros autacoides similares. La inhibición de la vía ciclooxigenasa ha sido la explicación aceptada para las propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas. Los AINES son también capaces de inhibir la propagación de radicales libres, lo que puede contribuir a su acción antiinflamatoria.

Dentro de los fármacos para la inflamación, se cuenta con estructuras diferentes con mecanismos de acción similares, como el paracetamol, indometacina, ketorolac, diclofenaco, entre otros. ^{[2][3]}

1.3 Diclofenaco sódico

Nombre IUPAC: 2-[2-(2,6-diclorofenil)amino]etil ácido etanoico

Clase química: derivado del ácido fenilacético

Clasificación farmacológica: antiinflamatorio no esteroideo

Clasificación terapéutica: antiinflamatorio, analgésico, antipirético y antiartrítico ^[4]

Estructura:

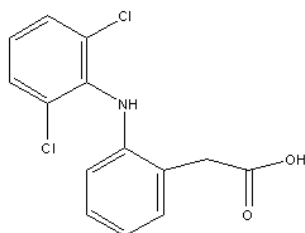


Figura 1.0. Estructura química del diclofenaco.

1.3.1 Farmacodinámica

Es un derivado del ácido fenilacético, inhibidor potente de la ciclooxigenasa, con propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas que parecen estar relacionadas con su capacidad para bloquear la biosíntesis de prostaglandinas, también inhibe la emigración leucocitaria y altera los procesos celulares e inmunológicos en los tejidos mesenquimatoso y conectivo, lo cual puede ayudar a contribuir sus efectos antiinflamatorios. Además, disminuye las concentraciones intracelulares de ácido araquidónico libre, en leucocitos. Su potencia es sustancialmente mayor que la observada en otros agentes antiinflamatorios no esteroides.

1.3.2 Farmacocinética

El fármaco se absorbe con rapidez después de su administración oral, tiene una vida media de 1 a 2 horas. Se metaboliza rápido en el hígado y se elimina en la orina, y en menor proporción en la bilis.

El fármaco se recomienda para las afecciones reumatoideas, osteoartritis y para el tratamiento del dolor musculoesquelético agudo. ^{[1][2][3][5]}

1.3.3 Aplicaciones terapéuticas

El diclofenaco sódico está indicado para el tratamiento sintomático de artritis reumatoide, osteoartritis y espondilitis anquilosante.

La dosis diaria corriente contra dichas enfermedades es de 100 a 200 mg en varias fracciones. La vía intramuscular sólo debe emplearse para el tratamiento del dolor agudo. ^{[3][5]}

1.3.4 Metabolismo

Por vía oral, experimenta metabolismo de primer paso y un 60 % del medicamento llega a la circulación sistémica sin sufrir cambios.

La sustancia activa se metaboliza casi al 50% en su paso por el hígado a 4-hidroxiclofenaco, el primer metabolito que tiene aproximadamente el 3% de la actividad del compuesto original.

La presencia del diclofenaco y sus metabolitos en la orina, constituyen la evidencia de su penetración a través de la piel inflamada; aproximadamente el 65% del diclofenaco sódico se excreta en la orina, más el 90% se excreta en un lapso de 72 horas y un 35 % por la bilis. El tiempo de vida media del proceso de excreción es de 1.2 a 2 horas. ^[6]

1.3.5 Contraindicaciones y precauciones

Contraindicado en caso de hipersensibilidad al diclofenaco, en pacientes hipersensibles a otros antiinflamatorios no esteroides, trastornos de la coagulación, enfermedad cardiovascular, antecedentes de hemorragia gastrointestinal, úlcera péptica y durante embarazo y lactancia. ^{[3][5]}

1.3.6 Reacciones adversas

Frecuentes: náuseas, vómito, dolor abdominal, eructos, pirosis, erupción cutánea.

Poco frecuentes: anorexia, diarrea, ulceración gastrointestinal, edema de las extremidades, zumbido de oídos, nerviosismo y visión borrosa.

Raras: Sangrado gastrointestinal, dificultad urinaria, confusión mental, depresión mental, discrasias sanguíneas, disfunción hepática. ^[5]

CAPÍTULO 2

CICLODEXTRINAS

El principal propósito de los sistemas de liberación de fármacos, es el de liberar la cantidad necesaria de fármaco en el sitio blanco por un periodo de tiempo necesario, de manera eficiente y precisa. Las ciclodextrinas son útiles excipientes funcionales que cuentan con una amplia atención y uso. La razón de su popularidad desde un punto de vista farmacéutico, es que, al tener la capacidad de interactuar con fármacos poco solubles, se logra un aumento aparente de la solubilidad del fármaco. El mecanismo de la solubilización se basa en la habilidad que tienen las ciclodextrinas para formar complejos de inclusión. [7]

2.1 Desarrollo histórico del estudio de las ciclodextrinas.

En 1891 el científico francés A. Villiers describió una sustancia cristalina que aisló a partir de la digestión bacteriana de 100 g de almidón. Villiers determinó que la composición era $(C_6H_{10}O_5)_2 \cdot 3H_2O$ y la nombró “celulosina”. En 1903 el microbiólogo austriaco F. Schardinger publicó un artículo donde describió dos compuestos cristalinos A y B, que había aislado a partir de almidón de papa; Schardinger identificó al compuesto B como el mismo al que Villiers había llamado “celulosina”. En un artículo, Schardinger sugiere el nombre “Dextrina cristalina” en lugar de “celulosina” para esos compuestos. Después, cambió los nombres a α -dextrina y β -dextrina. Ahora estos

compuestos son conocidos comúnmente como ciclodextrinas (α -CD y β -CD) o menos comúnmente como ciclomaltodextrinas (ciclomaltohexosa y ciclomaltoheptosa).

En 1935, la γ -ciclodextrina fue descubierta por Freudenberg y Jacobi. En ese mismo año, Freudenberg y sus colaboradores mostraron que las ciclodextrinas tenían una estructura de anillo formado por unidades de glucosa unidas por enlaces α (1 \rightarrow 4), con una cavidad central. En el libro "*Einschlussverbindungen*", Cramer describió la estructura y las características fisicoquímicas de la α -, β - y γ -ciclodextrina, incluyendo la estructura básica, tamaño de la cavidad, solubilidad, reactividad, habilidad de complejación y los efectos de estabilidad química con moléculas huéspedes. [7] [8] [9]

2.2 Obtención

El tratamiento del almidón con amilasa de *Bacillus macerans* da una mezcla cruda de α -ciclodextrina (~60%), β -ciclodextrina (~20%) y γ -ciclodextrina (~20%) junto con pequeñas cantidades de ciclodextrinas con más de ocho unidades de glucosa. Los avances biotecnológicos en la década de los 70's permitieron mejoras espectaculares en su producción.

La Ingeniería Genética hizo diferentes tipos de CGTasas (*ciclodextrin glucosiltransferasa*) que son a la vez más activas y más específicas para la producción de α -, β - y γ -ciclodextrina que las enzimas usadas anteriormente. Estas enzimas junto con otras innovaciones tecnológicas hicieron disponibles ciclodextrinas altamente puras que serían utilizadas posteriormente como excipientes farmacéuticos. [9]

2.3 Estructura química

2.3.1 Ciclodextrinas nativas

Las Ciclodextrinas (CD's) son oligosacáridos cíclicos derivados del almidón que contienen seis (α -CD), siete (β -CD), ocho (γ -CD), nueve (δ -CD), diez (ϵ -CD) o más unidades de α -D-glucopiranosas unidas por enlaces α (1 \rightarrow 4) (figura 2.1). [7]

Las CD's más comunes son la α -CD, β -CD y γ -CD, conocidas frecuentemente como ciclodextrinas nativas. Debido a los efectos estéricos no existen CD's que tengan menos de seis unidades de glucopiranosas; las CD's de más de ocho unidades de glucopiranosas son conocidas, sin embargo no son producidas a nivel industrial y aún no les conoce alguna utilidad práctica. [7] [10]

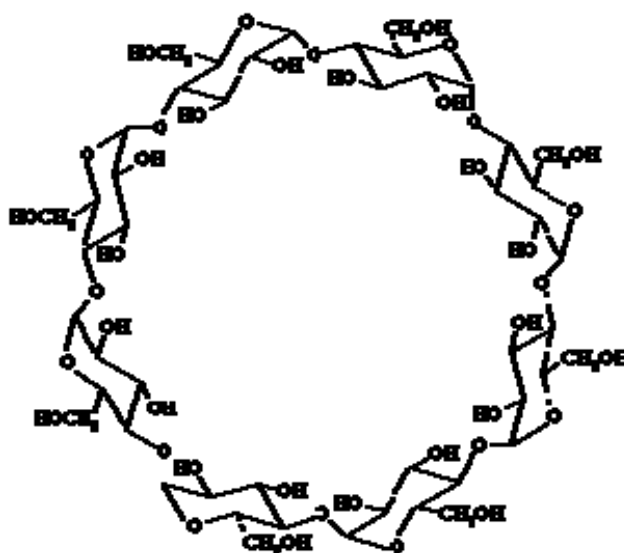


Figura 2.1. Estructura de la β -ciclodextrina.

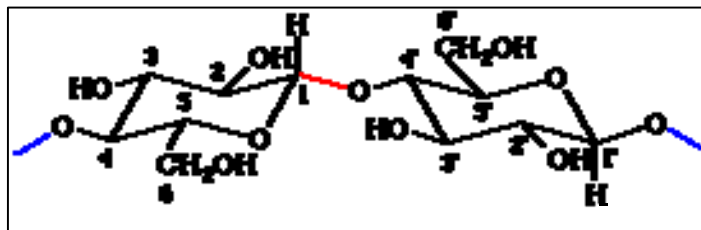


Figura 2.2. Enlace α (1 \rightarrow 4) glucosídico.

Debido a la conformación de silla de las unidades de glucopiranososa y a la carencia de rotación libre sobre los enlaces que conectan a dichas unidades, las ciclodextrinas toman la forma de cono truncado (figura 2.3). [7]

Uno de los aspectos más importantes de su estructura es el relacionado con la distribución de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos. Los grupos hidrofílicos se encuentran en el exterior del cono haciendo a las CD's solubles en agua. La parte interna de la cavidad es de carácter hidrofóbica, debido a la presencia de hidrógenos, por lo tanto en disolución esta cavidad constituye una matriz hidrofóbica en un entorno hidrofílico dotando a las CD's de la capacidad de albergar en ellas diversas moléculas para formar complejos de inclusión.

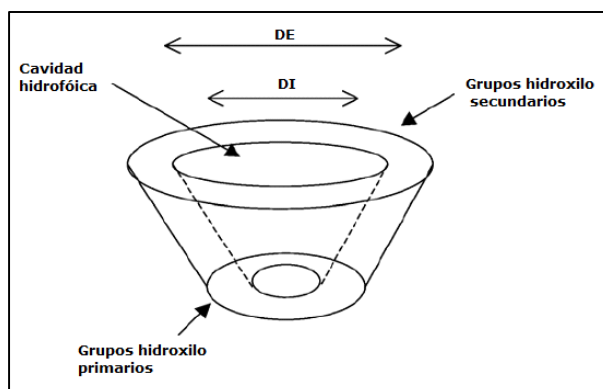


Figura 2.3. Forma de la ciclodextrina.
DE (Diámetro externo), DI (Diámetro interno).

Como consecuencia de la conformación del C₁ de las unidades de glucopiranososa, los grupos hidroxilos primarios de los residuos del azúcar están localizados en el borde estrecho del cono y los grupos hidroxilos secundarios se encuentran en el borde más amplio. La cavidad de la CD está alineada por los átomos de hidrógeno y los puentes de oxígeno glucosídicos. Los pares de electrones no enlazados de los puentes de oxígeno glucosídicos son dirigidos hacia el interior de la cavidad y producen la densidad electrónica que le proporciona características de base de Lewis. ^[11]

En solución acuosa los grupos hidroxilos forman puentes de hidrógeno con las moléculas de agua que los rodean dando como resultado una esfera de hidratación alrededor de la molécula de ciclodextrina. ^{[7][9]}

En la tabla 2.1 se enlistan algunas propiedades de las CD's nativas.

Propiedad	α-CD	β-CD	γ-CD
Unidades de glucosa	6	7	8
Masa molar (g mol ⁻¹)	972	1135	1297
Solubilidad (g en 100 mL de agua)	14.5	1.85	23.2
Profundidad (Å)	7.8	7.8	7.8
DI (nm)	0.57	0.78	0.95
DE (nm)	1.37	1.53	1.69
Volumen de la cavidad (Å ³)	174	262	427
ΔH° Solución (kJ mol ⁻¹)	32.1	34.7	32.3
ΔS° Solución (kJ mol ⁻¹)	57.7	48.9	61.4

Tabla 2.1. Propiedades físicas de las ciclodextrinas.

2.3.2 Ciclodextrinas modificadas

Las CD's nativas tienen 18 (α -CD), 21 (β -CD) y 24 (γ -CD) grupos hidroxilos, los cuales son susceptibles de modificarse químicamente. El uso práctico de la CD's nativas como acarreadores de fármacos está restringido por su baja solubilidad acuosa, particularmente la de la β -CD. [12]

La sustitución de un grupo funcional en la estructura de la CD tiene como finalidad, incrementar la habilidad de formar complejos de inclusión y mejorar la solubilidad sin alterar las propiedades anfífilas. [10][11]

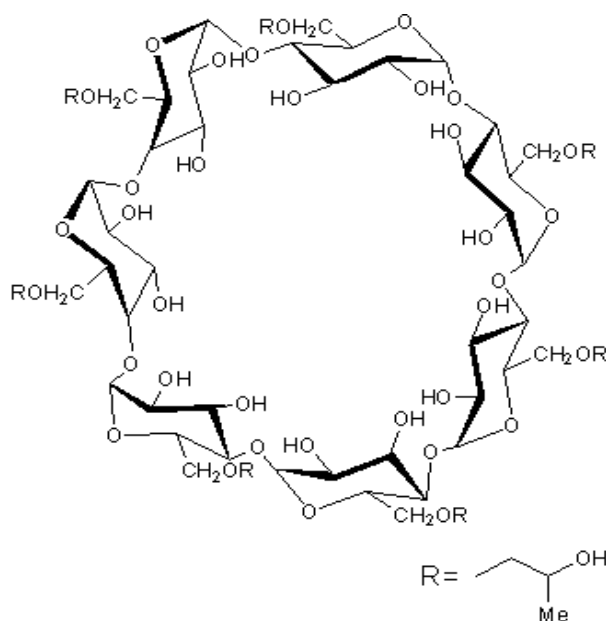


Figura 2.4. Estructura de la Hidroxipropil- β -ciclodextrina.

2.3.3 Grados de sustitución molecular

Al sustituir los grupos hidroxilos de las CD's por otros grupos, se obtienen CD's modificadas. Los grupos C₆-OH son más reactivos que los C₃-OH, sin embargo la diferencia de reactividad no es tan grande, consecuentemente los derivados homogéneos puros no se producen a escala industrial puesto que la derivación de ciclodextrinas selectivamente no es tarea fácil.

Dado que cada unidad de glucopiranososa tiene tres grupos hidroxilos, puede variar el número de grupos funcionales sustituidos; se define como MS (*Molecular Substitution*) al número de hidroxilos sustituidos en un anillo de glucopiranososa, este valor es un promedio que es obtenido al dividir el número total de sustituyentes en una molécula de CD entre el número de unidades de glucopiranososa (tabla 2.2).^{[10][11]}

Ciclodextrina	Valor mínimo de MS	Valor máximo de MS
HP- α -CD	1/6 = 0.16	18/6 = 3
HP- β -CD	1/7 = 0.14	21/7 = 3
HP- γ -CD	1/8 = 0.12	24/8 = 3

Tabla 2.2. Valores de MS de las Hidroxipropil-ciclodextrinas.

2.4 Solubilidad

La CD's cristalizan en agua como hidratos, conteniendo varias moléculas de agua. La solubilidad depende de la temperatura y disminuye en disolventes orgánicos.

En la α -CD los grupos hidroxilo forman un cinturón de cuatro puentes de hidrógeno haciéndola más soluble en agua, ya que en su estructura una de las unidades se encuentra en una posición torcida. La β -CD es la que presenta menor solubilidad de las CD's nativas, y está asociado a la rigidez estructural debida a la interacción entre el grupo C₂OH y el grupo C₃OH. La γ -CD tiene estructura coplanar con mayor flexibilidad, lo que la hace la más soluble de las ciclodextrinas nativas. ^{[14][15]}

2.5 Complejos de inclusión

Debido a su estructura, las CD's pueden ser consideradas como cápsulas de tamaño molecular que pueden albergar moléculas de distinta naturaleza. Cuando la cavidad de la ciclodextrina se encuentra ocupada por una molécula se le da el nombre de complejo de inclusión. ^[16]

Los complejos de inclusión son entidades en las cuales la ciclodextrina es el anfitrión y la molécula alojada es el huésped. En el complejo no hay enlaces covalentes entre el anfitrión y el huésped, solamente interacciones débiles tales como fuerzas de van der Waals, interacciones electrostáticas y puentes de hidrógeno. En solución acuosa, las moléculas encapsuladas del complejo de inclusión están en equilibrio dinámico con las moléculas libres.

La afinidad del huésped por la molécula de CD depende de diversos factores, como la estequiometría, la polaridad, el tamaño, la geometría y la habilidad de formar puentes de hidrógeno. Los complejos que se forman comúnmente son de estequiometría 1:1, aunque se han encontrado también complejos con otras estequiometrías. En sistemas

en los que el huésped es muy largo o voluminoso para alojarse en una sola CD, se puede llevar a cabo un proceso en el cual se asocia más de una molécula de CD, en este caso la relación puede ser 2:1 o 2:2.

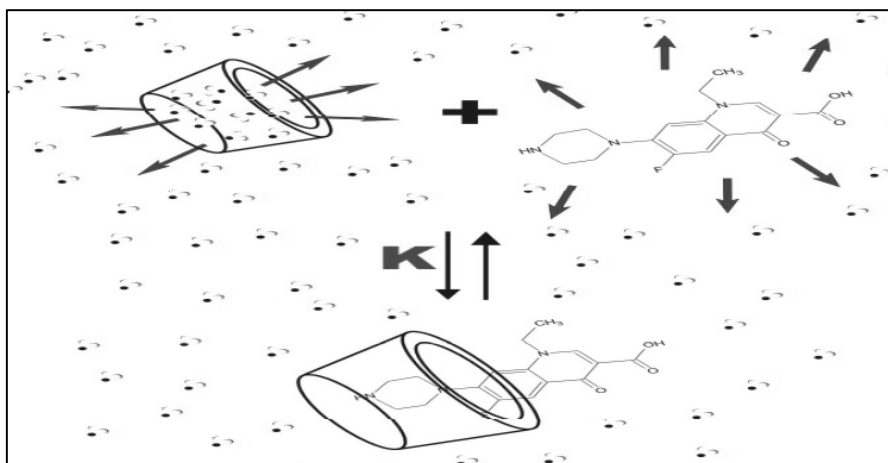


Figura 2.5. Representación esquemática de la formación de un complejo de inclusión entre un fármaco y una ciclodextrina en disolución acuosa.

2.6 Perfil biológico de las CD's

Las CD's son consumidas por animales y humanos, de manera oral en medicamentos o como aditivos en alimentos, en ambos casos pueden estar presentes como CD's libres o en complejos de inclusión, conteniendo un fármaco, un saborizante u otra molécula huésped. La dosis de las CD's es relativamente baja y el pH en el jugo gástrico lleva a la rápida disociación del complejo; la absorción de la molécula huésped es acelerada, mientras que solo una insignificante cantidad de CD es absorbida intacta. La CD es una molécula relativamente grande, y al tener una superficie exterior hidrofílica actúa como un verdadero acarreador, llevando al huésped hidrofóbico en disolución, conservándose en un estado disuelto y transportando éste hacia las membranas de las células.

Después de que se libera el huésped en la célula (debido a que la célula tiene una mayor afinidad por el huésped que la CD), el acarreador remanente está en fase acuosa. Por ejemplo la distribución metabólica de la β -CD después de su administración oral en estado libre o en complejo de inclusión se resume en lo siguiente: ^[12]

- Rápida disolución del complejo y establecimiento del equilibrio altamente dinámico de asociación y disociación del complejo.
- Rápida absorción de la molécula huésped en el torrente sanguíneo.
- Una insignificante cantidad de CD es absorbida en el tracto gastrointestinal en forma intacta.
- La mayor parte de la CD es metabolizada en el colon por la microflora.
- Los metabolitos primarios son metabolizados y absorbidos como el almidón y finalmente excretados como CO_2 y H_2O .
- La diferencia fundamental entre el metabolismo del almidón y la CD, es que la del almidón tiene lugar en el intestino delgado, mientras que la CD en el colon.

2.7 Aplicaciones industriales

En la década de los 70's comenzaron a estudiarse las aplicaciones de las CD's. En la industria alimentaria, se estudiaba la posibilidad de emplear las ciclodextrinas para reducir olores y sabores desagradables y estabilizar agentes saborizantes.

En la industria cosmética, las ciclodextrinas eran probadas como estabilizadores de compuestos químicamente inestables y reductores de olores desagradables. ^[9]

La introducción de las CD's como excipientes en la industria farmacéutica, fue mucho más restringida que en las industrias alimentaria y cosmética. Sin embargo, en 1976 fue comercializado el primer producto farmacéutico (prostaglandina E2/ β -ciclodextrina) por *Ono Pharmaceutical Co.* Actualmente existen entre 30 y 40 diferentes fármacos en forma de complejos con ciclodextrina los cuales son comercializados en todo el mundo.^[9]

La aplicación más común de las CD's dentro de la industria farmacéutica, es la fabricación de sistemas de liberación controlada a través de la formación de complejos de inclusión.

Al formarse un complejo de inclusión se pueden obtener ciertos beneficios, como la alteración de la solubilidad del huésped, estabilización contra los efectos de la luz, calor, oxidación, enmascaramiento de efectos fisiológicos no deseados, reducción de volatilidad, entre otras. ^[16]

Dentro de las principales ventajas del uso de ciclodextrinas como acarreadores de fármacos se encuentran:

- Estructura química definida, lo que permite la unión en diferentes sitios para la modificación química.
- Disponibilidad de ciclodextrinas con diferentes tamaños de cavidad.
- Presentan baja toxicidad y baja actividad farmacológica.
- Protegen al fármaco ante la biodegradación.

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.1 Material y equipo

- Matraces Erlenmeyer de 50 mL
- Agitadores magnéticos
- Espátula cromo níquel
- Jeringas de plástico de 1, 5 y 20 mL
- Piseta con agua destilada
- Piseta con acetona
- Tanque de nitrógeno INFRA
- Balanza analítica METTLER Mod. PM400 precisión de 10^{-3} g
- Balanza analítica OHAUS Mod. AP250D precisión de 10^{-4} g
- Parrilla de agitación magnética Thermolyne Type 1000 Stir Plate
- Sonicador Cole-Parmer Modelo 8853
- Desionizador de agua Nanopure Infinity Mod. D8961
- Destilador de agua Barnstead Mega-Pure[®] system MP-1
- *Thermal Activity Monitor* (TAM de Thermometric, Suecia) Mod. 2277

3.2 Reactivos

- Agua destilada, desionizada (resistividad 18.3 M Ω -cm) y desgasificada (mediante sonicación por 20 minutos).
- Acetona (J. T. Baker; (CH₃)₂CO; Pureza > 99%; MM 58.08 g mol⁻¹; CAS.67-64-1)
- Diclofenaco sódico (Aldrich; C₁₄H₁₀Cl₂NNaO₂; Pureza > 99%; MM 318.1 g mol⁻¹; CAS.15307-79-6)
- α -CD•5.8H₂O (Aldrich; Pureza \geq 98%; MM 972.86 g mol⁻¹; CAS.10016-20-3)
- β -CD•8.6H₂O (Aldrich; Pureza \geq 98%; MM 1135.01 g mol⁻¹; CAS.68168-23-0)
- γ -CD•7.7H₂O (Cerestar; C₄₈H₈₀O₄₀; Pureza \geq 98%; MM 1297.15 g mol⁻¹; Lote F8045-6)
- HP- α -CD•5.3H₂O MS 0.6 (Aldrich; Pureza \geq 98%; MM 1180 g mol⁻¹; CAS. 99241-24-4)
- HP- β -CD•2.6 H₂O MS 1.0 (Aldrich; Pureza \geq 98%; MM 1540 g mol⁻¹; CAS. 94035-02-6)
- HP- β -CD•4.5H₂O MS 0.8 (Aldrich; Pureza \geq 98%; MM 1460 g mol⁻¹; CAS. 128446-35-5)
- HP- β -CD•4.5 H₂O MS 0.6 (Aldrich; Pureza \geq 98%; MM 1380 g mol⁻¹; CAS. 128446-35-5)
- HP- γ -CD•15.6H₂O MS 0.6 (Aldrich; Pureza \geq 98%; MM 1580 g mol⁻¹; CAS. 99241-25-5)

El agua contenida en la cavidad de las ciclodextrinas reportada en este trabajo, fue determinada por el método de Karl Fisher en el laboratorio de Control Analítico de la Facultad de Química de la UNAM.

3.3 Descripción del calorímetro TAM

El equipo empleado para las determinaciones calorimétricas es el *Thermal Activity Monitor* (TAM) de *Thermometric*, Suecia. El TAM es un sistema calorimétrico diseñado para monitorear una amplia gama de reacciones químicas y biológicas, tanto exotérmicas como endotérmicas, cuantifica diferencias de temperaturas de 10^{-4} °C.

La estabilidad térmica se logra mediante el uso de un baño de agua de 25 litros, el cual funciona como termostato y mantiene la temperatura constante en un intervalo de $\pm 2 \times 10^{-4}$ °C. El estudio de las reacciones se puede realizar en un intervalo de temperatura que va de 5 a 80 °C. [17]

En la figura 3.1 se muestra el TAM y sus principales componentes.

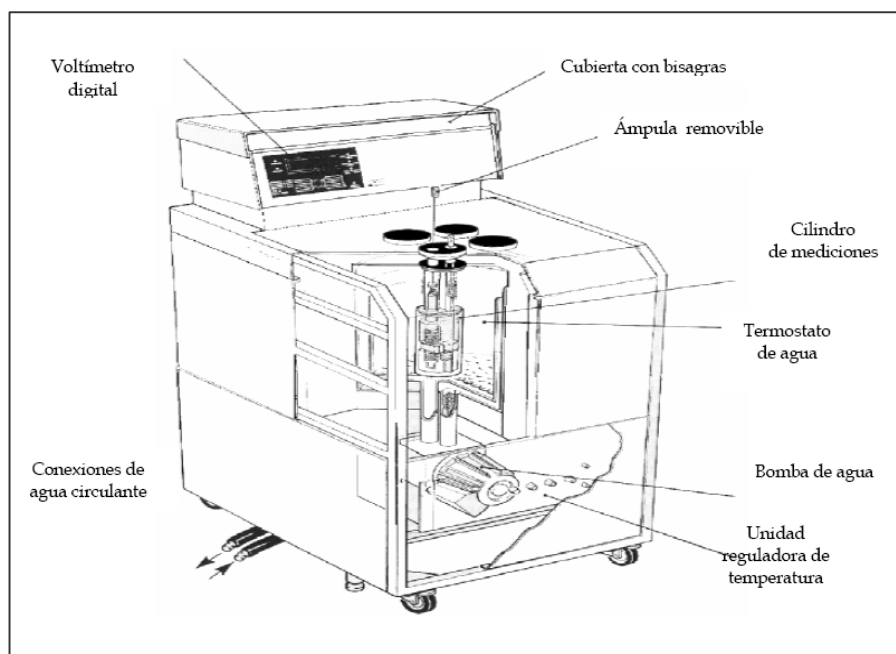


Figura 3.1. Representación esquemática del TAM.

El calorímetro corresponde a un diseño que utiliza la configuración diferencial, conocida entre los especialistas de microcalorimetría como “el principio de celdas gemelas”, en el cual una de ellas actúa como celda de reacción y la otra como de referencia.

La energía térmica desprendida o absorbida por una muestra en el cilindro de medición es canaliza a través de unas termopilas extremadamente sensibles conocidas como elementos Peltier (Figura 3.2). Estos elementos actúan como generadores termoeléctricos mediante el efecto Seebeck; están contruidos de materiales semiconductores y son capaces de responder a gradientes de temperatura de menos de una millonésima de grado Celsius.

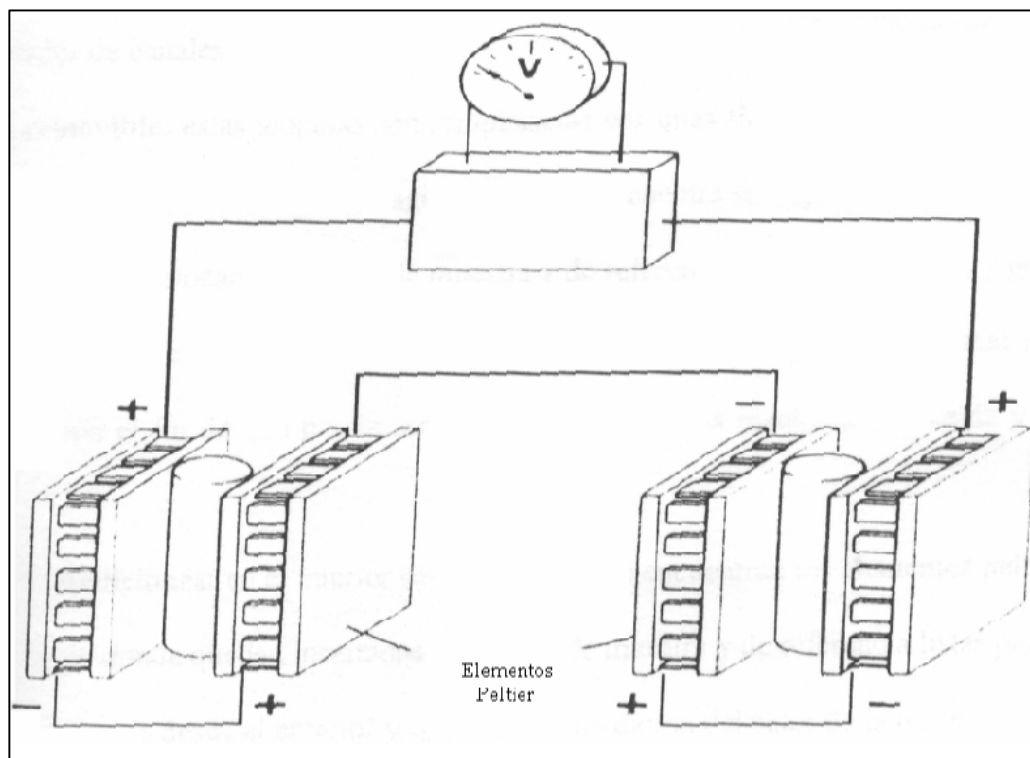


Figura 3.2. Elementos Peltier convierten la energía calorífica en una señal de voltaje.

Los elementos Peltier son detectores muy sensibles, su función es convertir la energía térmica en una señal de voltaje proporcional al flujo de calor. Los resultados se presentan como una medida de energía térmica producida por la muestra por unidad de tiempo. El TAM cuenta con panel de visualización y un intercambiador multiposicional, los cuales permiten el acceso a los datos que se requieran del experimento sin interrumpir las mediciones.

Las funciones de algunos de los componentes del TAM son las siguientes:

Voltímetro digital: En él se observa el avance del experimento seleccionando el canal donde se ha insertado la muestra; la temperatura del sistema y los indicadores de la eficiencia con la que está trabajando el baño térmico.

Cubierta con bisagras: Protegen el panel de control en el que se encuentra un intercambiador (para cada canal) con 7 posiciones que permite seleccionar la sensibilidad de trabajo en un intervalo de 3 a 3000 μW , un potenciómetro para realizar un ajuste fino y una unidad de calibración con la cual es posible conectar el TAM a una PC.

Ámpulas de reacción: Son elementos que contienen en su parte inferior a la celda de reacción y en la parte superior un motor que impulsa al agitador que se encuentra dentro de la celda; cada ámpula cuenta con un canal por donde es introducida una cánula con la que se inyecta una disolución.

Cilindro de mediciones: En su interior encuentran los elementos Peltier y es también el lugar donde quedan insertadas las celdas de muestra y referencia (Figura 3.3).^[17]

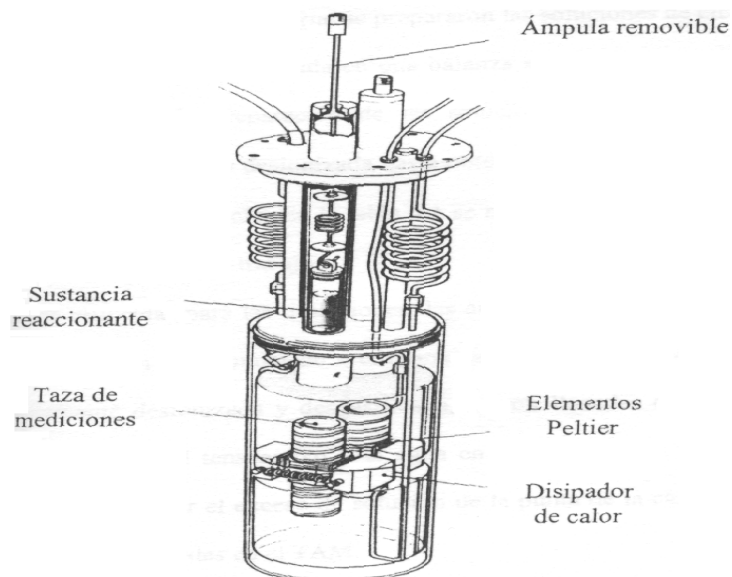


Figura 3.3. Cilindro de medición.

3.4 Microcalorimetría de Titulación Isotérmica (ITC)

La calorimetría es el estudio de la transferencia de calor durante procesos físicos y químicos, un calorímetro de titulación isotérmica es un dispositivo que mide dicha transferencia de calor.^[18] El calorímetro se compone de dos celdas idénticas fabricadas de un material de alta eficiencia térmica, rodeado por una chaqueta adiabática, en la que normalmente circula un baño de agua para el control de la temperatura.

La microcalorimetría de titulación isotérmica es una técnica analítica utilizada para medir directamente el calor asociado que se desprende o absorbe en las reacciones químicas o en los cambios físicos. El efecto térmico neto de las interacciones puede ser suficiente para determinar la entalpía de formación y la constante de equilibrio de los complejos formados. El éxito de esta técnica se debe a que cualquier interacción libera o absorbe calor, se mide a presión constante de tal forma que se obtiene el valor de la entalpía de reacción. Existen bases metodológicas y teóricas bien establecidas para analizar los datos experimentales de sistemas relativamente complejos. En un solo experimento pueden ser determinados los valores de la constante de asociación (K_{CD-F}), la estequiometría (n) y la entalpía de asociación (ΔH°_{CD-F}). La energía libre y entropía de asociación se determinan a partir de la constante de asociación.^[19]

3.5 Metodología

En el experimento se usaron dos jeringas idénticas que contenían las ciclodextrinas en disolución acuosa (Fig. 3.3). La agitación fue constante y la ciclodextrina se agregó simultáneamente en ambas celdas. La celda de reacción contenía el fármaco por complejar en disolución acuosa, mientras que la celda de referencia contenía agua.

De esta manera, el calor de dilución de la ciclodextrina se resta al calor total del proceso (Ec.4.4, Capítulo 4). El calor de dilución del fármaco es determinado en un segundo experimento.

Los resultados de la microtitulación isotérmica se almacenan en el programa del equipo en forma de potenciograma (potencia vs. Tiempo, Fig. 3.4); a continuación se procede a determinar las áreas correspondientes bajo cada curva (Fig. 3.5), cada una de las

cuales proviene de una adición. Posteriormente, los resultados se introducen en una de las herramientas del mismo programa junto con las condiciones experimentales para determinar la entalpía de reacción (ΔH°_{CD-F}) y la constante de equilibrio (K_{CD-F}) involucradas en el proceso de complejación CD-F.

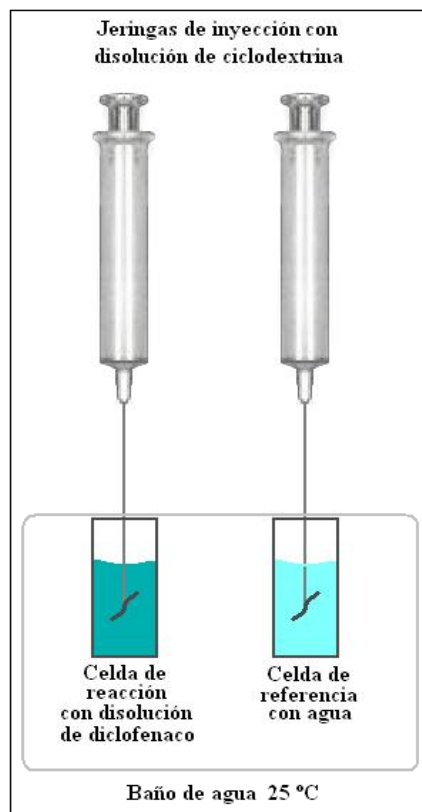


Figura 3.3. Arreglo experimental.

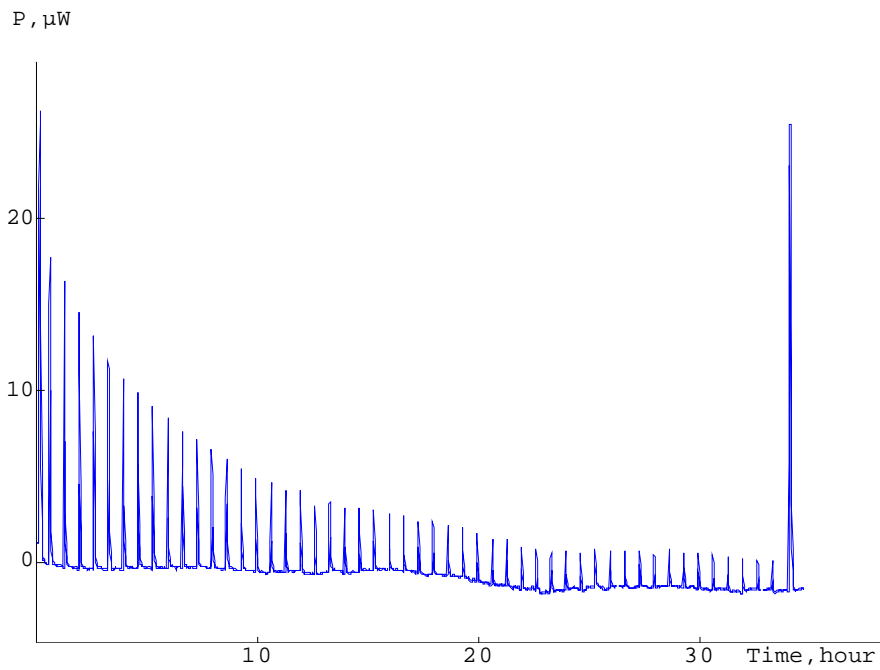


Figura 3.4. Potenciograma. Respuesta calorimétrica del TAM.

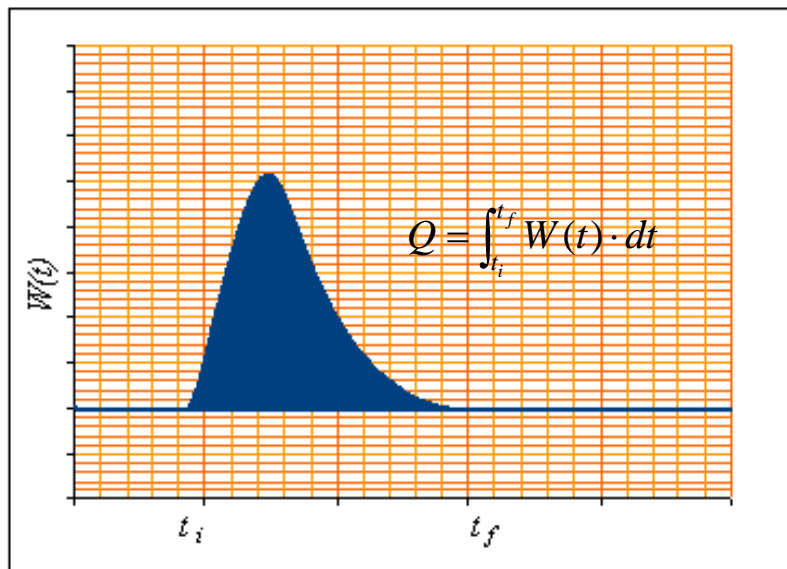


Figura 3.5. Determinación del calor de adición.

3.6 Condiciones experimentales

Las disoluciones empleadas fueron preparadas con agua destilada, desionizada y desgasificada. Bajo estas condiciones se realizaron los experimentos, calculando el calor y la constante de formación asociadas a la formación del complejo CD-F.

Las condiciones óptimas fueron específicas para cada experimento y se detallarán en el capítulo 5.

CAPÍTULO 4

FUNDAMENTO TERMODINÁMICO

La inclusión de un huésped en la cavidad de la ciclodextrina es esencialmente una sustitución de las moléculas de agua por un huésped menos polar. La relación entre la estructura y los parámetros termodinámicos es una clave fisicoquímica fundamental para el entendimiento de este proceso.

El proceso de formación de un complejo de inclusión es una interacción favorecida energéticamente entre un huésped no polar y una cavidad hidrofóbica, es por esto que los parámetros termodinámicos como la entalpía (ΔH°_{CD-F}), la entropía (ΔS°_{CD-F}), la energía libre de Gibbs (ΔG°_{CD-F}) y la constante de equilibrio (K_{CD-F}) son obtenidos para caracterizar dicho proceso. Los valores de estos parámetros se calcularán con el modelo TAM. ^[20]

4.1 Modelo TAM

El equilibrio de formación – disociación de un complejo de inclusión CD-F para un sistema 1:1, puede ser representado por la siguiente ecuación: ^{[20] [21]}



La constante de equilibrio para esta reacción está dada por:

$$K_{CD-F} = \frac{[CD-F]}{[CD][F]} \quad (4.2)$$

Donde:

[CD] es la concentración de la ciclodextrina.

[F] es la concentración del fármaco.

[CD-F] es la concentración del complejo ciclodextrina-fármaco.

4.2 Determinación de la entalpía y la constante de equilibrio

En una titulación calorimétrica, el calor total está asociado a la suma del calor de dilución de la ciclodextrina, más el calor de dilución del fármaco, más el calor de dilución del complejo CD-F: ^{[20] [21] [17]}

$$\Delta H_{Total} = \Delta H_{CD}^{\circ \text{ Dilución}} + \Delta H_F^{\circ \text{ Dilución}} + \Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}} \quad (4.3)$$

Para obtener el $\Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}}$ se debe restar del calor total, el calor de dilución de la ciclodextrina y el calor de dilución del fármaco como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}} = \Delta H_{Total} - \Delta H_{CD}^{\circ \text{ Dilución}} - \Delta H_F^{\circ \text{ Dilución}} \quad (4.4)$$

En esta investigación, el calor de dilución del fármaco fue cero. Cuando se ha adicionado una alícuota de la disolución de ciclodextrina, el balance de energía queda definido por la siguiente ecuación:

$$Q_p = \Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}} = \frac{[CD-F]}{[CD]_0} \Delta H_{Total} \quad (4.5)$$

A partir de de la ecuación (4.2) se obtiene:

$$[CD-F] = K_{CD-F} [CD][F] \quad (4.6)$$

La concentración total de la ciclodextrina:

$$[CD]_0 = [CD] + K_{CD-F} [CD][F] \quad (4.7)$$

El balance de materia de la ciclodextrina, donde $[CD]_0$ es la concentración inicial de la ciclodextrina, llegando a una ecuación de dos incógnitas la cual se ajusta a los valores experimentales para obtener $\Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}}$ y K_{CD-F} [20] [21]

$$\frac{1}{\Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}}} = \frac{1}{\Delta H_{Total}} + \frac{1}{\Delta H_{Total} [F] K_{CD-F}} \quad (4.8)$$

Después de una inyección de ciclodextrina, la concentración de fármaco libre es:

$$[F] = [F]_0 - [CD-F] \quad (4.9)$$

Donde $[F]_0$ es la concentración del fármaco antes de la adición de la disolución de ciclodextrina. Se despeja el valor de $[CD-F]$ de la ecuación (4.5) para sustituirse en la ecuación (4.9), por lo que la nueva ecuación queda de la siguiente forma:

$$[F] = [F]_0 - \frac{\Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}}}{\Delta H_{Total}} [CD]_0 \quad (4.10)$$

Las ecuaciones (4.8) y (4.10), son ecuaciones del modelo que usa el software del TAM y se ajustan a los resultados obtenidos del potenciograma. Las condiciones experimentales y las áreas bajo cada una de las señales se suministran en el programa del equipo para determinar los valores de $\Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}}$ y la K_{CD-F} , y dar paso al cálculo de los siguientes parámetros termodinámicos.

4.3 Determinación de la energía libre de Gibbs y la entropía

Una vez obtenidos los valores de $\Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}}$ y la K_{CD-F} , el cálculo de ΔG_{CD-F}° y

ΔS_{CD-F}° se realizan empleando las siguientes ecuaciones:^[23]

$$\Delta G_{CD-F}^{\circ} = -RT \ln K_{eq} \quad (4.11)$$

Donde:

R es la constante universal de los gases

T es la temperatura

Un cambio espontáneo a temperatura y presión constantes, implica que ΔG_{CD-F}° debe ser siempre negativo:

$$\Delta G_{CD-F}^{\circ} = \Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}} - T\Delta S_{CD-F}^{\circ} \quad (4.12)$$

En esta ecuación es posible distinguir dos contribuciones al valor de ΔG_{CD-F}° : una entálpica ($\Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}}$) y otra entrópica ($T\Delta S_{CD-F}^{\circ}$). En la ecuación (4.12), es claro que para hacer ΔG_{CD-F}° negativo, es necesario que $\Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}}$ sea negativo (proceso exotérmico) y que ΔS_{CD-F}° sea positivo. Para determinar $T\Delta S_{CD-F}^{\circ}$ se despeja de la ecuación (4.12):

$$T\Delta S_{CD-F}^{\circ} = \Delta H_{CD-F}^{\circ \text{ Formación}} - \Delta G_{CD-F}^{\circ} \quad (4.13)$$

CAPÍTULO 5

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Los resultados que se presentan a continuación, son los obtenidos a una temperatura de 298.15 K; posteriormente se muestran los resultados del efecto que tiene la temperatura sobre la formación del complejo de inclusión diclofenaco-HP- β -CD MS = 0.6.

En la primera etapa se buscaron las condiciones experimentales óptimas para obtener una señal calorimétrica clara. Dichas condiciones son las siguientes:

- Utilizar concentraciones de fármaco aproximadamente 2.5 mM.
- Emplear disoluciones de ciclodextrina aproximadamente 10 veces más concentrada que el fármaco.
- Hacer 50 adiciones de 30 μ L de disolución de ciclodextrina aproximadamente 25 mM.
- Usar jeringas de 2500 μ L.
- Trabajar con el calorímetro a una sensibilidad de 100 μ W y algunos casos 30 μ W.

A continuación se presenta una tabla (5.1) en la que se enlistan las condiciones de trabajo para cada uno de los experimentos.

Ciclodextrina	[Ciclodextrina] (mM)	[Diclofenaco] (mM)	Sensibilidad (μ W)	Temperatura (K)
α - CD	24.423	2.639	100	298.15
β - CD	25.720	2.626	100	298.15
γ - CD	23.940	2.411	100	298.15
HP - α - CD MS = 0.6	28.761	2.671	100	298.15
HP - β - CD MS = 0.6	25.540	2.449	30	298.15
HP - γ - CD MS = 0.6	24.206	2.421	100	298.15
HP - β - CD MS = 0.8	24.072	2.463	30	298.15
HP - β - CD MS = 1.0	24.517	2.453	30	298.15
HP - β - CD MS = 0.6	25.041	2.492	100	288.15
HP - β - CD MS = 0.6	24.464	2.620	100	310.15
HP - β - CD MS = 0.6	27.812	2.591	100	318.15

Tabla 5.1. Condiciones experimentales

5.1 Ciclodextrinas nativas a 298.15 K

A continuación se muestran los potenciogramas de los tres complejos de inclusión formados con las ciclodextrinas nativas.

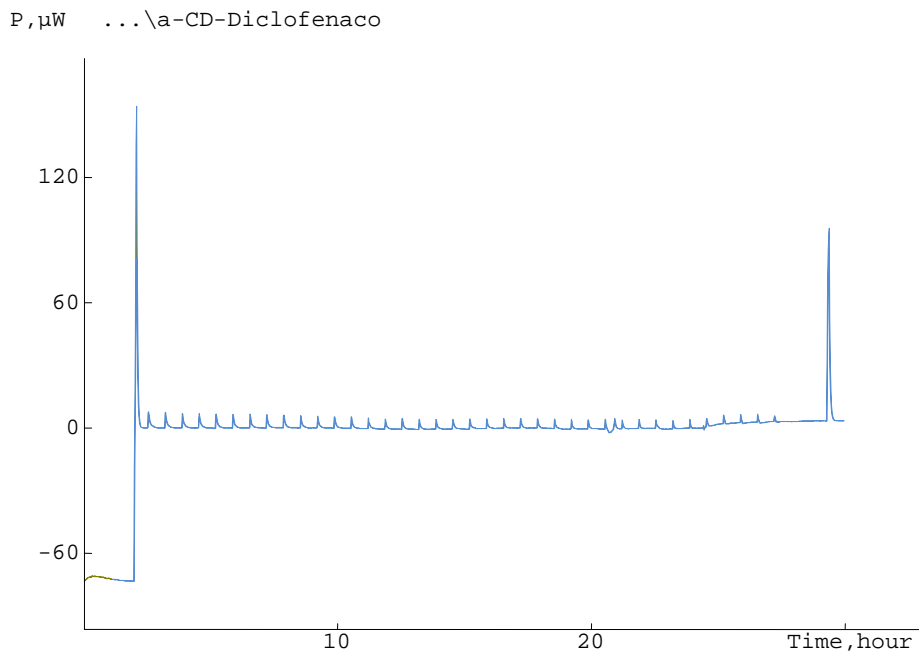


Figura 5. 1. Potenciograma correspondiente al complejo Diclofenaco - α - CD a 298.15 K

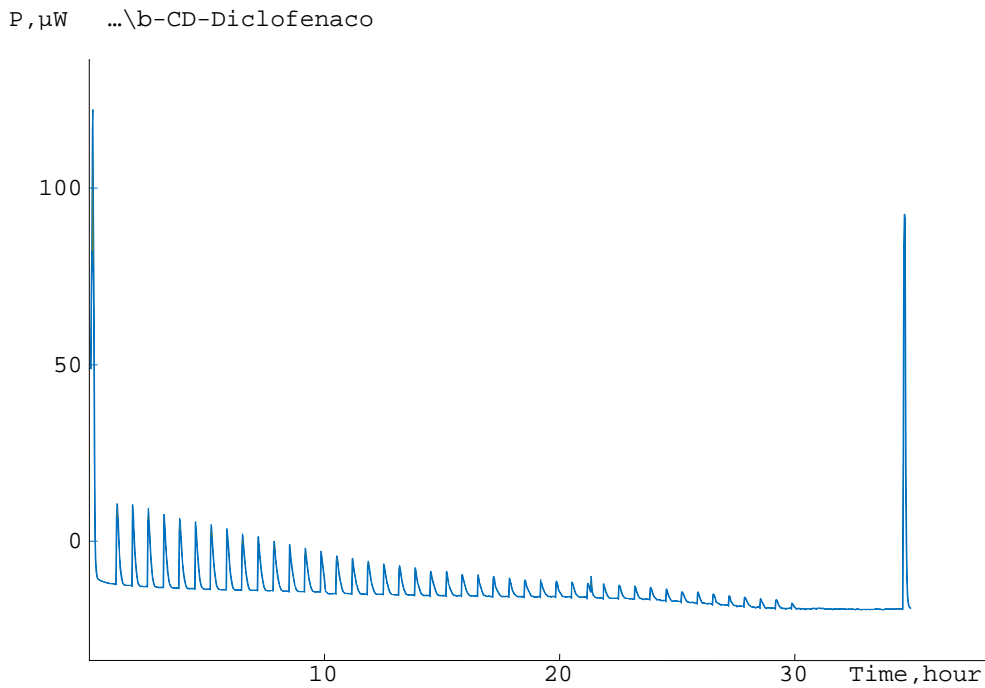


Figura 5. 2. Potenciograma correspondiente al complejo Diclofenaco – β – CD a 298.15 K

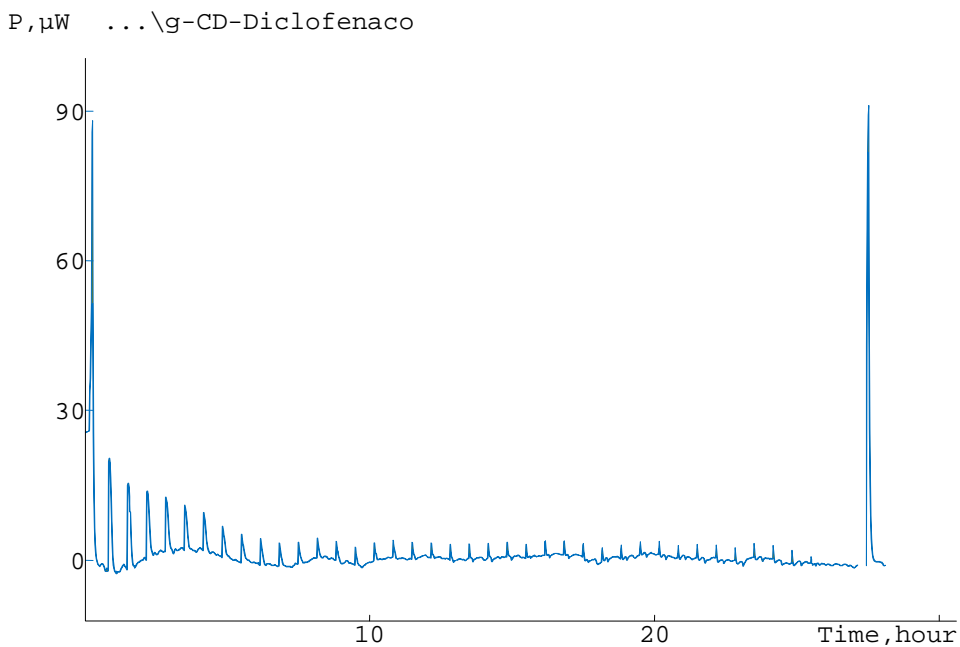


Figura 5. 3. Potenciograma correspondiente al complejo Diclofenaco – γ – CD a 298.15 K

En los potenciogramas, la primera y la última señales corresponden a calibraciones hechas por el calorímetro y siempre simulan liberación de calor ($\Delta H < 0$), es decir, son exotérmicas. En un experimento, si las señales tienen la misma dirección que la de la calibración, significa que el proceso es exotérmico. Las señales ubicadas entre las calibraciones, están asociadas al proceso de formación del complejo diclofenaco-ciclodextrina.

En las tres figuras anteriores, se observa que el proceso de formación de los complejos de inclusión es exotérmico en los tres casos. También se nota una disminución en el tamaño de los picos, lo cual refleja una disminución del área hasta casi ser nula, indicando que se ha alcanzado el equilibrio.

Las siguientes figuras son los entalpogramas correspondientes a los complejos de inclusión formados con las ciclodextrinas nativas. Los entalpogramas resultan de la integración del área bajo la curva de cada una de las señales en los potenciogramas. El área bajo la curva, corresponde al trabajo eléctrico (W) que hacen los elementos Peltier para mantener constante la temperatura de la celda de reacción. Estas áreas representan el calor involucrado en cada una de las adiciones. Las áreas fueron calculadas con el software *Digitam 4.1 Thermometric*, y posteriormente utilizadas junto con las condiciones experimentales para obtener el ΔH°_{CD-F} y la K_{CD-F} . Las ecuaciones que utiliza este software se revisaron en el capítulo 4.

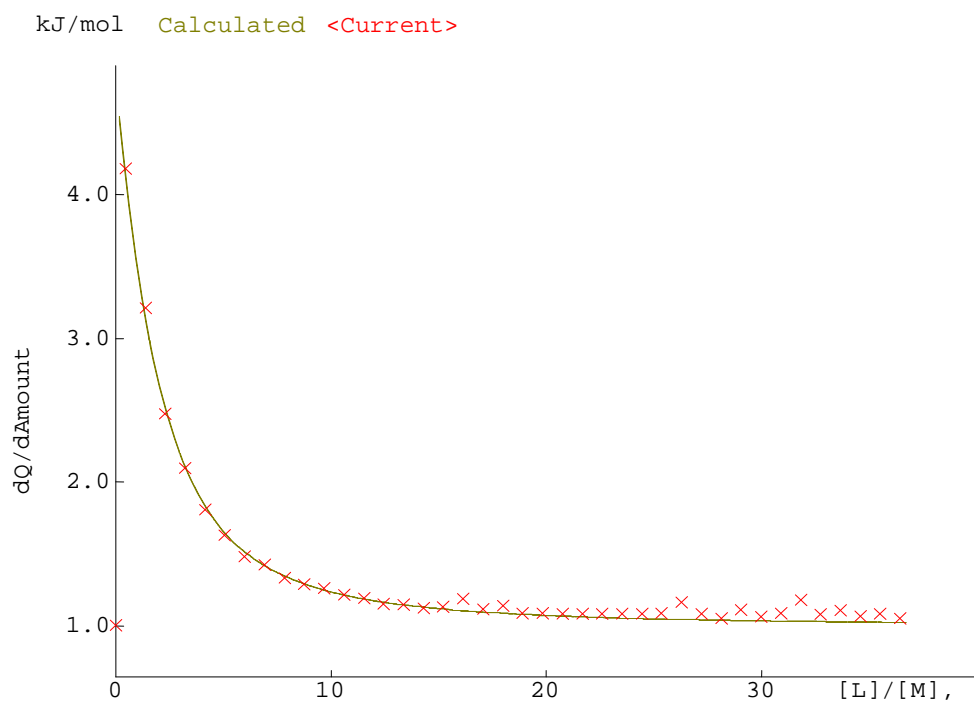


Figura 5. 4. Entalpograma correspondiente al complejo Diclofenaco – α – CD a 298.15 K

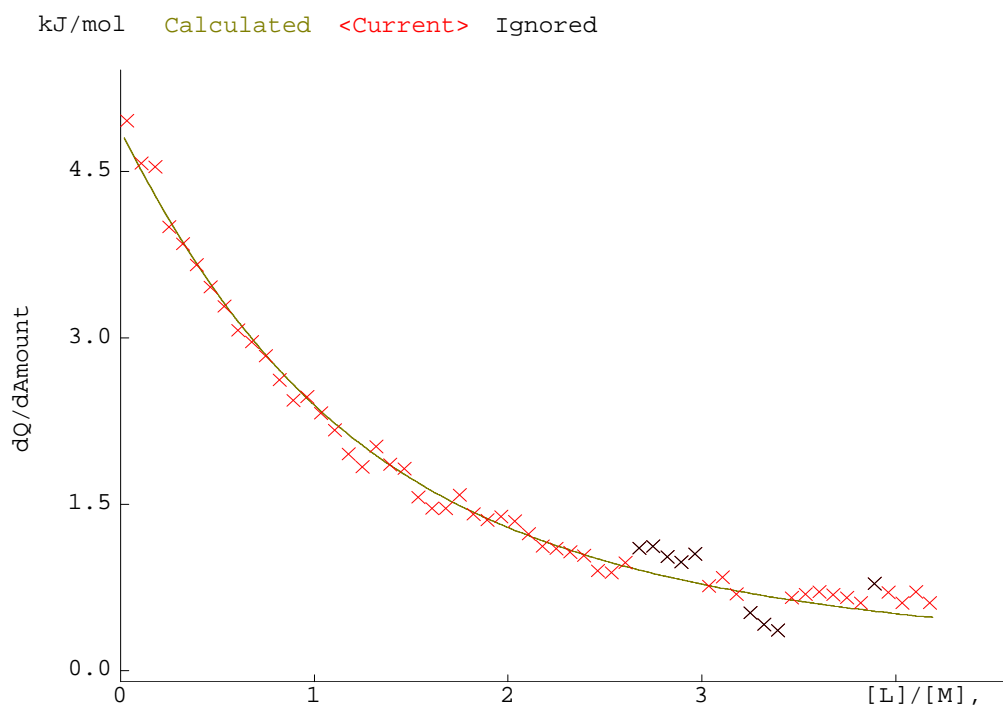


Figura 5. 5. Entalpograma correspondiente al complejo Diclofenaco – β – CD a 298.15 K

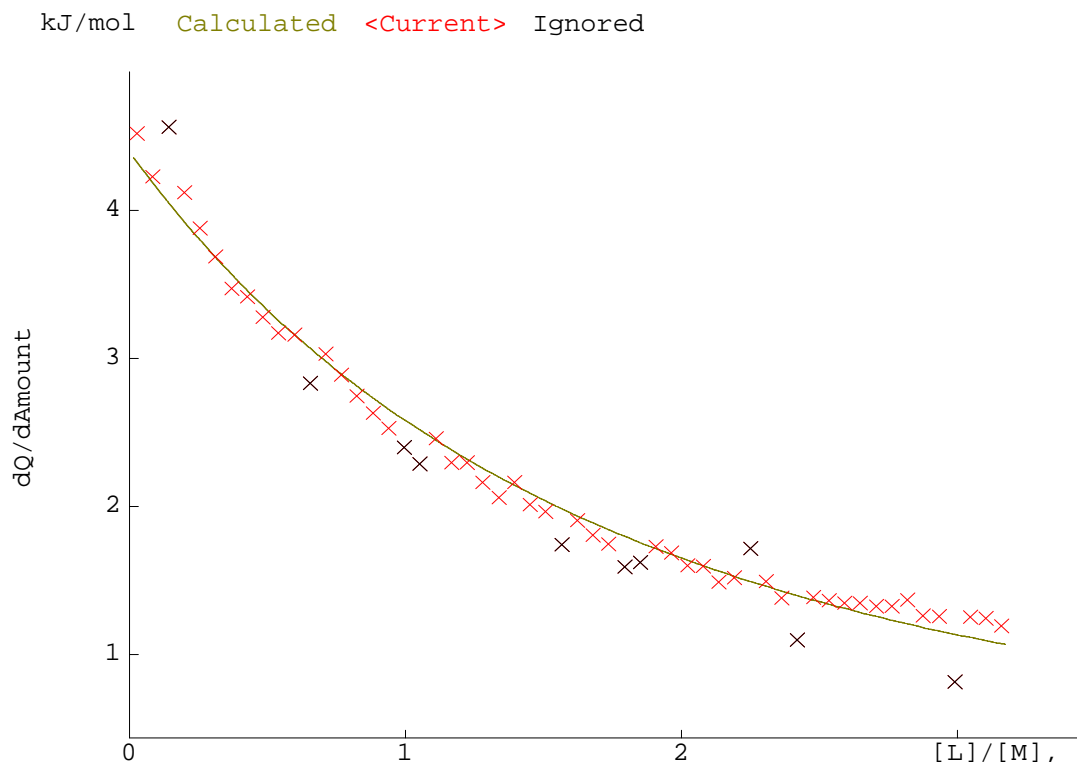


Figura 5. 6. Entalpograma correspondiente al complejo Diclofenaco – γ - CD a 298.15 K

A continuación se presentan los valores de los parámetros termodinámicos correspondientes a la formación de los complejos con las ciclodextrinas nativas a 298.15 K. Como ya se explicó, ΔH°_{CD-F} y K_{CD-F} son obtenidas directamente del experimento, mientras que ΔG°_{CD-F} y $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ son calculadas con las ecuaciones 4.11 y 4.13 del capítulo 4.

Diclofenaco – CDs nativas				
Ciclodextrina	ΔH°_{CD-F} (kJ mol ⁻¹)	K_{CD-F} (M ⁻¹)	ΔG°_{CD-F} (kJ mol ⁻¹)	$T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ (kJ mol ⁻¹)
α – CD	-27.6 ± 0.9	19 ± 1	-7.3 ± 0.1	-20.2 ± 0.9
β – CD	-11.6 ± 0.6	280 ± 21	-13.9 ± 0.2	2.4 ± 0.4
γ – CD	-7.7 ± 0.6	295 ± 26	-14.1 ± 0.2	6.4 ± 0.4

Tabla 5.2. Parámetros termodinámicos obtenidos a 298.15 K

El signo del valor del ΔH indica la dirección del flujo de calor, si éste es negativo, la reacción libera energía hacia los alrededores, es decir es exotérmica. Cuando la energía de Gibbs disminuye ($\Delta G < 0$) en una reacción a temperatura y presión constantes, implica una reacción espontánea, por otro lado, si la entropía aumenta, el valor de $T\Delta S^\circ$ es positivo. El valor de la energía de Gibbs contiene dos contribuciones, una entálpica y otra entrópica: $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$, por lo que para tener $\Delta G < 0$ se debe cumplir que $\Delta H^\circ < T\Delta S^\circ$.

El agua asociada a las soluciones acuosas de ciclodextrinas y a los huéspedes, juegan un papel importante en la complejación. Los eventos más importantes que modifican los parámetros termodinámicos de la complejación de las ciclodextrinas, son:

- a) Penetración de la parte hidrofóbica de la molécula huésped en la cavidad de la ciclodextrina.
- b) La deshidratación de la molécula huésped.
- c) Interacciones de puente de hidrógeno.
- d) La liberación de las moléculas de agua de la cavidad de la ciclodextrina hacia el bulto.
- e) Los cambios conformacionales sufridos por la ciclodextrina al formar el complejo de inclusión. ^[24]

En la figura 5.7 se aprecia que la complejación del diclofenaco está más favorecida con β – CD y γ – CD, en ambos casos el ΔG°_{CD-F} es más negativo que el obtenido con α – CD. Aunque los procesos de complejación con β – CD y γ – CD son menos exotérmicos que con α – CD, existe en ambos casos una compensación entrópica importante que hace a estos procesos los más espontáneos. Esto puede entenderse a partir de que al aumentar el diámetro de la CD, el diclofenaco penetra con mayor facilidad en cavidad de la misma.

La cavidad de la α – CD, β – CD y γ – CD utilizadas en este trabajo contienen en promedio 5.8, 8.6 y 7.7 moléculas de agua respectivamente. Estos datos, como ya se mencionó (Capítulo 3) fueron determinados experimentalmente. De acuerdo con estos datos, se puede decir que la inclusión del diclofenaco en la α – CD libera el menor número de moléculas de agua hacia el bulto, lo que podría explicar que la contribución entrópica sea menor comparada con las otras CD's nativas. Dicho de otra forma, al entrar el diclofenaco en la cavidad de la β – CD o en la de la γ – CD, la liberación de moléculas de agua hacia el bulto es mayor, lo cual se ve reflejado en un aumento de entropía.

El aumento de $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ para el complejo con β – CD y con γ – CD podría atribuirse a que los cambios conformacionales son más favorecidos con la γ – CD debido al tamaño de la misma.

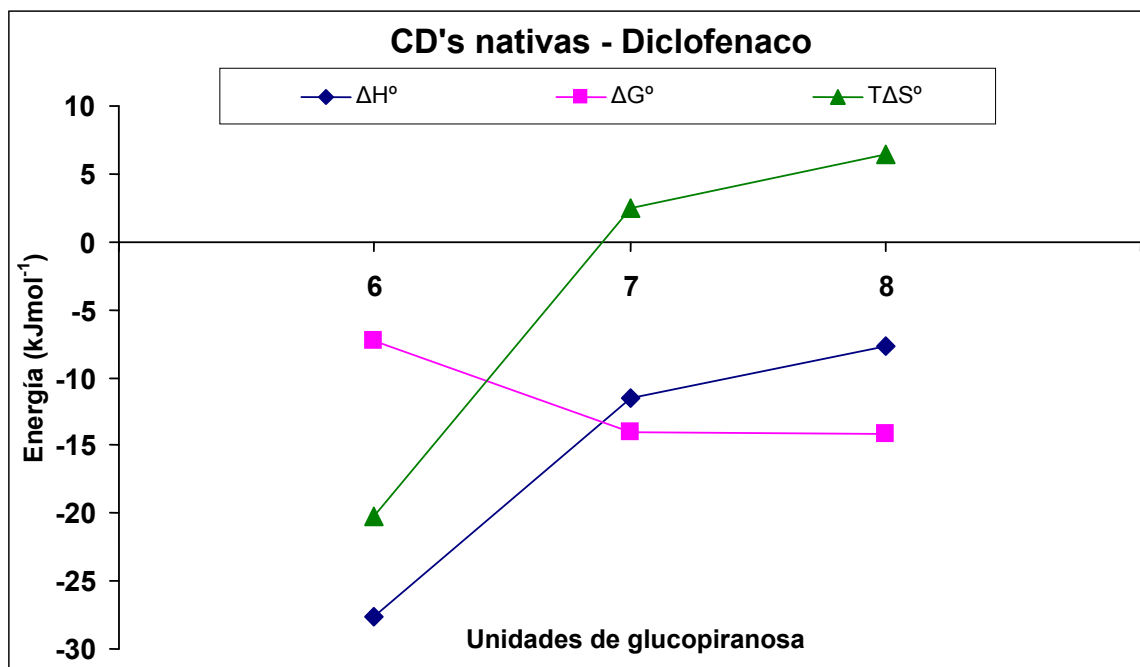


Figura 5. 7. Comparación de los parámetros termodinámicos debidos a la interacción de diclofenaco con ciclodextrinas nativas a 298.15 K

5.2 Ciclodextrinas modificadas MS = 0.6 a 298.15 K

A continuación se muestran los potenciogramas de los complejos de inclusión del diclofenaco con ciclodextrinas modificadas (Hidroxipropil-ciclodextrinas).

Primero se analizan los sistemas manteniendo MS constante igual a 0.6 y más adelante se presenta el comportamiento de los sistemas variando MS para el caso de HP – β – CD.

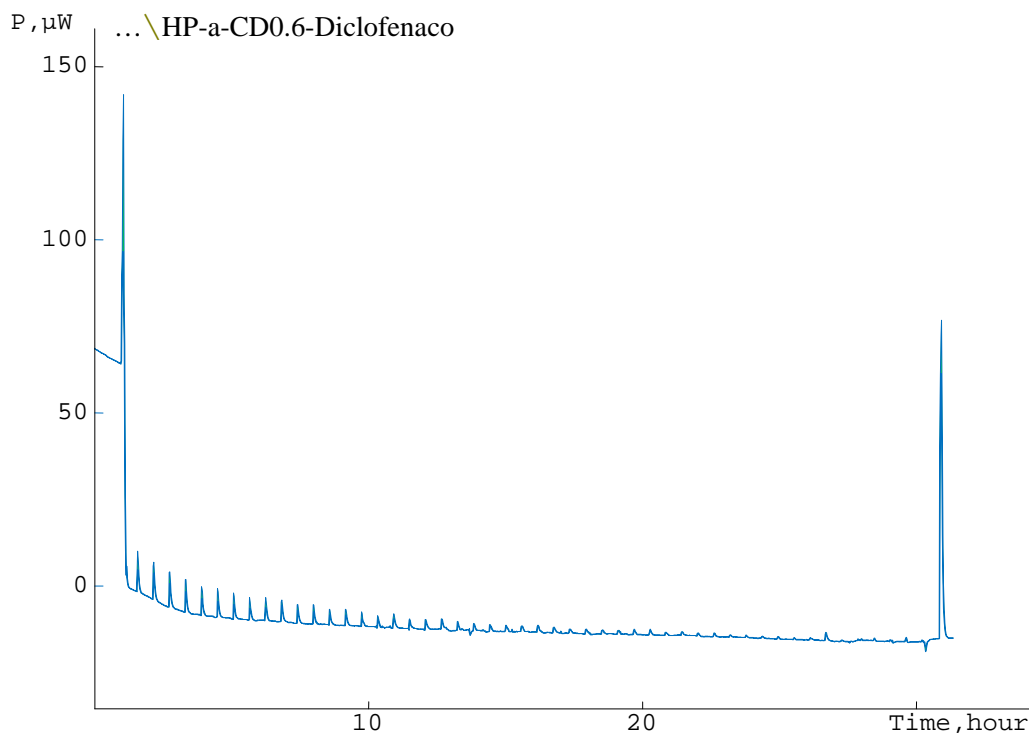


Figura 5. 8. Potenciograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – α – CD MS = 0.6 a 298.15 K

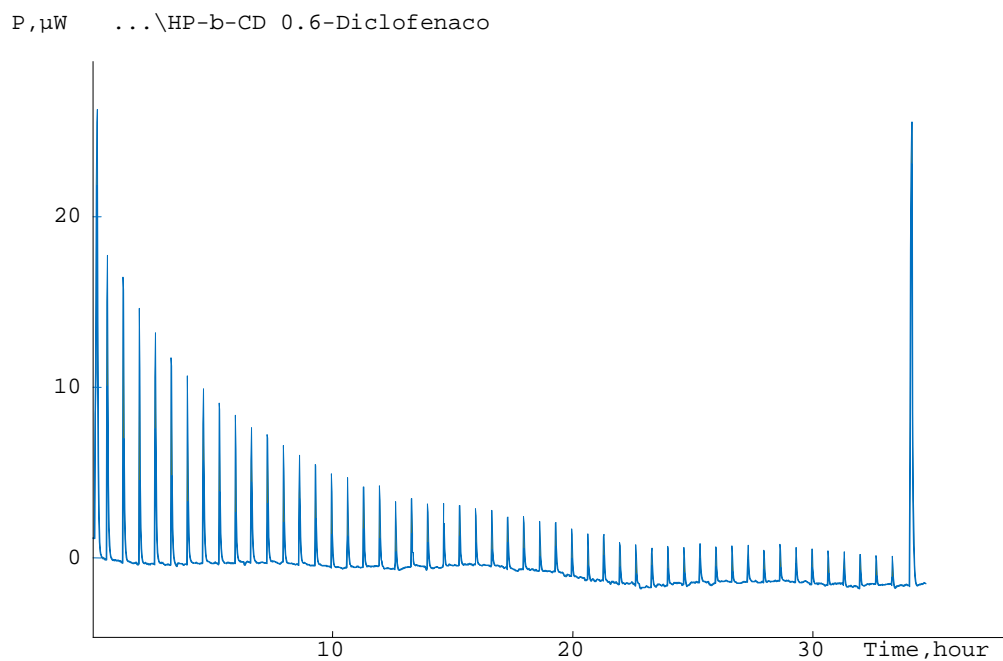


Figura 5. 9. Potenciograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – β – CD MS = 0.6 a 298.15 K

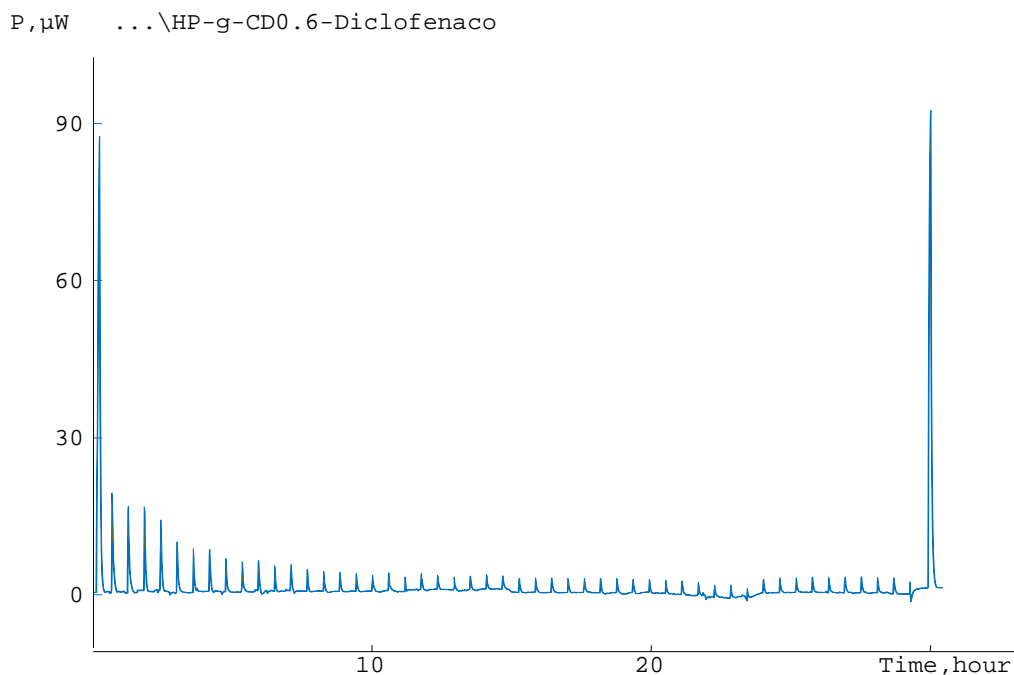


Figura 5. 10. Potenciograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – γ – CD MS = 0.6 a 298.15 K

En los potenciogramas anteriores, podemos observar que el proceso de formación de los complejos de inclusión del diclofenaco en las HP – CD's MS = 0.6 es exotérmico ($\Delta H < 0$), en todos los casos.

Después de obtener el área bajo la curva, tenemos los correspondientes entalpogramas para calcular los valores de ΔH°_{CD-F} y la K_{CD-F} que se presentan a continuación.

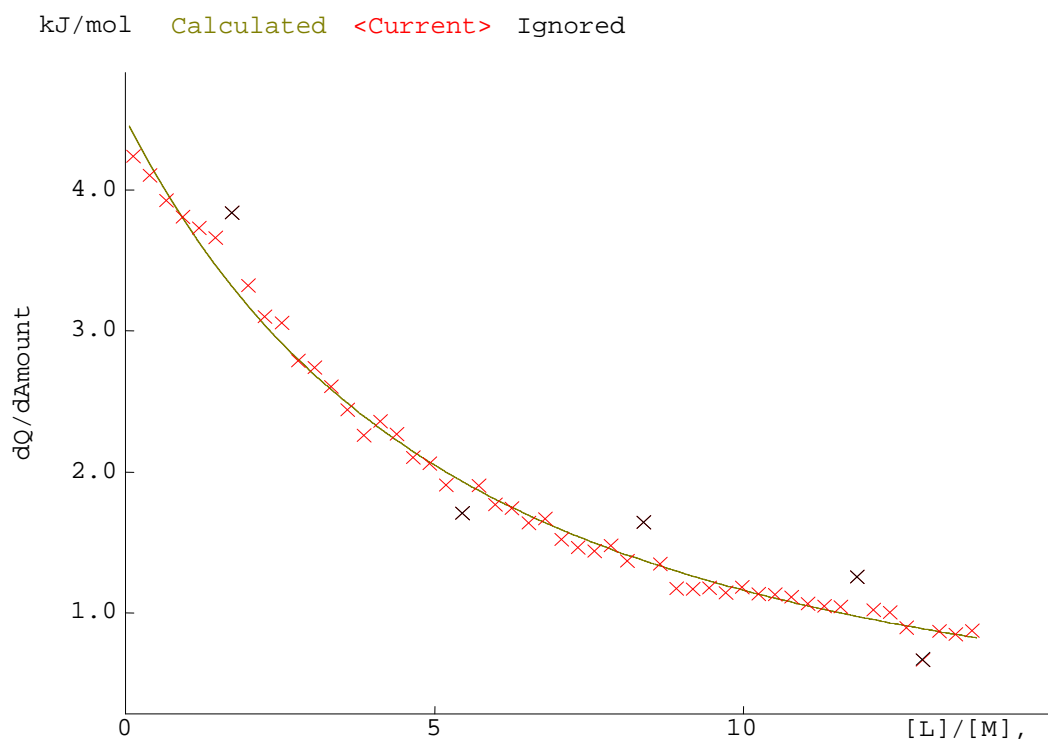


Figura 5. 11. Entalpograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP– α – CD MS = 0.6 a 298.15 K

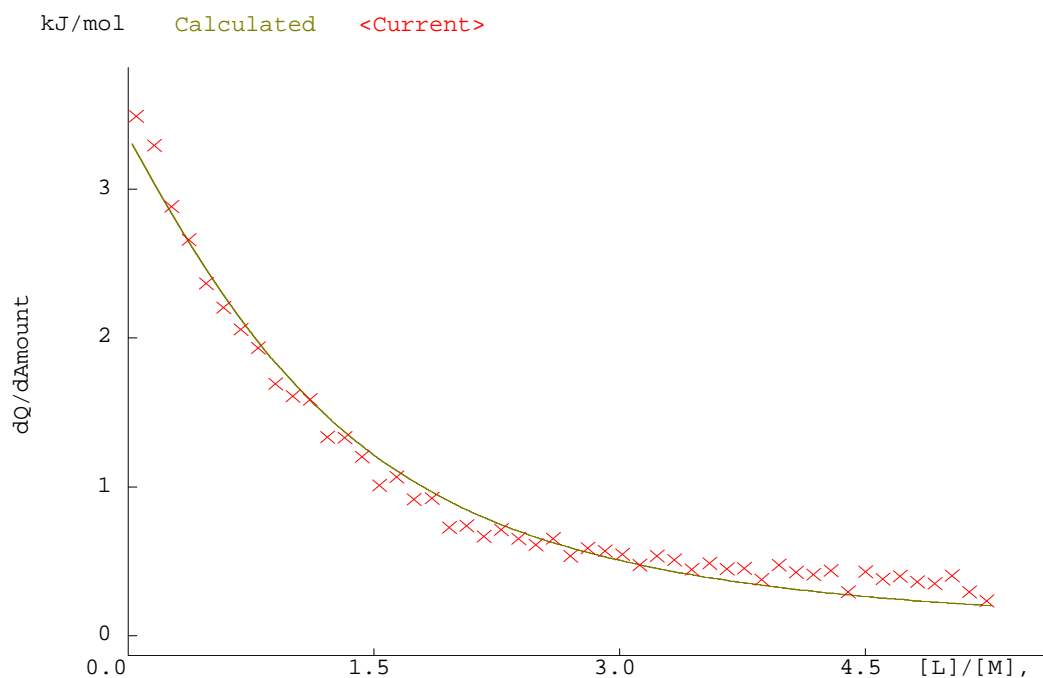


Figura 5. 12. Entalpograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – β – CD MS = 0.6 a 298.15 K

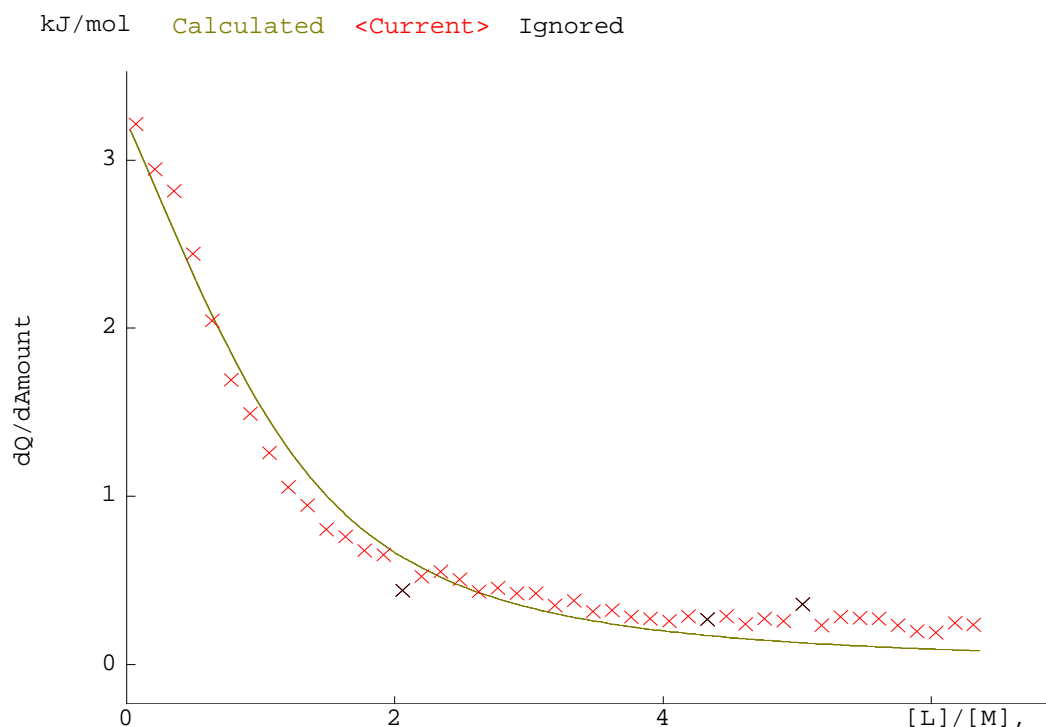


Figura 5. 13. Entalpograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – γ – CD MS=0.6 a 298.15 K

La siguiente tabla (5.3) presenta los valores de los parámetros termodinámicos correspondientes a la formación de los complejos de inclusión con las ciclodextrinas modificadas MS = 0.6 obtenidos a 298.15 K.

Diclofenaco – CD's hidroxipiriladas MS = 0.6				
Ciclodextrina	ΔH°_{CD-F} (kJ mol ⁻¹)	K_{CD-F} (M ⁻¹)	ΔG°_{CD-F} (kJ mol ⁻¹)	$T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ (kJ mol ⁻¹)
HP – α – CD	-20.6 ± 1.2	121 ± 11	-11.9 ± 0.2	-8.7 ± 0.9
HP – β – CD	-6.9 ± 0.2	391 ± 27	-14.8 ± 0.2	7.9 ± 0.1
HP – γ – CD	-9.9 ± 0.2	210 ± 8	-13.3 ± 0.1	3.4 ± 0.1

Tabla 5.3. Parámetros termodinámicos para los complejos formados entre diclofenaco con HP – α – CD, HP – β – CD e HP – γ – CD con MS = 0.6 a 298.15 K

En la figura 5.14 podemos ver que el proceso de formación del complejo de inclusión del diclofenaco se encuentra más favorecido con la HP – β – CD, pues presenta el ΔG°_{CD-F} más negativo de los tres, quizá se deba a que esta CD tiene las dimensiones adecuadas para albergar al diclofenaco en su interior, ajustándose mejor el huésped al anfitrión. Además el grupo OH del sustituyente en la CD, podría interactuar con el grupo COO⁻ a través de la formación de puentes de hidrógeno. Se puede notar que la aportación que hace el valor de $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ es de gran importancia en el complejo con HP – β – CD, pues su contribución ayuda a que el ΔG°_{CD-F} sea el más negativo. Los complejos formados con la HP – α – CD y la HP – γ – CD también son espontáneos pero los valores de ΔG°_{CD-F} son menores, lo que significa que la formación del complejo es menos favorecida.

La formación del complejo con la HP – α – CD está dirigida por la entalpía en contraste con los procesos de inclusión del diclofenaco con HP – β – CD e HP – γ – CD, que están dirigidos por la entropía.

En la HP – α – CD, HP – β – CD e HP – γ – CD hay en promedio 5.3, 4.5 y 15.9 moléculas de agua respectivamente. El hecho de que el proceso de inclusión en la HP – α – CD presente el menor valor de $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ se puede atribuir a que el bulto no sea muy grande. La complejación con la HP – β – CD presenta el mayor $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$, por lo que se puede pensar que la inclusión del diclofenaco es tan eficiente, que se libera un mayor número de moléculas de agua al bulto. Cabe notar que HP – γ – CD tiene un mayor número de moléculas de agua en su cavidad, pero también es la CD más grande de las tres, por lo que la inclusión del diclofenaco en su cavidad, libera menos moléculas de agua al bulto, lo cual se ve reflejado en un menor valor de $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$.

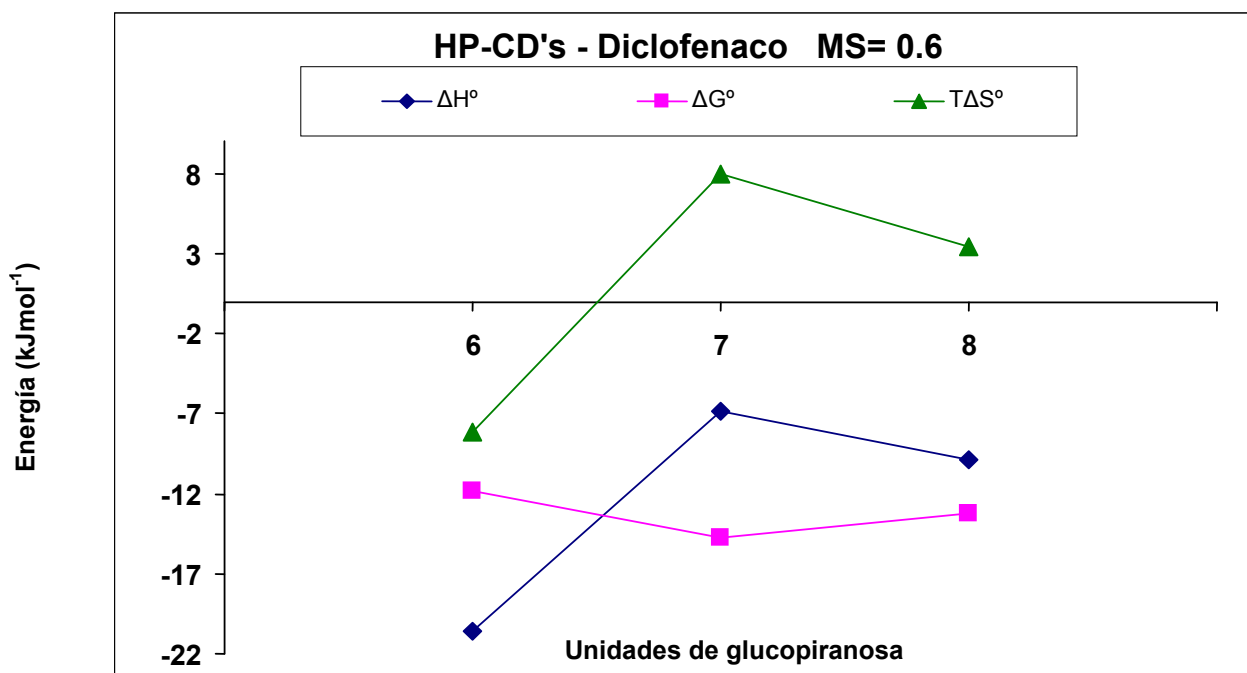


Figura 5. 14. Comparación de los parámetros termodinámicos debidos a la interacción de diclofenaco con HP- α -CD, HP- β -CD e HP- γ -CD MS = 0.6 a 298.15 K

Al hacer una comparación de los valores de energía (figura 5.15) entre los complejos con las ciclodextrinas nativas y las modificadas, podemos apreciar que la presencia del grupo HP favorece termodinámicamente la formación del complejo en α -CD y β -CD ya que se obtiene un $\Delta G^\circ_{\text{CD-F}}$ más negativo. La sustitución del grupo HP en α -CD y en β -CD también trae como consecuencia la disminución de la entalpía, sin embargo este efecto se compensa por el aumento de entropía, debido tal vez a la liberación de un mayor número de moléculas de agua hacia el bulto y al incremento de los grados de libertad en la molécula de CD.

Cuando sustituimos el grupo HP en la γ -CD la formación del complejo está menos favorecida, el ΔG°_{CD-F} se hace menos negativo. En este caso el proceso se hace más exotérmico, quizá debido a que el tamaño de la cavidad favorece la formación de puentes de hidrógeno entre el grupo HP y la parte de la molécula que no se encuentra incluida en la ciclodextrina. Por otro lado hay una descompensación entrópica, probablemente porque el grupo HP podría limitar la liberación de moléculas de agua hacia el bulto.

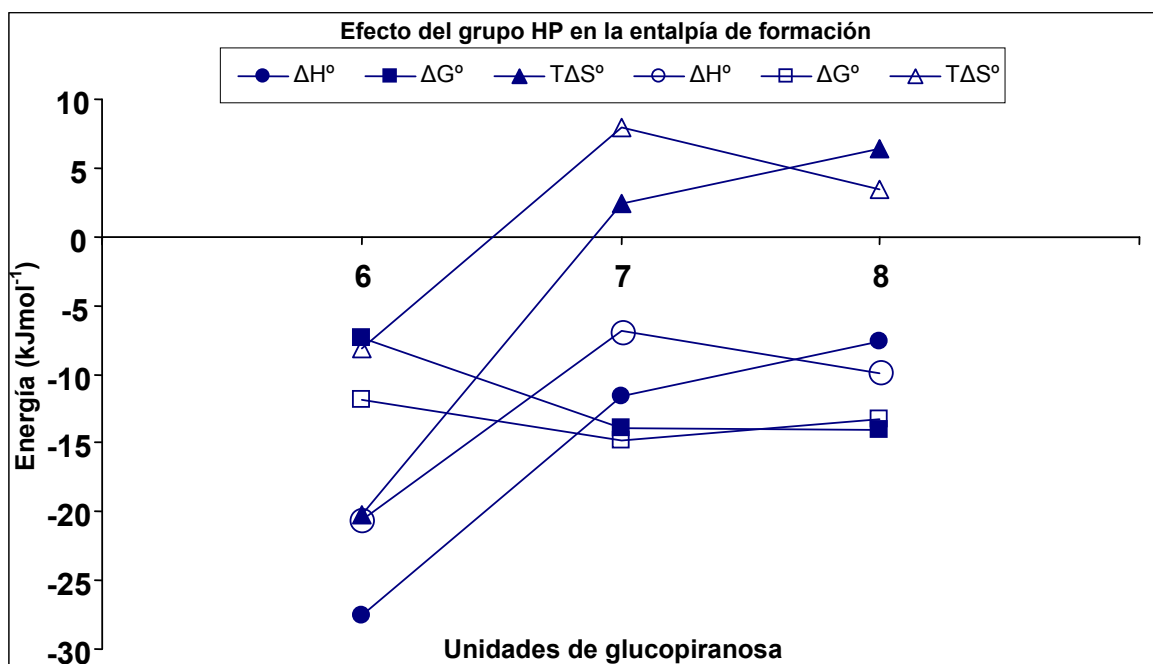


Figura 5. 15. Efecto del sustituyente hidroxipropilo $MS = 0.6$ en la formación de complejos con diclofenaco a 298.15 K.

● ΔH° ■ ΔG° ▲ $T\Delta S^{\circ}$ para CD's nativas
○ ΔH° □ ΔG° △ $T\Delta S^{\circ}$ para CD's modificadas.

5.3 HP- β -CD en función de MS a 298.15 K

A continuación se muestran los potenciogramas que se obtuvieron en la complejación del diclofenaco en HP- β -CD MS = 0.8 e HP- β -CD MS = 1.0.

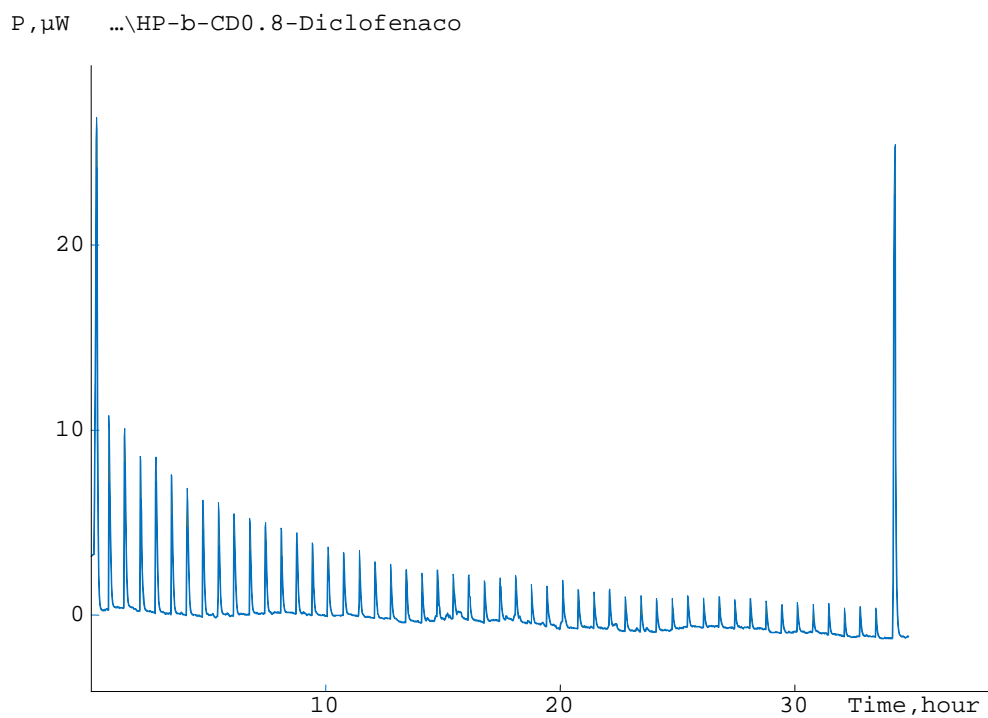


Figura 5. 16. Potenciograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – β – CD MS = 0.8 a 298.15 K

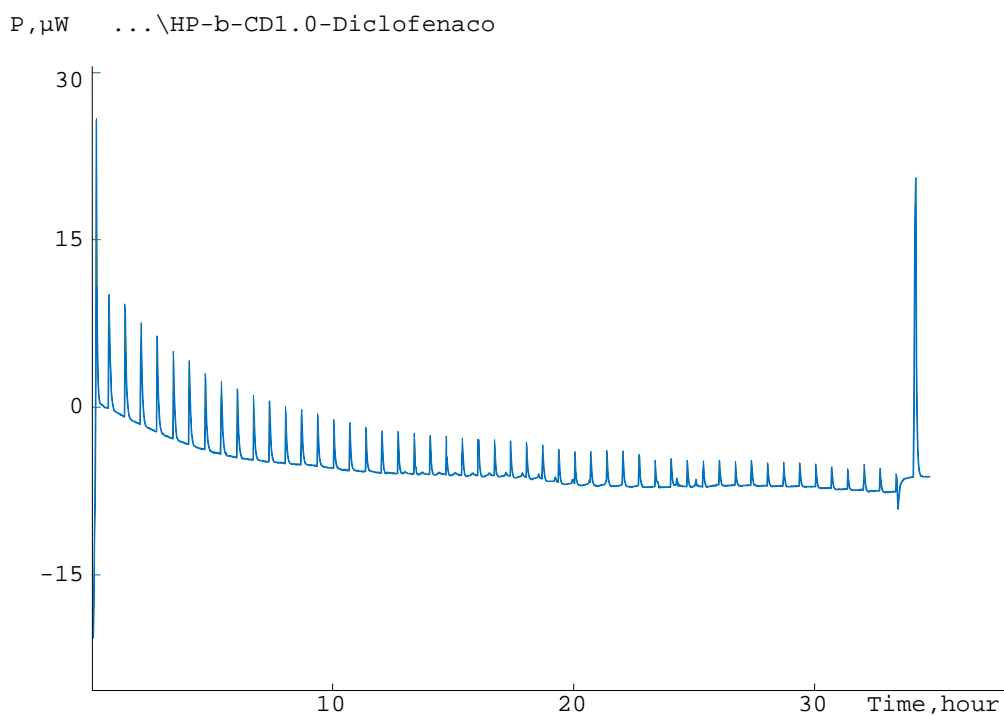


Figura 5. 17. Potenciograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – β – CD MS = 1.0 a 298.15 K

Como en los casos anteriores, también se obtuvo una respuesta calorimétrica exotérmica, en ambos potenciogramas. Después de calcular el área y haciendo uso del modelo matemático obtenemos los siguientes entalpogramas.

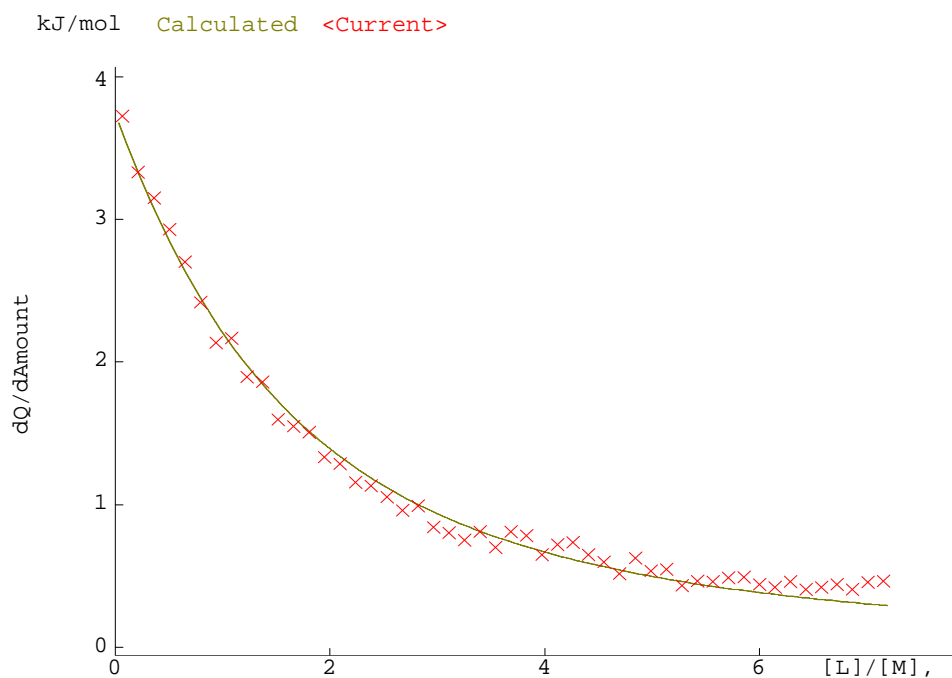


Figura 5. 18. Entalpograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – β – CD MS = 0.8 a 298.15 K

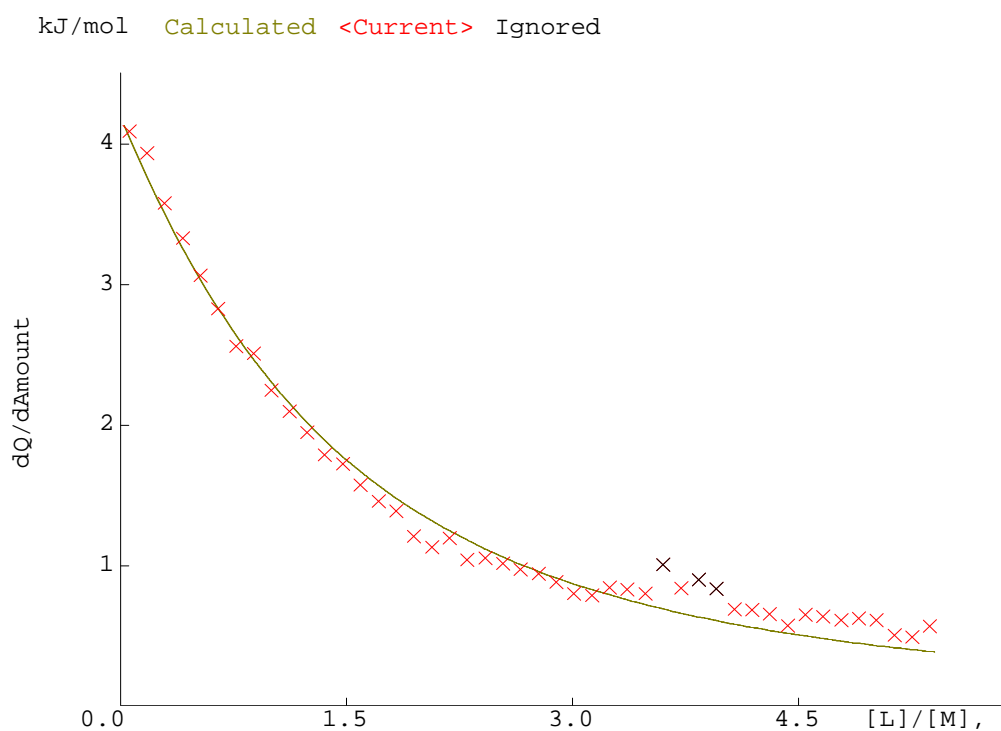


Figura 5. 19. Entalpograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – β – CD MS = 1.0 a 298.15 K

La tabla 5.4 contiene los valores de los parámetros termodinámicos del proceso de complejación de diclofenaco con HP – β – CD con diferente MS.

MS	Diclofenaco – HP – β – CD			
	ΔH°_{CD-F} (kJ mol ⁻¹)	K_{CD-F} (M ⁻¹)	ΔG°_{CD-F} (kJ mol ⁻¹)	$T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ (kJ mol ⁻¹)
0.6	-6.9 ± 0.2	391 ± 27	-14.8 ± 0.2	7.9 ± 0.1
0.8	-13.4 ± 0.3	157 ± 7	-12.5 ± 0.1	-0.9 ± 0.2
1.0	-12.6 ± 0.4	204 ± 12	-13.2 ± 0.1	0.6 ± 0.2

Tabla 5.4. Parámetros termodinámicos para los complejos formados entre diclofenaco e HP – β – CD en función de MS a 298.15 K

En la siguiente figura (5.20) se puede apreciar el efecto que tiene el grado de sustitución molecular en la formación del complejo. Cuando el MS pasa de 0.6 a 0.8 la formación del complejo se ve desfavorecida pues el ΔG°_{CD-F} se hace menos negativo; por un lado, el proceso se hace más exotérmico, probablemente porque el aumento de grupos HP también incrementa la posibilidad de formar más puentes de hidrógeno; por otro lado, la entropía disminuye, tal vez porque al aumentar el número de grupos HP se disminuye la liberación de moléculas de agua hacia el bulto.

En contraste, la variación de MS desde 0.8 a 1.0, favorece la inclusión del diclofenaco en la HP – β – CD, ΔG°_{CD-F} sufre una variación de -0.7 kJmol⁻¹. Hay un ligero aumento en la entropía, indicando que el acomodo del diclofenaco en la cavidad es más efectivo, produciendo una liberación mayor de moléculas de agua hacia el bulto. En este caso, el incremento de grupos HP (de 0.8 a 1.0) también promueve la formación de un mayor número de puentes de hidrógeno, haciendo al proceso más exotérmico.

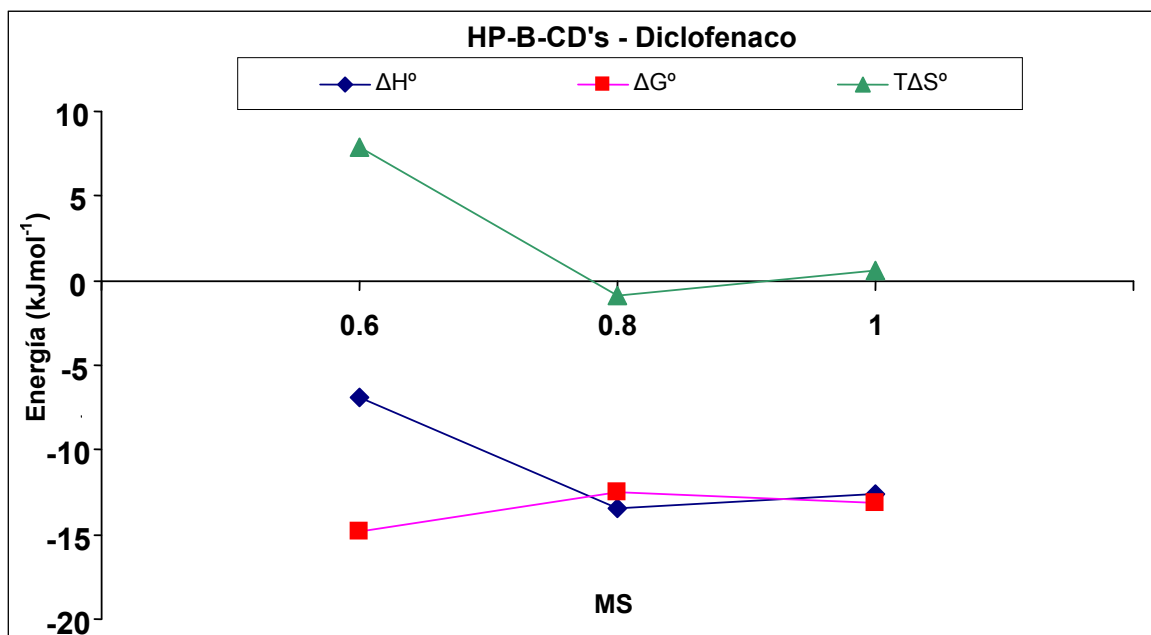


Figura 5. 20. Comparación de los parámetros termodinámicos debidos a la interacción de diclofenaco con HP – β – CD de diferentes MS a 298.15 K

5.4 HP- β -CD en el intervalo de temperatura 288.15 – 318.15 K

A continuación se muestran los potenciogramas correspondientes a los complejos de inclusión formados entre diclofenaco e HP- β -CD MS = 0.6 a tres diferentes temperaturas (288.15, 310.15 y 318.15 K).

P, μ W ...\HP-b-CD0.6-Diclofenaco15°

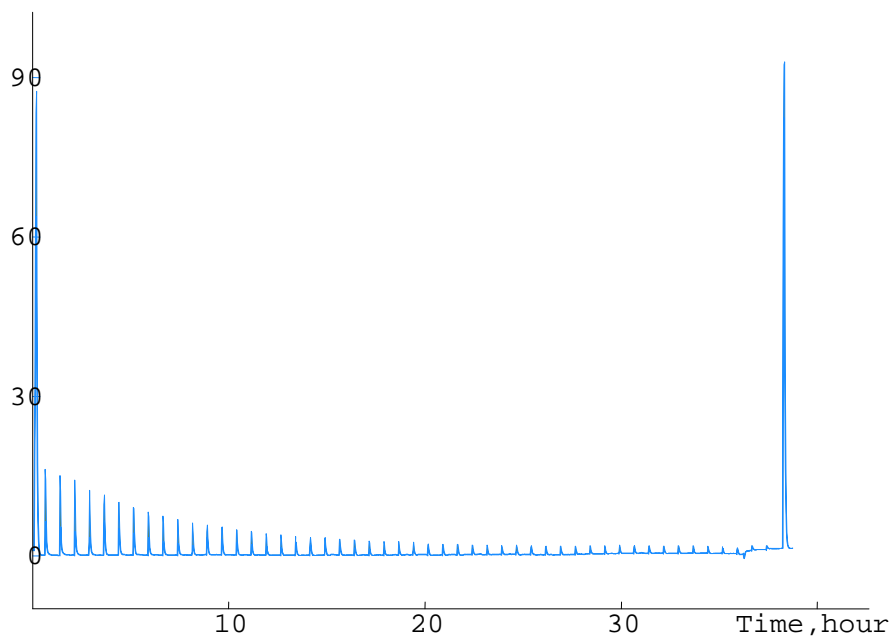


Figura 5. 21. Potenciograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – β – CD MS = 0.6 a 288.15 K

P, μ W ...\HP-b-CD0.6-Diclofenaco37°

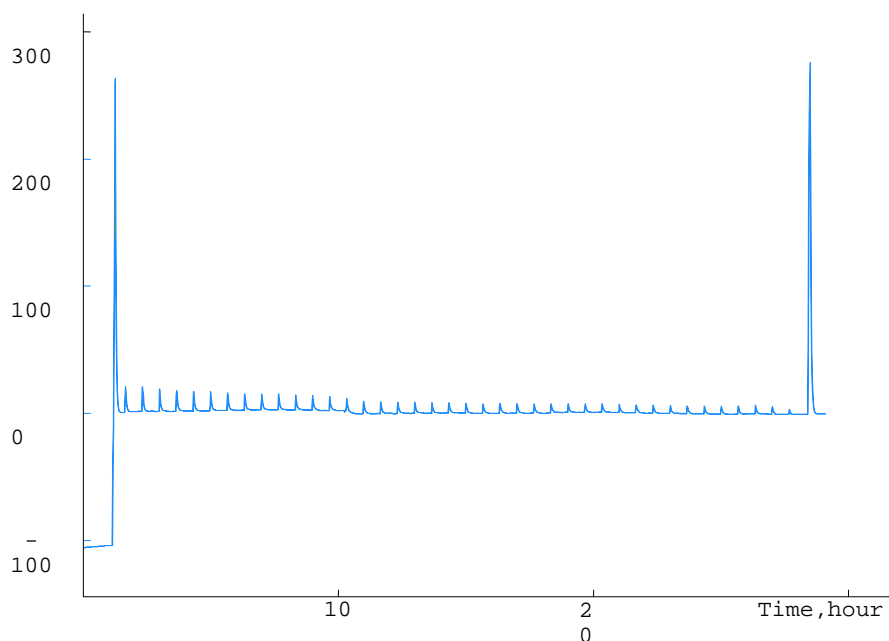


Figura 5. 22. Potenciograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – β – CD MS = 0.6 a 310.15 K

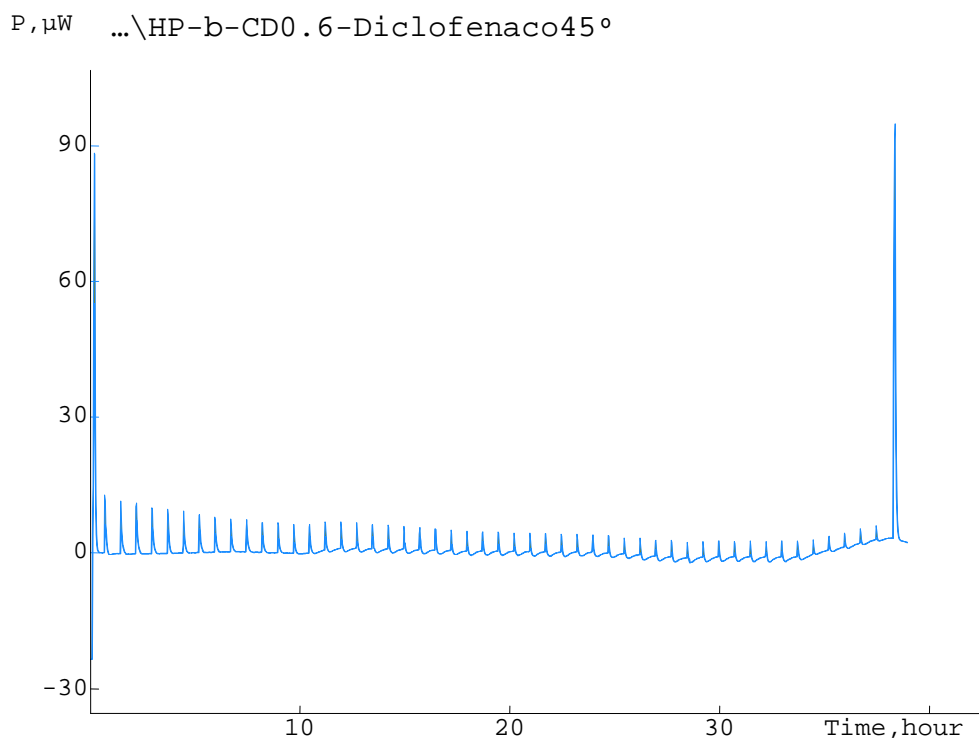


Figura 5. 23. Potenciograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – β – CD MS = 0.6 a 318.15 K

En los potenciogramas podemos apreciar que el proceso de formación de los complejos de inclusión es exotérmico ($\Delta H < 0$), en todos los casos. Con las áreas bajo la curva y las condiciones experimentales, obtenemos los siguientes entalpogramas que empleamos para calcular los valores de $\Delta H^{\circ}_{\text{CD-F}}$ y la $K_{\text{CD-F}}$

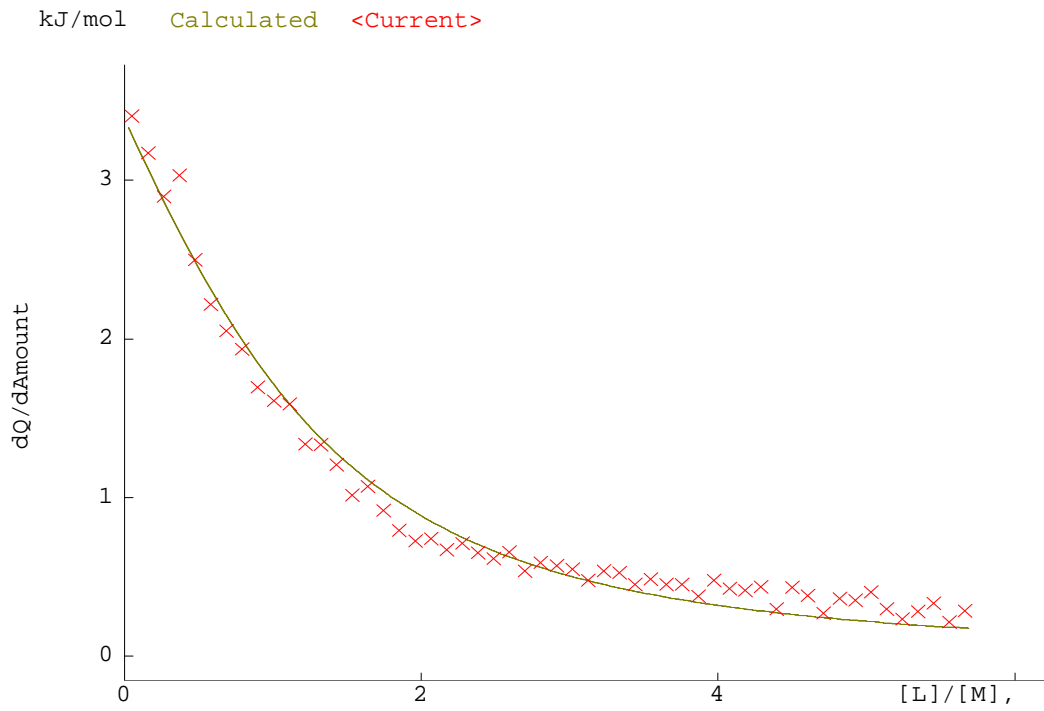


Figura 5. 24. Enthalpograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – β – CD MS = 0.6 a 288.15 K

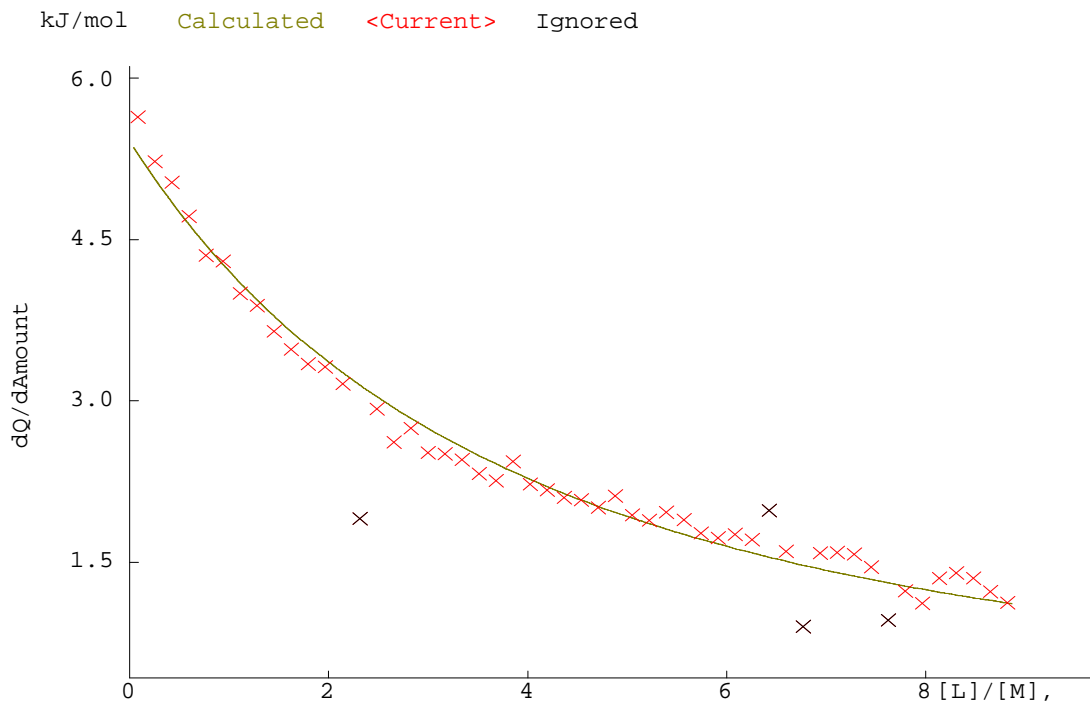


Figura 5. 25. Enthalpograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – β – CD MS = 0.6 a 310.15 K

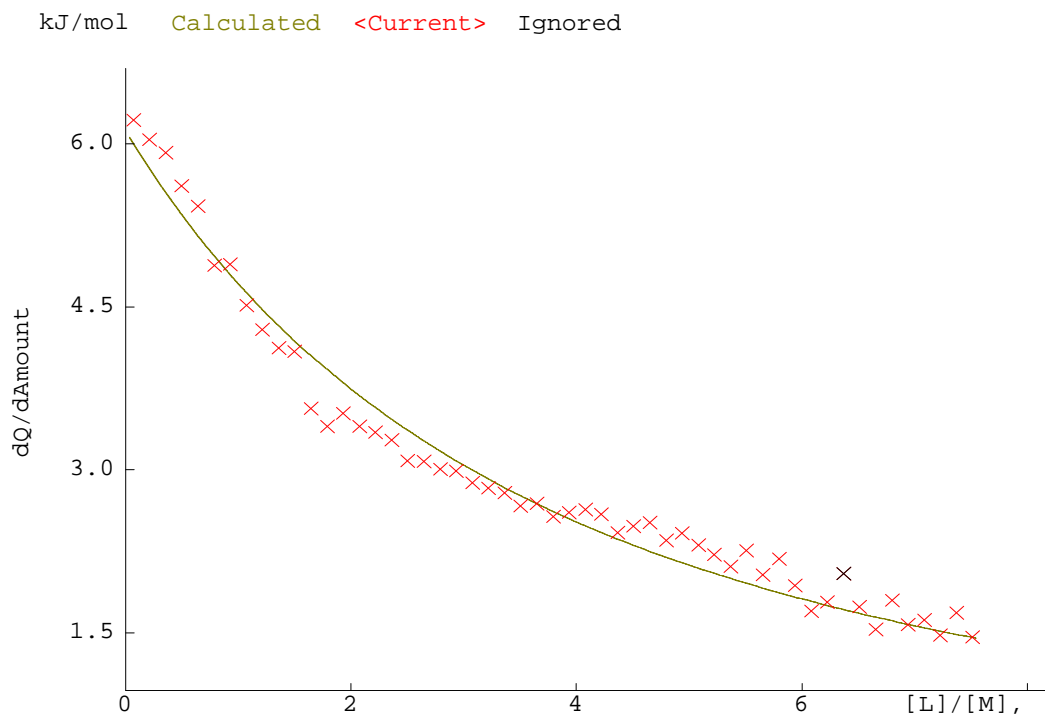


Figura 5. 26. Entalpograma correspondiente al complejo Diclofenaco – HP – β – CD MS = 0.6 a 318.15 K

A continuación se presentan los valores de los parámetros termodinámicos correspondientes a la formación de los complejos con las ciclodextrinas modificadas en el intervalo de temperatura 288.15 – 318.15 K.

Diclofenaco – HP – β – CD MS = 0.6				
Temperatura (°C)	ΔH°_{CD-F} (kJ mol ⁻¹)	K_{CD-F} (M ⁻¹)	ΔG°_{CD-F} (kJ mol ⁻¹)	$T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ (kJ mol ⁻¹)
288.15	-6.8 ± 0.2	395 ± 29	-14.3 ± 0.2	7.7 ± 0.1
298.15	-6.9 ± 0.2	391 ± 27	-14.8 ± 0.2	7.9 ± 0.1
310.15	-99.9 ± 7.1	25 ± 2	-8.3 ± 0.2	-91.7 ± 6.9
318.15	-282.2 ± 18.7	8 ± 0.4	-5.5 ± 0.1	-276.7 ± 18.6

Tabla 5.5. Parámetros termodinámicos obtenidos en un intervalo de 288.15 a 318.15 K

En las figuras 5.27 y 5.28 se puede notar que cuando pasamos de 15 a 25 °C hay una compensación entálpico-entrópica, los valores de ΔH°_{CD-F} y $T\Delta S^{\circ}_{CD-F}$ se compensan entre sí y como consecuencia ΔG°_{CD-F} se vuelve negativo. La variación de temperatura desde 25 hasta 45 °C, afecta la inclusión del diclofenaco en la HP – β – CD, ΔG°_{CD-F} se hace menos negativo conforme aumenta la temperatura. En este caso hay una contribución muy importante debida a la entalpía, pero también hay una descompensación debida a la entropía, haciendo al proceso menos favorable.

A diferencia de los cambios de concentración y de presión, los cambios de temperatura sí afectan la posición de equilibrio, porque transforman la magnitud de la constante de equilibrio para la reacción. Aumentar la temperatura de una reacción que genera calor es lo mismo que agregar más de uno de los productos en ella. Somete la reacción a un esfuerzo que debe ser aliviado convirtiendo algo de los productos en reactivos. En consecuencia, la constante de equilibrio disminuye al aumentar la temperatura.^[25] A temperaturas bajas, la inclusión del diclofenaco en la cavidad de la CD ocupa la mayor parte del espacio, por lo que hay una más efectiva liberación de moléculas de agua hacia el bulto. El incremento de la temperatura desplaza la posición de equilibrio hacia los reactivos, por lo que hay muchas más moléculas de diclofenaco y de CD que no se encuentran formando complejos inclusión, entonces, las moléculas de agua asociadas tanto al fármaco como a la CD no se liberan hacia el bulto, lo cual provoca una menor entropía.

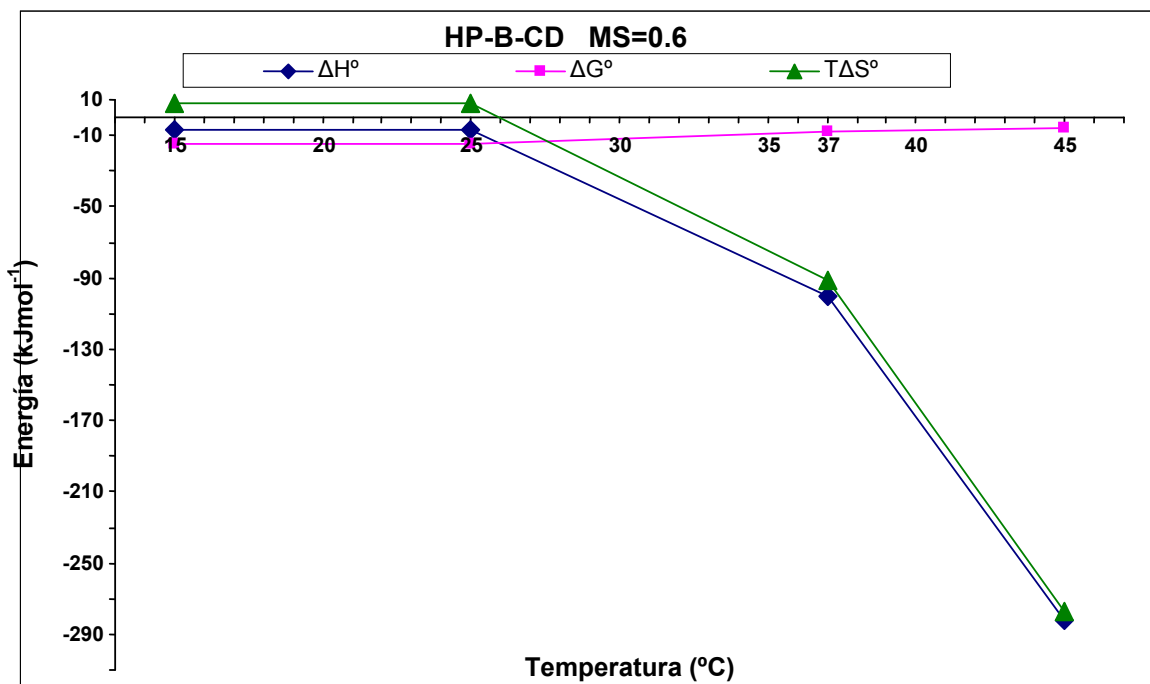


Figura 5. 27. Estudio de la formación de complejos de inclusión entre diclofenaco e HP – β – CD en un intervalo de temperatura.

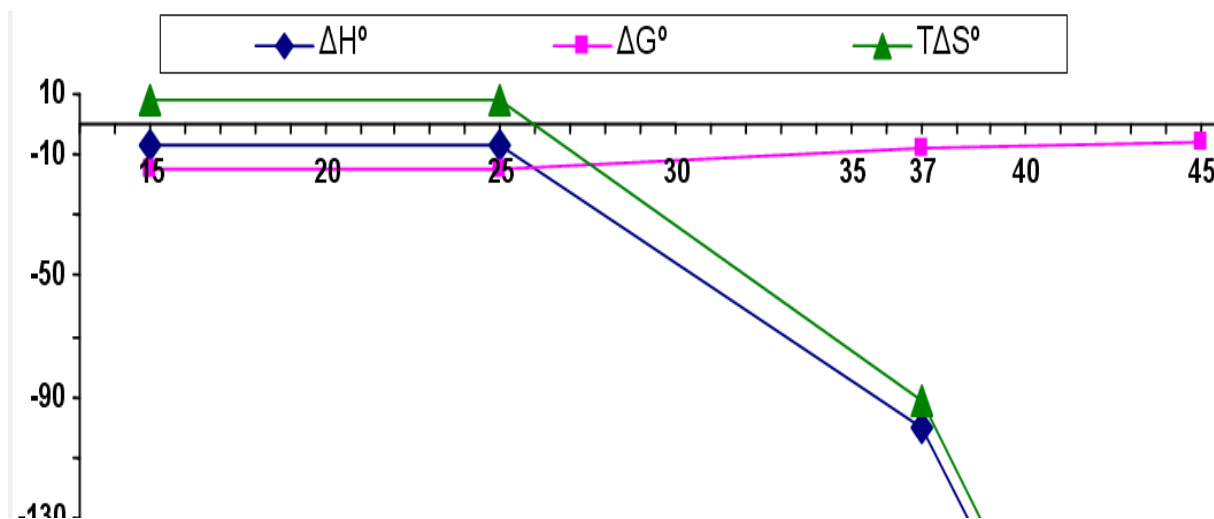


Figura 5. 28. Amplificación de una sección de la figura 5.27

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

6.1 Conclusiones generales del proceso de formación de complejos de inclusión Diclofenaco – Ciclodextrina

- Dentro de las CD's nativas, la β – CD y la γ – CD resultaron ser los mejores encapsuladores del diclofenaco.
- De las HP – CD's MS = 0.6 la que resultó ser el mejor encapsulador del diclofenaco fue la HP – β – CD MS = 0.6.
- En el caso de las HP – β – CD's, el grado de sustitución molecular que favorece más el proceso de inclusión del diclofenaco es 0.6.
- La temperatura a la cual la complejación entre el diclofenaco y la HP – β – CD MS = 0.6 se ve más favorecida es 298.15 K.
- De todas las ciclodextrinas estudiadas, la más viable como una opción en la encapsulación molecular del diclofenaco es la HP – β – CD MS = 0.6 a 298.15 K.
- La microcalorimetría de titulación isotérmica es una técnica moderna, rápida, reproducible y sensible en la determinación de la entalpía y la constante de equilibrio de las especies formadas en disolución acuosa.
- En todos los casos la estequiometría del complejo formado fue 1:1.

6.2 Sugerencias para trabajos futuros

- Estudiar el efecto del pH en la formación de los complejos de inclusión que se presentan en este trabajo.
- Hacer pruebas de biodisponibilidad y farmacológicas, que permitan evaluar las ventajas que tiene la administración del diclofenaco como complejo de inclusión con ciclodextrina, sobre aquéllos cuya forma farmacéutica no incluya una ciclodextrina.
- Estudiar el efecto de otros lípidos en la disociación del complejo.
- Evaluar los costos, tiempos y aceptación del paciente, sobre los antiinflamatorios complejados con ciclodextrinas formulados como líquidos, semisólidos o sólidos.
- Caracterizar por medio de calorimetría cuál es la parte de la molécula de diclofenaco que se incluye dentro de las ciclodextrinas.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Bertram K.; Farmacología básica y clínica. Editorial El Manual Moderno, 1999. Capítulo 1 pp. 3-12. Capítulo 36 pp. 669-680.
- [2] Rang H.; Farmacología. 4ª edición. El Sevier Science, 2000. Capítulo 1 pp. 3-5. Capítulo 12 pp. 211. Capítulo 13 pp. 242,243.
- [3] Rodríguez R. Vademécum académico de medicamentos. 4ª edición. McGraw Hill, 2005. pp. 234,235
- [4] <http://redpoll.pharmacy.ualberta.ca/drugbank/cgi-bin/getCard.cgi?>
- [5] Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª edición. McGraw Hill, 1996. pp. 661, 662, 683, 684.
- [6] F. MacVan, Barbara. Índice de medicamentos. Primera edición en español. El manual moderno México. 1995.
- [7] M. Brewster., T. Loftsson., Cyclodextrins as Pharmaceutical Solubilizers., Adv. Drug Deliv. Rev., 59 (2007) 645-666.
- [8] D. French., The Schardinger Dextrins Advances in Carbohydrate Chemistry., Vol. 12., Academic Press, New York., (1957) 189.
- [9] T. Loftsson., D. Duchêne., Cyclodextrins and their Pharmaceutical Applications., International Journal of Pharmaceutics., 329 (2007) 1-11
- [10] K. Frøming., J. Szejtli., Cyclodextrins in Pharmacy., Editorial Kluwer Academic Publishers, University of Lancaster, UK, 1994.
- [11] A. Martínez Pujol., Las Ciclodextrinas y su Importancia en la Industria Química., Tesis de licenciatura., Facultad de Química., UNAM., 2001.
- [12] K. Uekama., F. Hirayama., T. Irie., Cyclodextrins Drug Carrier Systems., Chem. Rev. 98 (1998) 2045-2076.

- [13] J. Szejtli., Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry., *Chem. Rev.* 98 (1998) 1743-1753.
- [14] Pella-Muñoz., Las ciclodextrinas: Características y aplicaciones de la formación de complejos de inclusión., *Ars. Pharm.*, 36 (1995) 187-198.
- [15] C. Easton., S. Lincoln., *Modified Cyclodextrins.*, Imperial College Press., Singapore., 1999.
- [16] R. Hedges., Industrial Applications of Cyclodextrins., *Chem. Rev.*, 98 (1998), 2035 - 2044.
- [17] Manual de uso e instalación del calorímetro Thermal Activity Monitor (TAM de Thermometric, Suecia)
- [18] Atkins P.; *Physical Chemistry.*, Seventh Edition., Ed. W. H. Freeman and Company New York 2002., pp. 42.
- [19] Pierce Michael., Raman C.S. and Barry Nall., Isothermal Titration Calorimetry of Protein-protein Interaction., *Methods* 19, 213, (1999).
- [20] M. Eftink & Biltone., Thermodynamics of interactions in biological systems, in *biological microcalorimeter.*, Editorial A. E. Beeper.
- [21] Vega Rodríguez, A., Piñeiro, A., Pérez Casas, S., Thermodynamics of the interaction between hidroxipiril- α -cyclodextrin and alkanols in aqueous solutions, *Thermochimica Acta* 405, 2003, 109-115.
- [22] G. Castellan., *Fisicoquímica.*, Segunda edición en español., Editorial Prentice-Hall., México 1998.
- [23] M. Rekharsy., Y. Inoue., Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins., *Chem. Rev.* 98 (1998) 1875-1917.
- [24] J. Spencer., G. Bodner., *Química, Estructura y Dinámica.*, CECSA., México 2000.