



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Termodinámica de la complejación de metformina con
iones metálicos en solución**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN QUÍMICA**

P R E S E N T A :

Yaotonalli Tlahuikoatzin Manrique Buendía

ASESORES:

Dra. Norma Rodríguez Laguna

Dr. Rodolfo Gómez Balderas

Cuatitlán Izcalli, Estado de México, 2024



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.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme dado la oportunidad de formar parte de ella.

Le agradezco a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por haberme dejado ocupar sus instalaciones para poder desarrollar habilidades que estoy seguro serán de gran utilidad más adelante. A los profesores que laboran en esta bonita escuela por transmitir sus conocimientos y llamar la atención para corregir cuando era necesario.

A todos mis amigos con los que pase momentos felices, disfrutando logros y victorias, y que también fueron de gran apoyo en momentos difíciles, siendo un segundo maestro, un oído que escucha y aconseja, que sin todos ellos, el camino durante la travesía de la carrera no hubiera sido el mismo.

A mis padres que sin su apoyo hubiera sido difícil continuar con mis estudios, por sus palabras de aliento, por llamarme la atención para dejar de lado las distracciones y mantener la concentración en los objetivos.

A mis asesores, a la Dra. Norma Rodríguez por su apoyo, paciencia y disposición en todo momento, por promover la investigación bibliográfica para tener un panorama completo de los temas que se trataban. Al Dr. Rodolfo por compartir sus conocimientos y promover la curiosidad científica para llevar a cabo todos los experimentos exploratorios posibles.

Y a todas aquellas personas que se cruzaron en mi camino durante mi estadía en la FES como estudiante, ya sea que fuera mínima su contribución o que fueron parte fundamental para mi crecimiento como persona y estudiante.

Esta tesis se realizó gracias al apoyo de los proyectos UNAM: PAPIIT IA202122 y IA209123, y al proyecto PAPIME PE209023 de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico. Se agradece al Programa de Cátedras de Investigación CI2220 de la FES-Cuautitlán, UNAM.

Al Dr. Adrián Ricardo Hipólito Nájera por el asesoramiento en el uso del Software PEAQ-ITC.

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Fisicoquímica-Analítica (Laboratorio 10) de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria (UIM) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

Parte de los resultados de este trabajo se presentaron en el XXXIV Congreso Nacional de Química Analítica XXIV Simposio Estudiantil llevado a cabo del 21 al 23 de septiembre de 2022, Universidad de Guanajuato, Gto., México. (*ver evidencias en el apartado de anexos*):

- Modalidad Cartel

Tema: “Estudio de complejos con propiedades hipoglucemiantes de metformina con ion vanadilo”.

- Memorias de congreso

Resumen incluido en el Libro de Memorias del Congreso.

- Publicación de artículo

Rodríguez-Laguna, N., Manrique-Buendía, Y. T., Gómez-Balderas, R., Moya-Hernández, R., & González-Barbosa, J. (2023). Perfil termodinámico del sistema metformina-vanadilo por calorimetría de titulación isotérmica. *Pađi Boletín Científico De Ciencias Básicas E Ingenierías Del ICBI*, 11(Especial), 54-57. <https://doi.org/10.29057/icbi.v11iEspecial.10353>

INDICE

RESUMEN	VII
1. INTRODUCCIÓN	8
1.1 Diabetes.....	10
1.2 Hipoglucemiantes orales.....	13
1.2.1. Biguanidas.....	14
1.2.1.1 Síntesis de biguanida	15
1.2.1.2 Tautomería en biguanidas.....	15
1.2.2 Metformina.....	18
1.2.2.1 Propiedades fisicoquímicas	19
1.2.2.2 Síntesis de metformina	20
1.2.2.3 Polimorfismo de la Metformina	21
1.2.1.4 Tautomería de Metformina.....	22
1.3 Iones metálicos: generalidades	24
1.3.2 Cobre (Cu^{2+}).....	24
1.3.1 Ion vanadilo (VO^{2+})	25
1.4 Complejos fármaco–ion metálico	26
1.5 Termodinámica del equilibrio químico.....	27
1.6 Titulación Calorimétrica Isotérmica	29
2. ANTECEDENTES	38
2.1 Complejos iones metálicos–ortofenantrolina.....	38
2.2 Complejos iones metálicos–metformina.....	40
3. JUSTIFICACIÓN.....	50
4. OBJETIVOS	51
4.1 Objetivo General.....	51
4.2 Objetivos Particulares	51
5. METODOLOGÍA.....	52
5.1 Reactivos, equipos y software.....	52
5.1.1 Reactivos	52
5.1.2 Equipos.....	52
5.2 Determinación de los pK_a de Metformina.....	52
5.3 Titraciones calorimétricas	53

5.3.1 Sistemas Cu ²⁺ /Ortofenantrolina	54
5.3.2 Sistemas VO ²⁺ /Ortofenantrolina	55
5.3.3 Sistemas Cu ²⁺ /Metformina	56
5.3.4 Sistemas VO ²⁺ /Metformina.....	57
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
6.1 pK _a s de Metformina	58
6.2 Parámetros termodinámicos de la complejación.....	62
6.2.1 Sistema Cu ²⁺ /Ortofenatrolina.....	62
6.2.2 Sistema VO ²⁺ /Ortofenantrolina.....	66
6.2.3 Sistema Cu ²⁺ /Metformina	70
6.2.4 Sistema VO ²⁺ /Metformina	73
7. CONCLUSIONES.....	78
8. PERSPECTIVAS DE LA INVESTIGACIÓN.....	80
9. REFERENCIAS	81
10. ANEXOS	99
10.1 Cartel presentado en congreso	99
10.2 Constancia de participación en congreso.....	100
10.3 Revista.....	101

RESUMEN

La metformina es una biguanida que ha sido utilizada durante los últimos 40 años para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) la cual es una de las grandes problemáticas del sector salud a nivel mundial. Es capaz de formar complejos de coordinación con algunos iones metálicos del bloque *d*, entre ellos los iones cobre 2+ (Cu^{2+}) y vanadilo (VO^{2+}), que por sí mismos, tienen propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, antidiabéticas, entre otras. En la literatura científica se reporta que los fármacos complejados con iones metálicos presentan mayor actividad biológica y con menos efectos secundarios; es por ello, que en este trabajo se evalúa la formación de complejos entre metformina y los iones Cu^{2+} y VO^{2+} .

Cabe mencionar que el sistema de ortofenantrolina (1,10-ortofenantrolina=Ofen) también se estudió con ambos iones de forma previa a los sistemas con metformina, debido a que se empleó como sistema modelo por tener una estructura química similar.

Para todos los sistemas se determinaron los parámetros termodinámicos asociados al proceso de complejación mediante Titulación Calorimétrica Isotérmica (ITC) a 25 °C en solución acuosa, variando el valor del parámetro de *c* entre 320 y 97, y la relación molar con valores menores a 3.5. Los parámetros termodinámicos determinados son: la constante de equilibrio de formación global (β), la energía libre de Gibbs (ΔG°), la entalpía (ΔH°) y la entropía (ΔS°).

Con la realización de este trabajo experimental se determinó que los sistemas cobre/Ofen, vanadilo/Ofen y vanadilo/metformina, el proceso de complejación es exotérmico; mientras que, para el sistema cobre/metformina el proceso es endotérmico. Para cada sistema estudiado se logró determinar el perfil termodinámico de la interacción entre el metal y el ligante (M:L), siendo los complejos de estequiometría 1:1 más estables que los complejos de estequiometría 1:2. También se logró determinar, para todos los complejos, que la contribución entrópica es mayor que el término entálpico sobre la espontaneidad de la complejación.

1. INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es uno de los grandes problemas que presenta el mundo en cuestión de salud. La DM es una enfermedad que se caracteriza por el desorden metabólico que provoca el aumento del nivel de glucosa en la sangre (hiperglucemia) causado por el defecto de la secreción o acción de insulina (Altagracia-Martínez et al., 2007). Esta enfermedad es una condición seria y de gran impacto no solo para la persona que la padece, sino también para la familia y la sociedad. La DM es una enfermedad que se encuentra entre las principales causas de muerte en adultos (Valdés et al., 2007).

En las últimas décadas, el número de personas que padecen DM han ido en aumento. Se han convertido en uno de los problemas más preocupantes debido a que no solo personas adultas desarrollan esta enfermedad, sino también ha incrementado su incidencia en adultos jóvenes, adolescentes y niños (Guariguata et al., 2014). El estilo de vida sedentario, el estrés, la dieta rica en grasas y azúcares, son algunos factores que propician el desarrollo de la diabetes. La diabetes tipo 2 (DM2), que solía ser más común en adultos mayores, ahora está siendo diagnosticada con mayor frecuencia en personas más jóvenes, incluyendo adolescentes y niños. Esta tendencia es alarmante y se atribuye en gran medida a los cambios en los estilos de vida y a la creciente prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población joven (Acebedo-Martínez et al., 2023).

En la actualidad, existen varios medicamentos para tratar la diabetes mellitus; sin embargo, no existe cura para esta enfermedad, solo existen tratamientos para su control. El tratamiento oral más común para la DM2 es la metformina (MTF). La metformina es un medicamento antidiabético que pertenece a la clase de las biguanidas, ayuda a reducir los niveles de glucosa en sangre al disminuir la producción de glucosa en el hígado y aumenta la sensibilidad de los tejidos periféricos (como los músculos) a la insulina. La insulina es una hormona que regula la glucosa en sangre. La metformina a menudo se formula como clorhidrato de metformina para lograr una mayor solubilidad en agua y ser más estable (Acebedo-Martínez et al., 2023).

Por otro lado, en la literatura científica, existe un gran interés en estudiar fármacos utilizados en el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas unidos a iones metálicos, ya que se afirma que este tipo de complejos metal-fármaco da como resultado un perfil farmacológico

mejorado, incluida una resistencia reducida a los medicamentos, así como un espectro de actividad más amplio, además de presentar baja toxicidad (Al-Saif & Refat, 2013; Kuppuraj et al., 2009; Moreano Villena et al., 2012; Rafique et al., 2010; Rusanov et al., 2022).

Por lo anterior, en este trabajo de tesis se estudia la complejación del fármaco hipoglucemiante metformina (MTF) con los metales vanadio(IV) y cobre(II) en disolución, determinando parámetros termodinámicos tales como la constante de formación (K_f), la entalpía de reacción (ΔH°), la energía libre de Gibbs asociada a la reacción (ΔG°) y la entropía del proceso (ΔS°) a temperatura y presión constante. Este estudio se llevó a cabo utilizando la técnica de Titulación Calorimétrica Isotérmica (ITC, por sus siglas en inglés). La información termodinámica es la clave para el diseño de fármacos, descubrimiento y optimización, porque provee detalles acerca del balance de la fuerza motriz que no puede ser obtenido solo de métodos estructurales y computacionales (Fox et al., 2018; Freire, 2008; Renaud et al., 2016). Además, también se estudiaron complejos formados entre 1,10-ortofenantrolina (Ofen) y los mismos iones metálicos, considerando a la molécula de Ofen como sistema modelo debido a que, en su estructura, presenta nitrógenos al igual que la MTF. Con los resultados logrados, se contribuye con información química fundamental que coadyuve en el diseño de nuevos fármacos multicomponentes más eficaces y con menos efectos secundarios.

El contenido de la tesis está dividido en los siguientes apartados; En la sección *1.1 Diabetes*, se define qué es la diabetes, cómo se clasifica y cuáles son los daños en el organismo. En la sección *1.2 Hipoglucemiantes orales*, se menciona la clasificación de los hipoglucemiantes usados en el tratamiento de la diabetes; entre esta clasificación existe la familia de las biguanidas, la cual se aborda en el apartado *1.2.1*; mientras que en el apartado *1.2.2 Metformina* se describen aspectos importantes sobre este fármaco. En el apartado *1.3 Iones metálicos: generalidades*, se muestra un panorama general sobre iones metálicos con enfoque a aquellos iones metálicos que puedan tener actividad biológica. En las secciones *1.4 Complejos fármaco-ion metálico*, *1.5 Termodinámica del equilibrio químico*, y *1.6 Titulación Calorimétrica Isotérmica*, se proporciona información sobre estudios de fármacos unidos a iones metálicos con mayor actividad biológica, sobre la relación que existe entre los parámetros termodinámicos; y, sobre la técnica analítica ITC, respectivamente. Hasta aquí,

todos los temas y subtemas forman parte de la introducción. La sección 2. *Antecedentes*, contiene los antecedentes sobre estudios de complejos de ortofenantrolina y metformina con iones metálicos. La sección 3. *Justificación*, contiene la justificación del trabajo, mientras que la sección 4. *Objetivos* presenta los objetivos de este trabajo de investigación, en los que se plantea determinar el perfil termodinámico de los complejos entre MTF con Cu^{2+} y VO^{2+} . En la sección 5. *Metodología* se describen los reactivos, equipos y software utilizados, también describe claramente cómo se prepararon y realizaron cada una de las valoraciones calorimétricas de los sistemas $\text{Cu}^{2+}/\text{Ofen}$, $\text{VO}^{2+}/\text{Ofen}$, $\text{Cu}^{2+}/\text{MTF}$ y $\text{VO}^{2+}/\text{MTF}$, entre otros experimentos que fueron necesarios realizar. Por otro lado, los resultados obtenidos y su análisis en la sección titulada 6. *Resultados y discusión*. En la sección 7. *Conclusiones* se detallan las conclusiones obtenidas. El apartado 8. *Perspectivas de la investigación* describe algunas sugerencias sobre posibles caminos a seguir en la investigación realizada. Finalmente, la sección 9. *Referencias* se presentan las referencias consultadas; y en la sección 10. *Anexos* se muestran trabajos colaterales aunados a este trabajo de tesis, por ejemplo, participación en congreso, publicación de artículo, etc.

1.1 Diabetes

La DM es una de las enfermedades crónico-degenerativas más comunes, siendo una gama de trastornos metabólicos asociada a múltiples complicaciones en el organismo como insuficiencia en la secreción de insulina, incremento en la producción de glucosa y anomalías en el metabolismo de grasas, carbohidratos y proteínas. La DM aumenta el riesgo de padecer enfermedades macrovasculares como ataques cardíacos y microvasculares como retinopatía y neuropatía periférica (Acebedo-Martínez et al., 2023; Guariguata et al., 2014; IDF, 2015; NOM-015-SSA2-2010, 2010; Pearson-Stuttard et al., 2022). Siendo la DM una de las principales causas de ceguera, insuficiencia renal, ataques cardíacos, accidentes cerebrovasculares y amputación de miembros inferiores (WHO, 2023).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que más de 422 millones de personas en todo el mundo padecen diabetes, prevalece mayoritariamente en países de ingresos bajos y medianos; reporta que 1.5 millones de muertes se atribuyen a la diabetes cada año (WHO, 2023). Por otro lado, la Federación Internacional de Diabetes (FID) en 2019, evaluó que 537

millones de personas la padecían y que 240 millones de personas vivían con diabetes sin diagnosticar; proyectando que para el 2030, 643 millones de personas tendrán diabetes, y para el 2045, aproximadamente 783 millones de personas vivirán con diabetes, un aumento del 46 % con respecto del 2019 (IDF, 2023).

En México, se ha reportado que la diabetes mellitus se encuentra entre las 5 principales causas de muerte desde 1990 según el INEGI. En 2021, la principal causa de muerte en México fue el COVID-19 con 238,772 defunciones, en segundo lugar, enfermedades relacionadas con el corazón con 225,449 muertes, mientras la DM provocó la muerte de 140,729 personas, ocupando el tercer lugar dentro de las principales causas de muerte (Gómez Dantés et al., 2011; Perdigón-Villaseñor & Fernández-Cantón, 2008; Sánchez-Morales et al., 2022).

En el 2019, la Federación Internacional de Diabetes (IDF, por sus siglas en inglés) realizó la siguiente proyección: México tenía 12.8 millones de personas enfermas de DM en este año, y para el 2030 se proyectó que 17.2 millones de personas padecerán esta enfermedad; mientras que para el 2045, serán 22.3 millones de personas (Saeedi et al., 2019).

Por otro lado, la DM se puede clasificar en tres principales tipos (Ahmad, 2012; American Diabetes Association, 2013; Arbuckle, 2017; Fender, 2014; Gill & Mbanya, 2013; Ismail & Peveler, 2009; Masharani, 2021; Murphy et al., 2021):

- a) Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1): Se caracteriza por déficit total o relativo en la secreción de insulina debido a la destrucción de células pancreáticas β , desarrollando la necesidad de que el paciente se inyecte múltiples dosis de insulina diarias para sobrevivir. La DM1 también es conocida como diabetes insulino-dependiente o diabetes juvenil. Este tipo de diabetes cubre solo entre el 5 y 10 % de la población total de personas que padecen DM, presentándose en su mayoría en niños y adolescentes (Ogle et al., 2022).
- b) Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2): También llamada DM no insulino-dependiente o del adulto. Se caracteriza por altos niveles de glucosa en sangre como resultado de la respuesta inadecuada de la secreción de la insulina estimulada por la glucosa y la disminución en la sensibilidad de los tejidos a los efectos de la insulina. El cuerpo se

vuelve resistente a la insulina o no produce suficiente insulina. Abarca el 90 % de la población total de pacientes con DM y se diagnostica con mayor frecuencia en adultos. Los síntomas más comunes son incremento de sed, hambre, ganas de orinar frecuentemente, fatiga y pérdida de peso (Ahmad, 2012; IDF, 2023; Saeedi et al., 2019). En la Figura 1 se presenta un gráfico que representa la población total de personas que sufren de DM, dividiendo en DM1 y DM2 y su respectivo.

- c) Diabetes Mellitus Gestacional (DMG): Se puede definir como la presencia de hiperglicemia durante el segundo y tercer semestre del embarazo, aumentando el riesgo de que la madre desarrolle diabetes en un futuro y el hijo obesidad (Mraovic & Joseph, 2016; Wang et al., 2022).

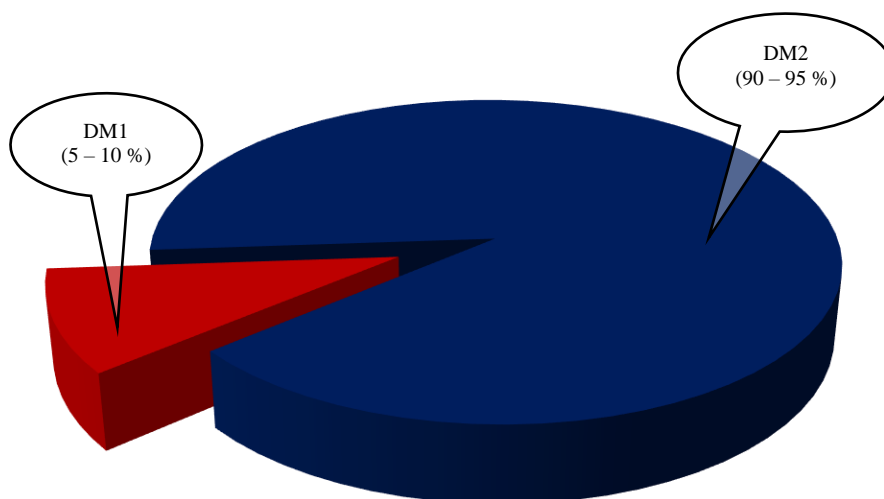


Figura 1. Porcentaje total de personas enfermas con Diabetes Mellitus: tipo 1 (DM1) y tipo 2 (DM2).

Dentro de las recomendaciones para combatir los malestares que genera la DM, es implementar una dieta baja en grasas y alta en fibra, y hacer ejercicio. Los fármacos recomendados para el tratamiento de DM son los agentes orales y el uso de insulina, ya sea en monoterapia o tratamiento combinado (Reusch et al., 2018).

1.2 Hipoglucemiantes orales

El uso de agentes orales, o también llamados hipoglucemiantes orales, tiene un importante impacto en el tratamiento de la DM2, clasificándose en las siguientes clases (Agencia española de medicamentos y productos sanitarios, 2015; González-Barbosa et al., 2023; Powers et al., 2022; Puigdevall Gallego et al., 2000):

Sulfonilureas: Son consideradas como el fármaco de segunda línea para el tratamiento de la DM2. Provoca la liberación de insulina estimulando las células β -pancreáticas. Dentro de la clasificación de las sulfonilureas están las de primera generación como la tolbutamida, tolazamida y clorpropamida; y las de segunda generación como son la glibenclamida, glicipida y la glimepirida. En este caso, las sulfonilureas de primera generación son más potentes (Masharani, 2021). Estos fármacos solo se ocupa en pacientes con DM2 y no con pacientes con DM1, ya que se necesita que las células- β sean funcionales y están contraindicadas en pacientes con deterioro hepático o renal (Altagracia-Martínez et al., 2007). Dentro de los efectos secundarios pueden provocar hipoglucemia, anemia hemolítica, erupciones cutáneas, dolor de cabeza, náuseas, diarrea, aumento de peso y vómito (Dours et al., 2018).

Biguanidas: Disminuyen la producción de glucosa hepática y aumenta la sensibilidad a la insulina. Dentro de este grupo se encuentra la buformina, fenformina y la antes mencionada MTF. Dentro de los efectos adversos que provocan las biguanidas están la diarrea, vómito, flatulencias, indigestión y dolor estomacal (Altagracia-Martínez et al., 2007).

Tiazolidinedionas: Son hipoglucemiantes que aumentan la sensibilidad a la insulina y la utilización de la glucosa. Algunos ejemplos de estos fármacos son troglitazona, rosiglitazona y pioglitazona. Dentro de los efectos adversos que pueden provocar son infecciones en el tracto respiratorio superior, dolor de cabeza, sinusitis y desorden en los dientes (Altagracia-Martínez et al., 2007).

Inhibidores de α -glucosidasas: Este tipo de fármaco retrasa la absorción y digestión de los azúcares en el tubo digestivo, inhibiendo las enzimas que catalizan el proceso. Algunos ejemplos de fármacos son acarbosa y miglitol, presentan dolor abdominal, diarrea y flatulencias como efectos adversos (Altagracia-Martínez et al., 2007; Caruso & Silliman, 2009).

Meglitinidas: Comparten el mismo mecanismo de acción que las sulfonilureas, son segregadoras de insulina, y reducen los niveles postprandiales de glucosa. Presentan efectos adversos como dolor de cabeza, náuseas, diarrea e hipoglucemia. Algunos ejemplos de este tipo de fármacos son la repaglinida y nateglinida.

A continuación, se presenta información más detallada sobre las biguanidas, debido a que el fármaco estudiado en este trabajo de tesis es la MTF, la cual pertenece a esta clasificación.

1.2.1. Biguanidas

Dentro de los hipoglucemiantes orales más utilizados en el tratamiento de la DM esta la MTF, ya sea como tratamiento único o combinado con alguna sulfonilurea. Las biguanidas se caracterizan por una amplia gama de propiedades biológicas diversas, incluidas actividades anticancerígenas, antimicrobianas, antipalúdicas, cardioprotectoras y otras. Son excelentes ligandos bidentados donadores de N, forman fácilmente complejos con prácticamente todos los metales de transición (Rusanov et al., 2022).

En la Figura 2, se presenta la estructura química de la biguanida, siendo un ligante bidentado que presentan dos grupos iminos en posición cis, con alto contenido de nitrógeno y bajo de carbono, termoestables y poseen la capacidad de formar complejos estables con metales (Ray, 1960).

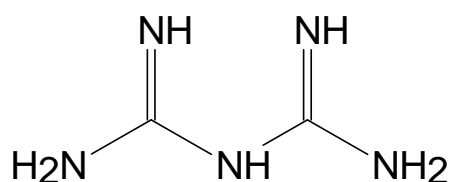


Figura 2. Estructura química de biguanida.

1.2.1.1 Síntesis de biguanida

La síntesis de la primera biguanida fue en 1879 por B. Rathke usando cianamida y guanidina (Rathke, 1879; Ray, 1960).

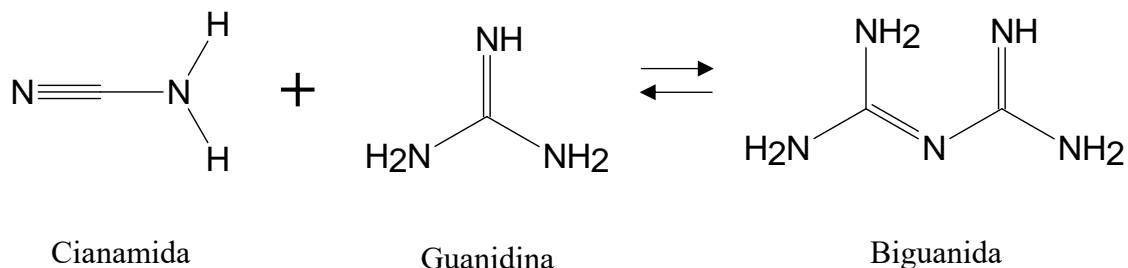


Figura 3. Síntesis de biguanida.

1.2.1.2 Tautomería en biguanidas.

Debido a que las biguanidas tienen dos grupos iminos, éstas tienen propiedades acido-base, presentando diferentes estructuras dependiendo del pH del medio.

A pH más ácido, la biguanida se presenta en su forma diprotonada y conforme el pH va aumentando, la biguanida se desprotona, presentándose en su forma monoprotonada y desprotonada como se muestra en la Figura 4.

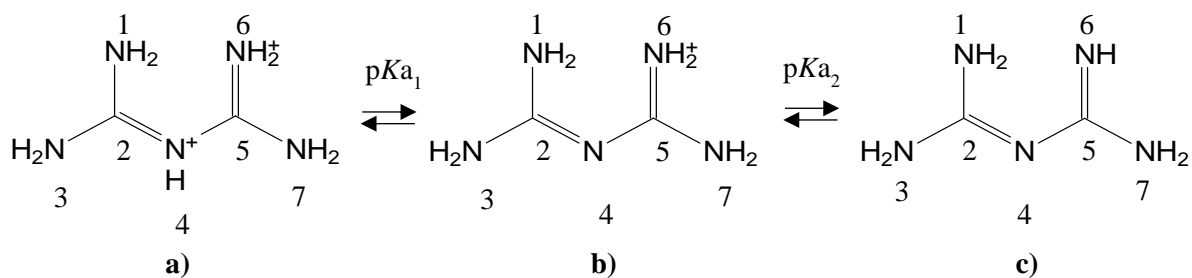


Figura 4. Estructuras de biguanida a) diprotonada, b) monoprotonada y c) neutra (Kathuria et al., 2018).

En la Figura 4a el nitrógeno 6 y 4 tienen carga positiva de (+1), debido a que es la especie diprotonada; en la Figura 4b, solo el nitrógeno 6 tiene carga positiva de (+1), siendo la especie monoprotonada; y la Figura 4c representa la especie desprotonada o neutra.

La especie monoprotonada de la biguanida presenta hasta 4 estructuras tautoméricas, como se muestra en Figura 5.

Dentro de las aplicaciones que tienen las biguanidas se encuentran su uso como sustrato para la síntesis de heterociclos como triazinas, quinazolininas y pirimidinas. En el campo de la medicina como antidiabético, antimalaria, antiséptico, antiviral y anticancerígeno (Kathuria et al., 2018).

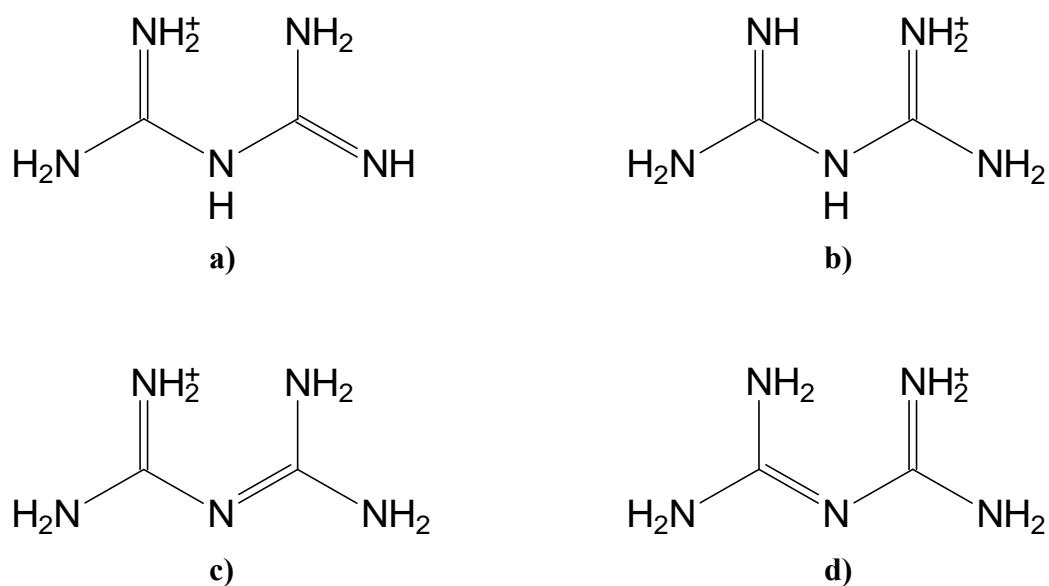
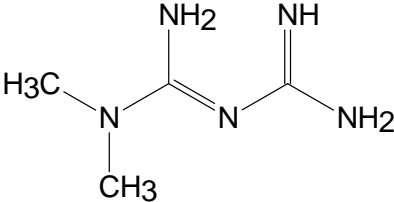
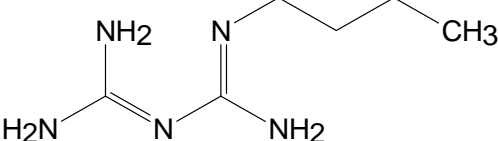
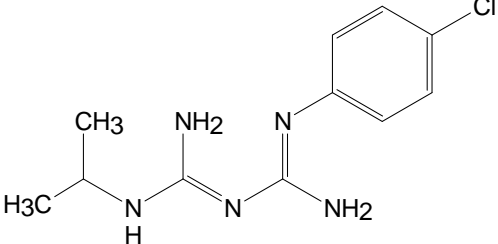
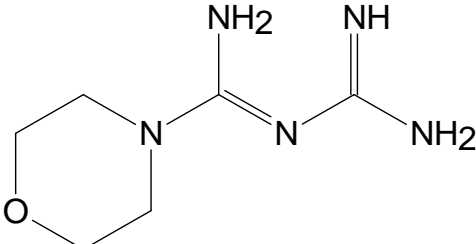
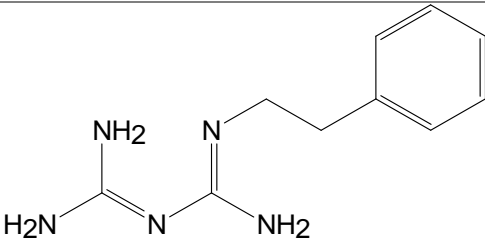
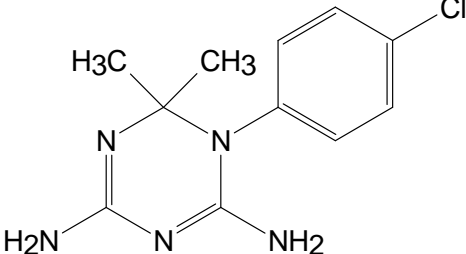
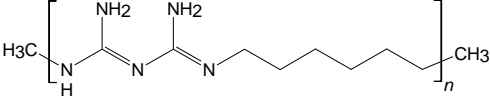


Figura 5. Tautomería de la biguanida monoprotonada, siendo las estructuras c y d las más estables (Bharatam et al., 2005; Kathuria et al., 2018).

Posteriormente, diversos científicos realizaron experimentos para sintetizar más biguanidas, las cuales tienen diferentes aplicaciones farmacológicas. En la Tabla 1 se muestra una lista de biguanidas representativas con diferentes propiedades farmacológicas (Kathuria et al., 2021).

Tabla 1. Estructura química, nombre comercial y químico de algunas biguanidas.

Nombre comercial/ nombre químico	Estructura química	Referencia
Metformina / Dimetilbiguanida		(Vancura et al., 2018)
Buformina / Diamida N-butilimidocarbonimidico 1-butilbiguanida		(Z. Zhu et al., 2015)
Proguanil / N1-(4-clorofenil)-N5-isopropilbiguanida		(Curd & Rose, 1946)
Moroxidina / N-[amino(imino)metil]morfolin-4-carboximinamida (ABOB)		(Melander, 1960)
Fenformina 1-feniletilbiguanida		(Mehnert et al., 1965)
Cicloguanil 1-(4-clorofenil)-6,6-dimetil-1,6-dihidro-1,3,5-triazina-2,4-diamina		(Canfield & Rozman, 1974; Tse et al., 2019)
Polihexamida Polihexametilenbiguanida		(Ikeda et al., 1984; Szkołuda & Karpiński, 2020)

1.2.2 Metformina

La metformina (MTF) es el hipoglucemiante oral más ocupado en los últimos años debido a su eficacia, sin generar hipoglucemia y acidez láctica; es considerada como el medicamento de primera línea para el tratamiento de DM2. Actúa disminuyendo la producción de glucosa en el hígado al inhibir la glucogenólisis y la neoglucogénesis, estos son procesos por los cuales el hígado libera glucosa en la sangre, y al disminuirlos, se reduce la cantidad de glucosa que se libera al torrente sanguíneo (Adam et al., 2015; Borgnakke, 2019; Karavanaki et al., 2022; Migdal et al., 2017; Nicholas et al., 2009; Pradhan et al., 2020; Rena et al., 2017; Repiščák et al., 2014; Yendapally et al., 2020).

En la Figura 6 se muestra la estructura química de la metformina, comercialmente es formulada como clorhidrato de metformina (MTF·HCl) (Figura 7) para lograr una mayor solubilidad en agua (Acebedo-Martínez et al., 2023).

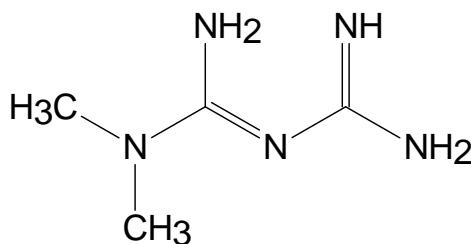


Figura 6. Estructura de la metformina (MTF).

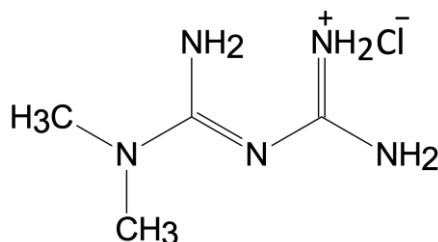


Figura 7. Estructura química del Clorhidrato de Metformina (MTF·HCl).

1.2.2.1 Propiedades fisicoquímicas

En la Tabla 2 se presentan las propiedades fisicoquímicas de MTF y del clorhidrato de metformina (MTF·HCl).

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de MTF y del clorhidrato de metformina (González-Barbosa et al., 2023).

Metformina				
Nombre químico	N,N-dimetilimidodicarbodiamida 1,1-dimetilbiguanida N,N-dimetilbiguanida N'-dimetilguanilguanidina			
Fórmula molecular	C ₄ H ₁₁ N ₅			
Masa molar	129.17 g/mol			
Apariencia	Polvo cristalino de color blanco			
Punto de fusión	232 °C			
pK _{a1} y pK _{a2}	pK_{a1}	pK_{a2}	Referencia	
	2.8	11.5	(Bretnall et al., 1998)	
	2.8	11.6	((Hernández et al., 2015)	
	2.8	11.51	(Saxena et al., 2010)	
	3.14	13.85	(Orgován & Noszál, 2011)	
	2.8	11.51	(Ashour & Kabbani, 2003)	
	2.79	11.02	(Karaderi et al., 2020)	
	2.93	11.51	(Gholivand & Mohammadi-Behzad, 2013)	
	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	Referencia
	2.67	8.0	10.57	(Abdelrahman et al., 2009)
Solubilidad	Soluble en agua (>300 mg/mL) (<i>Metformin</i> - CAS 1115-70-4 - Calbiochem / 317240, 2008)			
	Poco soluble en etanol y lípidos (Metry et al., 2021)			
	Insoluble en cloroformo, acetona y éter.			

Clorhidrato de Metformina	
Nombre químico	Clorhidrato de N,N-dimetilimidodicarbodiamida
	Clorhidrato de 1,1-dimetilbiguanidad
	Clorhidrato de N,N-dimetilbiguanidad
	Clorhidrato de N'-dimetilguanilguanidina
Fórmula molecular	$C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$
Masa molar	165.63 g/mol
Apariencia	Polvo cristalino de color blanco
Punto de fusión	223 °C
Solubilidad	Altamente soluble en agua: 285 mg/mL a 20 °C (C. J. Bailey, 2017) y >300 a 25 °C (Desai et al., 2014; Sheela et al., 2010)
	Parcialmente soluble en alcohol
	Insoluble en éter, cloroformo, acetona y cloruro de metileno

1.2.2.2 Síntesis de metformina

Antes del uso de metformina como fármaco para el tratamiento de DM, se empleó la planta Galega Officinalis para reducir glucosa en sangre, la cual es rica en guanidina; sin embargo, esta sustancia era demasiado tóxica para su uso clínico, por lo que se puso atención en la galegina, extracto menos tóxico utilizado como agente antidiabético en la década de los 20 (C. Bailey & Day, 2004; C. J. Bailey, 2017; Howlett & Bailey, 1999).

La primera síntesis de metformina fue en 1920 por Werner y Bell, haciendo reaccionar 2-cianoguanidina y dimetilamoniocloruro a 180 °C por 3 h, obteniendo un rendimiento del 90 % (Figura 8) (Werner & Bell, 1922).

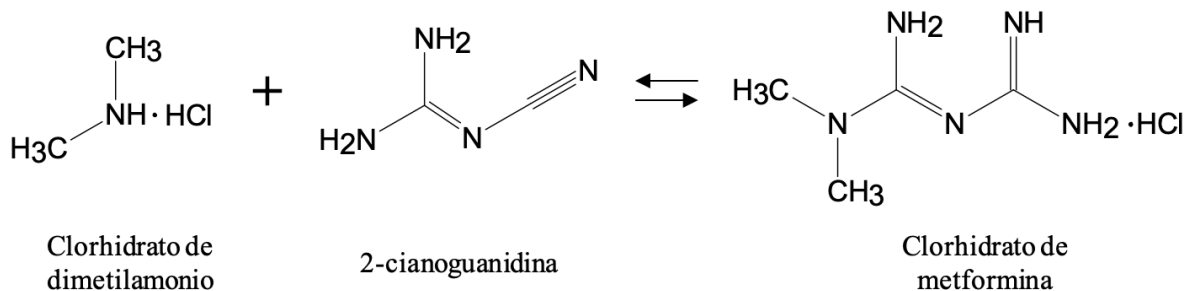


Figura 8. Síntesis de Clorhidrato de Metformina (MTF·HCl).

En la Figura 9 se presenta una línea del tiempo de la metformina en la que se señalan algunos eventos principales (C. Bailey & Day, 2004; C. J. Bailey, 2017; Gottlieb et al., 1962; Hunt et al., 1997; Prugnard & Noel, 1996; Rubiño et al., 2019; Slotta & Tschesche, 1929; Ungar et al., 1957; Werner & Bell, 1922; WHO, 2002; Williams & Palmer, 1975).

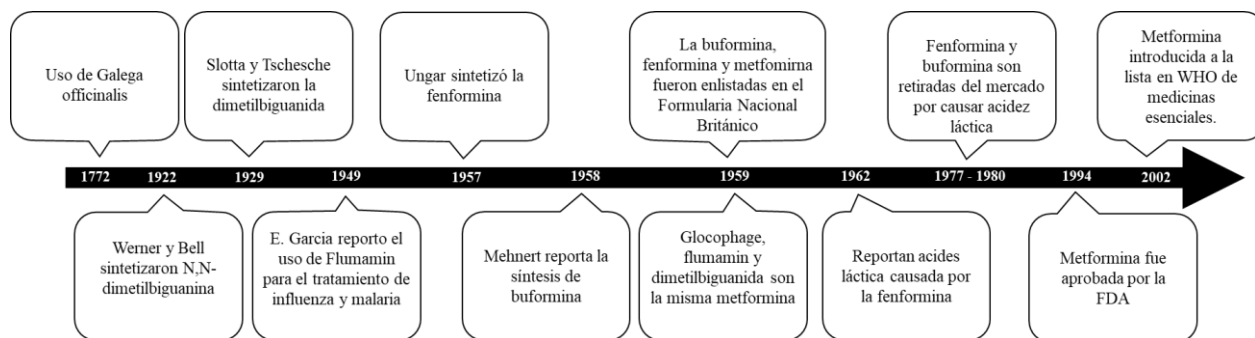


Figura 9. Línea del tiempo de la MTF.

1.2.2.3 Polimorfismo de la Metformina

La metformina presenta polimorfismo, siendo el polimorfo termodinámicamente estable (Forma I), el cual fue reportado en 1989 por Hiraharan, y el polimorfo metaestable (Forma II) en 2004 por Childs; estos polimorfos contienen una estructura monoclinica (Childs et al., 2004; Hariharan et al., 1979; Metry et al., 2021).

Las diferentes formas cristalinas de un mismo compuesto presentan diferentes propiedades fisicoquímicas y farmacotécnicas, las cuales mejoran la biodisponibilidad de un fármaco, aumentando la velocidad de disolución para fármacos con baja solubilidad, siendo que este

tipo de polimorfismo sean preferidos por la industria farmacéutica (J. Lu & Rohani, 2009; Sánchez et al., 2007; Santos et al., 2014).

1.2.1.4 Tautomería de Metformina

La MTF tiene propiedades ácido-base por lo cual está sujeta a presentar diferentes especies dependiendo el pH del medio en el que se encuentre. En la Figura 10 se muestran las estructuras de metformina diprotonada, monoprotonada y neutra. Como se mencionó en la Tabla 2, la MTF tiene dos valores pK_{a} s.

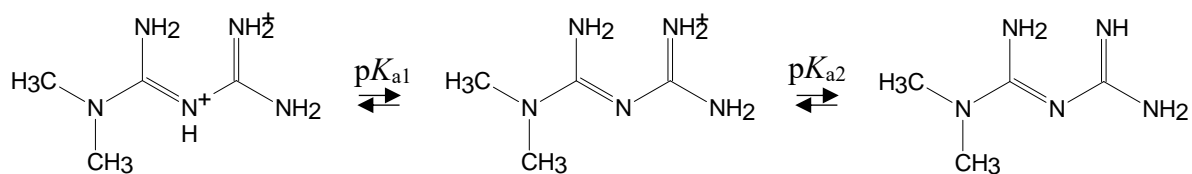


Figura 10. Estructuras de metformina diprotonada (H_2MTF^{2+}), monoprotonada ($HMTF^+$) y neutra (MTF) (Hernández et al., 2015; Kathuria et al., 2021).

La metformina monoprotonada ($HMTF^+$) presenta 4 estructuras tautoméricas. Cabe mencionar que a pH fisiológico se encuentra presente la $HMTF^+$, siendo esta especie la forma bioactiva (Figura 11) (McCreight et al., 2016).

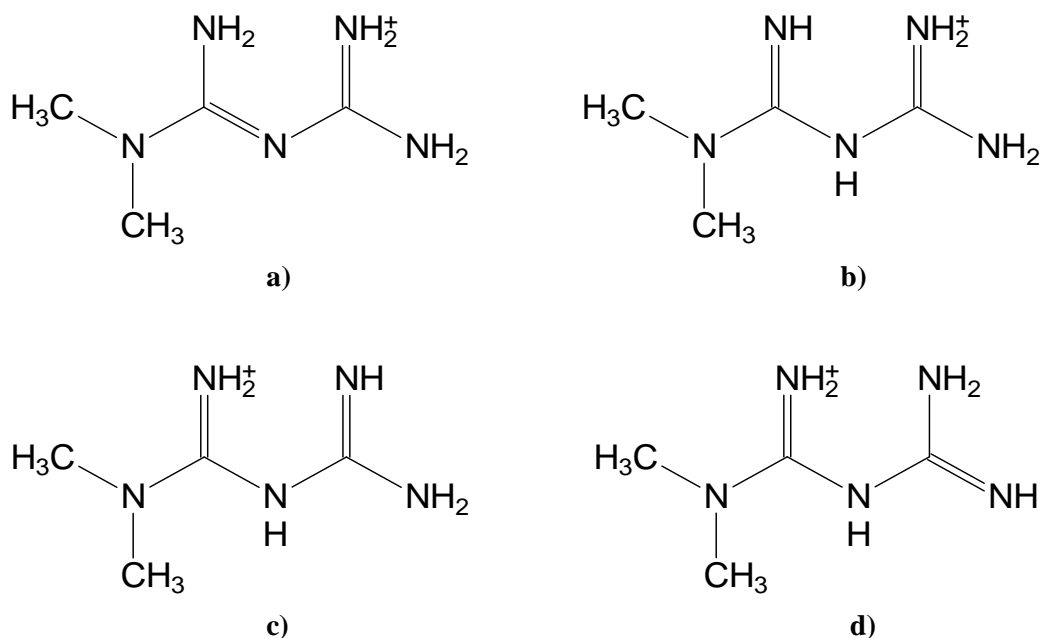


Figura 11. Tautomería de metformina monoprotonada (HMet⁺), siendo la estructura a) la más estable (Kathuria et al., 2018; Trouillas et al., 2013).

La especie neutra o desprotonada de la MTF presenta dos estructuras tautoméricas, las cuales se pueden observar en la Figura 12. En la mayoría de los artículos científicos publicados sobre MTF presentan a la estructura de la especie MTF como en la Figura 12a; mientras que Bharatam y sus colaboradores indican que la Figura 12b es la estructura de MTF más estable (Bharatam et al., 2005).

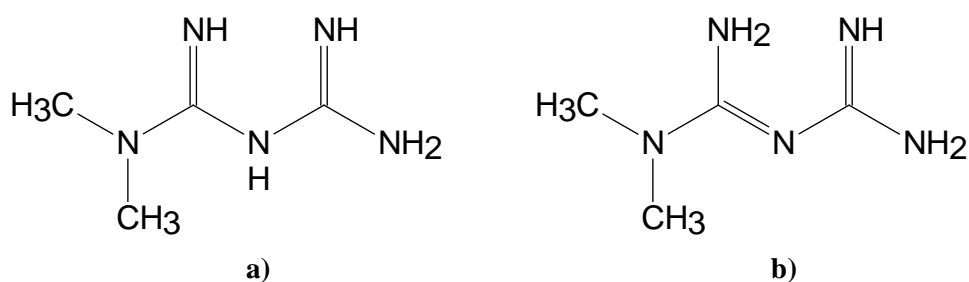


Figura 12. Tautomería de metformina.

1.3 Iones metálicos: generalidades

Los metales de transición poseen diversos estados de oxidación, los cuales tienen diversas propiedades terapéuticas siendo potenciales alternativas en diversos tratamientos (Abu-El-Wafa et al., 1987; Rusanov et al., 2022). Los metales de transición pueden adoptar varias geometrías basadas en su número de coordinación tales como octaedro, pirámide cuadrada, bipirámide-trigonal y cuadrado plano; mientras que las moléculas orgánicas carecen de esta variedad de geometrías y solo pueden adoptar las geometrías tetraedro, planar y lineal (Noffke et al., 2012).

Los iones metálicos (Metal=M), al estar deficientes de electrones, tienen la capacidad de aceptar pares de electrones comportándose como ácidos de Lewis; por lo cual pueden unirse a moléculas que se actúan como bases de Lewis (Ligantes=L) al donar estos pares de electrones. Debido a estas características que presentan los iones metálicos, a continuación, se proporciona relevante de Cu^{2+} y VO^{2+} .

1.3.2 Cobre (Cu^{2+})

El cobre es esencial en plantas y animales, encontrándolo principalmente en el torrente sanguíneo como cofactor de enzimas. En humanos adultos, se encuentra un total de 80 a 120 mg de cobre; 8 mg en hígado y 15 mg en corazón, riñones, sangre, cerebro y bazo. En altas cantidades puede ser fatal para el organismo, mientras que, la deficiencia de cobre en el organismo puede presentar varias complicaciones como degeneración neuronal, retraso mental, anemia, entre otras (Marzano et al., 2009; Uriu-Adams & Keen, 2005).

El cobre es un metal de transición con configuración electrónica $[\text{Ar}] 3d^{10}4s^1$ y sus iones pueden adquirir los estados de oxidación más usuales de 0, 1, 2 y 3; específicamente el Cu^{2+} tiende a formar complejos con geometrías: cuadrada plana distorsionada, pirámide cuadrada y octaédrica (Crichton & Pierre, 2001; Dalecki et al., 2017; Flemming & Trevors, 1989; Haas & Franz, 2009; Zehra et al., 2021).

Entre las diversas aplicaciones del cobre, se destaca el uso de complejos entre Cu^{2+} y ligantes con diferentes propiedades terapéuticas, tales como anticancerígena, antidiabética, antiviral, antiinflamatorias, antimicrobiana, etc. (Duncan & White, 2012; Gaetke & Chow, 2003; Jing

et al., 2016; Pickart et al., 2015; Rajalakshmi et al., 2014; Uriu-Adams & Keen, 2005; Wehbe et al., 2017).

Los primeros complejos de cobre con propiedades antidiabéticas son $\text{Cu}_2(\text{dsal})_4$ y $\text{Cu}_2(\text{sal})_4$, donde (dsal = 3,5-diisopropil-salicilato y sal = salicilato), mejorando la tolerancia a la glucosa de ratas diabéticas (Abdul-Ghani et al., 1996; Gandy et al., 1983; Sorenson et al., 1983). Posteriormente, Yasumatsu reportó el complejo bispicolinato de cobre(II) $[\text{Cu}(\text{pic})_2]$ (pic = picolinato), el cual mostró un alto efecto hipoglucemiante en animales comparado con el complejo $[\text{VO}(\text{pic})_2]$ (Krishnan et al., 2014; Yasumatsu et al., 2007).

1.3.1 Ion vanadilo (VO^{2+})

El Vanadio fue descubierto en 1801 en México por Andrés Manuel del Río en Zimapán, Hidalgo, nombrándolo Pancromio y después Eritronio. En 1830, fue redescubierto por Nils Sefstrom (Treviño et al., 2019). El vanadio presenta una configuración electrónica $[\text{Ar}]3d^34s^2$ y múltiples estados de oxidación que van de +2 al +5, diferenciándose por su coloración característica para cada uno de ellos, vanadio(II) es violeta, vanadio(III) es verde, vanadilo o vanadio(IV) es azul y para el vanadato o vanadio(V) es amarillo. Dentro de los estados de oxidación del vanadio, los de interés biológico son 3, 4 y 5 debido a que tienen propiedades insulino-miméticas y antidiabéticas (Barrio, 2004).

Desde la década de los 80, los compuestos de vanadio han sido tema de interés por su poder farmacológico en el tratamiento de diversas enfermedades como la DM2 (Sakurai et al., 2005). Existen más de 4000 patentes de compuestos de vanadio con diferentes propiedades biológicas como antiparásito, antiviral, antibacterial, antihipertensivo, anti-VIH, antituberculosis, anticancerígeno y antidiabético (Treviño et al., 2019).

La historia de los complejos de vanadio insulino-miméticos empieza en 1990 con $(\text{VO}(\text{cism})_2)^-$, $(\text{VO}(\text{ma})_2)$, $(\text{VO}(\text{ox})_2)$ y $(\text{VO}(\text{sal})_2)$, donde cism = bis(metilcisteinato), ma = bis(malonato), ox = bis(oxalato) y sal = bis(salicilaldehído); estos complejos fueron puestos a prueba para el tratamiento de hiperglucemia en ratas diabéticas. Dentro del experimento, el complejo más efectivo fue $\text{VO}(\text{ma})_2$, mientras que el menos efectivo fue $\text{VO}(\text{ox})_2$. Cabe resaltar que, dentro de la larga lista de compuestos de vanadio con propiedades insulino-miméticas, se hace énfasis en los complejos $[\text{VO}(\text{pa})_2]$ y $[\text{VO}(\text{mal})_2]$, donde pa =

bis(picolinato), y vanadio tiene estado de oxidación +4 en ambos casos (Fedorova et al., 2013; Sakurai, 2007; Sakurai et al., 2005).

Por otro lado, las sales de vanadio demostraron tener propiedades insulinomiméticas por sí solas, se encuentra un trabajo reportado en el que se suministró a pacientes con DM2 el compuesto VOSO_4 durante 6 semanas (150 mg/dm^3), teniendo resultados positivos al mejorar el estado glicémico reduciendo la producción de glucosa basal y mejorando la sensibilidad de insulina (Barrio, 2004).

1.4 Complejos fármaco–ion metálico

En la literatura científica existen varios estudios sobre la formación de complejos entre fármacos con iones metálicos, en donde se utilizan diferentes técnicas y métodos para determinar la estequiometría, la constante de equilibrio, y otras propiedades termodinámicas tales como la entalpía (ΔH°), la energía Gibbs (ΔG°) y la entropía (ΔS°) de estos complejos. Entre los fármacos estudiados, en la formación de complejos metálicos, se encuentran fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), hipoglucemiantes, entre otros (Fernanda et al., 2014; Guiotoku et al., 2007; June White BS, 1924; Maria & Perelló, 2013; Marrote Manzano, 2018; Prasad et al., 2021; Raper, 1997; Rodríguez-Laguna et al., 2019; Sakurai et al., 2008; Yasumatsu et al., 2007).

Dentro de los primeros complejos estudiados de cobre con propiedades antidiabéticas se encuentran $\text{Cu}_2(\text{dsal})_4$ y $\text{Cu}_2(\text{sal})_4$, donde (dsal = 3,5-diisopropil-salicilato y sal = salicilato), mejorando la tolerancia a la glucosa en ratas diabéticas (Abdul-Ghani et al., 1996; Gandy et al., 1983; Sorenson et al., 1983). Posteriormente, Yasumatsu reportó el complejo bispicolinato de cobre(II) $[\text{Cu}(\text{pic})_2]$ (pic = picolinato), el cual mostró un alto efecto hipoglucemiante en animales comparado con el complejo $[\text{VO}(\text{pic})_2]$ (Krishnan et al., 2014; Yasumatsu et al., 2007).

Algunos informes sobre complejos de fármacos con los iones metales bajo estudio (VO^{2+} y Cu^{2+}), se mencionan a continuación. En 1990, se analizaron complejos de vanadio insulinomiméticos, tales como $(\text{VO}(\text{cism})_2)^-$, $(\text{VO}(\text{ma})_2)$, $(\text{VO}(\text{ox})_2)$ y $(\text{VO}(\text{sal})_2)$, donde cism = bis(metilcisteinato), ma = bis(malonato), ox = bis(oxalato) y sal = bis(salicilaldehído); estos complejos fueron puestos a prueba para el tratamiento de hiperglucemia en ratas

diabéticas. Determinando que el complejo más efectivo fue VO(ma)₂, mientras que el menos efectivo fue VO(ox)₂. Cabe resaltar que, dentro de la larga lista de compuestos de vanadio con propiedades insulinoimiméticas, se hace énfasis en los complejos [VO(pa)₂] y [VO(mal)₂], donde pa = bis(picolinato), y vanadio tiene estado de oxidación IV (Fedorova et al., 2013; Sakurai, 2007; Sakurai et al., 2005).

La investigación de complejos con propiedades insulinoimiméticas ha sido larga y de gran interés, algunos complejos han llegado a ser puestos a prueba en condiciones biológicas, dependiendo de la estabilidad que presentan, esta misma puede ser calculada conociendo su perfil termodinámico.

1.5 Termodinámica del equilibrio químico

El calor (q) se define como la cantidad de energía que fluye a través de los límites entre el sistema y el medio, como consecuencia de una diferencia de temperatura entre el sistema y el medio. El calor es transitorio, solo aparece durante un cambio de estado del sistema y el medio, mientras la energía, y no el calor, está asociada a los estados inicial y final del sistema y del medio (Engel & Reid, 2007; Roldán Rojas, 2014).

Si la temperatura del medio disminuye, q es positivo; y si aumenta, q es negativo. Es habitual decir que, si q es positivo, el calor se retira del medio y se deposita en el sistema. Si q es negativo, el calor se retira del sistema y se deposita en el medio (Ball, 2004).

La entalpía (H) es una función de estado extensiva, que mide la cantidad de calor cedida o absorbida en un sistema, teniendo unidades de energía. La expresión matemática que define a la entalpía se muestra en la Ecuación 1. Un cambio de entalpía negativo ($\Delta H < 0$) indica un proceso endotérmico, un cambio de entalpía positivo ($\Delta H > 0$) indica un proceso exotérmico (Cengel et al., 2019).

$$H = U + PV \quad (1)$$

Donde U es la energía interna, P es presión y V el volumen. Si un sistema mantiene su presión y volumen constante, se podría decir que la energía interna es igual a la entalpía (Ecuación 2).

$$H = U \quad (2)$$

Otro parámetro termodinámico asociado a un proceso químico es la entropía (S), la cual mide el grado de desorden molecular. La segunda ley de la termodinámica dice que la entropía de un sistema aumenta durante un proceso espontáneo e irreversible ($\Delta S_{\text{total}} > 0$). El cambio de entropía en el sistema (ΔS_{sis}) para un proceso se puede calcular a partir del intercambio de calor q con sus alrededores, según la Ecuación 3 (Ball, 2004):

$$\Delta S_{\text{sis}} \geq \frac{q}{T} \quad (3)$$

donde T es la temperatura.

La energía libre de Gibbs (G) es un parámetro termodinámico que permite determinar la espontaneidad de un proceso químico. Si el cambio de energía libre de Gibbs es negativo ($\Delta G < 0$) indica que el proceso es espontáneo, si es positivo ($\Delta G > 0$), el proceso no ocurre; y este es igual a cero ($\Delta G = 0$) indica que el sistema se encuentra en equilibrio.

La energía libre de Gibbs en condiciones estándar relaciona ΔH° y ΔS° de acuerdo con la Ecuación 4. La energía libre es un equilibrio entre entalpía y entropía (Daviter et al., 2021; Reyes Chumacero et al., 2014).

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (4)$$

Cuando una reacción química ocurre bajo condiciones que difieren de los estados estándar ($P = 1 \text{ atm}$ y $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), es necesario considerar la relación entre el cambio en la energía libre estándar (ΔG°) y el cambio en la energía libre actual (ΔG) durante el curso de la reacción. La relación entre ambos se puede describir utilizando la Ecuación 5 (Fos Antón et al., 2011).

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln Q \quad (5)$$

donde R es la constante de los gases (8.314 J/mol K), T es la temperatura absoluta de la reacción y Q es el cociente de concentraciones fuera del equilibrio. En el equilibrio químico, el cambio en la energía libre de Gibbs es igual a cero ($\Delta G = 0$), y la constante de equilibrio (K_{eq}) es igual al cociente de concentraciones en el equilibrio termodinámico. La ecuación que relaciona la ΔG° con la K_{eq} se muestra en la Ecuación (6) (Chaires, 2008).

$$\Delta G^{\circ} = - RT \ln K_{eq} \quad (6)$$

Donde R es la constante de gases (8.314 J/mol K), T es la temperatura absoluta (298.15 K). Esta expresión permite calcular la constante de equilibrio de una reacción si conocemos el cambio de energía libre estándar, y viceversa (Erlekan et al., 2022).

1.6 Titulación Calorimétrica Isotérmica

La calorimetría se encarga de la medición del calor producido o absorbido al producirse una reacción (Zielenkiewicz & Margas, 2004). La unidad de calor es el Joule (J), el cual equivale a 0.239 calorías (cal), mientras que la velocidad de calentamiento se mide en Watts o J/s (Hansen, 2001).

La *Calorimetría por Titulación Isotérmica* es una técnica poderosa e innovadora usada para determinar de forma directa la afinidad de enlace entre dos moléculas. Con un solo experimento se puede obtener el perfil termodinámico completo de la reacción (Bastos & Velazquez-Campoy, 2021; Bjelić & Jelesarov, 2008; Ghai et al., 2012; Lewis & Murphy, 2005; Pierce et al., 1999; Wadsö & Li, 2011).

Los microcalorímetros actuales cuentan con una alta sensibilidad para medir calores pequeños como 0.4 μ J (0.1 μ cal) y pueden trabajar a temperaturas constantes de 5 a 80 °C (Freyer & Lewis, 2008; Grosseohme et al., 2010; Lewis & Murphy, 2005; Vega et al., 2015). En la Figura 13a se muestran las partes fundamentales del microcalorímetro, la Figura 13b muestra la celda de reacción junto con la propela de la jeringa puesta.

Celda de reacción y de referencia:

Son celdas metálicas en forma de prisma circular en forma de moneda, localizadas en el centro del calorímetro y aisladas adiabáticamente. En la celda de referencia se coloca el disolvente, ya sea agua o buffer; mientras en la celda de reacción, se coloca, en su gran mayoría, la especie receptora (macromolécula o ion metálico). Las celdas, durante el experimento, se mantienen a temperatura constante. Cabe resaltar que la limpieza de la celda de reacción y de la microbureta debe ser de lo más exhaustiva posible, debido a que una pequeña impureza en ellas puede provocar ruido en el experimento (Daviter et al., 2021).

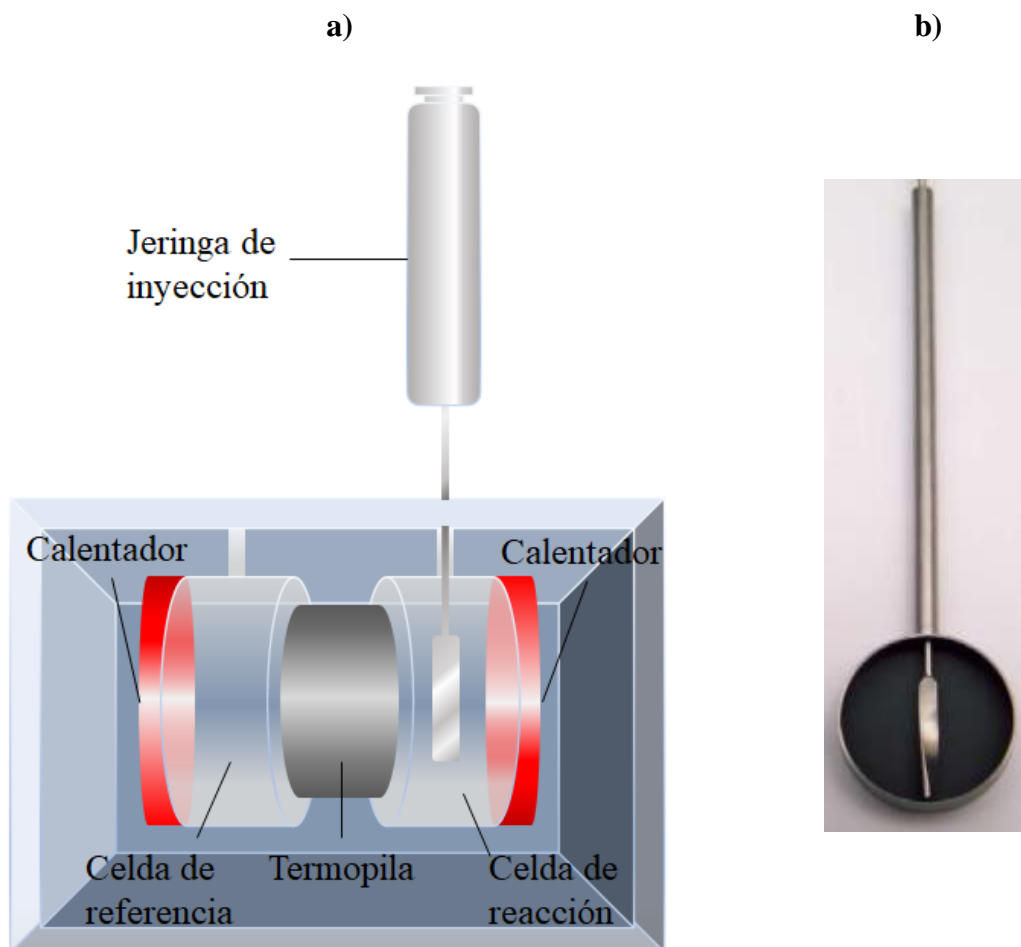


Figura 13. a) Esquema del calorímetro (Daviter et al., 2021). b) Fotografía de la celda de reacción con la jeringa puesta en ella (Peters et al., 2009).

Jeringa o microbureta:

Es una microbureta en forma de jeringa que en el extremo inferior tiene una propela, con ayuda de un motor de rotación integrado en la misma, mantiene en agitación constante el contenido de la celda de reacción, obteniendo una mezcla homogénea durante el experimento. Tiene la capacidad de inyectar volúmenes desde 1 μL a 20 μL , y espaciando cada inyección entre 4 a 8 minutos y un número total de 20 a 35 inyecciones en la mayoría de los experimentos (Markova & Hallén, 2004).

Termopila:

Su función es registrar el calor generado o absorbido durante el experimento, enviando información al equipo para compensar la variación de temperatura entre la celda de reacción y la celda de referencia, logrando mantener la temperatura constante durante el experimento. La termopila se localiza entre las dos celdas como se observa en la Figura 13, formada de telurio de bismuto que es uno de los materiales termoelectrónicos más usado (Daviter et al., 2021; Wiseman et al., 1989).

Cámara adiabática:

Se encarga de proteger la celda de reacción y de referencia con el fin de aislar las celdas del exterior.

Un experimento típico de ITC consiste en hacer reaccionar dos disoluciones de componentes distintos, las cuales al interactuar pueden provocar la liberación de calor, incrementando la temperatura, siendo un proceso exotérmico; o que absorba calor del medio al ser un proceso endotérmico (Izatt et al., 1995). Usando la información obtenida durante el experimento, se puede determinar la constante de equilibrio, la entalpía de enlace, la entropía de enlace y la energía libre de Gibbs; facilitando la determinación de la estabilidad, fuerza, especificidad y estequiometría del complejo formado (Vogel, 2002).

Cabe mencionar, que para cada titulación calorimétrica entre el metal M y el ligante L, es necesario realizar una titulación para obtener el calor de dilución; éste consiste en realizar la dilución del ligante en el disolvente utilizado (o de la componente que se haya puesto en la microbureta). Este experimento debe de tener las mismas condiciones que el experimento de reacción para poder restar el calor generado por la dilución.

El uso de ITC tiene grandes ventajas como (Rodino et al., 2012; Vega et al., 2015):

- Es fácil de usar, una vez que se ha dado inicio el experimento puede funcionar sin ser supervisado.
- Los experimentos de ITC son simples y dan información completa de los parámetros de enlace (termodinámicos).

- Los experimentos pueden investigar cualquier interacción entre moléculas debido a que en la mayoría de las reacciones existe un intercambio de calor.
- Se puede aumentar la resolución del experimento aumentando el número de inyecciones en cada experimento.

Dentro de los campos en que se emplea la técnica ITC se encuentran: química en alimentos, química en ciencia de materiales, industria farmacéutica, farmacología, entre otros;(Bjelić & Jelesarov, 2008; Falconer, 2016; Ghai et al., 2012; Grosseohme et al., 2010; Hansen, Quinn, et al., 2018; Holdgate & Ward, 2005; Keller et al., 2012; Renaud et al., 2016; Rodino et al., 2012).

- La caracterización de la interacción intermolecular entre moléculas, proteínas, anticuerpos, ácidos nucleicos, lípidos y otras biomoléculas.
- En el desarrollo de compuestos farmacéuticos y en el estudio de la interacción entre agentes terapéuticos y macromoléculas
- Estudio específico en las interacciones de anticuerpos o enzimas.
- Estudio de especies químicas que presentan interacciones débiles (enlaces no covalentes).
- En la determinación analítica de las concentraciones de los reactantes en solución.
- Determinación de los cambios de entalpía de las reacciones.
- Determinación simultánea de la K_{eq} y ΔH .

Para cada valoración calorimétrica se obtienen 2 gráficos. El primero, es un termograma ($\Delta Q/dt$), éste es un gráfico donde se grafica la diferencia de calor entre la celda de reacción con la celda de referencia en función del tiempo (Figura 14a). Cada vez que se inyecta volumen del titulante e interactúa con el analito, se registra un pico, el cual involucra una cantidad de calor determinada por la reacción. Si el pico tiene dirección hacia arriba es una reacción endotérmica y si es abajo es una reacción exotérmica. El calor disminuye o aumenta en proporción a la fuerza de enlace, cuando el sistema empieza a saturarse, la señal empieza a disminuir hasta solo observar el calor de dilución (Keller et al., 2012). Una vez que el equipo alcanza la temperatura de trabajo se establece la línea base en el termograma, por lo

que es recomendable que, durante las inyecciones, el pico que se forma regrese a la línea base; esto se logra usando un espacio de tiempo adecuado entre una inyección y otra.

El otro gráfico que se obtiene en la valoración calorimétrica es la curva o isoterma de enlace (Figura 14b), el cual es un gráfico del calor liberado o absorbido en cada adición (Q =entalpía normalizada) en función de la Relación Molar (RM), en él sólo se visualizan puntos que corresponde a la integración de cada área de pico del termograma. A partir de esta curva se logra determinar la estequiometria de la reacción (N), la constante de disociación (K_D) y la entalpía de la reacción (ΔH°). La relación molar (RM) se define como el número de moles del valorante entre el número de moles del analito (Rodríguez, 2015).

Un valor de ΔG° negativo indica que el complejo, ML, tiene menos energía libre que la suma de M y L libres. La formación del complejo se favorece en condiciones estándar sólo si ΔG° es negativo, por lo tanto, valores negativos de ΔH° y valores positivos de ΔS° promueven la formación de complejos (Holdgate & Ward, 2005).

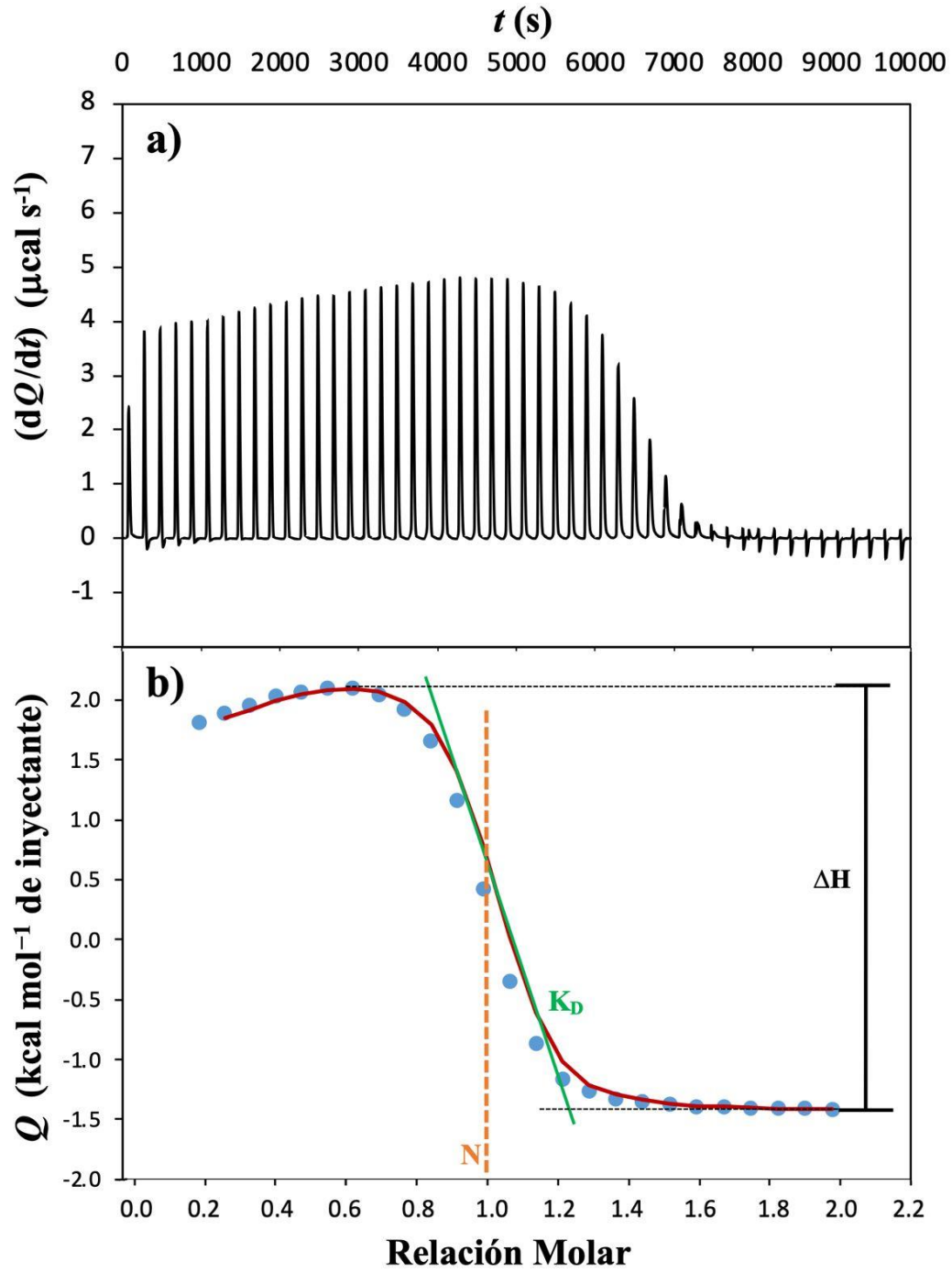


Figura 14. a) Termograma ($dQ/dt = f(t)$) (Rodríguez-Laguna et al., 2019). b) Curva de enlace ($Q = f(\text{relación molar})$).

La señal del ITC depende de la concentración en la celda (analito), de la concentración del ligante (titulante), el volumen inyectado, la constante de equilibrio K_{eq} y la estequiometría (N).

Cuando se trabaja a bajas concentraciones la diferencia de calor es baja por lo cual el isoterma de enlace es casi horizontal; es decir, la curva es muy aplanada y no se aprecia un cambio pronunciado en la señal de Q , esto indica una pobre afinidad de enlace, impidiendo la determinación del valor de la entalpía ΔH° y de la constante de enlace (K_f) (también llamada constante de formación o de asociación). A altas concentraciones de los componentes, casi siempre (se obtiene una curva de enlace más pronunciada); es decir, se observa un salto brusco en la señal de Q ; en este caso, se determina más fácilmente la ΔH° que la K_f (Pierce et al., 1999; Rodino et al., 2012).

Cuando se varían las concentraciones de los componentes (M y L) para un mismo sistema, se modifica el parámetro c , el cual se usa para determinar la K_f , la estequiometría (N) y los parámetros termodinámicos de manera simultánea. El parámetro c es la relación entre la concentración del analito $[M]_t$, y se puede expresar de acuerdo con la Ecuación (7) (Broecker et al., 2011).

$$c = N K_f [M]_t = \frac{N [M]_t}{K_D} \quad (7)$$

donde N = estequiometría (número de enlace por receptor)

K_f = Constante de formación

$[M]_t$ = Concentración en la celda

K_D = Constante de disociación

Existe discrepancia al momento de definir la ventana experimental óptima para experimentos en ITC, Wiseman sugiere el intervalo de 1 a 1000 para el valor de c , para determinar de manera simultánea la constante de equilibrio y la entalpía, mientras que Hansen recomienda un intervalo de 50 a 500, Turnbull de 1 a 500, Thompson sugiere el intervalo de 10 a 100 y Peters de 5 a 500. Por lo cual, para determinar el intervalo de la ventana experimental del

valor de c dependerá del tipo de interacción que se llevan a cabo al reaccionar ambas moléculas (Broecker et al., 2011; Hansen et al., 2011; Peters et al., 2009; Thomson et al., 2005; Turnbull, 2005; Wiseman et al., 1989). La Figura 15 muestra curvas de enlace de Q en función de r a diferentes valores de c (Instruments TA, 2016), se puede ver que a valores altos de c el salto o la forma sigmoide de la curva sea más cuantitativa (curvas de color fiusha y carmín), mientras que un valor bajo de c hace que la curva de enlace se asemeje a una línea recta (curvas amarilla y verde); este pronunciamiento también depende de la afinidad de enlace entre las moléculas. Turnball y Daranas demostraron que a valores bajos de c , aún por debajo de 10 es posible determinar el perfil termodinámico (Turnbull & Daranas, 2003). La forma de la curva sigmoideal también indica que a valor alto de c el sistema presenta alta afinidad, mientras que un valor bajo de c indica una baja afinidad en la interacción. Sin embargo, para cada sistema bajo estudio, el valor máximo de c se verá limitado por la baja solubilidad de los componentes en el medio utilizado.

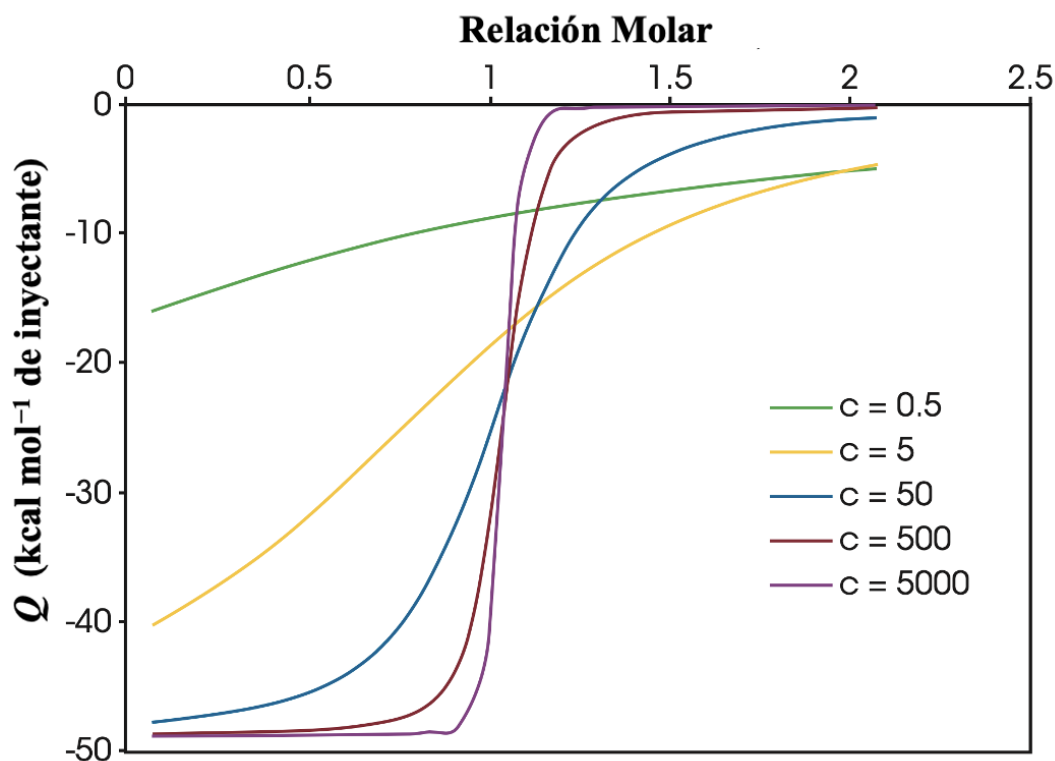
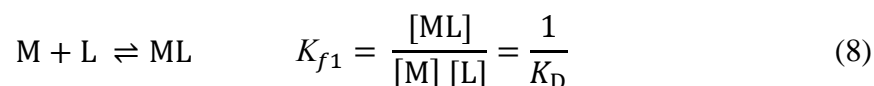
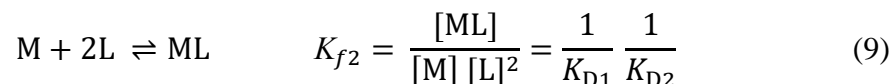


Figura 15. Curvas de enlace a diferentes valores del parámetro c (Instruments TA, 2016).

El equilibrio de formación entre metal M y ligante L y su constante se muestran en la Ecuación 8 (Hansen, Transtrum, et al., 2018).



Para un equilibrio de estequiometría 1 a 2, el equilibrio de formación global es el siguiente:



La inyección del ligante produce efectos en el calor que puede ser producido por 4 fuentes: enlace en la interacción, dilución del ligante, dilución del metal o molécula a complejar y el calor de la mezcla. El cambio de temperatura dentro de la celda de reacción es registrado por el calorímetro (Winiewska et al., 2017).

El área de cada pico es el calor de reacción para cada adición de reactante, conforme se añade el reactante, la especie receptora empieza a saturar sus sitios de enlace, por lo cual el área de cada pico empieza a disminuir (Chaires, 2008)

2. ANTECEDENTES

En esta sección se muestran estudios reportados en la literatura científica sobre complejos entre iones metálicos y ortofenantrolina o metformina. En la Figura 16 se muestran las estructuras químicas de estos dos ligantes.

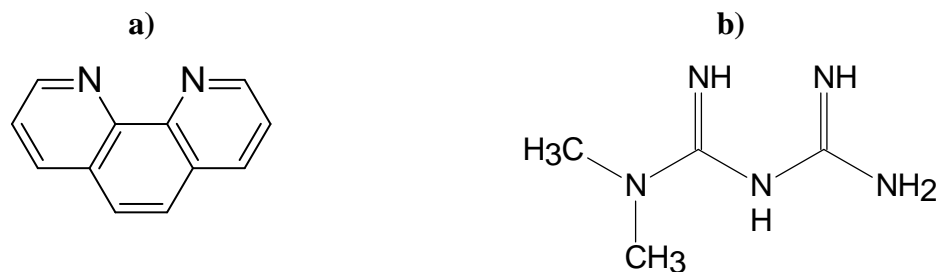


Figura 16. Comparación de las estructuras químicas de a) 1,10-ortofenantrolina (Ofen) y b) metformina (MTF).

2.1 Complejos iones metálicos–ortofenantrolina

La ortofenantrolina o 1,10-fenantrolina (Ofen) es un ligante bidentado que posee una estructura rígida, con apariencia de cristales de color blanco, presenta una solubilidad en agua de 2.69g/L a 25 °C, y un valor de pK_a de 4.93 (Gasque et al., 1999). Desde su síntesis en 1898, tuvo un profundo impacto en la química de coordinación, debido a que entrópicamente tiene facilidad para formar complejos con iones metálicos y no metales, caracterizándose por su estabilidad (Nishigaki et al., 1978; Schoffers, 2003).

Los complejos de Ofen han sido ampliamente estudiados con diversos iones metálicos como: Cu^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , VO^{2+} , Zn^{2+} , entre otros, siendo los complejos de Cu^{2+} y VO^{2+} los de interés en este trabajo de tesis (Geldmacher et al., 2012; Liang et al., 2017; Pivetta et al., 2012; Ringbom, 1979). En el libro de Ringbom, 1974, se reportan constantes de formación global (β_i) para las especies $Cu(Ofen)^{2+}$, $Cu(Ofen)_2^{2+}$ y $Cu(Ofen)_3^{2+}$ con valores de 9.1, 15.8 y 21.0, respectivamente.

Los complejos de $Cu^{2+}/Ofen$ presentan una estequiometría 1:2 ($Cu^{2+}:Ofen$), con propiedades terapéuticas como antitumorales, citotóxicas, antiinflamatorias, antimicrobianas, anticancerígenas, antimicóticas y antimicrobianas (Geraghty et al., 1999; Marzano et al.,

2009; Masuri et al., 2022; Zoroddu et al., 1996). En 2012, Pivetta y colaboradores estudiaron complejos entre Cu^{2+} con Ofen y reportaron los valores de los logaritmos de las constantes de formación para los complejos con estequiometría 1:1 y 1:2, siendo éstos: $\log K_{f1} = 8.14$ y $\log K_{f2} = 12.23$. Además, también se reportan las estructuras de Cu^{2+} /Ofen estudiadas que se muestran en la Figura 17 (Pivetta et al., 2012).

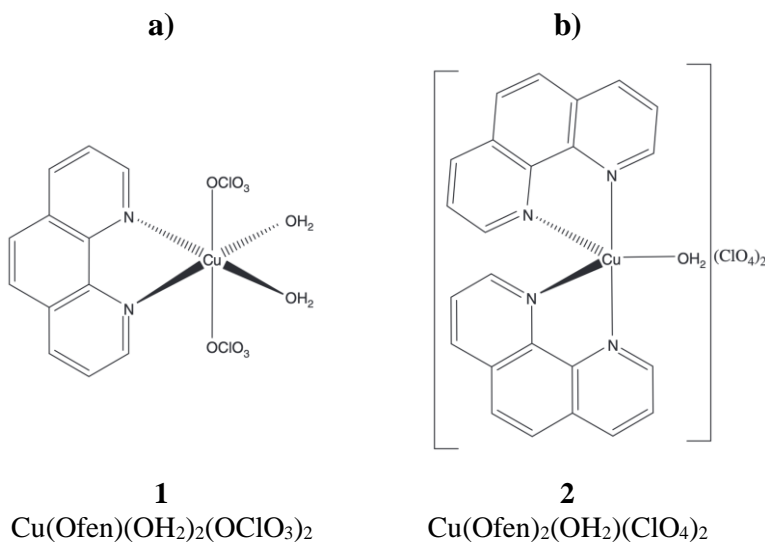


Figura 17. Estructuras químicas de Cu^{2+} /Ofen (Pivetta et al., 2012).

Türkel y Sahim, también reportan los logaritmos de las constantes de complejación para este mismo sistema Cu^{2+} /Ofen, ellos reportan los siguientes valores: $\log K_{f1} = 9.1$ y $\log K_{f2} = 15.85$ (Sanna et al., 2012; Türkel & Sahin, 2009).

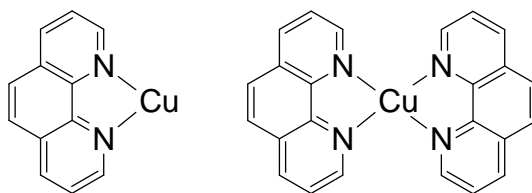


Figura 18. Estructuras químicas de Cu^{2+} /Ofen (Türkel & Sahin, 2009).

Por otro lado, los complejos formados entre el ion VO^{2+} y Ofen han sido ampliamente estudiados, presentando una estequiometría 1:2 ($\text{VO}^{2+}:\text{Ofen}$), con diferentes aplicaciones como espermicida, antioxidante y antitumoral. En el trabajo reportado por Sanna y colaboradores en 2012, determinaron los logaritmos de las constantes de complejación por espectroscopia, potenciometría y teoría de funcionales de la densidad, con valores de: $\log K_{f1} = 6.17$ y $\log K_{f2} = 10.28$ (Sanna et al., 2012).

Duma y Hancock, en 1994, realizaron un estudio sobre la complejación de VO^{2+} con Ofen mediante potenciometría, en donde reportaron los siguientes valores de los logaritmos de las constantes de formación igual a 5.48 y 10.25, respectivamente (Duma & Hancock, 1994).

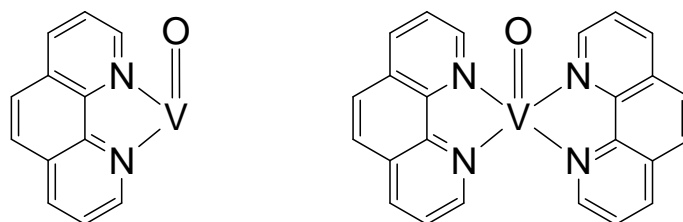


Figura 19. Estructuras químicas de $\text{VO}^{2+}/\text{Ofen}$ (Duma & Hancock, 1994).

En el libro de Ringbom, 1974, se reportan constantes de formación global (β_i) para las especies $\text{VO}(\text{Ofen})^{2+}$ y $\text{VO}(\text{Ofen})_2^{2+}$ con valores de 5.5 y 9.7, respectivamente.

2.2 Complejos iones metálicos–metformina

En los últimos años el interés en los metalofármacos ha ido en aumento debido a que se ha comprobado la mejora y potenciación en las propiedades biológicas de los fármacos. Investigaciones recientes han explorado la posibilidad de combinar la MTF con metales de transición para potenciar o añadir propiedades biológicas específicas a la molécula. Algunos de los metales de transición estudiados son Fe, Cu y Zn siendo éstos esenciales para el funcionamiento de sistemas biológicos y pueden desempeñar roles importantes en procesos metabólicos y reacciones enzimáticas. Los complejos de MTF con los metales Sc, Y, Ti, V,

Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu y Zn, así como los lantánidos han demostrado tener propiedades antibacterianas, antidiabéticas, fungicidas y anticancerígenas (Rusanov et al., 2022). La estructura del complejo depende del número de oxidación del metal, y puede presentar geometrías tetraédricas, octaédricas y cuadradas planas como se muestra en la Figura 20 (Pastrana-Dávila et al., 2023).

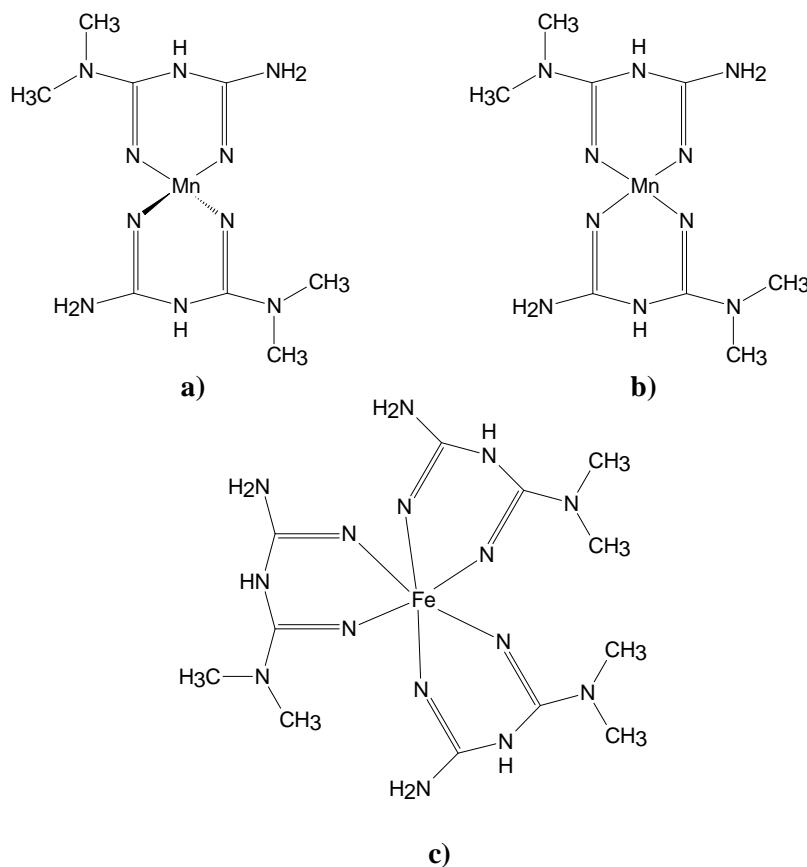
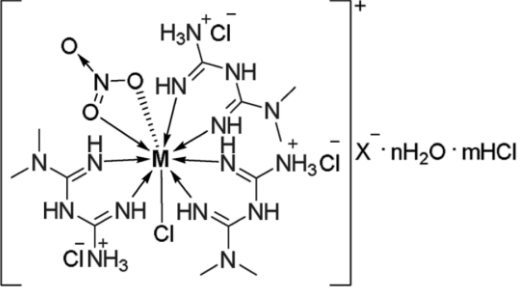
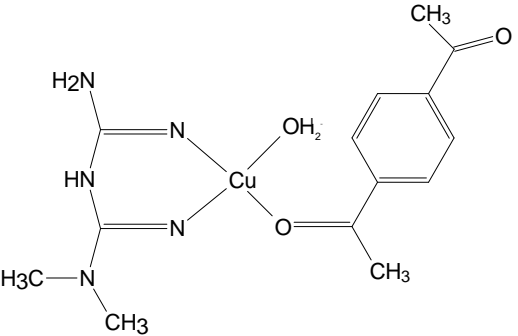
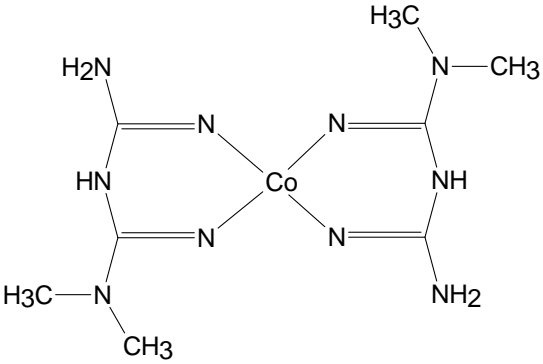
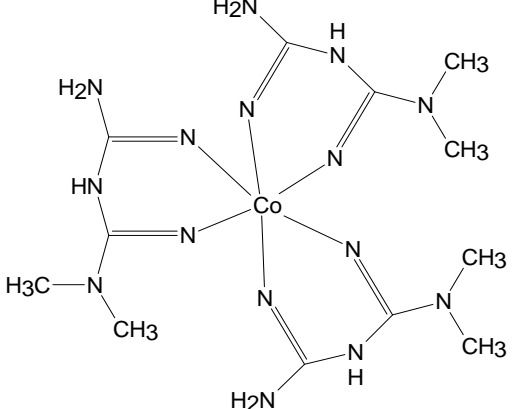
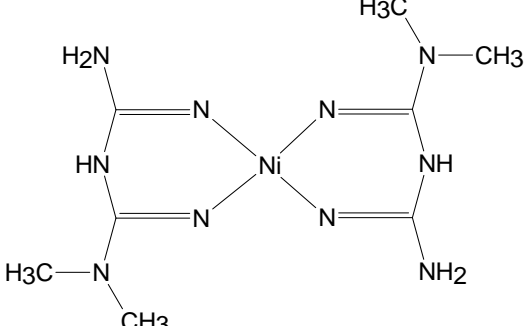


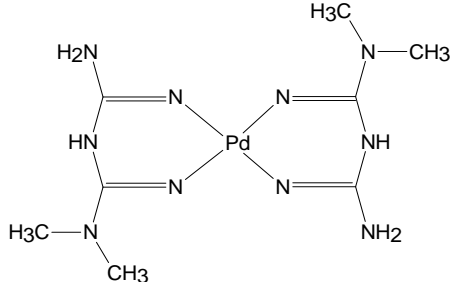
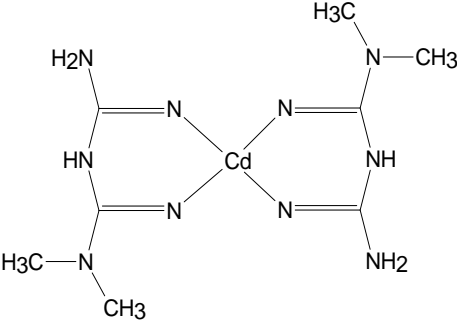
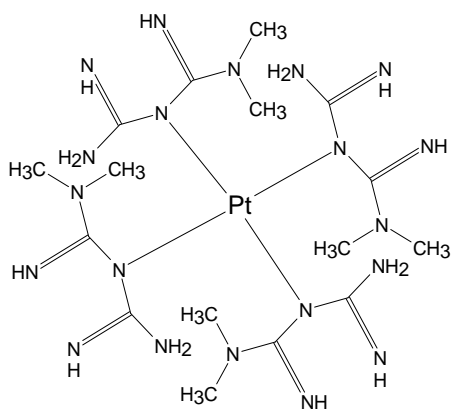
Figura 20. Estructuras de complejos de metformina con iones metálicos: a) tetraédrica, b) cuadrada plana y c) octaédrica (Pastrana-Dávila et al., 2023).

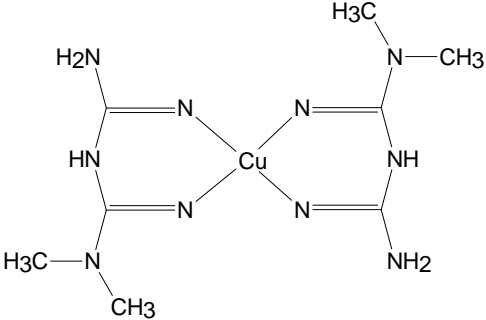
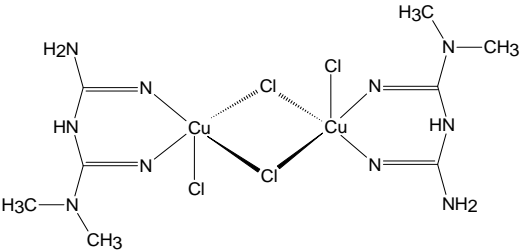
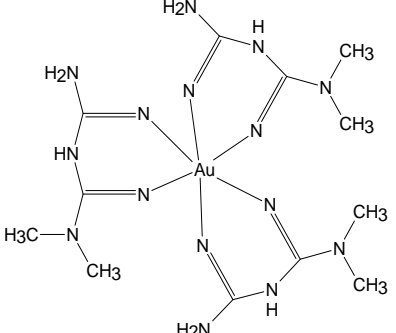
Se encuentran varios trabajos reportados de complejos formados entre MTF y diferentes iones metálicos, entre los cuales se pueden mencionar los que se muestran en la Tabla 3.

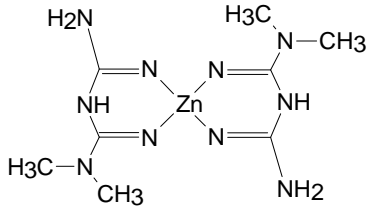
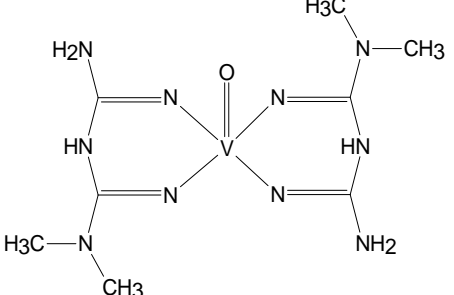
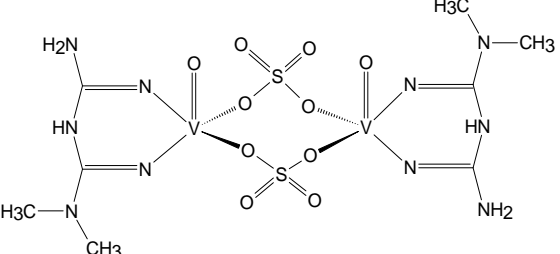
Tabla 3. Complejos de metformina con iones metálicos reportados en la literatura.

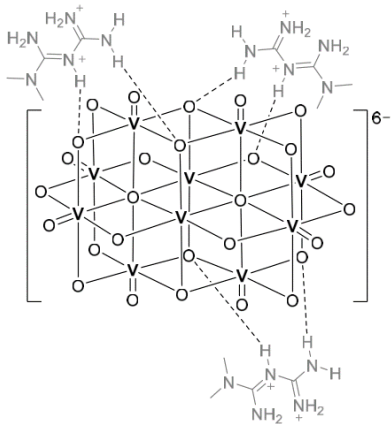
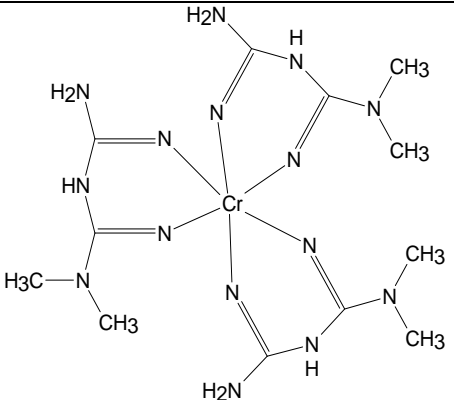
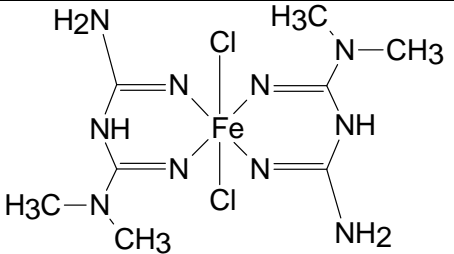
Ion metálico	Estructura química	Técnicas de caracterización	Actividad biológica	Referencia
<p>Y La Ce Sm</p>	 <p>1 M=Y, X=NO₃, n=4.5, m=0 2 M=La, X=Cl, n=3.5, m=0 3 M=Ce, X=Cl, n=2.5, m=0 4 M=Sm, X=0, X=NO₃, n=4, m=2</p>	<p>–</p>	<p>Antimicrobiana contra diversas cepas bacterianas y fúngicas</p>	<p>(Rusanov et al., 2022)</p>
<p>Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zr²⁺, Pd²⁺, Pd²⁺ y Cd²⁺</p>		<p>Análisis elemental, análisis térmico, espectro UV-Vis, IR y RMN.</p>	<p>Antimicrobiana</p>	<p>(El-Shwiniy et al., 2020)</p>

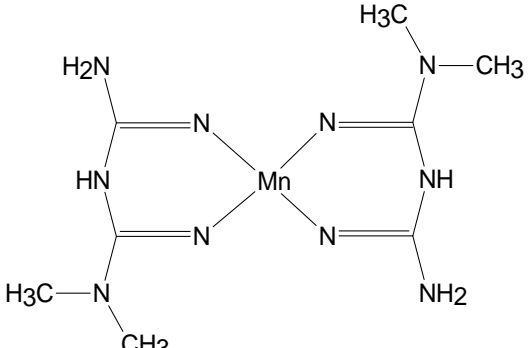
Co^{2+}		<p>IR, UV-Vis, análisis térmico, momento magnético, difracción de rayos X efectivo y conductancia molar.</p>	<p>Antioxidantes, antidiabética y antitumorales</p>	<p>(Refat & Kobeasy, 2014; Villamizar-Delgado et al., 2020)</p>
Co^{3+}		<p>Análisis elemental, IR, Espectro de absorción electrónica y difracción de Rayos X.</p>	<p>Antiviral</p>	<p>(Kirin et al., 2016)</p>
Ni^{2+}		<p>Análisis térmico, RMN, Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR), Espectroscopía (UV-Vis, fluorescente y IR), difracción de rayos X Voltamperometría cíclica.</p>	<p>Antimicrobiana, antibacterial y antidiabética</p>	<p>(Badea et al., 2010; Olar et al., 2010)</p>

Pd ²⁺		Espectroscopía (IR, fluorescente y UV-Vis), análisis elemental, RMN y voltamperometría cíclica.	Antimicrobiana, antibacterial, citotoxicidad y antifúngica.	(Badea et al., 2013; Karami et al., 2017)
Cd ²⁺		Análisis elemental, conductividad molar, IR, UV-Vis, momento efectivo magnético, resonancia spin electrón, análisis térmico y difracción de rayos X.	Antibacteriales y antifúngicas.	(Al-Saif & Refat, 2013)
Pt ⁴⁺		Análisis elemental, conductividad molar, IR, UV-Vis, momento efectivo magnético, resonancia spin electrón, análisis térmico y difracción de rayos X.	Antibacteriales y antifúngicas.	(Al-Saif & Refat, 2013)

<p>Cu^{2+}</p>		<p>Análisis térmico, RMN, Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR), Espectroscopía (UV-Vis, IR, absorción electrónica y masas), difracción de rayos X, estudio computacional y Voltamperometría cíclica.</p>	<p>Antimicrobiana y antidiabética</p>	<p>(Badea et al., 2021; Badea et al., 2010; Olar et al., 2010; Ramadan et al., 2020; Repiščák et al., 2014; Villamizar-Delgado et al., 2020; M. Zhu et al., 2002)</p>
<p>Cu^{2+}</p>		<p>IR, análisis térmico y EPR.</p>	<p>Antimicrobial</p>	<p>(Olar et al., 2008)</p>
<p>Au^{3+}</p>		<p>Análisis elemental, conductividad molar, IR, UV-Vis, momento efectivo magnético, resonancia spin electrón, análisis térmico y difracción de rayos X.</p>	<p>Antibacteriales y antifúngicas.</p>	<p>(Al-Saif & Refat, 2013)</p>

Zn ²⁺		<p>Análisis elemental, conductividad molar, IR, UV-Vis, RMN, EPR momento efectivo magnético, resonancia spin electrón, análisis térmico y difracción de rayos X.</p>	<p>Antibacteriales, antimicrobiana antidiabéticas y antifúngicas.</p>	<p>(Al-Saif & Refat, 2013; Badea et al., 2010; Olar et al., 2010; Villamizar-Delgado et al., 2020)</p>
VO ²⁺		<p>Espectroscopía (IR y masas), potenciometría, análisis elemental, susceptibilidad magnética y RMN</p>	<p>Hipoglucemiante</p>	<p>(L. Lu et al., 2012; Woo et al., 1999)</p>
VO ²⁺		<p>Espectroscopia (IR, UV-Vis, ESR y XRD), momento magnético, análisis elemental, análisis térmico, microscopia de barrido y espectro electrónica (EPR)</p>	<p>Antibacteriales, antimicrobianas y antifúngicas</p>	<p>(Adam et al., 2015; Shekhar et al., 2018)</p>

		<p>Análisis elemental, difracción de rayos X, espectroscopia (IR y Raman) y RMN.</p>	<p>Antidiabética, antioxidante</p>	<p>(Diaz et al., 2021; Sánchez-Lara et al., 2018; Treviño et al., 2015)</p>
<p>Cr³⁺</p>		<p>Conductividad molar, análisis elemental Espectroscopia (IR, UV-Vis y masas), momento efectivo magnético, microscopia electrónica de barrido, RMN y análisis térmico.</p>	<p>Antimicrobiana, antibacterial, antifúngicas y antidiabéticas</p>	<p>(Adam et al., 2015; Dong et al., 2018)</p>
<p>Fe²⁺</p>		<p>Análisis elemental, conductividad molar, IR, UV-Vis, momento efectivo magnético, resonancia spin electrón, análisis térmico y difracción de rayos X.</p>	<p>Antibacteriales y antifúngicas.</p>	<p>(Al-Saif & Refat, 2013)</p>

<p>Mn^{2+}</p>		<p>Análisis elemental, conductividad molar, espectroscopia (IR y UV-Vis), momento efectivo magnético, resonancia spin electrón, análisis térmico y difracción de rayos X.</p>	<p>Antibacteriales y antifúngicas Antimicrobiana</p>	<p>(Al-Saif & Refat, 2013; Badea et al., 2010; Olar et al., 2010)</p>
-----------------------------	---	---	--	---

La Tabla 3, resume el tipo de complejo estudiado; en esta se muestra el ion metálico, la estructura química, las diferentes técnicas analíticas empleadas para su caracterización y sus propiedades biológicas. Sin embargo, también se encuentran trabajos publicados en donde se reportan los valores de las constantes de equilibrio de complejos Metal-MTF. Entre ellos se mencionan los siguientes.

En 1987, Abu-El-Wafa y colaboradores estudiaron el complejo de Cu^{2+} con MTF con estequiometría 1:2, determinando los logaritmos de las constantes de formación, siendo: $\log K_{f1}=7.17$ y $\log K_{f2}= 12.30$ (Abu-El-Wafa et al., 1987). En 2006, Roy y Mukherjee, también determinaron los logaritmos de las constantes de formación entre el Cu^{2+} y MTF siendo: $\log K_{f1}=6.74$ y $\log K_{f2}= 12.51$ (Roy & Mukherjee, 2006). Mientras que en 2020, Karaderi y colaboradores, determinaron: $\log K_{f1}=8.78$ y $\log K_{f2}= 16.78$ (Karaderi et al., 2020).

3. JUSTIFICACIÓN

En el sector salud, es necesario implementar nuevos fármacos que ayuden a mejorar la salud de las personas con enfermedades crónico-degenerativas tales como la Diabetes Mellitus Tipo 2, es por ello que en este trabajo se estudiará la interacción de metformina con los iones metálicos Cu^{2+} y VO^{2+} en disolución acuosa mediante Titulación Calorimétrica Isotérmica (ITC) para determinar los parámetros termodinámicos de la complejación, generando información química fundamental para el diseño de nuevos fármacos con mayor actividad terapéutica y con menos efectos secundarios.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Estudiar el perfil termodinámico de la formación de los complejos entre metformina (MTF) y los iones metálicos Cu^{2+} y VO^{2+} en disolución acuosa a 25 °C mediante Titulación Calorimétrica Isotérmica.

4.2 Objetivos Particulares

Determinar las estequiometrías de los complejos formados de los sistemas $\text{Cu}^{2+}/\text{MTF}$ y $\text{VO}^{2+}/\text{MTF}$.

Obtener los parámetros termodinámicos como la constante de formación (K_f), el cambio de entalpía (ΔH°), la energía libre de Gibbs (ΔG°) y el cambio de entropía (ΔS°) de la formación de los complejos en los sistemas $\text{Cu}^{2+}/\text{MTF}$ y $\text{VO}^{2+}/\text{MTF}$.

Comparar los factores entálpicos y entrópicos de la interacción y establecer cuál de ellos favorece el fenómeno de complejación.

5. METODOLOGÍA

5.1 Reactivos, equipos y software

5.1.1 Reactivos

Clorhidrato de metformina (MTF·HCl), Sigma Aldrich (97 %); Sulfato de Vanadilo (VOSO_4), Sigma-Aldrich (97 %); Nitrato de Cobre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$), Aldrich-Chem. Co. (99.99 %); 1,10-Ortofenantrolina (99.5 %), Merck; Fosfato de sodio dibásico anhídrico (NaHPO_4), Fermont (99.7 %); Fosfato de Sodio monobásico (NaH_2PO_4), Sigma-Aldrich (99 %); NaOH, Baker (98.6 %); HCl, Baker (40 %). Todas las soluciones se prepararon con agua desionizada (18.2 M Ω cm). El nitrato de cobre y sulfato de vanadilo se colocaban en el desecador para eliminar el exceso de humedad en el reactivo.

5.1.2 Equipos

Balanza Analítica Ohaus PA214, Pioneer (± 0.0001 g); potenciómetro pH/conductividad SevenMulti S47, Mettler Toledo (± 0.001 unidades de pH); electrodo combinado de vidrio de $\text{Ag}^\circ|\text{AgCl} [\text{KCl}, 3\text{M}]$ marca HACH con rango de medición de 0-14 (± 0.002 unidades de pH); desionizador ELGA Purelab Classic; calorímetro MicroCal VP-ITC, G. E, Healthcare; degasificador MicroCal ThermoVac, G. E.; un espectrofotómetro Perkin Elmer, Lambda 35; y celdas de cuarzo de 1 cm de longitud de paso óptico.

5.1.3 Software

MicroCal PEAQ-ITC Analysis Software, versión 0.9.0.1252, 2015 Malvern Instruments Ltd., Worcestershire WR14 1XZ (Instruments, 2015).

5.2 Determinación de los pK_a de Metformina

Como parte inicial a la experimentación por ITC, se determinaron los valores de los logaritmos negativos de las constantes de disociación ácida (pK_a) de la MTF en solución acuosa por espectrofotometría UV a 25 °C. Tener conocimiento de su valor de pK_a permitirá tener una mayor comprensión de su especiación química con más precisión al variar el pH.

Se prepararon disoluciones de MTF·HCl 1×10^{-4} M en medio ácido y básico, utilizando disoluciones de HCl y NaOH 0.1 M en cada caso, las cuales presentaron valores de pH de 1.422 y 12.877, respectivamente. Se realizó una valoración ácido-base tomando una alícuota de 25 mL de MTF·HCl en medio ácido y se hicieron adiciones de MTF·HCl en medio básico, de tal manera que el pH variara 0.2 unidades aproximadamente; a cada uno de estos valores se le tomó su espectro de absorción. De forma similar, también se realizó la valoración desde medio básico a ácido desde un valor de pH inicial igual a 12.917 hasta 1.109. Los espectros de absorción fueron tomados en la región ultravioleta en el intervalo de 200 a 400 nm.

5.3 Titulaciones calorimétricas

Se usó la ITC para determinar los parámetros termodinámicos: constante de formación (K_f), entalpía (ΔH°), energía libre de Gibbs (ΔG°) y entropía (ΔS°), de los complejos formados entre la MTF y los iones metálicos Cu^{2+} y VO^{2+} a 25 °C en disolución acuosa. Previamente, se exploraron los complejos de Cu^{2+} /Ofen y VO^{2+} /Ofen como sistema modelo por tener nitrógenos en su estructura que forman enlaces fácilmente con iones metálicos. En la Tabla 4, se muestran los sistemas estudiados en este trabajo.

Tabla 4. Sistemas de Cu^{2+} y VO^{2+} con ortofenantrolina (Ofen) y metformina (HMTF+).

Sistemas estudiados M/L	Descripción
1	Cu^{2+} y Ofen
2	VO^{2+} y Ofen
3	Cu^{2+} y MTF
4	VO^{2+} y MTF

Como fuente de MTF, Ofen, Cu^{2+} y de VO^{2+} se emplearon clorhidrato de metformina, 1,10-ortofenantrolina, cloruro de cobre y el sulfato de vanadilo, respectivamente.

Cabe mencionar que, para todas las valoraciones calorimétricas, tanto la celda de reacción como la microbureta, fueron lavadas exhaustivamente, realizando para ello 3 lavados con agua desionizada, 3 con etanol y nuevamente 3 con agua.

En la celda de reacción se colocó la disolución del ion metálico, ya sea Cu^{2+} o VO^{2+} , y en la jeringa se colocó la disolución del ligante (Ofen o MTF). Para las determinaciones del calor de dilución, se llevó a cabo una valoración calorimétrica colocando agua desionizada en la celda de reacción, así como el ligante en la jeringa; y usando las mismas condiciones experimentales que en la titulación de reacción. Tanto en la valoración de la reacción entre M y L, así como para la determinación del calor de dilución, la celda de referencia se llenó con agua desionizada. Los datos experimentales de reacción y dilución se trataron en el software PEAQ-ITC para ajustar la curva de enlace mediante una regresión no lineal y proponiendo al programa un modelo de dos equilibrios para la formación de los complejos ML y ML_2 de acuerdo con las ecuaciones (8) y (9).

En las siguientes secciones (5.3.1 – 5.3.4) se describen a detalle la forma y las condiciones en que se estudiaron los sistemas Cu^{2+} /Ofen, VO^{2+} /Ofen, Cu^{2+} /MTF y VO^{2+} /MTF. Cabe mencionar que las valoraciones calorimétricas se realizaron por duplicado.

5.3.1 Sistemas Cu^{2+} /Ortofenantrolina

Para determinar la estequiometría y los parámetros termodinámicos de los complejos formados entre Cu^{2+} y Ofen (sistema Cu^{2+} /Ofen), se realizaron diferentes experimentos variando la relación molar (RM); las concentraciones de ambos componentes y demás parámetros experimentales se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Parámetros experimentales para el estudio de la formación de complejos del sistema Cu^{2+} /Ofen en disolución acuosa a 25 °C por ITC.

Experimento	1a	1b	1c
RM *	2.5	1.4	1.5 – 2.5
[Cu^{2+}] (mM) *	0.104	0.139	0.104
[Ofen] (mM) *	1.154	0.953	1.15
Núm. inyecciones	28	21	24
Vol. de inyección (mL)	10	14	5
Duración de inyección (s)	28	28	10
Espaciado entre inyecciones (s)	250	250	250

Velocidad de agitación (rpm)	307	307	307
-------------------------------------	-----	-----	-----

* Valores de acuerdo con la masa real de los reactivos utilizados.

5.3.2 Sistemas VO²⁺/Ortofenantrolina

Para el estudio del sistema vanadilo con ortofenantrolina (VO²⁺/Ofen), se realizaron múltiples experimentos utilizando una relación molar de RM=2.5 y variando el valor del parámetro c como se muestra en la Tabla 6. Recordando que $c = N K_f [M]_t$, entonces para establecer un valor de c se utilizaron los valores reportados por Duma y Hancock de las constantes de formación de las especies VO(Ofen)²⁺ y VO(Ofen)₂²⁺ (Duma & Hancock, 1994). Al variar el valor del parámetro c , se busca que las sigmoides en las curvas de enlace presenten diferentes pendientes en los cambios bruscos de Q . En la Tabla 6, se presentan las condiciones de trabajo de los diferentes experimentos realizados para determinar los parámetros termodinámicos de la formación de complejos en el sistema VO²⁺/Ofen. Como se puede observar en la tabla, el valor de c aumenta al aumentar las concentraciones de las disoluciones.

Tabla 6. Parámetros experimentales para el estudio de la formación de complejos del sistema VO²⁺/Ofen en disolución acuosa a 25 °C por ITC.

Experimento	2a	2b	2c	2d
RM *	2.41	2.41	2.41	2.41
c *	97	147	246	320
[VO²⁺] (mM) *	0.28	0.46	0.78	0.98
[Ofen] (mM) *	3.58	5.98	9.98	12.6
Núm. inyecciones	30	30	30	30
Vol. de inyección (mL)	9	9	9	9
Duración de inyección (s)	18	18	18	18
Espaciado entre inyecciones (s)	240	240	240	240
Velocidad de agitación (rpm)	307	307	307	307

* Valores de acuerdo con la masa real de los reactivos utilizados.

5.3.3 Sistemas Cu²⁺/Metformina

Para el estudio del sistema Cu²⁺/MTF, se realizaron valoraciones calorimétricas a valores de RM de 3.5 y 2.3, de acuerdo con los parámetros experimentales mostrados en la Tabla 7. Cabe mencionar que el clorhidrato de metformina al contacto con el agua, la especie presente de MTF es la especie monoprotonada, HMTF⁺ (ver Figura 23). La experimentación empleando una RM=3.5 se realizó por triplicado con la finalidad de verificar la reproducibilidad de los resultados y comprobando a su vez, que el equipo estuviera libre de impurezas.

Tabla 7. Parámetros experimentales para el estudio de la formación de complejos del sistema Cu²⁺/MTF en disolución acuosa a 25 °C por ITC.

Experimento	3a	3b
RM *	3.5	2.3
[Cu²⁺] (mM) *	1	1.022
[HMTF⁺] (mM) *	17.8	12.5
Núm. inyecciones	25	30
Vol. de inyección (mL)	11	9
Duración de inyección (s)	22	18
Espaciado entre inyecciones (s)	250	240
Velocidad de agitación (rpm)	307	307

* Valores de acuerdo con la masa real medida de los reactivos.

5.3.4 Sistemas VO²⁺/Metformina

Para determinar los parámetros termodinámicos y la estequiometría de los complejos formados en el sistema VO²⁺/MTF, se realizaron tres experimentos a un valor de relación molar (RM) de 2.41 variando las concentraciones de VO²⁺ y HMTF⁺ de manera proporcional, y otro experimento usando una RM=4. En la Tabla 8 se muestran las condiciones de trabajo empleadas en cada experimento bajo estudio.

Tabla 8. Parámetros experimentales para el estudio de la formación de complejos del sistema VO²⁺/MTF en disolución acuosa a 25 °C por ITC.

Experimento	4a	4b	4c	4d
RM *	2.41	2.41	2.41	4
[VO²⁺] (mM) *	0.30	0.996	1.55	0.707
[HMTF⁺] (mM) *	3.86	12.6	19.4	13.6
Núm. inyecciones	20	30	20	40
Vol. de inyección (mL)	14	9	14	7
Duración de inyección (s)	28	18	28	14
Espaciado entre inyecciones (s)	250	240	250	240
Velocidad de agitación (rpm)	307	307	307	307

* Valores de acuerdo con la masa real de los reactivos utilizados.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 pK_a s de Metformina

La familia de espectros de absorción para la valoración desde medio ácido a medio básico se muestra en la Figura 21a, mientras que la familia de espectros obtenida para la valoración de medio básico a medio ácido se muestra en la Figura 21b. La región que se utilizó en el tratamiento de resultados para la obtención de los valores de pK_a , fue de 221-280 nm. En las Figuras 21a y 21b se observan un máximo de absorbancia ($A_{máx}$) a una longitud de onda (λ) de 232 nm aproximadamente. También se observa un punto isobéptico a una $\lambda \approx 222$ nm indicando la existencia de al menos un equilibrio químico ácido-base, asociado a una constante de acidez. La flecha indica el sentido de la variación de pH desde el pH inicial al pH final en cada caso.

A partir de la Figuras 21, fue posible construir curvas de absorbancia en función del pH a diferentes longitudes de onda. Estas curvas se muestran en la Figura, construidas para cada una de las valoraciones llevadas a cabo: de medio ácido a básico, y de básico a ácido. En ambos gráficos, es posible apreciar que en cada curva, se forman dos curvas sigmoideas en las que los cambios drásticos en la absorbancia se dan en los intervalos de pH de 2.6 a 4.3 y de 11.4 a 12.4. Las dos curvas sigmoideas indican la existencia de 2 valores de pK_a , evidenciando la existencia de dos equilibrios químicos ácido-base del sistema de MTF.

Para confirmar lo anterior, se hace uso del programa computacional SQUAD para refinar las constantes de formación global a partir de los resultados espectrofotométricos (D. J. Leggett, 1985; D. Leggett & McBryde, 1975). Con estas constantes es posible obtener los valores de pK_a haciendo uso de la Ley de Hess.

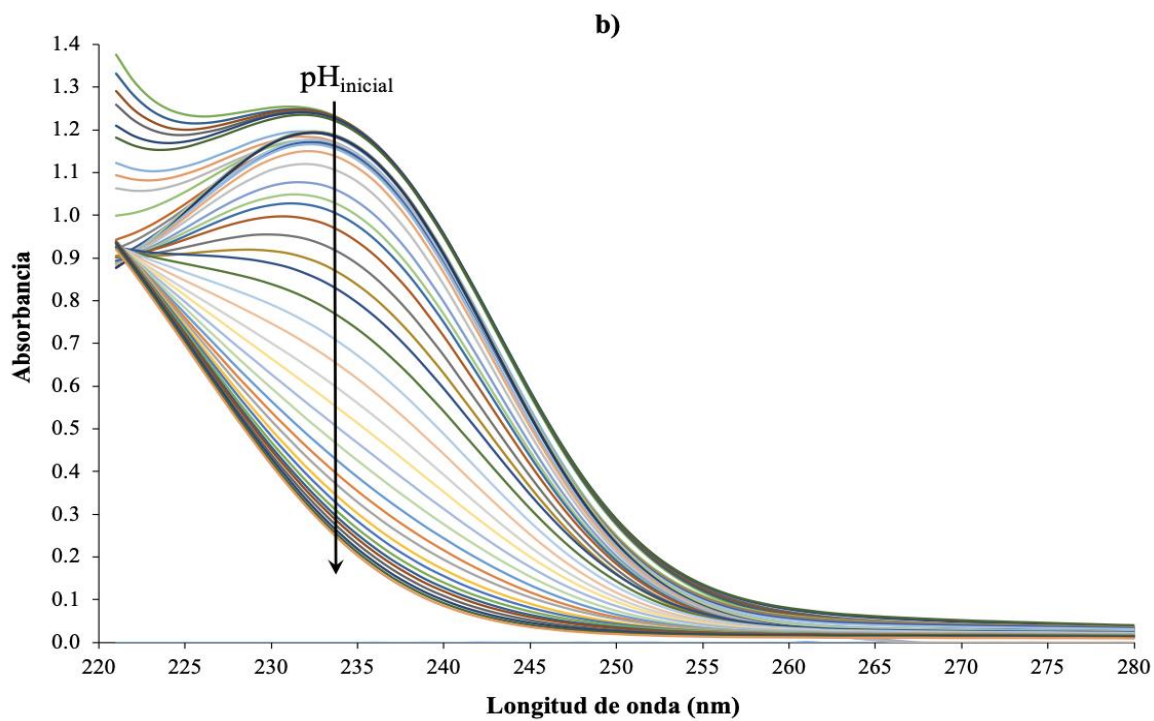
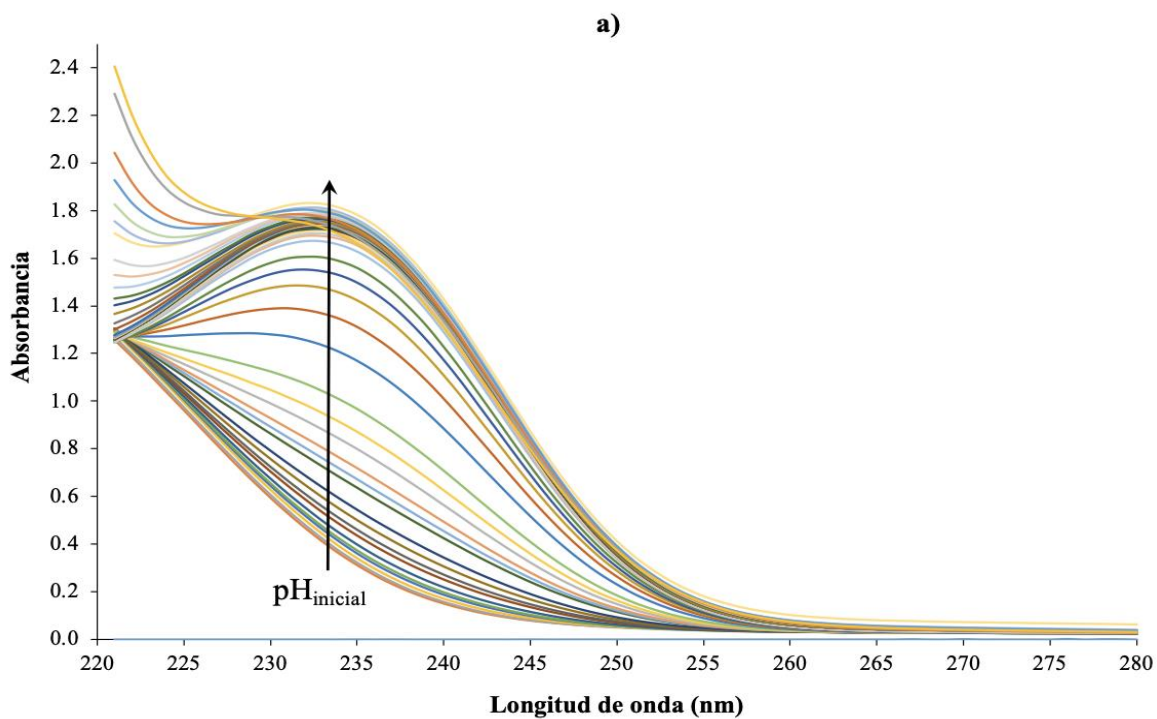


Figura 21. a) Espectros de absorción obtenidos en la valoración de $\text{MTF}\cdot\text{HCl } 1\times 10^{-4} \text{ M}$ en medio ácido, valorada con $\text{MTF}\cdot\text{HCl } 1\times 10^{-4} \text{ M}$ en medio básico. b) Espectros de absorción obtenidos en la valoración de MTF de medio ácido a medio básico a la misma concentración.

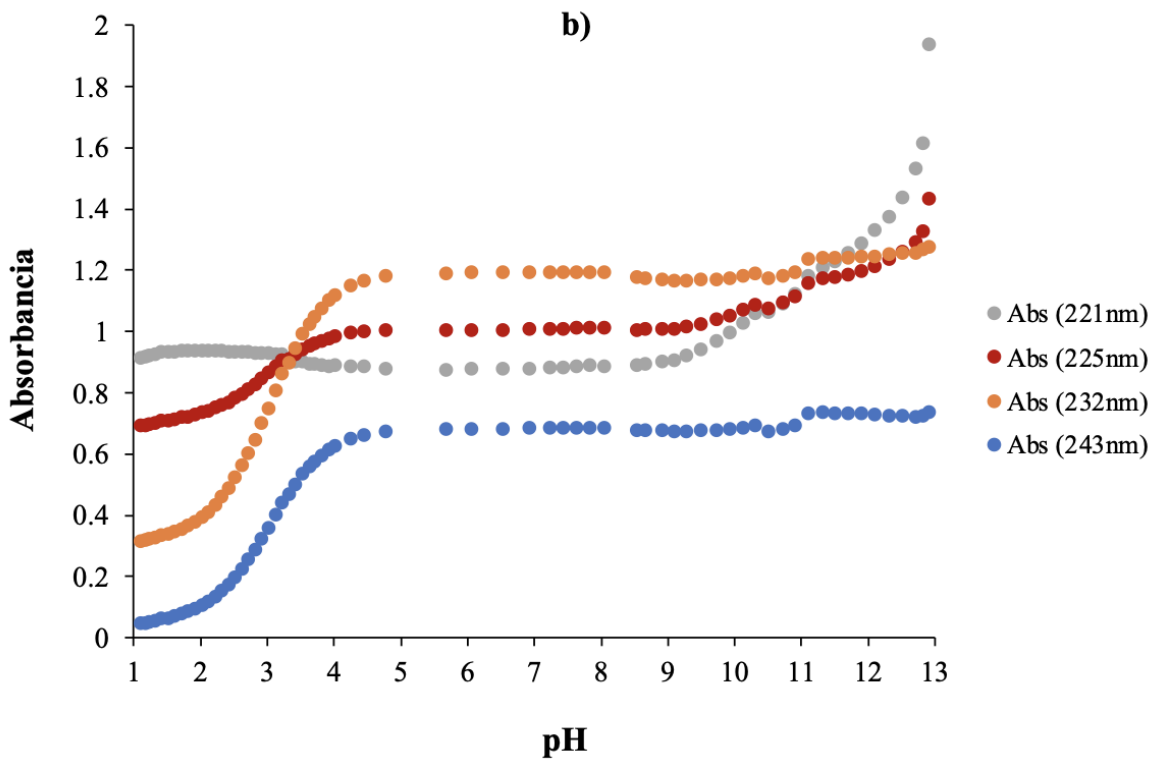
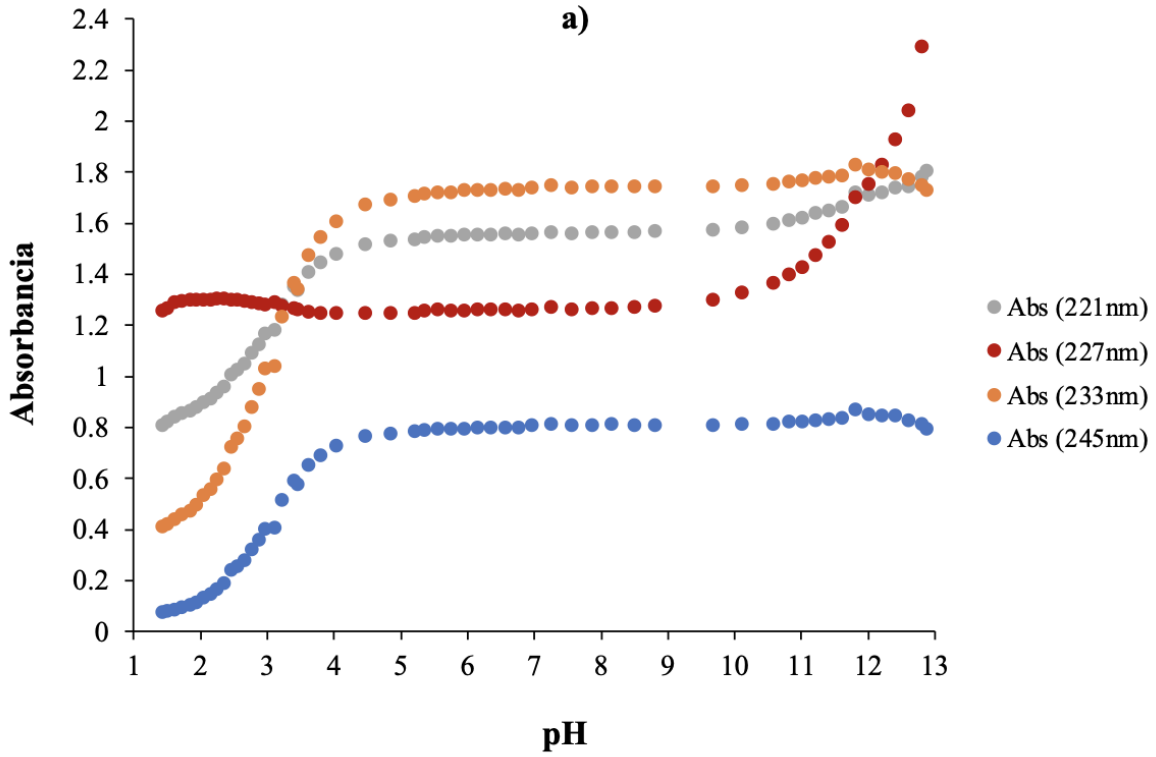
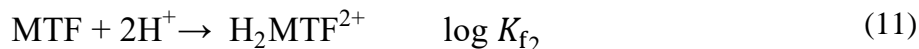


Figura 22. Variación de la absorbancia en función del pH a diferentes longitudes de onda. Valoración de MTF·HCl 1×10^{-4} M a) de medio ácido a básico y b) de medio básico a ácido.

El programa SQUAD se alimentó con un modelo de dos equilibrios de formación global, como se muestran en las ecuaciones 10 y 11.



Los resultados obtenidos de las constantes de formación global ($\log K_f$) de estas especies refinadas con SQUAD, se muestran en la Tabla 9, también se muestran los parámetros estadísticos que proporciona el programa.

Tabla 9. Logaritmos de las constantes de formación global ($\log \beta_j$) de las especies de metformina, desviación estándar de las constantes (σ_{const}), desviación estándar de los datos de absorbancia (σ_{datos}) y la suma de los residuales al cuadrado (U); j es el número de H^+ .

Valor de j	Especie	$\log K_{f_j}$	σ_{const}	σ_{datos}	U
1	HMTF^+	11.8364	0.0133	1.7497×10^{-2}	8.7708×10^{-1}
2	$\text{H}_2\text{MTF}^{2+}$	14.8867	0.0137		

A partir de los equilibrios de formación global fue posible obtener los valores de $\text{p}K_a$ para los equilibrios de disociación ácida que se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10. Valores de $\text{p}K_{a_i}$ refinados por SQUAD para el sistema de MTF en disolución acuosa a 25 °C.

Valor de i	Equilibrio	$\text{p}K_{a_i}$
1	$\text{H}_2\text{MTF}^{2+} \rightarrow \text{HMTF}^+ + \text{H}^+$	3.05
2	$\text{HMTF}^+ \rightarrow \text{MTF} + \text{H}^+$	11.84

Al comparar los valores de pK_a obtenidos en este trabajo con los datos reportados en la literatura (Tabla 2), se observa que los valores de pK_{a1} y pK_{a2} refinados por SQUAD son aproximadamente 0.2 unidades por arriba de los reportados por Bretnall, Hernández, Koteswara, entre otros. Con esta información es posible saber qué especies de metformina son las que predominan a ciertos valores de pH como se muestra en la Figura 23.

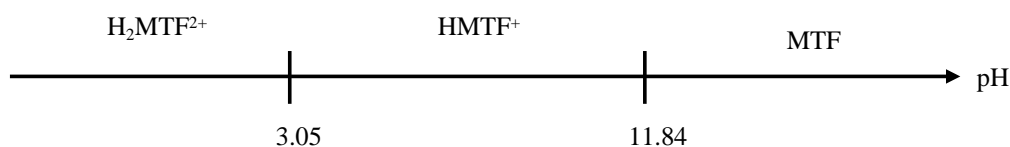


Figura 23. Escala de zonas de predominio lineal de especies del sistema de metformina en solución a 25 °C, por espectrofotometría UV-Vis.

6.2 Parámetros termodinámicos de la complejación

6.2.1 Sistema Cu^{2+} /Ortofenatrolina

En la Figura 24, se muestran los termogramas y las curvas de enlace obtenidos al realizar las valoraciones calorimétricas de Cu^{2+} con Ofen a valores de relación molar (RM) igual a 2.5 (Figura 24a), 1.4 (Figura 24b) y en el intervalo de RM de 1.5 a 2.5 (Figura 24c).

En la Figura 24a, se observa que en el termograma (gráfico superior), los picos están orientados hacia abajo indicando que el proceso de interacción entre Cu^{2+} y Ofen es exotérmico. En la curva de enlace (gráfico inferior) se observa claramente que la relación molar (RM) alcanzada al hacer todas las adiciones es de 2.5. Cuantitativamente, cuando la $RM=1$, la cantidad de sustancia agregada del valorante (Ofen) es igual a la cantidad del analito (Cu^{2+}), por lo que, a este valor, se espera que se favorezca la mayor formación del complejo de estequiometría 1:1 ($CuOfen^{2+}$). Para un valor de $RM=2$, la cantidad del valorante es el doble que la del analito, por lo que en este caso, se espera la mayor formación del complejo de estequiometría 1:2 ($Cu(Ofen)_2^{2+}$). La curva de enlace presenta una sigmoide muy marcada en donde el cambio brusco de la propiedad de Q se da a un valor de RM de 0.8, valor muy cercano a 1. Este comportamiento en la curva, indica que se lleva a cabo una reacción muy cuantitativa; mientras que a un valor de $RM=2$, no hay una sigmoide bien

definida, sin embargo, la curva no presenta un comportamiento lineal que indique solo un efecto de dilución. Por lo tanto, para ajustar esta curva de enlace usando el software PEAQ-ITC, se decidió alimentar al programa usando un modelo de dos equilibrios como se indica en las ecuaciones (8) y (9). También se observa que, en la curva de enlace, hay un buen ajuste a los datos experimentales usando el programa PEAQ-ITC, determinando así los parámetros termodinámicos que se muestran en la Tabla 11 (Experimento 1a).

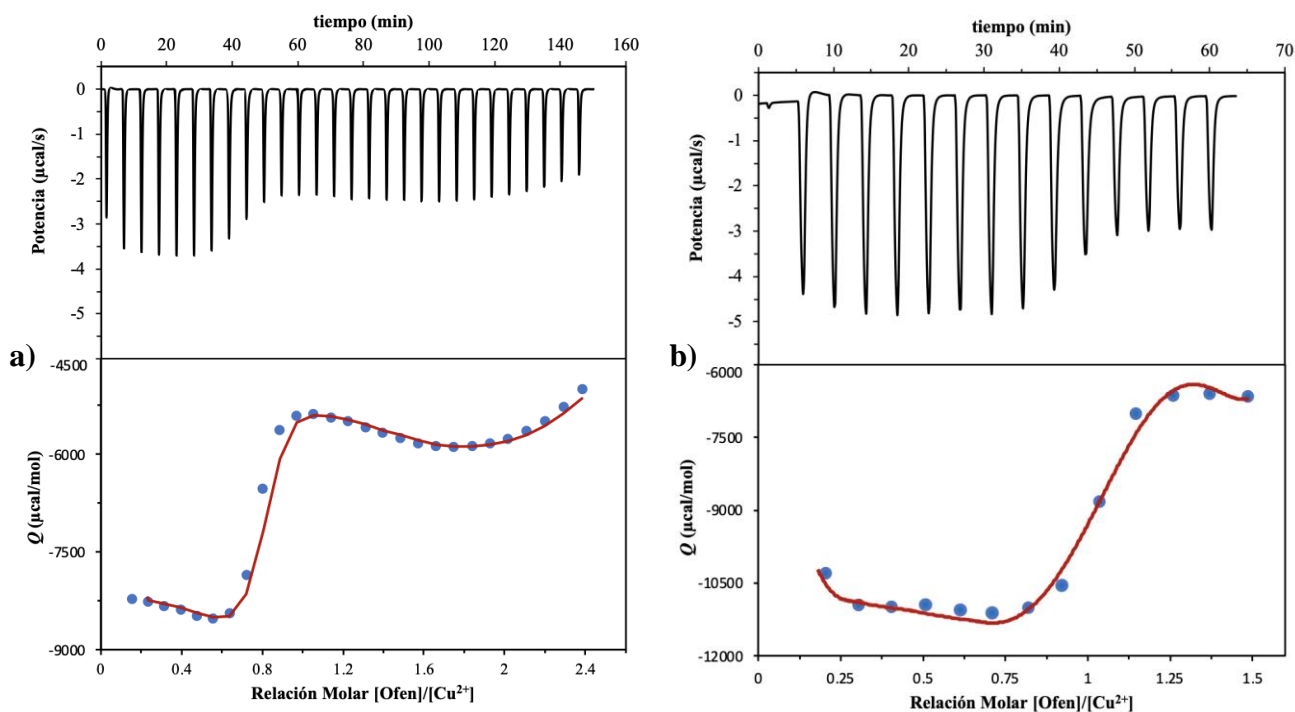
Para confirmar los resultados termodinámicos, se decidió hacer una valoración calorimétrica en la que se llegara a una RM de 1.4 (*Experimento 1b*), para refinar sólo los parámetros del complejo 1:1 (CuOfen^{2+}). El termograma y la curva de enlace obtenidos, se muestra en la Figura 24b. En la Tabla 11 se muestran los valores de los parámetros termodinámicos obtenidos en esta valoración (experimento 1b).

De forma similar se realizó un tercer experimento (*Experimento 1c*), pero ahora para refinar los parámetros termodinámicos del complejo de estequiometría 1:2 ($\text{Cu}(\text{Ofen})_2^{2+}$). Para ello se decidió hacer una primera adición de valorante (Ofen) de tal manera que se llegara a una $\text{RM}=1.5$, y posteriormente, al ir haciendo las siguientes adiciones, se alcanzara una $\text{RM}=2.5$, ya que al pasar por $\text{RM}=2$, se favorece la formación del complejo 1:2. El termograma y la curva de enlace obtenidos, se muestra en la Figura 24c. Los parámetros obtenidos al ajustar la curva de enlace utilizando el programa PEAQ-ITC se muestran en la Tabla 11 (Experimento 1c).

Los resultados de los parámetros termodinámicos para los complejo CuOfen^{2+} y $\text{Cu}(\text{Ofen})_2^{2+}$ obtenidos al ajustar los datos experimentales usando el programa PEAQ-ITC de los Experimentos 1a, 1b y 1c se muestran en la Tabla 11.

Analizando los termogramas de las Figuras 24a, b y c, todos los picos están orientados hacia abajo, esto indica que el proceso de formación de los complejos de estequiometría 1:1 y 1:2 es exotérmico; esto se confirma con los valores negativos de la entalpía de reacción ΔH°_1 que se muestran en la Tabla 11. Las curvas de enlace de las Figuras 24a, b y c presentan una forma similar de acuerdo con las diferentes regiones de RM enfocadas en cada experimento. El programa PEAQ-ITC ajustó bien los datos experimentales, logrando así, la obtención de los parámetros termodinámicos.

En la Tabla 11 se muestran los parámetros termodinámicos obtenidos usando PEAQ-ITC para los complejo CuOfen^{2+} y $\text{Cu}(\text{Ofen})_2^{2+}$. En el Experimento 1a, se muestran los resultados de forma simultánea para los complejo CuOfen^{2+} (N_1) y $\text{Cu}(\text{Ofen})_2^{2+}$ (N_2); los resultados para el Experimento 1b corresponden al complejo CuOfen^{2+} (N_1); mientras que para el Experimento 1c, se logró refinar el perfil termodinámico para el complejo $\text{Cu}(\text{Ofen})_2^{2+}$ (N_2). Cabe notar que los parámetros termodinámicos para el complejo de estequiometría 1:1 son muy similares entre los Experimentos 1a y 1b, esto porque ambos experimentos pasan por una $\text{RM}=1$; es decir, las cantidades de sustancia entre Cu^{2+} y Ofen se igualan. Al comparar los valores termodinámicos obtenidos para el complejo de estequiometría 1:2 en los Experimentos 1a y 1c, se puede ver que los parámetros también son similares entre sí, lo cual confirma los resultados determinados para el complejo 1:2.



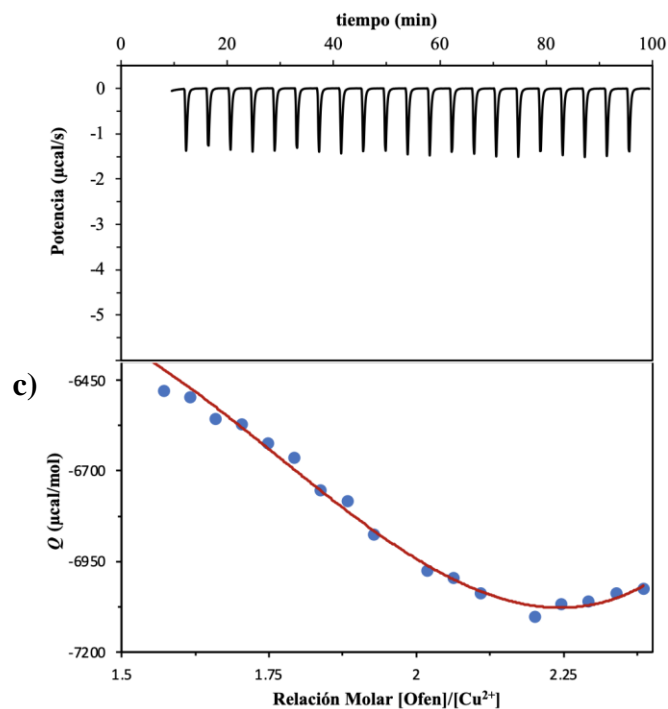


Figura 24. Termogramas (parte superior) e isothermas de enlace (parte inferior) de la complejación de Cu^{2+} con Ofen a diferentes valores de relación molar a $25\text{ }^\circ\text{C}$ por ITC. a) $\text{RM}=2.5$, b) $\text{RM}=1.4$, y c) $\text{RM}=1.5$ a 2.5 . En las curvas de enlace, los marcadores representan los datos experimentales, y la línea continua corresponde al ajuste de la curva usando el programa PEAQ-ITC.

Tabla 11. Parámetros termodinámicos de la complejación entre Cu^{2+} y Ofen a $25\text{ }^\circ\text{C}$.

Experimento	1a	1b	1c
RM	2.5	1.4	1.5 – 2.5
N_1	1	1	—
$\log K_{f1}$	9.09 ± 0.04	8.98 ± 0.12	—
ΔH°_1 (kcal/mol)	-5.11 ± 0.14	-5.36 ± 0.11	—
$-T\Delta S^\circ_1$ (kcal/mol)	-7.29	-6.89	—
ΔG°_1 (kcal/mol)	-12.40	-12.25	—
N_2	2	—	2
$\log K_{f2}$	6.70 ± 0.02	—	6.34 ± 0.05
ΔH°_2 (kcal/mol)	0.521 ± 0.050	—	0.566 ± 0.05
$-T\Delta S^\circ_2$ (kcal/mol)	-9.66	—	-9.21
ΔG°_2 (kcal/mol)	-9.14	—	-8.65

Recordando que $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$, es posible analizar la contribución entálpica y entrópica al valor de ΔG° . Entonces, para $N_1=1$, es decir, para la formación del complejo 1:1, tanto la entalpía como la entropía contribuyen al valor de ΔG° , siendo ligeramente la contribución de la entropía. En el caso de la formación del complejo de estequiometría 1:2 ($N_2=2$), es bastante evidente que la entropía es quien contribuye casi totalmente al valor de ΔG° , ya que ΔH° es muy pequeño.

6.2.2 Sistema VO^{2+} /Ortofenantrolina

En este apartado se muestran los resultados obtenidos de las valoraciones calorimétricas entre Ofen con el ion VO^{2+} ; realizadas a valores del parámetro c igual a 97, 147, 246 y 320 (*Experimentos 2a, 2b, 2c y 2d*). Las Figuras 25a, b, c y d muestra los termogramas (gráficos superiores) y las curvas de enlace (gráficos inferiores) de la complejación de VO^{2+} con Ofen a 25 °C para cada experimento. Todos los termogramas y curvas de enlace están corregidos restando el calor de dilución. En la Figura 25, todos los termogramas de cada experimento presentan picos con mayor magnitud orientados hacia abajo, esto indica que el proceso de interacción entre VO^{2+} y Ofen es exotérmico. Los gráficos correspondientes a las curvas de enlace presentan la misma tendencia entre los diferentes experimentos variando el valor del parámetro c ; también se observa que al usar el programa PEAQ-ITC para determinar los parámetros termodinámicos, se obtiene un buen ajuste a los datos experimentales. Cada isoterma de enlace se ajustó a un modelo de “dos sitios de enlace” usando estequiometrías VO^{2+} :Ofen de 1:1 y 1:2.

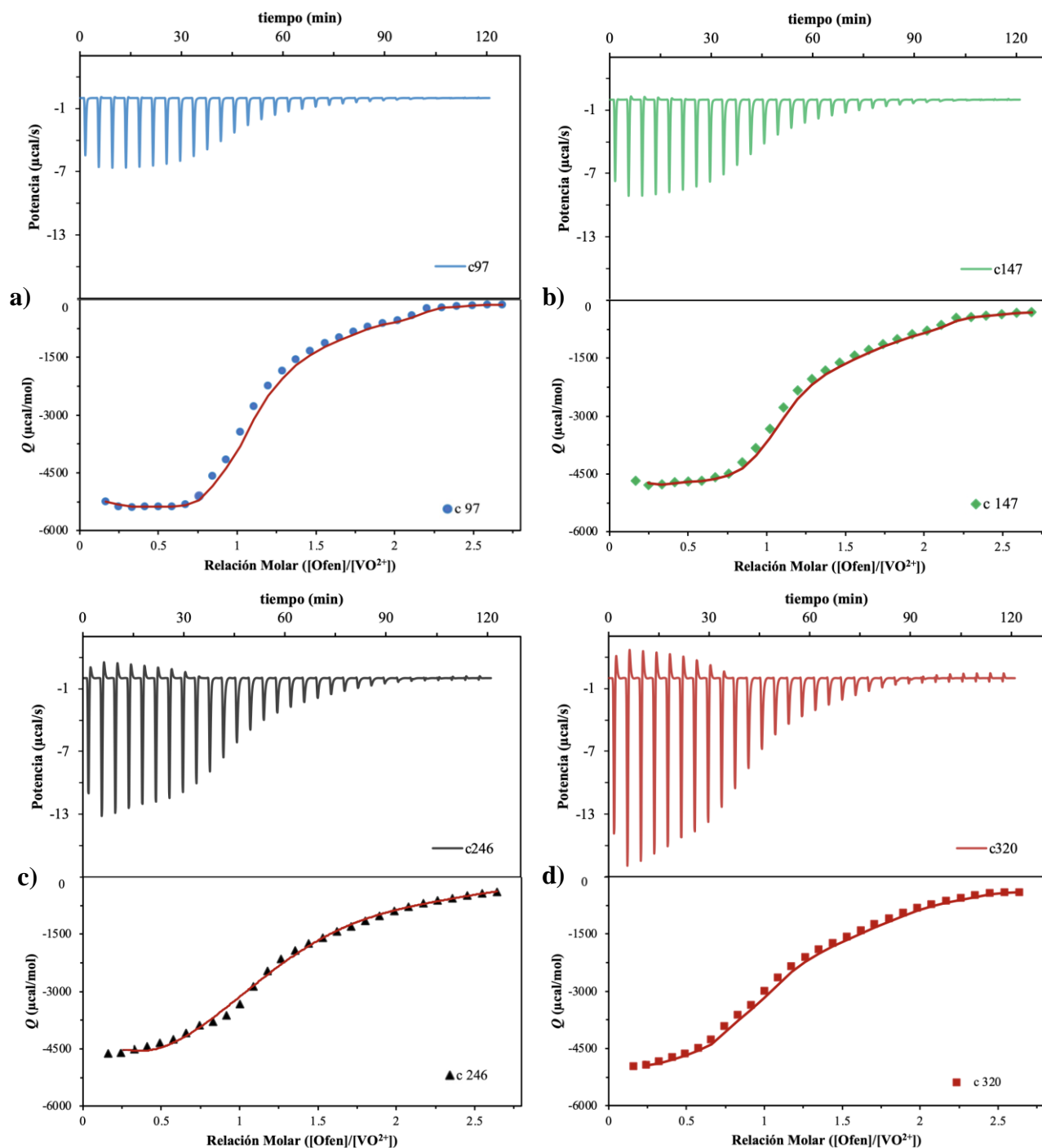


Figura 25. Termogramas (parte superior) e isothermas de enlace (parte inferior) de la complejación VO^{2+} con Ofen a diferentes valores del parámetro c a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por ITC. a) $c=97$, b) $c=147$, c) $c=246$ y d) $c=320$. En las curvas de enlace, los marcadores representan los datos experimentales, y la línea continua corresponde al ajuste de la curva usando el programa PEAQ-ITC.

Además, se decidió agrupar todos los termogramas en un mismo gráfico, así como también, agrupar las curvas de enlace con la finalidad de comparar sus magnitudes y la forma de las isotermas; estos gráficos se presentan en la Figura 26. En la Tabla 12 se muestran los resultados de los parámetros termodinámicos para cada valor de c .

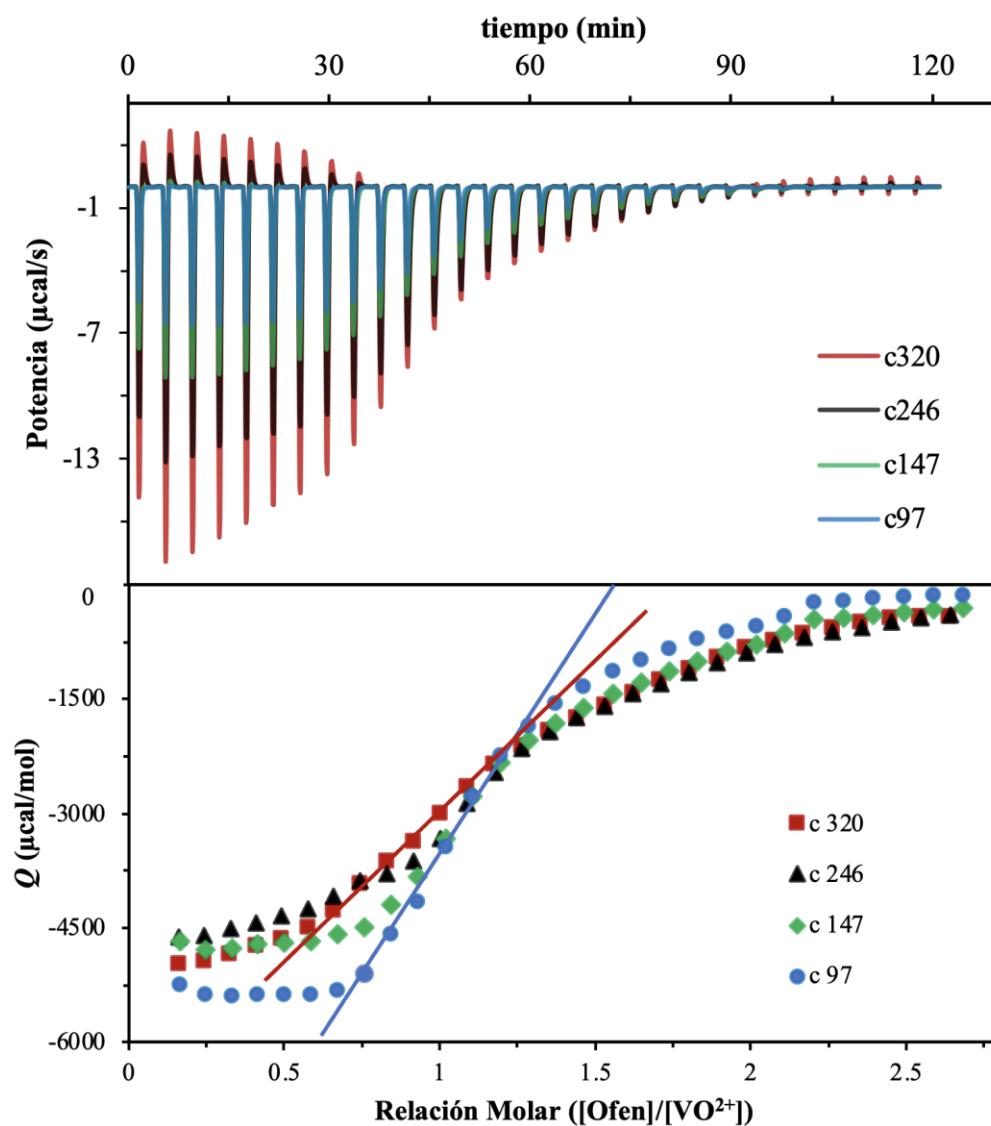


Figura 26. Termogramas (parte superior) e isotermas de enlace (parte inferior) de la complejación VO^{2+} con Ofen a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por ITC a valores del parámetro c igual a 97, 147, 246 y 320. En las curvas de enlace, se ha omitido la línea de ajuste para tener mayor visualización del comportamiento de las isotermas.

Tabla 12. Parámetros termodinámicos de la complejación entre VO²⁺ y Ofen a 25 °C.

Experimento	2a	2b	2c	2d
<i>c</i>	97	147	246	320
N ₁	1	1	1	1
log <i>K</i> _{t1}	5.69 ± 0.03	5.83 ± 0.02	5.69 ± 0.02	5.65 ± 0.02
Δ <i>H</i> ^o ₁ (kcal/mol)	-4.85 ± 0.08	-4.88 ± 0.07	-4.71 ± 0.08	-4.84 ± 0.06
- <i>T</i> Δ <i>S</i> ^o ₁ (kcal/mol)	-2.91	-3.07	-3.05	-2.87
Δ <i>G</i> ^o ₁ (kcal/mol)	-7.76	-7.95	-7.76	-7.71
N ₂	2	2	2	2
log <i>K</i> _{t2}	4.21 ± 0.03	4.21 ± 0.04	4.21 ± 0.03	4.24 ± 0.02
Δ <i>H</i> ^o ₂ (kcal/mol)	-0.26 ± 0.07	-0.28 ± 0.06	-0.14 ± 0.04	-0.27 ± 0.04
- <i>T</i> Δ <i>S</i> ^o ₂ (kcal/mol)	-5.48	-5.46	-5.60	-5.51
Δ <i>G</i> ^o ₂ (kcal/mol)	-5.74	-5.74	-5.74	-5.78

En la Tabla 12 se muestran los parámetros termodinámicos de los cuatro experimentos que refinó el programa PEAQ-ITC para los complejo VOOfen²⁺ y VO(Ofen)₂²⁺; usando un modelo de “dos sitios de enlace” para considerar la formación de los complejos de ambos complejos y fijando los valores de la estequiometría N₁=1 y N₂=2. Al comparar los valores de cada parámetro termodinámicos en los cuatros experimentos, se observa que éstos son similares entre sí. Siendo el valor más distante, el Δ*H*^o₂= -0.14 kcal/mol del experimento 2c, comparado con el Δ*H*^o₂ de los experimentos 2a, 2b y 2d con valores de -0.26, -0.28 y -0.27 kcal/mol. Cabe notar que, en la tabla, los valores de la entalpía (Δ*H*^o₁ y Δ*H*^o₂) tienen signo negativo, con lo que se confirma que el fenómeno de la complejación es exotérmico así como se había indicado en los termogramas al tener picos orientados hacia abajo de la línea base.

A partir de la ecuación de Δ*G*^o = Δ*H*^o - *T*Δ*S*^o, es posible analizar la contribución entálpica y entrópica al valor de Δ*G*^o. Para el complejo VOOfen²⁺ (N₁=1), tanto la entalpía como el término entrópico, contribuyen a la espontaneidad del proceso de complejación, siendo de mayor magnitud el termino entálpico. Para la formación del complejo VO(Ofen)₂²⁺, ambos términos, entálpico y entrópico, contribuyen al valor de Δ*G*^o; sin embargo, para este complejo, la entropía tiene mayor aportación a la espontaneidad al ser de mayor magnitud.

En cuanto al valor de los logaritmos de las constantes de formación, se observa que el complejo más estable es el de estequiometría 1:1 que el 1:2, debido a que $\log K_{f1} > \log K_{f2}$.

En la Figura 26, en los termogramas, se observa que la magnitud de la potencia para los diferentes experimentos presenta el siguiente orden decreciente de potencia: $c=320 > c=246 > c=147 > c=97$. En cuanto a las curvas de enlace, se observa que a menor valor de c ($c=97$), la pendiente es más grande; mientras que a mayor valor de c ($c=320$), la pendiente es menor. Sin embargo, este comportamiento no fue el esperado de acuerdo con Instruments TA, 2016, en donde mencionan que a mayor valor del parámetro c , se obtiene una pendiente más grande (Instruments TA, 2016).

Cabe aclarar que también se pretendía trabajar a un valor del parámetro $c=500$, sin embargo, al hacer los cálculos se tuvo que declinar debido a que la Ofen no era soluble a la concentración deseada.

6.2.3 Sistema Cu^{2+} /Metformina

Al realizar las valoraciones calorimétricas a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ para determinar los parámetros termodinámicos de los complejos formados entre HMTF^+ y el ion Cu^{2+} , se decidió alcanzar valores de relación molar (RM) de 3.5 y 2.3 (*Experimentos 3a* y *3b*). Los termogramas (gráficos superiores) y las curvas de enlace (gráficos inferiores) obtenidos, se muestran en la Figura 27. Todos los termogramas y curvas de enlace están corregidos restando el calor de dilución. Los termogramas presentan picos orientados hacia arriba, lo que indica que el proceso de complejación es endotérmico. De forma similar al estudio de los sistemas Cu^{2+} /Ofen y VO^{2+} /Ofen, también se decidió ajustar las curvas de enlace alimentando al programa PEAQ-ITC con un modelo de “dos sitios de enlace” y fijando los valores de $N_1=1$ y $N_2=2$ para obtener los valores de los parámetros termodinámicos. Los resultados de los parámetros termodinámicos para los complejo CuHMTF^{3+} y Cu(HMTF)_2^{4+} de las diferentes valoraciones calorimétricas realizadas, se muestran en la Tabla 13. Debido a que el experimento con $\text{RM}=3.5$ se realizó por triplicado para comprobar que el equipo no tuviera impurezas, y sobre todo para verificar la reproducibilidad de los resultados, en la Tabla 13 se muestran los resultados de las 3 valoraciones a $\text{RM}=3.5$, estos resultados son muy similares entre sí.

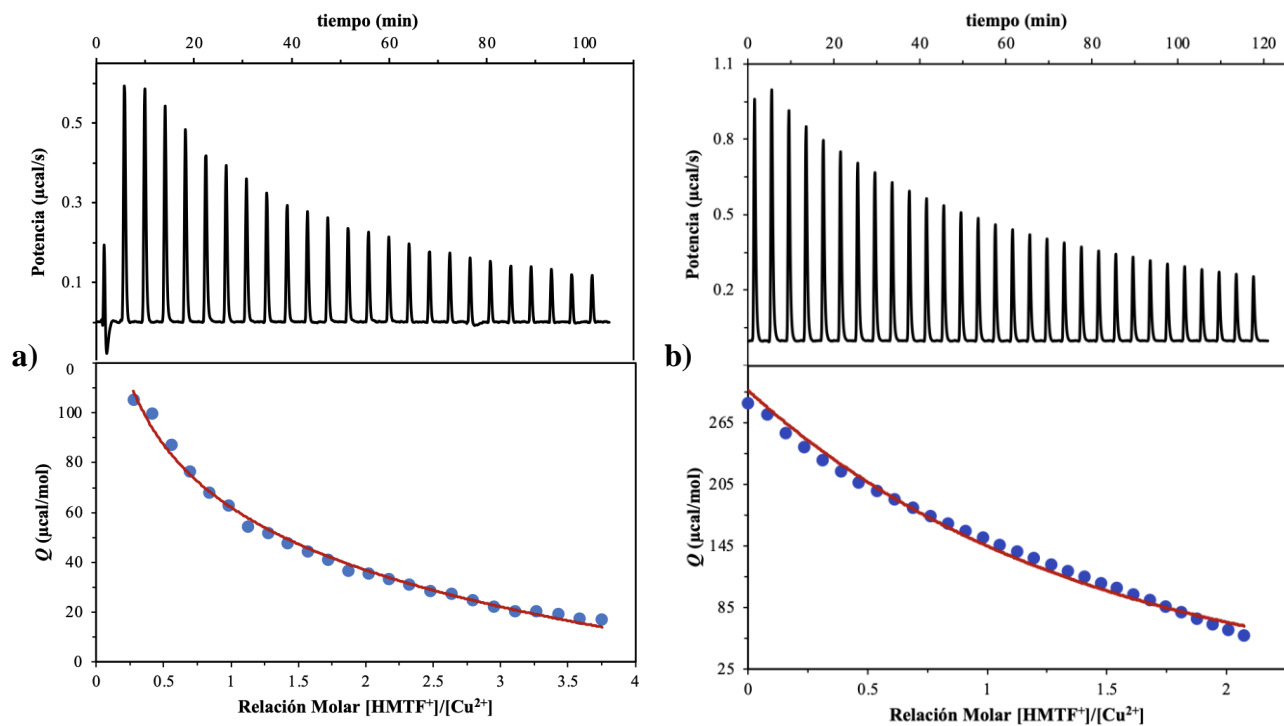


Figura 27. Termogramas (parte superior) e isothermas de enlace (parte inferior) de la complejación Cu^{2+} con HMTF^+ a diferentes valores de relación molar a 25 °C por ITC. a) $\text{RM}=3.5^*$, y b) $\text{RM}=2.3$. En las curvas de enlace, los marcadores representan los datos experimentales, y la línea continua corresponde al ajuste de la curva usando el programa PEAQ-ITC.

*A pesar de que la valoración calorimétrica a $\text{RM}=3.5$ se realizó por triplicado, solo se muestra una vez el termograma y la curva de enlace por ser reproducibles los resultados.

En la Tabla 13 se muestran los parámetros termodinámicos obtenidos usando PEAQ-ITC para los complejos CuHMTF^{3+} ($N_1=1$) y $\text{Cu}(\text{HMTF})_2^{4+}$ ($N_2=2$). Cabe notar que los parámetros termodinámicos para el complejo de estequiometría 1:1 y 2:2 son muy similares entre los Experimentos 3a y 3b. Al comparar los valores de cada parámetro termodinámicos en los cuatros experimentos, se observa que éstos son similares entre sí. Siendo el valor más distante, el $\Delta H^\circ_1 = -0.68$ kcal/mol del experimento 3b, comparado con el ΔH°_1 de los tres experimentos 3a con valores de -0.088 , -0.081 y -0.092 kcal/mol.

Cabe notar que los valores de la entalpía ΔH°_1 y ΔH°_2 tienen signo positivo, con lo que se confirma que el fenómeno de la complejación es endotérmico, así como lo indicaban los termogramas al tener picos orientados hacia arriba de la línea base.

A partir de la ecuación de $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$, es posible analizar la contribución entálpica y entrópica al valor de ΔG° . Para ambos complejos, CuHMTF^{3+} y Cu(HMTF)_2^{4+} , la contribución de la entropía tiene mucho mayor aportación a la espontaneidad, siendo $\Delta H^\circ_1 =$ un valor muy pequeño. En cuanto al valor de los logaritmos de las constantes de formación, se observa que el complejo más estable es el de estequiometría 1:1, debido a que $\log K_{f1} > \log K_{f2}$.

Tabla 13. Parámetros termodinámicos de la complejación entre Cu^{2+} y HMTF^+ a 25 °C por ITC.

Experimento	3a			3b
RM	3.5	3.5	3.5	2.3
N₁	0.925 ± 0.07	0.808 ± 0.051	0.871 ± 0.038	0.997 ± 0.007
log K_{f1}	6.79 ± 0.08	6.66 ± 0.09	6.68 ± 0.17	6.49 ± 0.02
ΔH°₁ (kcal/mol)	0.088 ± 0.008	0.081 ± 0.006	0.092 ± 0.006	0.168
-TΔS°₁ (kcal/mol)	-9.34	-9.15	-9.20	-9.02
ΔG°₁ (kcal/mol)	-9.25	-9.07	-9.11	-8.85
N₂	2.10 ± 0.05	2.21 ± 0.082	2.21 ± 0.123	2.01 ± 0.01
log K_{f2}	5.16 ± 0.06	5.17 ± 0.08	5.12 ± 0.14	5.33 ± 0.01
ΔH°₂ (kcal/mol)	0.035 ± 0.003	0.034 ± 0.003	0.043 ± 0.003	0.067 ± 0.003
-TΔS°₂ (kcal/mol)	-7.07	-7.09	-7.03	-7.32
ΔG°₂ (kcal/mol)	-7.04	-7.05	-6.98	-7.26

Finalmente, si comparamos los sistemas $\text{Cu}^{2+}/\text{Ofen}$ con $\text{Cu}^{2+}/\text{MTF}$, se observa que en ambos sistemas se forman los complejos de estequiometría 1:1 y 1:2. Se esperaba que el sistema $\text{Cu}^{2+}/\text{MTF}$ presentará un comportamiento termodinámico similar al del sistema $\text{Cu}^{2+}/\text{Ofen}$; sin embargo, se puede apreciar que el sistema con Ofen es un proceso exotérmico, mientras que el sistema con HMTF^+ es un proceso endotérmico. Además, cuando se forma el complejo de estequiometría 1:1 en el sistema con Ofen, tanto la entalpía como la entropía contribuyen a la espontaneidad, mientras que con HMTF^+ , el proceso es entrópico ya que la entalpía es casi nula. El complejo CuOfen^{2+} es más estable y espontáneo que el complejo CuHMTF^+ . En cuanto a la formación del complejo de estequiometría 1:2 para ambos sistemas, se determinó que para tanto Cu(Ofen)_2^{2+} como Cu(HMTF)_2^{4+} , el proceso de formación está favorecido por

la entropía. Sin embargo, el complejo $\text{Cu}(\text{Ofen})_2^{2+}$ es más estable y espontáneo que el complejo $\text{Cu}(\text{HMTF})_2^{4+}$.

6.2.4 Sistema VO^{2+} /Metformina

Debido a que en la literatura no se encontraron constante de complejación entre el VO^{2+} y la HMTF^+ , se optó por realizar las valoraciones calorimétricas a un valor de $\text{RM}=2.41$ variando las concentraciones de VO^{2+} y HMTF^+ , y una valoración en la que se alcanzó un valor de $\text{RM}=4$. En la Figura 28, se presentan los termogramas y las curvas de enlace de las valoraciones calorimétricas realizadas para estudiar el sistema VO^{2+} /MTF de los *Experimentos 4a, 4b y 4c* que se muestran en la Tabla 8. Todos los gráficos están corregidos restando el calor de dilución. En esta figura, no se presentan los gráficos correspondientes al *Experimento 4d* debido a que no se logró obtener un buen ajuste de la curva de enlace al utilizar el programa PEAQ-ITC. Los termogramas presentan picos hacia abajo indicando que el proceso de complejación es exotérmico. Se observa que en las curvas de enlace se obtiene un buen ajuste a los datos experimentales al usar un modelo de “dos sitios de enlace”, y al fijar los valores de $N_1=1$ y $N_2=2$. Los resultados de los parámetros termodinámicos para los complejo VOHMTF^{3+} y $\text{VO}(\text{HMTF})_2^{4+}$ se muestran en la Tabla 14.

En la Figura 28, durante el proceso de la valoración, la RM pasa por los valores de 1 y 2 en los tres experimentos (4a, 4b y 4c), valores en que es posible formar los complejos de estequiometría 1:1 y 1:2, respectivamente. Para las condiciones de trabajo empleadas en el experimento 4c, se forma una curva indicando que se lleva a cabo una reacción poco cuantitativa.

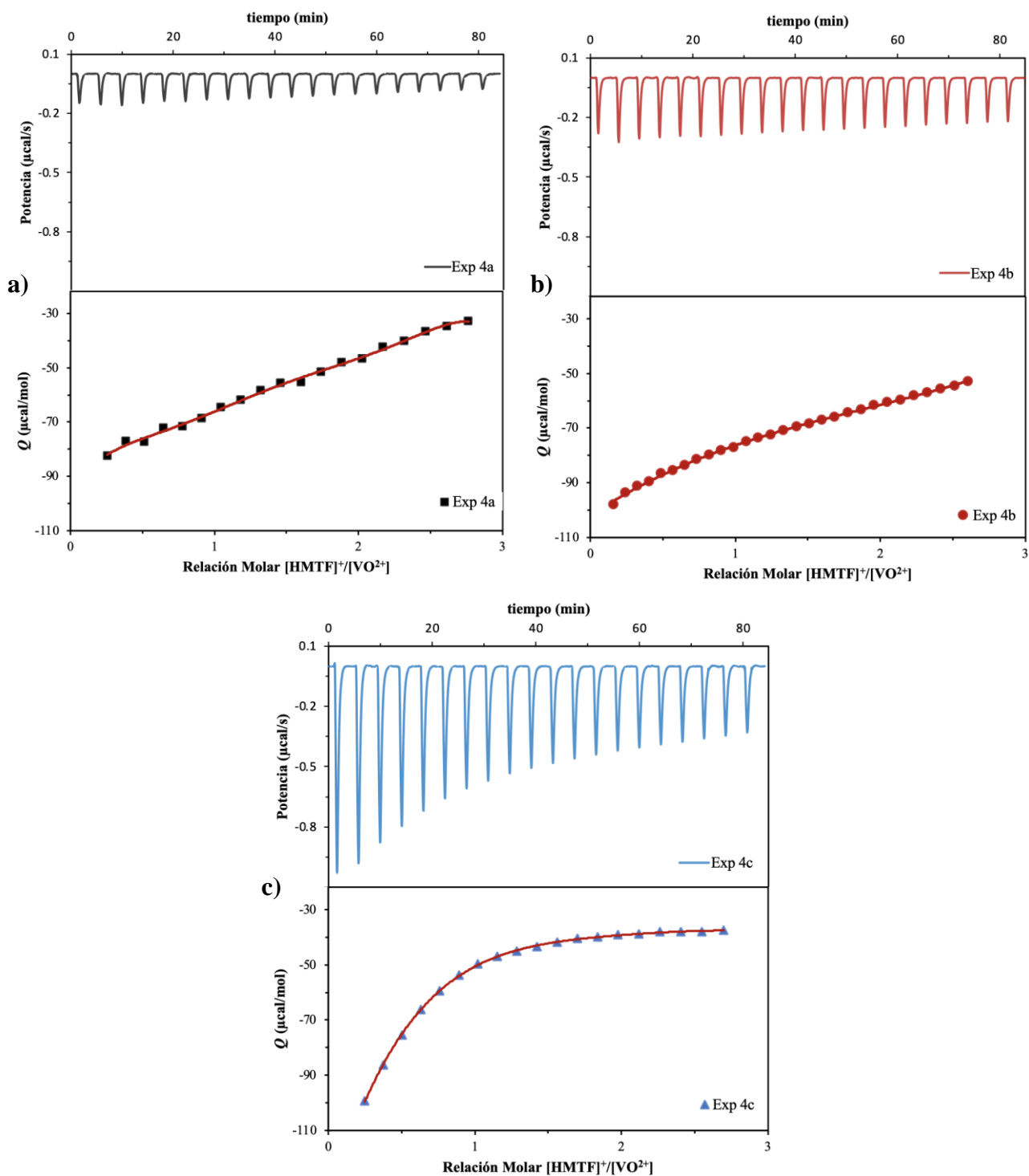


Figura 28. Termogramas (gráfico superior) e isothermas de enlace (gráfico inferior) de la complejación de VO^{2+} con HMTF^+ a relación molar de 2.41 variando concentraciones de ambos componentes, a $25\text{ }^\circ\text{C}$ por ITC. a) Experimento 4a, b) Experimento 4b, y c) Experimento 4c de acuerdo con la Tabla 8. En las curvas de enlace, los marcadores representan los datos experimentales, y la línea continua corresponde al ajuste de la curva usando el programa PEAQ-ITC.

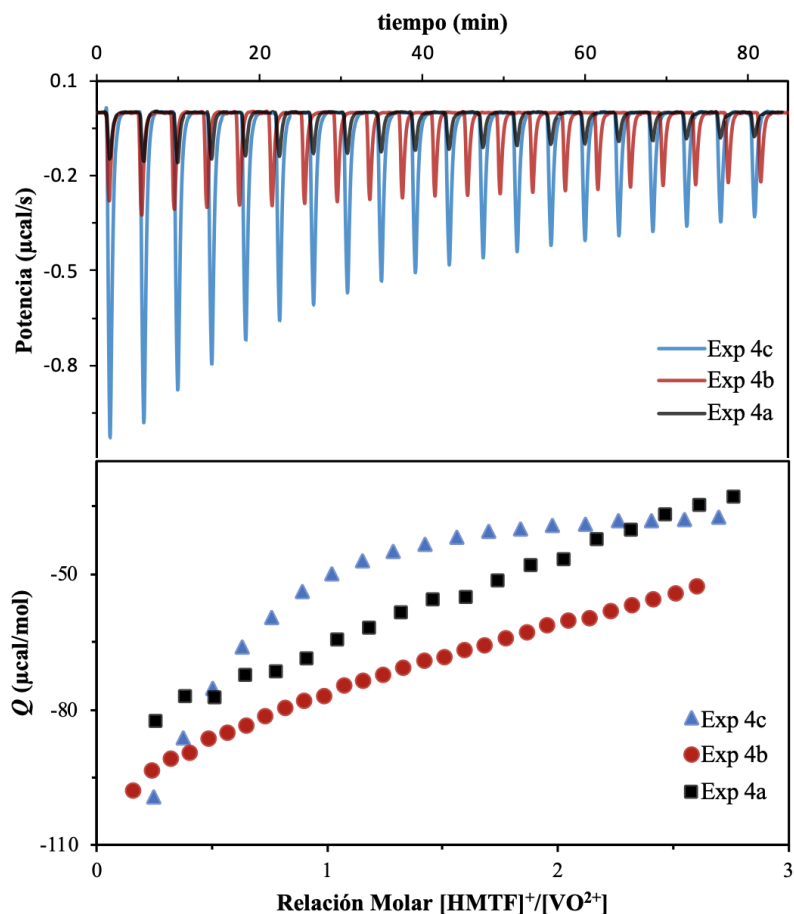


Figura 29. Termogramas (parte superior) e isotermas de enlace (parte inferior) de la complejación VO^{2+} con HMTF^+ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por ITC, a una relación molar de 2.41 de los experimentos 4a, 4b y 4c. En las curvas de enlace, los marcadores representan los datos experimentales, y la línea continua corresponde al ajuste de la curva usando el programa PEAQ-ITC.

En la Tabla 14, se observa que la complejación de VO^{2+} con HMTF^+ para formar complejos de estequiometrias 1:1 y 1:2, son procesos espontáneos y exotérmicos, liberando calor al llevarse a cabo la reacción. La exotermicidad se confirma por los valores de ΔH° y por la orientación de los picos hacia abajo. Al analizar la contribución entálpica y entrópica a la espontaneidad de la reacción (ΔG°), se observa que los procesos de formación de los complejos VOHMTF^{3+} y $\text{VO}(\text{HMTF})_2^{4+}$, están impulsados mayoritariamente por la entropía, ya que el aporte del término entálpico es casi nulo.

En la Figura 29, se superponen en un mismo gráfico los termogramas de los tres experimentos, y en otro gráfico se superponen sus respectivas curvas de enlace. Al comparar

ambos gráficos, es evidente que para el Experimento 4c, se tienen las mejores condiciones de trabajo para favorecer la formación de los complejos VOHMTF³⁺ y VO(HMTF)₂⁴⁺, debido a que los termogramas presentan mayor magnitud de potencia, y la curva de enlace presenta una curva más definida y con mejor ajuste; es decir, a mayor concentración de los componentes para el sistema. Tanto la Figura 28 como en la 29, no se muestran los resultados del experimento 4d debido a que no se logró obtener un buen ajuste a los datos experimentales, y por lo tanto, no se logró determinar los parámetros termodinámicos de la complejación.

Tabla 14. Parámetros termodinámicos de la complejación entre metformina (HMTF⁺) y vanadilo (VO²⁺) a 25 °C por ITC.

Valor de c	4a	4b	4c	4d
RM	2.41	2.41	2.41	—
N ₁	1 ± 0.01	1.1 ± 0.002	1 ± 0.001	—
log K _{f1}	9.38 ± 0.01	9.32 ± 0.01	9.41 ± 0.03	—
ΔH° ₁ (kcal/mol)	-0.184 ± 0.002	-0.178 ± 0.003	-0.193 ± 0.007	—
-TΔS° ₁ (kcal/mol)	-12.61	-12.54	-12.84	—
ΔG° ₁ (kcal/mol)	-12.80	-12.71	-12.84	—
N ₂	2 ± 0.02	2.15 ± 0.01	1.98 ± 0.03	—
log K _{f2}	8.31 ± 0.01	8.47 ± 0.01	8.47 ± 0.02	—
ΔH° ₂ (kcal/mol)	-0.048 ± 0.001	-0.044 ± 0.001	-0.036 ± 0.004	—
-TΔS° ₂ (kcal/mol)	-11.29	-11.51	-11.52	—
ΔG° ₂ (kcal/mol)	-11.34	-11.55	-11.55	—

Los termogramas evidencian que la complejación entre VO²⁺ y HMTF⁺ es un proceso exotérmico, por presentar picos por debajo de la línea base y el isoterma de enlace muestra que la complejación se ajusta a una estequiometría de 1:1 y 1:2 usando el software PEAQ-ITC.

Finalmente, comparamos los sistemas de VO²⁺/Ofen y VO²⁺/MTF, se determina que la formación de los complejos de estequiometría 1:1 y 1:2 es espontánea y exotérmica. En ambos sistemas, el complejo de estequiometría 1:1 es más estable que el complejo 1:2, debido

a que el $\log K_{f1}$ para el complejo con Ofen es mayor que el \log de K_{f12} . En cuando al desorden del sistema, comparando las tablas 14 y 16, se observa que hay mayor desorden en el sistema $\text{VO}^{2+}/\text{MTF}$ que en $\text{VO}^{2+}/\text{Ofen}$, ya que sus valores de ΔG° son más grandes en ambos complejos (1:1 y 1:2).

7. CONCLUSIONES

La investigación se inició con el estudio de los valores de pK_a que presenta la MTF. Por lo tanto, en este trabajo se determinaron los valores de $pK_{a1}=3.05$ y $pK_{a2}=11.84$ del sistema de metformina en disolución acuosa a 25 °C por espectrofotometría UV-Vis. Estos resultados permitieron tener un mejor control de las condiciones experimentales para el diseño de métodos de cuantificación o caracterización de la metformina en presencia de algún agente acarreador o de algún ion metálico.

Mediante la técnica de calorimetría de titulación isotérmica, se determinó la estequiometría y el perfil termodinámico (ΔG° , ΔH° , ΔS° y K_f) de la complejación de los sistemas entre cobre y ortofenantrolina ($Cu^{2+}/Ofen$), vanadilo y ortofenantrolina ($VO^{2+}/Ofen$), cobre y metformina (Cu^{2+}/MTF), vanadilo y metformina (VO^{2+}/MTF), en solución acuosa a 25 °C. Se determinó que, en todos los sistemas, la formación de los complejos de estequiometría 1:1 y 1:2 es espontánea.

El tipo de reacción que se lleva a cabo para la formación del complejo Cu^{2+}/MTF es endotérmica, mientras que para la formación de los complejos $Cu^{2+}/Ofen$, $VO^{2+}/Ofen$ y VO^{2+}/MTF es exotérmica.

Analizando la contribución entálpica y entrópica en cada sistema, se determinó que para los complejos 1:1 y 1:2 de los sistemas Cu^{2+}/MTF y VO^{2+}/MTF , y para los complejos 1:2 de los sistemas $Cu^{2+}/Ofen$ y $VO^{2+}/Ofen$, la espontaneidad (ΔG°) está impulsada por la entropía, siendo casi nulo el término entálpico; mientras que para los complejos 1:1 de los sistemas $Cu^{2+}/Ofen$ y $VO^{2+}/Ofen$, la espontaneidad tiene una contribución entálpica y entrópica similar.

El sistema con mayor espontaneidad para la formación de los complejos 1:1 y 1:2 es el sistema de VO^{2+}/MTF , y el de menor espontaneidad es el sistema de $VO^{2+}/Ofen$ en ambas estequiometrías. Mientras que, los complejos formados en el sistema VO^{2+}/MTF son más estables que los complejos del sistema $VO^{2+}/Ofen$ al presentar valores más pequeños de logaritmos de las constantes de formación (K_f) obtenidos al utilizar el software PEAQ-ITC. En todos los sistemas estudiados, los complejos de estequiometría 1:1 son más estables que los complejos de estequiometría 1:2.

El estudio previo que se realizó entre Ofen y los iones cobre y vanadilo ayudó a establecer las condiciones experimentales óptimas para realizar los estudios con MTF. A pesar de que el perfil termodinámico obtenido para Ofen y MTF fue muy diferente.

Al realizar varios experimentos a diferentes condiciones de trabajo (concentración, parámetro c , relación molar, etc.), se obtuvieron resultados similares para un mismo sistema (Ligante), por lo que se confirma que la Titulación Calorimétrica Isotérmica es una técnica que permite determinar el perfil termodinámico completo entre un ligante y un metal a partir de un solo experimento, siendo una técnica de alta sensibilidad y exactitud, además de que el microcalorímetro utilizado está calibrado de acuerdo a indicaciones del distribuidor.

Con la realización de este trabajo de tesis se espera que contribuya con información útil en la investigación de metalofármacos con propiedades biológicas, a la industria farmacéutica y al sector salud, para el posible diseño de nuevos fármacos más eficaces y con menos efectos secundarios, como se reporta en la literatura científica actual.

8. PERSPECTIVAS DE LA INVESTIGACIÓN

Entre las perspectivas de este trabajo de tesis, se considera realizar el estudio de los sistemas $\text{VO}^{2+}/\text{MTF}$ y $\text{Cu}^{2+}/\text{MTF}$ a diferentes temperaturas para poder determinar la capacidad calorífica del complejo (ΔC_p°).

Hacer uso de buffer biológicos como HEPES o MOPS con los cuales se han reportado experimentos en donde el vanadilo no reacciona con otros componentes alternos formando complejos, esto con el fin de determinar si la complejación entre iones metálicos y la metformina se favorece al trabajar con un pH constante y bajo condiciones biológicas.

9. REFERENCIAS

- Abdelrahman, S., Alghrably, M., Campagna, M., Emma Hauser, C. A., Jaremkoand, M., & Lachowicz, J. I. (2009). Metal complexes formation and anticancer activity of Cu(I) and Cu(II) complexes with Metformin. *Molecules*, *14*(2), 738–754. <https://doi.org/10.3390/molecules>
- Abdul-Ghani, A.-S., Abu-Hijleh, A.-L., Nahas, N., & Amin, R. (1996). Hypoglycemic Effect of Copper(II) Acetate Imidazole Complexes. *Biological Trace Element Research*, *54*, 143–151.
- Abu-El-Wafa, S. M., El-Ries, M. A., & Ahmed, F. H. (1987). Formation of Metformin Complexes with some Transition Metal Ions: their Biological Activity. En *Inorganica Chimica Acta* (Vol. 136).
- Acebedo-Martínez, F. J., Domínguez-Martín, A., Alarcón-Payer, C., Garcés-Bastida, C., Verdugo-Escamilla, C., Gómez-Morales, J., & Choquesillo-Lazarte, D. (2023). Metformin-NSAIDs Molecular Salts: A Path towards Enhanced Oral Bioavailability and Stability. *Pharmaceutics*, *15*(2). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020449>
- Adam, A. M. A., Sharshar, T., Mohamed, M. A., Ibrahim, O. B., & Refat, M. S. (2015). Study of chemical bonding, physical and biological effect of metformin drug as an organized medicine for diabetes patients with chromium(III) and vanadium(IV) ions. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *149*, 323–332. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.04.115>
- Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. (2015). *Utilización de medicamentos antidiabéticos en España*. www.aemps.gob.es
- Ahmad, S. I. (2012). *Diabetes: an old disease, a new insight*. Springer Science+Business Media.
- Al-Saif, F. A., & Refat, M. S. (2013). Synthesis, spectroscopic, and thermal investigation of transition and non-transition complexes of metformin as potential insulin-mimetic agents. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, *111*(3), 2079–2096. <https://doi.org/10.1007/s10973-012-2459-3>
- Altagracia-Martínez, M., Kravzov-Jinich, J., Moreno-Santamaría, M. del R., Rubio-Poo, C., Skromne-Kadlubik, D., & Vázquez-Moreno, E. (2007). Diabetes mellitus tipo 2: ventas de los hipoglucemiantes orales y costos de los tratamientos farmacológicos en México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, *38*(1), 23–33. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57938104>
- American Diabetes Association. (2013). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, *36*(1), 67–74. <https://doi.org/10.2337/dc13-S067>

- Arbuckle, J. (2017). Diabetes. En *The Well-Woman Visit* (pp. 161–166). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781316537459.026>
- Ashour, S., & Kabbani, R. (2003). Direct spectrophotometric determination of metformin hydrochloride in pure form and in drug formulations. *Analytical Letters*, *36*(2), 361–370. <https://doi.org/10.1081/AL-120017696>
- Badea, M., Grecu, M. N., Chifiriuc, M. C., Bleotu, C., Popa, M., Iorgulescu, E. E., Avram, S., Uivarosi, V., Munteanu, A. C., Ghica, D., & Olar, R. (2021). Insight on Ni(II) and Cu(II) complexes of biguanide derivatives developed as effective antimicrobial and antitumour agents. *Applied Organometallic Chemistry*, *35*(4). <https://doi.org/10.1002/aoc.6155>
- Badea, M., Iosub, E., Chifiriuc, C. M., Marutescu, L., Iorgulescu, E. E., Lazar, V., Marinescu, D., Bleotu, C., & Olar, R. (2013). Thermal, spectral, electrochemical and biologic characterization of new Pd(II) complexes with ligands bearing biguanide moieties. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, *111*(3), 1753–1761. <https://doi.org/10.1007/s10973-012-2288-4>
- Badea, M., Olar, R., Marinescu, D., Chifiriuc, C. M., Bleotu, C., Grecu, M. N., Iorgulescu, E. E., Bucur, M., Lazar, V., & Finaru, A. (2010). Prospects for new antimicrobials based on N,N-dimethylbiguanide complexes as effective agents on both planktonic and adhered microbial strains. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *45*(7), 2868–2875. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.03.009>
- Bailey, C., & Day, C. (2004). Metformin: its botanical background. *Practical Diabetes International*, *21*(3), 115–117. http://plants.usda.gov/cgi_bin/
- Bailey, C. J. (2017). Metformin: historical overview. *Diabetologia*, *60*(9), 1566–1576. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4318-z>
- Ball, D. W. (2004). *Fisicoquímica* (Thomson, Ed.; 1ra Edición). Cengage Learning.
- Barrio, A. D. (2004). *Farmacología de compuestos de vanadio. Efectos sobre células osteoblásticas en cultivo*. Universidad Nacional de la Plata.
- Bastos, M., & Velazquez-Campoy, A. (2021). Isothermal titration calorimetry (ITC): a standard operating procedure (SOP). *European Biophysics Journal*, *50*(3–4), 363–371. <https://doi.org/10.1007/s00249-021-01509-5>
- Bharatam, P. V., Patel, D. S., & Iqbal, P. (2005). Pharmacophoric features of biguanide derivatives: An electronic and structural analysis. *Journal of Medicinal Chemistry*, *48*(24), 7615–7622. <https://doi.org/10.1021/jm050602z>
- Bjelić, S., & Jelesarov, I. (2008). A survey of the year 2007 literature on applications of isothermal titration calorimetry. *Journal of Molecular Recognition*, *21*(5), 289–312. <https://doi.org/10.1002/jmr.909>

- Borgnakke, W. S. (2019). IDF Diabetes Atlas: Diabetes and oral health – A two-way relationship of clinical importance. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 157. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107839>
- Bretnall, A. E., Clarke, G. S., & Squibb, B.-M. (1998). *METFORMIN HYDROCHLORIDE* ' 4 4.
- Broecker, J., Vargas, C., & Keller, S. (2011). Revisiting the optimal c value for isothermal titration calorimetry. *Analytical Biochemistry*, 418(2), 307–309. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2011.07.027>
- Canfield, C. J., & Rozman, R. S. (1974). Clinical testing of new antimalarial compounds. *Bull. Org. mond. Sante*, 50, 203–212.
- Caruso, L. B., & Silliman, R. A. (2009). Diabetes mellitus in the older adult. En *Reichel's Care of the Elderly: Clinical Aspects of Aging, Sixth Edition* (pp. 79–88). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511575952.009>
- Cengel, Y. A., Boles, M. A., & Kamoglu, M. (2019). *Termodinámica* (9a ed.). McGraw-Hill.
- Chaires, J. B. (2008). Calorimetry and thermodynamics in drug design. *Annual Review of Biophysics*, 37, 135–151. <https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.36.040306.132812>
- Childs, S. L., Chyall, L. J., Dunlap, J. T., Coates, D. A., Stahly, B. C., & Stahly, G. P. (2004). A metastable polymorph of metformin hydrochloride: Isolation and characterization using capillary crystallization and thermal microscopy techniques. *Crystal Growth and Design*, 4(3), 441–449. <https://doi.org/10.1021/cg034243p>
- Crichton, R. R., & Pierre, J.-L. (2001). Old Iron, Young Copper : from Mars to Venus. En *BioMetals* (Vol. 14).
- Curd, F. H. S., & Rose, F. L. (1946). Synthetic antimalarials. Part X. Some aryl-diguanide (“- biguanide’”) derivatives”. *Journal of the Chemical Society* , 729–737. <https://doi.org/10.1039/JR9460000729>
- Dalecki, A. G., Crawford, C. L., & Wolschendorf, F. (2017). Copper and Antibiotics: Discovery, Modes of Action, and Opportunities for Medicinal Applications. En *Advances in Microbial Physiology* (Vol. 70, pp. 193–260). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2017.01.007>
- Daviter, T., Johnson, C. M., Mclaughlin, S. H., & Williams, M. A. (2021). *Protein-Ligand Interactions Methods and Applications*. <http://www.springer.com/series/7651>

- Desai, D., Wong, B., Huang, Y., Ye, Q., Tang, D., Guo, H., Huang, M., & Timmins, P. (2014). Surfactant-mediated dissolution of metformin hydrochloride tablets: Wetting effects versus ion pairs diffusivity. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *103*(3), 920–926. <https://doi.org/10.1002/jps.23852>
- Diaz, A., Muñoz-Arenas, G., Venegas, B., Vázquez-Roque, R., Flores, G., Guevara, J., Gonzalez-Vergara, E., & Treviño, S. (2021). Metforminium Decavanadate (MetfDeca) Treatment Ameliorates Hippocampal Neurodegeneration and Recognition Memory in a Metabolic Syndrome Model. *Neurochemical Research*, *46*(5), 1151–1165. <https://doi.org/10.1007/s11064-021-03250-z>
- Dong, J., Liu, B., Liang, G., & Yang, B. (2018). Synthesis, biological activity and toxicity of chromium(III) metformin complex as potential insulin-mimetic agent in C57BL/6 mice. *Journal of Coordination Chemistry*, *71*(10), 1526–1541. <https://doi.org/10.1080/00958972.2018.1459580>
- Douros, A., Dell’Aniello, S., Yu, O. H. Y., Filion, K. B., Azoulay, L., & Suissa, S. (2018). Sulfonylureas as second line drugs in type 2 diabetes and the risk of cardiovascular and hypoglycaemic events: Population based cohort study. *BMJ (Online)*, *362*. <https://doi.org/10.1136/bmj.k2693>
- Duma, T. W., & Hancock, R. D. (1994). The affinity of the vanadyl(IV) ION for Nitrogen donor ligands. *Journal of Coordination Chemistry*, *31*(2), 135–146. <https://doi.org/10.1080/00958979408024209>
- Duncan, C., & White, A. R. (2012). Copper complexes as therapeutic agents. *Metallomics*, *4*(2), 127–138. <https://doi.org/10.1039/c2mt00174h>
- El-Shwiniy, W. H., Abbass, L. M., Sadeek, S. A., & Zordok, W. A. (2020). Synthesis, Structure, and Biological Activity of Some Transition Metal Complexes with the Mixed Ligand of Metformin and 1,4-Diacetylbenzene. *Russian Journal of General Chemistry*, *90*(3), 483–488. <https://doi.org/10.1134/S1070363220030238>
- Engel, T., & Reid, P. (2007). *introducción a la Fisicoquímica: Termodinámica* (1a ed.). Pearson-Prentice Hall.
- Erlekam, F., Zumbansen, M., & Weber, M. (2022). Parameter estimation on multivalent ITC data sets. *Scientific Reports*, *12*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17188-x>
- Falconer, R. J. (2016). Applications of isothermal titration calorimetry - the research and technical developments from 2011 to 2015. *Journal of Molecular Recognition*, *29*(10), 504–515. <https://doi.org/10.1002/jmr.2550>
- Fedorova, E. V., Buryakina, A. V., Vorobieva, N. M., & Baranova, N. I. (2013). The vanadium compounds: Chemistry, synthesis, insulinomimetic properties. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, *7*(4), 259–270. <https://doi.org/10.1134/S1990750813040021>

- Fender, G. (2014). Diabetes. En *Reproductive Endocrinology for the MRCOG and Beyond* (pp. 159–170). Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139696920.016>
- Fernanda, D. J., Arévalo, B., Gloria, D., & Zapata, E. T. (2014). In vitro evaluation of oral tablets of copper-non steroidal anti inflammatory complexes. *Revista Cubana de Farmacia*, *48*(2), 239–249. <http://scielo.sld.cu><http://scielo.sld.cu>
- Flemming, C. A., & Trevors, J. T. (1989). COPPER TOXICITY AND CHEMISTRY IN THE ENVIRONMENT: A REVIEW. *Water, Air and Soil Pollution*, *44*, 143–158.
- Fos Antón, G., Moreno Frigols, J. L., & García Doménech, R. (2011). *Introducción a la Fisoquímica* (Publicaciones de la Universidad de Valencia, Ed.; 2 edición).
- Fox, J. M., Zhao, M., Fink, M. J., Kang, K., & Whitesides, G. M. (2018). The Molecular Origin of Enthalpy/Entropy Compensation in Biomolecular Recognition. *Annual Review of Biophysics*, *47*(1), 223–250. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys>
- Freire, E. (2008). Do enthalpy and entropy distinguish first in class from best in class? En *Drug Discovery Today* (Vol. 13, Números 19–20, pp. 869–874). <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2008.07.005>
- Freyer, M. W., & Lewis, E. A. (2008). Isothermal Titration Calorimetry: Experimental Design, Data Analysis, and Probing Macromolecule/Ligand Binding and Kinetic Interactions. En *Methods in Cell Biology* (Vol. 84, pp. 79–113). [https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(07\)84004-0](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(07)84004-0)
- Gaetke, L. M., & Chow, C. K. (2003). Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, *189*(1–2), 147–163. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00159-8](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00159-8)
- Gandy, S. E., Buse, M. G., Sorenson, J. R. J., & Crouch, R. K. (1983). Attenuation of Streptozotocin Diabetes with Superoxide Dismutase-like Copper(II)(3,5-Diisopropylsalicylate)₂ in the Rat. *Diabetologia*, *24*, 437–440.
- Gasque, L., Medina, G., Ruiz-Ramírez, L., & Moreno-Esparza, R. (1999). Cu-O stretching frequency correlation with phenanthroline pK_a values in mixed copper complexes. En *Inorganica Chimica Acta* (Vol. 288).
- Geldmacher, Y., Oleszak, M., & Sheldrick, W. S. (2012). Rhodium(III) and iridium(III) complexes as anticancer agents. *Inorganica Chimica Acta*, *393*, 84–102. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2012.06.046>
- Geraghty, M., Sheridan, V., McCann, M., Devereux, M., & McKee, V. (1999). Synthesis and anti-Candida activity of copper(II) and manganese(II) carboxylate complexes X-ray crystal structures of [Cu(sal)(bipy)]*C₂H₅OH*H₂O and

- [Cu(norb)(phen)]*6.5H₂O (salH₂ salicylic acid; norbH₂=cis-5-norbornene-endo-2,3-dicarboxylic acid; bipy=2,2'-bipyridine; phen 1,1-phenanthroline). *Polyhedron*, 18, 2931–2939.
- Ghai, R., Falconer, R. J., & Collins, B. M. (2012). Applications of isothermal titration calorimetry in pure and applied research-survey of the literature from 2010. *Journal of Molecular Recognition*, 25(1), 32–52. <https://doi.org/10.1002/jmr.1167>
- Gholivand, M. B., & Mohammadi-Behzad, L. (2013). Differential pulse voltammetric determination of metformin using copper-loaded activated charcoal modified electrode. *Analytical Biochemistry*, 438(1), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2013.03.019>
- Gill, G., & Mbanya, J.-C. (2013). Diabetes mellitus. En *Principles of Medicine in Africa* (pp. 498–509). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/cbo9780511751660.059>
- Gómez Dantés, O., Sesma, S., Becerril, V., Knaul, F., Arreola, H., & Frenk, J. (2011). Sistema de salud de México. *Salud pública de México*, 53(2), 220–232.
- González-Barbosa, J., Hipólito-Nájera, A. R., Gómez-Balderas, R., Rodríguez-Laguna, N., & Moya-Hernández, R. (2023). Metformin, Chlorpropamide, and Glibenclamide: Interactions with Metal Ions and Cyclodextrins. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 20. <https://doi.org/10.2174/1570193x20666230117105443>
- Gottlieb, A., Duberstein, J., & Geller, A. (1962). Phenformin Acidosis. *England Journal of Medicine*, 267(16), 806–809.
- Grossoehme, N. E., Spuches, A. M., & Wilcox, D. E. (2010). Application of isothermal titration calorimetry in bioinorganic chemistry. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 15(8), 1183–1191. <https://doi.org/10.1007/s00775-010-0693-3>
- Guariguata, L., Whiting, D. R., Hambleton, I., Beagley, J., Linnenkamp, U., & Shaw, J. E. (2014). Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 103(2), 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.002>
- Guiotoku, M., Silva, F. R. M. B., Azzolini, J. C., Mercê, A. L. R., Mangrich, A. S., Sala, L. F., & Szpoganicz, B. (2007). Monosaccharides and the VO(IV) metal ion: Equilibrium, thermal studies and hypoglycemic effect. *Polyhedron*, 26(6), 1269–1276. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2006.10.032>
- Haas, K. L., & Franz, K. J. (2009). Application of metal coordination chemistry to explore and manipulate cell biology. *Chemical Reviews*, 109(10), 4921–4960. <https://doi.org/10.1021/cr900134a>

- Hansen, L. D. (2001). Toward a standard nomenclature for calorimetry. *Thermochimica Acta*, 371, 19–22.
- Hansen, L. D., Fellingham, G. W., & Russell, D. J. (2011). Simultaneous determination of equilibrium constants and enthalpy changes by titration calorimetry: Methods, instruments, and uncertainties. *Analytical Biochemistry*, 409(2), 220–229. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.11.002>
- Hansen, L. D., Quinn, C. F., & Transtrum, M. K. (2018). *Titration Calorimetry: From concept to application*. <http://www.springer.com/series/8898>
- Hansen, L. D., Transtrum, M. K., & Quinn, C. F. (2018). Determination of Equilibrium Constants by Titration Calorimetry. En *Titration Calorimetry: From concept to application* (pp. 9–21). https://doi.org/10.1007/978-3-319-78250-8_3
- Hariharan, M., Rajan, S., & Srinivasan, R. (1979). Structure of metformin hydrochloride. *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, 45(6), 911–913.
- Hernández, B., Pflüger, F., Kruglik, S. G., Cohen, R., & Ghomi, M. (2015). Protonation-deprotonation and structural dynamics of antidiabetic drug metformin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 114, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.04.041>
- Holdgate, G., & Ward, W. (2005). Measurements of binding thermodynamics in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 10(22), 1543–1550.
- Hunt, J. A., Catellier, C., Dupre, J., Gardiner, R. J., McKendry, J. B., Toews, C. J., & Yip, C. C. (1997). *The use of phenformin and metformin*. 117(5), 429–430.
- IDF. (2015). Update of mortality attributable to diabetes for the IDF Diabetes Atlas: Estimates for the year 2013. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 109(3), 461–465. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2015.05.037>
- IDF. (2023). *What Is Diabetes / International Federation of Diabetes*. <https://idf.org/about-diabetes/what-is-diabetes/>
- Ikeda, T., Ledwith, A., Bamford, C. H., & Hann, R. A. (1984). INTERACTION OF A POLYMERIC BIGUANIDE BIOCIDES WITH PHOSPHOLIPID MEMBRANES. *Biochimica et Biophysica Acta*, 769, 57–66.
- Instruments, M. (2015). *Manual: MicroCal PEAQ-ITC Analysis Software user manual (English)*. www.malvern.com
- Instruments TA. (2016). *Quick Start: Isothermal Titration Calorimetry (ITC)* (pp. 1–5).

- Ismail, K., & Peveler, R. (2009). Diabetes. En *Handbook of Liaison Psychiatry* (pp. 454–473). Cambridge University Press.
<https://doi.org/10.1017/cbo9780511543975.020>
- Izatt, R. M., Brown, P. R., & Oscarson, J. L. (1995). The history of the Calorimetry Conference: 1946-1995. *J. Chem. Thermodynamics*, 27, 449–464.
- Jing, M., Song, W., & Liu, R. (2016). Binding of copper to lysozyme: Spectroscopic, isothermal titration calorimetry and molecular docking studies. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 164, 103–109.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.04.008>
- June White BS, by B. (1924). *PREPARATION AND SPECTRAL STUDIES OF VANADIUM(III, IV, V) TROPOLONATES AND SEVERAL NEW VANADIUM(III) COMPLEXES.*
- Karaderi, S., Mazi, C., & Yilmazbilek, S. (2020). Determination of the Stability Constants Complexes of Metformin Hydrochloride With Cu(II), Cd(II) and Zn(II). *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 9(1), 121–129. www.ijpras.com
- Karami, K., Parsianrad, F., Alinaghi, M., & Amirghofran, Z. (2017). Cyclopalladated complexes containing metformin and benzylamine derivatives: Synthesis, characterization, binding interactions with DNA and BSA, in vitro cytotoxicity studies. *Inorganica Chimica Acta*, 467, 46–55.
<https://doi.org/10.1016/j.ica.2017.07.020>
- Karavanaki, K., Paschou, S. A., Tentolouris, N., Karachaliou, F., & Soldatou, A. (2022). Type 2 diabetes in children and adolescents: distinct characteristics and evidence-based management. *Endocrine*, 78(2), 280–295.
<https://doi.org/10.1007/s12020-022-03172-y>
- Kathuria, D., Bankar, A. A., & Bharatam, P. V. (2018). “What’s in a structure?” The story of biguanides. *Journal of Molecular Structure*, 1152, 61–78.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.08.100>
- Kathuria, D., Raul, A. D., Wanjari, P., & Bharatam, P. V. (2021). Biguanides: Species with versatile therapeutic applications. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 219. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113378>
- Keller, S., Vargas, C., Zhao, H., Piszczek, G., Brautigam, C. A., & Schuck, P. (2012). High-precision isothermal titration calorimetry with automated peak-shape analysis. *Analytical Chemistry*, 84(11), 5066–5073.
<https://doi.org/10.1021/ac3007522>
- Kirin, V. P., Demkin, A. G., Smolentsev, A. I., Il'icheva, T. N., & Maksakov, V. A. (2016). Cobalt(III) complexes with biguanide derivatives: Synthesis, structures, and antiviral activity. *Russian Journal of Coordination*

Chemistry/Koordinatsionnaya Khimiya, 42(4), 260–266.
<https://doi.org/10.1134/S1070328416040023>

- Krishnan, C., Maanvizhi, S., Boppana, T., & Arumugam, G. (2014). Metal complexes in the management of diabetes mellitus: A new therapeutic strategy METAL COMPLEXES IN THE MANAGEMENT OF DIABETES MELLITUS: A NEW THERAPEUTIC STRATEGY Review Article. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6, 40–44.
<https://www.researchgate.net/publication/281656428>
- Kuppuraj, G., Dudev, M., & Lim, C. (2009). Factors governing metal-ligand distances and coordination geometries of metal complexes. *Journal of Physical Chemistry B*, 113(9), 2952–2960. <https://doi.org/10.1021/jp807972e>
- Leggett, D. J. (1985). SQUAD Stability Quotients from Absorbance Data. En *Computational Methods for the Determination of Formation Constants* (pp. 159–220).
- Leggett, D., & McBryde, W. (1975). General computer program for the computation of stability constants from absorbance data. *Analytical Chemistry*, 47(7).
- Lewis, E. A., & Murphy, K. P. (2005). Isothermal Titration Calorimetry. En *Protein-Ligand Interactions: Methods and Applications* (Vol. 305, pp. 1–16).
<http://www.microcalorimetry.com/>
- Liang, J. X., Zhong, H. J., Yang, G., Vellaisamy, K., Ma, D. L., & Leung, C. H. (2017). Recent development of transition metal complexes with in vivo antitumor activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 177, 276–286.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.06.002>
- Lu, J., & Rohani, S. (2009). Polymorphism and Crystallization of Active Pharmaceutical Ingredients (APIs). *Current Medicinal Chemistry*, 16(7), 884–905.
- Lu, L., Gao, X., Zhu, M., Wang, S., Wu, Q., Xing, S., Fu, X., Liu, Z., & Guo, M. (2012). Exploration of biguanido-oxovanadium complexes as potent and selective inhibitors of protein tyrosine phosphatases. *BioMetals*, 25(3), 599–610.
<https://doi.org/10.1007/s10534-012-9548-4>
- Maria, F., & Perelló, P. (2013). *Química de Coordinació de drogues antiinflamatòries no esteroïdals (AINEs): naproxén*.
- Markova, N., & Hallén, D. (2004). The development of a continuous isothermal titration calorimetric method for equilibrium studies. *Analytical Biochemistry*, 331(1), 77–88. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.03.022>
- Marrote Manzano, C. (2018). *Transition metal complexes with ibuprofen hydrazide: synthesis, characterization and biological assays*.

- Marzano, C., Pellei, M., Tisato, F., & Santini, C. (2009). Copper Complexes as Anticancer Agents. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 9(2), 185–211.
- Masharani, U. (2021). *2701: Diabetes Mellitus*.
<https://www.cdc.gov/diabetes/data/statistics/statistics>
- Masuri, S., Vaňhara, P., Cabiddu, M. G., Moráň, L., Havel, J., Cadoni, E., & Pivetta, T. (2022). Copper(II) phenanthroline-based complexes as potential anticancer drugs: A walkthrough on the mechanisms of action. *Molecules*, 27(49), 1–26.
<https://doi.org/10.3390/molecules27010049>
- McCreight, L. J., Bailey, C. J., & Pearson, E. R. (2016). Metformin and the gastrointestinal tract. *Diabetologia*, 59(3), 426–435.
<https://doi.org/10.1007/s00125-015-3844-9>
- Mehnert, V. H., Mahrhofer, E., & Stern, G. (1965). Zur Anwendung einer Retard-Form des Butylguanid in der oralen Diabetestherapie. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 1316–1319.
- Melander, B. (1960). Pharmacology of the Influenza Suppressant N',N'-Anhydrobis(P-hydroxyethyl)biguanide-HCl (ABOB). *TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY*, 2, 474–489.
- Metformin - CAS 1115-70-4 - Calbiochem | 317240*. (2008, mayo 1).
https://www.merckmillipore.com/MX/es/product/Metformin-CAS-1115-70-4-Calbiochem,EMD_BIO-317240#anchor_PDS
- Metry, M., Shu, Y., Abrahamsson, B., Cristofolletti, R., Dressman, J. B., Groot, D. W., Parr, A., Langguth, P., Shah, V. P., Tajiri, T., Mehta, M. U., & Polli, J. E. (2021). Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Metformin Hydrochloride. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 110(4), 1513–1526. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2021.01.011>
- Migdal, A. L., Herzlinger, S., & Abrahamson, M. J. (2017). Treating Type 2 Diabetes Mellitus. En *Principles of Diabetes Mellitus* (pp. 1–24). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-20797-1_44-2
- Moreano Villena, Z., Alvino De La Sota, N., & Galli Rigo-Righi, C. (2012). Complejos de cinc como potenciales metalofármacos antidiabéticos: Avances recientes en su desarrollo y mecanismo molecular de acción. *Rev Soc Quím Perú*, 78(4), 277–295.
- Mraovic, B., & Joseph, J. I. (2016). Hyperglycemia. En *Post-Anesthesia Care* (pp. 122–129). Cambridge University Press.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781139519557.018>
- Murphy, H. R., Howgate, C., O'Keefe, J., Myers, J., Morgan, M., Coleman, M. A., Jolly, M., Valabhji, J., Scott, E. M., Knighton, P., Young, B., Lewis-Barned, N.,

- Anglioni, E., Barron, E., Bell, R., Berry, A., Cartright, C., Colling, S., Curley, M., ... Tomkins, N. (2021). Characteristics and outcomes of pregnant women with type 1 or type 2 diabetes: a 5-year national population-based cohort study. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, *9*(3), 153–164. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30406-X](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30406-X)
- Nicholas, A. S., Nadeau, D. A., & Johnson, C. L. (2009). Treatment considerations for diabetes: A pharmacist's guide to improving care in the elderly. En *Journal of Pharmacy Practice* (Vol. 22, Número 6, pp. 575–587). SAGE Publications Inc. <https://doi.org/10.1177/0897190009333160>
- Nishigaki, S., Yoshioka, H., & Nakatsu, K. (1978). The Crystal and Molecular Structure of o-Phenanthroline. *Acta Crystallographica*, *34*, 875–879.
- Noffke, A. L., Habtemariam, A., Pizarro, A. M., & Sadler, P. J. (2012). Designing organometallic compounds for catalysis and therapy. *Chemical Communications*, *48*(43), 5219–5246. <https://doi.org/10.1039/c2cc30678f>
- NOM-015-SSA2-2010. (2010).
- Ogle, G. D., James, S., Dabelea, D., Pihoker, C., Svennson, J., Maniam, J., Klatman, E. L., & Patterson, C. C. (2022). Global estimates of incidence of type 1 diabetes in children and adolescents: Results from the International Diabetes Federation Atlas, 10th edition. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *183*. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109083>
- Olar, R., Badea, M., Grecu, M. N., Marinescu, D., Lazar, V., & Balotescu, C. (2008). Copper(II) complexes with N,N-dimethylbiguanide: thermal, spectroscopic and biological characterization. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, *92*, 239–243.
- Olar, R., Badea, M., Marinescu, D., Chifiriuc, M. C., Bleotu, C., Grecu, M. N., Iorgulescu, E. E., & Lazar, V. (2010). N, N-dimethylbiguanide complexes displaying low cytotoxicity as potential large spectrum antimicrobial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *45*(7), 3027–3034. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.03.033>
- Orgován, G., & Noszál, B. (2011). Electrodeless, accurate pH determination in highly basic media using a new set of ¹H NMR pH indicators. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *54*(5), 958–964. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.11.022>
- Pastrana-Dávila, A., Minotta, G., Ellena, J., Santiago, P. H. O., & D'Vries, R. F. (2023). Synthesis, Characterization and Structural Analysis of Two New Biguanide Complexes. *Crystals*, *13*(8). <https://doi.org/10.3390/cryst13081176>
- Pearson-Stuttard, J., Cheng, Y. J., Bennett, J., Vamos, E. P., Zhou, B., Valabhji, J., Cross, A. J., Ezzati, M., & Gregg, E. W. (2022). Trends in leading causes of

- hospitalisation of adults with diabetes in England from 2003 to 2018: an epidemiological analysis of linked primary care records. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 10(1), 46–57. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(21\)00288-6](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(21)00288-6)
- Perdigón-Villaseñor, G., & Fernández-Cantón, S. B. (2008). Principales causas de muerte en la población general e infantil en México, 1922-2005. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 65(3), 238–240. www.medigraphic.com
- Peters, W. B., Frasca, V., & Brown, R. K. (2009). Recent Developments in Isothermal Titration Calorimetry Label Free Screening. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 12, 772–790.
- Pickart, L., Vasquez-Soltero, J. M., & Margolina, A. (2015). GHK Peptide as a Natural Modulator of Multiple Cellular Pathways in Skin Regeneration. *BioMed Research International*, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2015/648108>
- Pierce, M. M., Raman, C. S., & Nall, B. T. (1999). Isothermal Titration Calorimetry of Protein-Protein Interactions. *METHODS*, 19, 213–221. <http://www.idealibrary.comon>
- Pivetta, T., Isaia, F., Verani, G., Cannas, C., Serra, L., Castellano, C., Demartin, F., Pilla, F., Manca, M., & Pani, A. (2012). Mixed-1,10-phenanthroline-Cu(II) complexes: Synthesis, cytotoxic activity versus hematological and solid tumor cells and complex formation equilibria with glutathione. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 114, 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2012.04.017>
- Powers, A. C., Fowler, M. J., & Rickels, M. R. (2022). CAPÍTULO 404: Diabetes mellitus: Tratamiento. En *Principios de Medicina Interna* (pp. 1–35).
- Pradhan, S. K., Sahoo, A. K., Patnaik, A. K., Das, S., & Senapati, A. K. (2020). Kinetics of oxidation of antidiabetic drug metformin hydrochloride by vanadium(V) in acidic and micellar medium. *SN Applied Sciences*, 2(12). <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03664-4>
- Prasad, S., Dubourdieu, D., Srivastava, A., Kumar, P., & Lall, R. (2021). Metal–curcumin complexes in therapeutics: An approach to enhance pharmacological effects of curcumin. En *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Número 13). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms22137094>
- Prugnard, E., & Noel, M. (1996). Chemistry and Structure-Activity Relationships of Biguanides. En *Handbook of Experimental Pharmacology* (pp. 263–285).
- Puigdevall Gallego, V., Laudo Pardos, C., Del Río Mayor, M. J., & Velasco Martín, A. (2000). Nuevos fármacos para el tratamiento de la diabetes tipo 2. En *Revista Clínica Española* (Vol. 200, Número 3, pp. 151–156). Elsevier Doyma. [https://doi.org/10.1016/S0014-2565\(00\)70588-1](https://doi.org/10.1016/S0014-2565(00)70588-1)

- Rafique, S., Idrees, M., Nasim, A., Akbar, H., & Athar, A. (2010). Transition metal complexes as potential therapeutic agents. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 5(2), 38–45. <http://www.academicjournals.org/BMBR>
- Rajalakshmi, S., Fathima, A., Rao, J. R., & Nair, B. U. (2014). Antibacterial activity of copper(ii) complexes against *Staphylococcus aureus*. *RSC Advances*, 4(60), 32004–32012. <https://doi.org/10.1039/c4ra03241a>
- Ramadan, A. E. M. M., Shaban, S. Y., Ibrahim, M. M., Sallam, S. A., El-Shami, F. I., & Al-Juaid, S. (2020). Metformin-based copper(II) complexes: synthesis, structural characterization and mimicking activity of catechol oxidase and phenoxazinone synthase. *Journal of Materials Science*, 55(15), 6457–6481. <https://doi.org/10.1007/s10853-019-04165-5>
- Raper, E. S. (1997). Complexes of heterocyclic thionates Part 2: complexes of bridging ligands. *Coordination Chemistry Reviews*, 165, 475–567.
- Ray, P. (1960). *COMPLEX COMPOUNDS OF BIGUANIDES AND CUANYLUREAS WITH METALLIC ELEMENTS*.
- Refat, M. S., & Kobeasy, M. I. (2014). Synthesis, spectroscopic, thermal, free radical scavenging ability, and antitumor activity studies of cobalt(II) metformin complex. *Russian Journal of General Chemistry*, 84(4), 767–774. <https://doi.org/10.1134/S1070363214040288>
- Rena, G., Hardie, D. G., & Pearson, E. R. (2017). The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia*, 60(9), 1577–1585. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4342-z>
- Renaud, J. P., Chung, C. W., Danielson, U. H., Egner, U., Hennig, M., Hubbard, R. E., & Nar, H. (2016). Biophysics in drug discovery: Impact, challenges and opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*, 15(10), 679–698. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.123>
- Repišćák, P., Erhardt, S., Rena, G., & Paterson, M. J. (2014). Biomolecular Mode of Action of Metformin in Relation to Its Copper Binding Properties. *Biochemistry*, 53(4), 787–795. <https://doi.org/10.1021/bi401444n>
- Reusch, J. E. B., Regensteiner, J. G., Stewart, K. J., & Veves, A. (2018). *Diabetes and Exercise From Pathophysiology to Clinical Implementation*. <http://www.springer.com/series/7679>
- Reyes Chumacero, L. A., Allier Ondarza, A., & Trejo Mendieta, L. (2014). *Fisicoquímica*. McGraw-Hill.
- Ringbom, A. (1979). *Formación de complejos en Química analítica*.

- Rodino, S., Butu, M., Golea, D., & Butu, A. (2012). FUNDAMENTALS OF ISOTHERMAL TITRATION CALORIMETRY AND SOME APPLICATIONS. *Banat's Journal of Biotechnology*, 3(5), 18–22. <http://dse.usab-tm.ro>
- Rodríguez, N. (2015). *Contribuciones teóricas al concepto de capacidad buffer considerando especies insolubles y especies polinucleares en el sistema*. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Rodríguez-Laguna, N., Reyes-García, L. I., Pacheco-Gómez, R., Flores, R., Rojas-Hernández, A., & Gómez-Balderas, R. (2019). Thermodynamic study of complexation of Zn(II)/L (L = acetate, indomethacin and diclofenac anions) by isothermal titration calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 136(4), 1701–1709. <https://doi.org/10.1007/s10973-018-7802-x>
- Roldán Rojas, J. H. (2014). *Termodinámica: Serie Universitaria Patria*. Editorial Patria.
- Roy, T., & Mukherjee, G. N. (2006). Mixed-ligand complex formation equilibria of Cu II with biguanide in presence of glycine as the auxiliary ligand. *Journal of Chemical Sciences*, 118(5), 411–418.
- Rubiño, M. E. G., Carrillo, E., Alcalá, G. R., Domínguez-Martín, A., Marchal, J. A., & Boulaiz, H. (2019). Phenformin as an anticancer agent: Challenges and prospects. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(13). <https://doi.org/10.3390/ijms20133316>
- Rusanov, D. A., Zou, J., & Babak, M. V. (2022). Biological Properties of Transition Metal Complexes with Metformin and Its Analogues. *Pharmaceuticals*, 15(4), 2–69. <https://doi.org/10.3390/ph15040453>
- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., Colagiuri, S., Guariguata, L., Motala, A. A., Ogurtsova, K., Shaw, J. E., Bright, D., & Williams, R. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 157. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843>
- Sakurai, H. (2007). Medicinal Aspects of Vanadium Complexes: Treatment of Diabetes Mellitus in Model Animals. *Biological Trace Element Research*, 18(3), 241–248.
- Sakurai, H., Funakoshi, S., & Adachi, Y. (2005). New developments of insulinomimetic dinuclear vanadyl(IV)-tartrate complexes. *Pure and Applied Chemistry*, 77(9), 1629–1640. <https://doi.org/10.1351/pac200577091629>
- Sakurai, H., Yoshikawa, Y., & Yasui, H. (2008). Current state for the development of metallopharmaceuticals and anti-diabetic metal complexes. *Chemical Society Reviews*, 37(11), 2383–2392. <https://doi.org/10.1039/b710347f>

- Sánchez, E., Jung, H., Yépez, L., & Hernández-Abad, V. (2007). Relevancia del polimorfismo en el área farmacéutica. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 38(2), 57–76. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57938208>
- Sánchez-Lara, E., Treviño, S., Sánchez-Gaytán, B. L., Sánchez-Mora, E., Castro, M. E., Meléndez-Bustamante, F. J., Méndez-Rojas, M. A., & González-Vergara, E. (2018). Decavanadate salts of Cytosine and Metformin: A combined experimental-theoretical study of potential metallodrugs against Diabetes and cancer. *Frontiers in Chemistry*, 6(SEP). <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00402>
- Sánchez-Morales, J. E., Avalos-Álvarez, S. V., Bautista-Arredondo, S., Hernández-Ávila, J. E., & Palacio Mejía, L. S. (2022). *Estimación de costos directos e indirectos de las principales causas de muerte en México*.
- Sanna, D., Buglyó, P., Tomaz, A. I., Pessoa, J. C., Borović, S., Micera, G., & Garribba, E. (2012). VIVO and CuII complexation by ligands based on pyridine nitrogen donors. *Dalton Transactions*, 41(41), 12824–12838. <https://doi.org/10.1039/c2dt31109g>
- Santos, O. M. M., Reis, M. E. D., Jacon, J. T., Lino, M. E. de S., Simões, J. S., & Doriguetto, A. C. (2014). Polymorphism: An evaluation of the potential risk to the quality of drug products from the Farmácia Popular Rede Própria. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(1), 1–24. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502011000100002>
- Saxena, P., Raghuvanshi, A. S., Jain, U. K., Patel, A., & Gupta, N. (2010). UV spectrophotometric method for the quantitation of metformin hydrochloride in pharmaceutical dosage form. *Oriental Journal of Chemistry*, 26(4), 1553–1556.
- Schoffers, E. (2003). Reinventing phenanthroline ligands - Chiral derivatives for asymmetric catalysis? *European Journal of Organic Chemistry*, 7, 1145–1152. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200390168>
- Sheela, N. R., Muthu, S., & Sampath Krishnan, S. (2010). FTIR, FT Raman and UV-Visible Spectroscopic Analysis on Metformin Hydrochloride. *Asian Journal of Chemistry*, 22(7), 5049–5056.
- Shekhar, B., Vasantha, P., Sathish Kumar, B., & Anantha Lakshmi, P. V. (2018). Multispectroscopic DNA interaction and Docking studies. *Applied Organometallic Chemistry*, 32(4). <https://doi.org/10.1002/aoc.4254>
- Slotta, K. H., & Tschesche, R. (1929). Über Biguanide, II.: Die blutzucker-senkende Wirkung der Biguanide. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 62(6), 1398–1405.
- Sorenson, J. R. J., Oberley, L. W., Crouch, R. K., Kensler, T. W., Kishore, V., Leuthauser, S. W. C., Oberley, T. D., & Pezeshk, A. (1983). Pharmacologic

- Activities of Copper Compounds in Chronic Diseases. *Biological Trace Element Research*, 5, 257–273.
- Szkołuda, P., & Karpiński, T. M. (2020). Polyhexanide (PHMB)-properties and applications in medicine. *European Journal of Biological Research*, 10(3), 225–231. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3956819>
- Thomson, J., Ladbury, J. E., & Doyle, M. (2005). Isothermal Titration Calorimetry: A Tutorial. En *Biocalorimetry II* (pp. 35–58). John Wiley & Sons.
- Treviño, S., Díaz, A., Sánchez-Lara, E., Sanchez-Gaytan, B. L., Perez-Aguilar, J. M., & González-Vergara, E. (2019). Vanadium in Biological Action: Chemical, Pharmacological Aspects, and Metabolic Implications in Diabetes Mellitus. *Biological Trace Element Research*, 188(1), 68–98. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1540-6>
- Treviño, S., Sánchez-Lara, E., Sarmiento-Ortega, V. E., Sánchez-Lombardo, I., Flores-Hernández, J. Á., Pérez-Benítez, A., Brambila-Colombres, E., & González-Vergara, E. (2015). Hypoglycemic, lipid-lowering and metabolic regulation activities of metforminium decavanadate (H₂Metf)₃ [V₁₀O₂₈]-8H₂O using hypercaloric-induced carbohydrate and lipid deregulation in Wistar rats as biological model. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 147, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.04.002>
- Trouillas, P., Marchetti, C., Bonnefont-Rousselot, D., Lazzaroni, R., Jore, D., Gardès-Albert, M., & Collin, F. (2013). Mechanism of one-electron oxidation of metformin in aqueous solution. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15(24), 9871–9878. <https://doi.org/10.1039/c3cp50602a>
- Tse, E. G., Korsik, M., & Todd, M. H. (2019). The past, present and future of anti-malarial medicines. En *Malaria Journal* (Vol. 18, Número 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12936-019-2724-z>
- Türkel, N., & Sahin, C. (2009). Stability of Binary and Ternary Copper(II) Complexes with 1,10-Phenanthroline, 2,2'-Bipyridyl and Some α -Amino Acids in Aqueous Medium. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 57(7), 694–699.
- Turnbull, W. B. (2005). Divided We Fall? Studying low affinity fragments of ligands by ITC. En *MicroCal Application Note*.
- Turnbull, W. B., & Daranas, A. H. (2003). On the Value of c: Can Low Affinity Systems Be Studied by Isothermal Titration Calorimetry? *Journal of the American Chemical Society*, 125(48), 14859–14866. <https://doi.org/10.1021/ja036166s>
- Ungar, G., Freedman, L., & Shapiro, S. L. (1957). Pharmacological Studies of a New Oral Hypoglycemic Drug. (23163). *Experimental Biology and Medicine*, 190–192.


- Uriu-Adams, J. Y., & Keen, C. L. (2005). Copper, oxidative stress, and human health. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4), 268–298. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.015>
- Valdés, S., Rojo-Martínez, G., & Soriguer, F. (2007). Evolución de la prevalencia de la diabetes tipo 2 en población adulta Española. *Medicina Clinica*, 129(9), 352–355. <https://doi.org/10.1157/13109554>
- Vancura, A., Bu, P., Bhagwat, M., Zeng, J., & Vancurova, I. (2018). Metformin as an Anticancer Agent. *Trends in Pharmacological Sciences*, 39(10), 867–878. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2018.07.006>
- Vega, S., Abian, O., & Velazquez-Campoy, A. (2015). A unified framework based on the binding polynomial for characterizing biological systems by isothermal titration calorimetry. *Methods*, 76, 99–115. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.09.010>
- Villamizar-Delgado, S., Villamizar-Delgado, S., Porras-Osorio, L. M., Piñeros, O., Ellena, J., Balcazar, N., Balcazar, N., Varela-Miranda, R. E., & D’Vries, R. F. (2020). Biguanide-transition metals complexes as potential drug for hyperglycemia treatment. *RSC Advances*, 10(38), 22856–22863. <https://doi.org/10.1039/d0ra04059b>
- Vogel, H. J. (2002). *Calcium-Binding Protein Protocols Volume II: Methods and Techniques* (Vol. 173).
- Wadsö, L., & Li, Y. (2011). Isothermal titration calorimetry in the student laboratory. *Journal of Chemical Education*, 88(1), 101–105. <https://doi.org/10.1021/ed100649e>
- Wang, H., Li, N., Chivese, T., Werfalli, M., Sun, H., Yuen, L., Hoegfeldt, C. A., Elise Powe, C., Immanuel, J., Karuranga, S., Divakar, H., Levitt, Na. A., Li, C., Simmons, D., & Yang, X. (2022). IDF Diabetes Atlas: Estimation of Global and Regional Gestational Diabetes Mellitus Prevalence for 2021 by International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group’s Criteria. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 183. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109050>
- Wehbe, M., Leung, A. W. Y., Abrams, M. J., Orvig, C., & Bally, M. B. (2017). A Perspective—can copper complexes be developed as a novel class of therapeutics? *Dalton Transactions*, 46(33), 10758–10773. <https://doi.org/10.1039/c7dt01955f>
- Werner, E. A., & Bell, J. (1922). CCXIV.—The preparation of methylguanidine, and of $\beta\beta$ -dimethylguanidine by the interaction of dicyanodiamide, and methylammonium and dimethylammonium chlorides respectively. *Journal of the Chemical Society*, 121, 1790–1794.
- WHO. (2002). *Essential Medicines*.

- WHO. (2023). *Diabetes*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Williams, R. H., & Palmer, J. P. (1975). Farewell to Phenformin for Treating Diabetes Mellitus. *Annals of Internal Medicine*, 83(4), 567–568. <https://annals.org>
- Winiewska, M., Bugajska, E., & Poznański, J. (2017). ITC-derived binding affinity may be biased due to titrant (nano)-aggregation. Binding of halogenated benzotriazoles to the catalytic domain of human protein kinase CK2. *PLoS ONE*, 12(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173260>
- Wiseman, T., Williston, S., Brandts, J. F., & Lint, N. (1989). Rapid Measurement of Binding Constants and Heats of Binding Using a New Titration Calorimeter. *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY*, 179(1), 131–137.
- Woo, L. C. Y., Yuen, V. G., Thompson, K. H., Mcneill, J. H., & Orvig, C. (1999). Vanadyl-biguanide complexes as potential synergistic insulin mimics. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 76, 251–257. www.elsevier.nl/locate/jinorgbio
- Yasumatsu, N., Yoshikawa, Y., Adachi, Y., & Sakurai, H. (2007). Antidiabetic copper(II)-picolinate: Impact of the first transition metal in the metallopicolinate complexes. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 15(14), 4917–4922. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.04.062>
- Yendapally, R., Sikazwe, D., Kim, S. S., Ramsinghani, S., Fraser-Spears, R., Witte, A. P., & La-Viola, B. (2020). A review of phenformin, metformin, and imeglimin. *Drug Development Research*, 81(4), 390–401. <https://doi.org/10.1002/ddr.21636>
- Zehra, S., Tabassum, S., & Arjmand, F. (2021). Biochemical pathways of copper complexes: progress over the past 5 years. *Drug Discovery Today*, 26(4), 1086–1096. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.01.015>
- Zhu, M., Lu, L., Yang, P., & Jin, X. (2002). Bis(1,1-dimethylbiguanido)copper(II) octahydrate. *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online*, 58(5), m217–m219. <https://doi.org/10.1107/s1600536802007092>
- Zhu, Z., Jiang, W., Thompson, M. D., Echeverria, D., McGinley, J. N., & Thompson, H. J. (2015). Effects of metformin, buformin, and phenformin on the post-initiation stage of chemically induced mammary carcinogenesis in the rat. *Cancer Prevention Research*, 8(6), 518–527. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-14-0121>
- Zielenkiewicz, W., & Margas, E. (2004). *THEORY OF CALORIMETRY* (J. Simon, Ed.; Vol. 2). Kluwer Academic.
- Zoroddu, M. A., Zanetti, S., Pogni, R., & Basosi, R. (1996). An Electron Spin Resonance Study and Antimicrobial Activity of Copper(II)-Phenanthroline Complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 63, 291–300.

10. ANEXOS


10.1 Cartel presentado en congreso

Participación en XXXIV Congreso Nacional de Química Analítica, XXIV Simposio Estudiantil. Asociación Mexicana de Química Analítica (AMQA), llevado a cabo del 21 al 23 de septiembre de 2022, Universidad de Guanajuato, Gto., México. Título del trabajo: “Estudio de complejos con propiedades hipoglucemiantes de metformina con ion vanadilo”.



**UNAM
CUAUTITLÁN**

PERFIL TERMODINÁMICO DE LA INTERACCIÓN DE METFORMINA CON EL ION VANADILLO POR CALORIMETRÍA DE TITULACIÓN ISOTÉRMICA



Est 34

Yaotonalli Tlahuicoatzin Manrique Buendía, Norma Rodríguez Laguna*, Rodolfo Gómez Balderas, Rosario Moya Hernández, Ricardo Hipólito Nájera, Jeovani González Barbosa.

Laboratorio de Físicoquímica Analítica, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, Cuautitlán Izcalli, C.P. 54714. Estado de México, México.

Introducción

En México, una de las enfermedades crónico-degenerativas que afecta gravemente a la población es la Diabetes Mellitus 2 (DM2), la cual es causada por el sedentarismo, obesidad, malos hábitos alimenticios, factores hereditarios, entre otros. Esta problemática conlleva que sea necesario diseñar nuevos fármacos hipoglucemiantes con mayor eficacia y con menores efectos secundarios.

En la literatura científica se reportan que los fármacos complejados con iones metálicos presentan mayor actividad biológica que el fármaco original. Es por ello que en este trabajo se lleva a cabo el estudio de la interacción de metformina (Mtf) (Fig. 1) con ion vanadilo (VO^{2+}) en solución acuosa a 25 °C por la técnica de Calorimetría de Titulación Isotérmica (ITC).

CN1C=NC(=N)N1

Fig. 1. Estructura química de Metformina (Mtf)

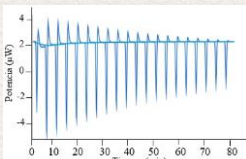


Fig. 3. Termograma asociado a la formación del complejo Mtf-VO.

Metodología

La valoración calorimétrica se llevó a cabo utilizando las concentraciones de: [Mtf]= 1.22×10^{-3} M y [VO^{2+}]= 1.79×10^{-2} M (Fig. 2). Además de esta valoración, también se determinó el calor generado por efecto de dilución del valorante, para ello se colocó el valorante (VO^{2+}) en la jeringa de inyección y en la celda de reacción se colocó el disolvente (agua desionizada). Cada experimentación se realizó por triplicado. Se obtuvo el termograma DP = f(t) y la curva de enlace del sistema Mtf- VO^{2+} .

Condiciones experimentales:	
Temperatura	25°C
Vol. Inyecciones	14 μ L
Duración	28 s
Núm. Inyecciones	20
Espaciado	240 s




Fig. 2. Equipo utilizado: MicroCal VP-ITC, General Electric.

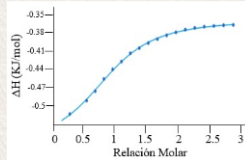


Fig. 4. Curva de enlace asociado a la formación del complejo Mtf-VO.

Resultados y discusión

Los datos calorimétricos obtenidos fueron tratados con el programa PEAQ-ITC para obtener el ajuste teórico de los datos experimentales asociados a la curva de enlace, dando como resultado los valores de los parámetros termodinámicos: constante de formación del complejo (K), entalpía (ΔH), energía libre de Gibbs (ΔG) y entropía (ΔT).

El termograma de la Fig. 3 corresponde a la valoración de la reacción entre Mtf y VO^{2+} corregido por el calor de dilución.

Los picos que se observan en el termograma (Fig. 3) presentan picos de mayor tamaño con valores negativos, esto indica que la reacción es mayoritariamente exotérmica; generando calor cada vez que se adiciona el valorante (VO^{2+}) y elevando la temperatura con respecto a la celda de referencia, por lo que el equipo disminuye la temperatura de la celda de reacción para igualarla con la celda de referencia.

La Tabla 1 muestra los parámetros termodinámicos obtenidos por el programa PEAQ-ITC.

Tabla 1. Perfil termodinámico de la formación del complejo Mtf(VO) de estequiometría 1:1.

Sistema	Log K	ΔH (kJ/mol)	ΔG (kJ/mol)	$-T\Delta S$ (kJ/mol)
Mtf-VO	3.52	-0.202 ± 0.006	-4.81	-4.61


Conclusiones

- La reacción entre Mtf y VO^{2+} es exotérmica; esto se confirma con los picos del termograma dirigidos mayoritariamente hacia abajo, y por el valor del ΔH .
- La reacción es poco cuantitativa por lo cual la cantidad de calor (ΔH) liberada es mínima.
- El ΔG es negativo lo que indica que la reacción es espontánea en el sentido de la formación del complejo.
- La estequiometría del complejo formado de Mtf-VO es 1:1.

Referencias

- Adam A. M. (2015) Spectrochimica Acta Part A.
- Sanchez E. (2015) RIAA.
- Alvino De la Sota N. & Pacheco C. J. (2007) PUCP.
- Ibrahim M. (2015) J. Mol. Struct.
- García S. J. (2015) AEMPS.

Agradecimientos
Este trabajo fue apoyado por UNAM-PAPIIT IA208221 y IN221621 de la Dirección General de Apoyo al Personal Académico, y por el proyecto PIAP12035 y el Programa de Cátedras de Investigación C12220 de la FES-Cuautitlán, UNAM.



10.2 Constancia de participación en congreso

Constancia otorgada por participar con el trabajo: “Perfil Termodinámico de la interacción de metformina con el ion Vanadilo por Calorimetría de Titulación Isotérmica” en el XXXIV Congreso Nacional de Química Analítica, 2022.



10.3 Revista.

Rodríguez-Laguna, N., Manrique-Buendía, Y. T., Gómez-Balderas, R., Moya-Hernández, R., & González-Barbosa, J. (2023). Perfil termodinámico del sistema metformina-vanadilo por calorimetría de titulación isotérmica. *Pädi Boletín Científico De Ciencias Básicas E Ingenierías Del ICBI*, 11(Especial), 54-57.

<https://doi.org/10.29057/icbi.v11iEspecial.10353>



LIBRO DE RESÚMENES



Guanajuato, Guanajuato
19 al 23 de septiembre de 2022



Perfil termodinámico del sistema metformina-vanadilo por calorimetría de titulación isotérmica
 Thermodynamic profile of the metformin-vanadyl system by isothermal titration calorimetry

N. Rodríguez-Laguna ^{*}, Y. T. Manrique-Buendía , R. Gómez-Balderas , R. Moya-Hernández 
 J. González-Barbosa 

Laboratorio de Físicoquímica-Analítica, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, 54714, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.

Resumen

La metformina es una biguanida que ha sido utilizada durante los últimos 40 años para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), es capaz de formar complejos de coordinación con algunos iones metálicos como por ejemplo el ion vanadilo. En la literatura científica se reporta que los fármacos complejados con iones metálicos presentan mayor actividad biológica, por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar la formación del complejo entre metformina y el ion vanadilo determinando los parámetros termodinámicos asociados a este proceso mediante Calorimetría por Titulación Isotérmica (ITC, por sus siglas en inglés) a 25 °C. Los parámetros termodinámicos determinados son: la constante de equilibrio (β), la energía libre de Gibbs (ΔG°), la entalpía (ΔH°) y la entropía (ΔS°). También se determinó la estequiometría del complejo formado en el sistema. Los resultados obtenidos son: $\log \beta = 3.520 \pm 0.037$, $\Delta G^\circ = -4.810$ kcal/mol, $\Delta H^\circ = (-0.202 \pm 0.006)$ kcal/mol y $-T\Delta S^\circ = -4.610$ kcal/mol; la estequiometría obtenida fue 1:1 correspondiente al complejo Mtf (VO)²⁺.

Palabras Clave: metformina, vanadilo, parámetros termodinámicos, calorimetría, estequiometría.

Abstract

Metformin is a biguanide that has been used for the last 40 years for the treatment of type 2 diabetes mellitus (DM2). It can form coordination complexes with some metal ions, such as the vanadyl ion. In the scientific literature, it is reported that drugs complexed with metal ions have greater biological activity, so the objective of this work was to evaluate the formation of complex between metformin and the vanadyl ion, determining the thermodynamic parameters associated with this process by Isothermal Titration Calorimetry (ITC) at 25 °C. The determined thermodynamic parameters are: the equilibrium constant (β), the Gibbs free energy (ΔG°), the enthalpy (ΔH°) and the entropy (ΔS°). In addition, the stoichiometry of the complex formed in the system was also determined. The results obtained are: $\log \beta = 3.520 \pm 0.037$, $\Delta G^\circ = -4.810$ kcal/mol, $\Delta H^\circ = (-0.202 \pm 0.006)$ kcal/mol and $-T\Delta S^\circ = -4.610$ kcal/mol; the stoichiometry obtained was 1:1 corresponding to the Mtf(VO)²⁺ complex.

Keywords: metformin, Vanadyl, thermodynamic profile, calorimetry, stoichiometry.

1. Introducción

Una de las mayores enfermedades que presenta el mundo es la diabetes mellitus (DM), teniendo como antecedente que en 1995 el 4 % de la población mundial sufría de esta enfermedad y para el 2025 se contempla que aumente al 6.4 % (Kaul, *et al.*, 2013). El estilo de vida sedentario de las nuevas generaciones, la dieta y herencia genética son algunos de los

factores que contribuyen en gran medida al desarrollo de la diabetes mellitus. La diabetes se clasifica en dos tipos: La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) es consecuencia de un daño en las células β pancreáticas ocasionando un déficit de insulina. (Shaer, 2014). La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es la diabetes más común y es conocida como diabetes no insulino dependiente, se caracteriza por una baja síntesis de insulina, provocando una acción deficiente de esta en el

*Autor para la correspondencia: normarola@cuautitlan.unam.mx.

Correo electrónico: normarola@cuautitlan.unam.mx (Norma Rodríguez-Laguna), tlahuimanrique@gmail.com (Yaotonalli Tlahuicoatzin Manrique-Buendía), gomezr@gmail.com (Rodolfo Gómez-Balderas), rosariomoya@cuautitlan.unam.mx (Rosario Moya-Hernández), barjeo@gmail.com (Jeovani González-Barbosa)

Historial del manuscrito: recibido el 06/12/2022, última versión-revisada recibida el 22/03/2023, aceptado el 28/03/2023, publicado el 28/04/2023. DOI: <https://doi.org/10.29057/icbi.v11iEspecial.10353>



organismo, presentando en la mayoría de los casos hipertensión, insomnio y en cierto punto depresión; siendo el 90 % de pacientes con diabetes que desarrollan este tipo. (Ahmad, *et al.*, 2022; Maraschin, 2013) Además, hoy en día se reporta que la DM2 afecta a un mayor número de pacientes jóvenes (Song, 2013).

Para controlar la DM2 se recomienda, además de cambiar el estilo de vida, la dieta y el control el peso, implementar el uso de agentes hipoglucemiantes orales como es la metformina, que sirve para disminuir los niveles de glucosa en sangre (Altagracia-Martínez, *et al.*, 2007).

La metformina (Mtf) es una biguanida que se ha usado ampliamente en el mundo para el tratamiento de la DM2 durante las últimas cuatro décadas (Rodríguez-Rivera, *et al.*, 2017). Es un hipoglucemiante que no causa liberación de insulina en el páncreas y no provoca hipoglucemias; es por ello que la Mtf, es uno de los medicamentos más utilizados en el tratamiento de esta enfermedad, siendo de bajo costo, teniendo un efecto positivo sobre el control de peso y su eficacia. (Jennings, 1997; López Timoco, *et al.*, 2007) El efecto hipoglucemiante se debe a una sensibilización de los tejidos periféricos a la insulina y a la reducción de la producción hepática de glucosa.

El vanadilo por sí solo tiene propiedades insulinoimiméticas así como efectos adversos menores (Sánchez, 2015). Estas propiedades llevan a focalizar el interés de la investigación en el desarrollo de nuevos compuestos de vanadilo que sean apropiados para la administración oral aumentando la absorción, la solubilidad y la potencia terapéutica; esto ayudaría a disminuir la dosis requerida durante el tratamiento de la DM2, y a contrarrestar los síntomas adversos (Alvino De la Sota & Pacheco Calderón, 2007). Estos fármacos nuevos o modificados deberán conservar sus propiedades insulinoimiméticas, además deberán ser estables, y solubles en condiciones fisiológicas y con un poder terapéutico más eficaz (Barrio, 2004).

La calorimetría por titulación isotérmica (ITC, por sus siglas en inglés) es una técnica novedosa que se utiliza en el estudio de interacciones entre macromoléculas con iones metálicos, como es el caso de la química bioinorgánica (Hansen, *et al.*, 2018). En este trabajo, se hace uso de esta técnica para estudiar la interacción de metformina con ion vanadilo con la finalidad de determinar la estequiometría del complejo formado y los parámetros termodinámicos asociados al fenómeno de la complejación.

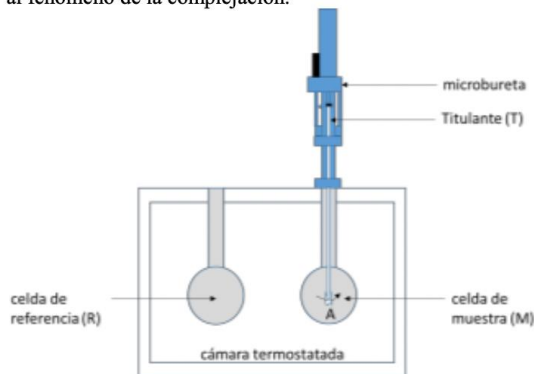


Figura 1: Partes internas del calorímetro MicroCal VP-ITC.

2. Experimentación

2.1. Reactivos, equipos y software

Los reactivos utilizados para el experimento son Metformina-HCl (Sigma-Aldrich) y $\text{VOSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), agua desionizada obtenida de un Purelab Classic, ELGA 18.2 M Ω cm. Los equipos utilizados son un MicroCal VP-ITC de General Electric y un desgasificador MicroCal ThermoVac de General Electric. Se empleó el software MicroCal (2004) PEAQ-ITC Analysis, Malvern Instruments.

2.2. Metodología

Calorimetría por Titulación Isotérmica. La Figura 1 muestra los elementos básicos de un calorímetro. Éste tiene dos celdas, una de referencia (R) y otra que contiene la muestra (M), y una microbureta que contiene el titulante (T) el cual se adiciona a la celda muestra en la que se lleva a cabo la reacción (Bastos & Velazquez-Campoy, 2021). El volumen de alícuota V_0 que le cabe a la celda de reacción es de 1.4303 mL. La aguja de la microbureta cuenta con un sistema de agitación accionada mediante un motor interno que permite el mezclado adecuado de los reactivos. El sistema de celdas se encuentra aislado adiabáticamente del entorno para asegurar que el calor registrado sea solamente el involucrado en el proceso de interacción.

Preparación de la disolución de Metformina. Se pesaron 17 mg de Metformina y se disolvieron en agua desionizada para llevarlo a un volumen de 10 mL. **Preparación de la disolución de Sulfato de Vanadilo.** Se pesaron 210 mg de sulfato de vanadilo, se disolvieron en agua desionizada y llevó a un volumen de aforo de 10 mL; esta solución se empleó sin previa estandarización. Ambas disoluciones se desgasificaron para eliminar el oxígeno presente en ellas.

La celda de reacción y la microbureta fueran lavadas con agua desionizada y etanol para asegurar que el equipo esté completamente limpio. En la celda de referencia se colocó agua desionizada. En la celda de reacción (analito) se colocó Mtf de concentración 1.22×10^{-3} M, y en la microbureta se colocó la solución de VO^{2+} de concentración 1.79×10^{-3} M. El volumen de alícuota del analito a valorar es de $V_0 = 1.4303$ mL.

Se realizaron 20 inyecciones de 14 μL de la solución de VO^{2+} , considerando un espaciado entre cada adición de 240 s, cada adición se llevó a cabo en 28 s; con un poder de referencia de 4 $\mu\text{Cal/s}$, un periodo de filtrado de 8 s y una agitación de 351 rpm.

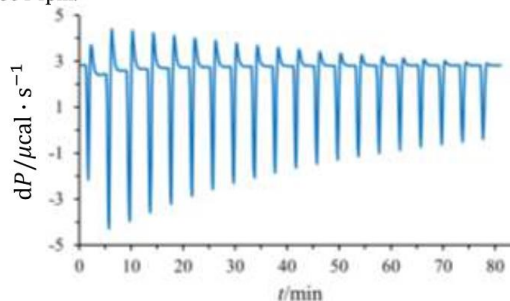


Figura 2: Termograma asociado a la interacción de metformina con el ion vanadilo a 25 °C.

3. Resultados y discusión

Como resultados de la valoración calorimétrica del sistema Mtf-VO²⁺ se obtuvo el termograma dP/μcal·s⁻¹ = f(t/min) que se muestra en la Figura 2 y la curva de enlace (dQ/dt)/μcal s⁻¹ = f(r), donde r es la relación molar de la cantidad del valorante con respecto a la cantidad de analito en cada etapa de la valoración; esta curva se muestra en la Figura 3. Los picos que se observan en el termograma presentan mayor tamaño hacia abajo, esto indica que la reacción es exotérmica.

En la Figura 3 se muestra la curva de enlace experimental (marcadores) y las curvas teóricas obtenidas usando el programa PEAQ-ITC (líneas continua, segmentada y punteada) con valores de N=1, N=2 y N=0.5, respectivamente. Se observa que el mejor ajuste se obtiene usando un valor de N=1, indicando que la estequiometría es 1:1 correspondiente al complejo Mtf(VO)²⁺. El equilibrio asociado a la formación del complejo Mtf (VO)²⁺ se muestra en la Ecuación 1. Con base en los parámetros de ajuste realizado por PEAQ-ITC, se obtiene el perfil termodinámico que se muestra en la Tabla 1.

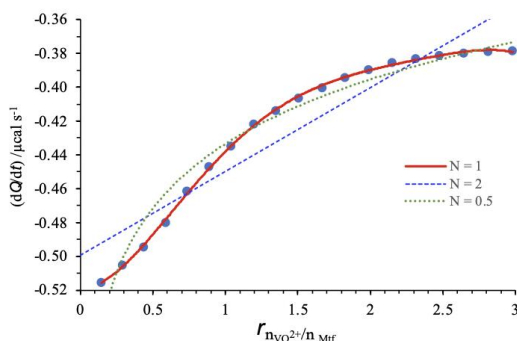


Figura 3: Curva de enlace asociada a la interacción de metformina con el ion vanadilo, para determinar los parámetros termodinámicos.



El equilibrio anterior tiene asociada una constante de equilibrio β, expresando esta constante en términos de la ley de acción de masas se tiene (Ecuación 2):

$$\beta = \frac{[\text{Mtf(VO)}^{2+}]}{[\text{Mtf}] [\text{VO}^{2+}]} \quad (2)$$

Determinando el valor de la constante de equilibrio a partir de los parámetros termodinámicos, se obtiene

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad (3)$$

$$K = e^{-\frac{\Delta G^\circ}{RT}} \quad (4)$$

En las Ecuaciones 3 y 4, la constante de equilibrio K es la misma que se muestra en la Ecuación 2. Por lo tanto,

$$\beta = e^{-\frac{-20134.66 \text{ J/mol}}{(8.314 \text{ J/mol K}) (298.15 \text{ K})}} = 3370.048074 = 10^{3.520} \quad (5)$$

Aplicando el logaritmo base 10 a la Ecuación 5, se obtiene la Ecuación 6.

$$\log \beta = 3.520 \quad (6)$$

Este valor es el mismo que se muestra en la Tabla 1. Para determinar si el proceso de interacción entre Mtf y VO²⁺ es un proceso entálpico o entrópico, se muestra la Figura 4; esta figura muestra las magnitudes de ΔG°, ΔH° y -TΔS°. En este gráfico se observa que la entropía contribuye más al valor de ΔG° que la entalpía, esto de acuerdo con la ecuación termodinámica ΔG° = ΔH° - TΔS°; por esta razón, se determina que el proceso está impulsado por la entropía.

Tabla 1: Perfil termodinámico de la formación del complejo Met(VO)²⁺ de estequiometría 1:1 (N=1).

Sistema	log β	ΔG° (kcal/mol)	ΔH° (kcal/mol)	-TΔS° (kcal/mol)
Met(VO) ²⁺	3.520±0.037	-4.810	-0.202±0.006	-4.610

Al comparar la forma de los picos que van hacia abajo en el termograma y el valor de ΔH°, se confirma que el proceso de la interacción es exotérmico.

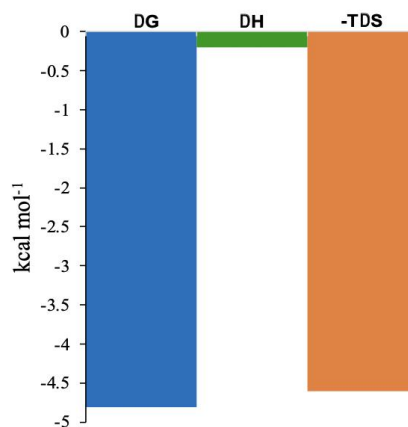


Figura 4: Perfil termodinámico de la interacción entre Mtf y VO²⁺ para formar el complejo con estequiometría 1:1.

4. Conclusiones

Al estudiar la interacción entre metformina y el ion vanadilo por Calorimetría por Titulación Isotérmica, se logró obtener el termograma y la curva de enlace del sistema estudiado. El termograma, al presentar picos de mayor tamaño hacia abajo indica que la reacción es exotérmica.

Por otro lado, se logró obtener un buen ajuste teórico de la curva de enlace experimental usando el programa PEAQ-ITC; este ajuste se obtuvo alimentando el programa con un valor de N=1, esto indica que la estequiometría del complejo formado es 1:1, siendo el complejo Mtf (VO)²⁺. Los resultados

obtenidos de los parámetros experimentales fueron: $\log \beta = 3.520 \pm 0.037$, $\Delta G^\circ = -4.810$ kcal/mol, $\Delta H^\circ = (-0.202 \pm 0.006)$ kcal/mol y $-T\Delta S = -4.610$ kcal/mol. Con estos resultados se determina que la formación del complejo es un proceso espontáneo, exotérmico y que está favorecido por la entropía del sistema.

La información química generada a partir de este trabajo coadyuva en el diseño de nuevos fármacos unidos a iones metálicos que puedan ser empleados en el tratamiento de la DM2.

Agradecimientos

N. Rodríguez-Laguna agradece a los programas UNAM-PAPIIT IA208221 y IA209123, y R. Gómez-Balderas agradece al programa UNAM-PAPIIT IN221621 por el apoyo a esta investigación. R. Moya-Hernández agradece al proyecto PIAPI2035 y al Programa de Cátedras de Investigación CI2220 de la FESC-UNAM. J. González-Barbosa agradece a CONACYT por su beca de doctorado.

Referencias

- Ahmad, E., Lim, S., Lamptey, R., Webb, D., Davies, M., (1 de Noviembre de 2022). Type 2 diabetes. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)01655-5
- Altagracia-Martínez, M., Kravzou-Jinich, J., Moreno-Santamaría, M., Rubio-Poo, C., Skrpmne-Kadlubik, D., Rivas-Cornejo, M., Vázquez-Moreno, E., (2007). Diabetes mellitus tipo 2: ventas de os hipoglucemiantes orales y costos de los tratamientos farmacológicos en México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 38(1), 23-33.
- Alvino, N., Pacheco, J., (2007). Diseño de Agentes Antidiabéticos de Vanadio: Desarrollo y Avances Recientes. *Revista De Química*, 1-2(21), 37-48. Obtenido de <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/2610>
- Barrio, D., (2004). Farmacología de compuestos de vanadilo. Efectos sobre células osteoblásticas en cultivo, Tesis de doctorado de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Bastos, M., Velazquez-Campoy, A., (2021). Isothermal titration calorimetry (ITC): a standard operating procedure (SOP). *European Biophysics Journal*, 363-371. DOI: 10.1007/s00249-021-01509-5
- Hansen, L., Transtrum, M., Quinn, C., (2018). *Titration calorimetry from concept to application*. Springer. DOI: 10.1007/978-3-319-78250-8
- Jennings, P., (1997). Oral antihyperglycaemics. Considerations in Older Patients with Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Drug therapy*, 5(10), 323-331.
- Kaul, K., Tarr, J., Ahmad, S., Kohner, E., Chibber, R., (2013). Introduction to Diabetes Mellitus. En S. I. Ahmad (Ed.), *Diabetes. Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 771). New York, NY.: Springer. DOI: 10.1007/978-1-4614-5441-0_2
- López, C., Coserria, C., Aguilar, M., (2007). Necesidades de mejora y limitaciones en el tratamiento de la diabetes mellitus. *Perspectiva del endocrinólogo. Pharmacoeconomics*, 4(1), 25-31.
- Malvern., (2004). *MicroCal PEAQ-ITC Analysis Software*. Malvern Instruments.
- Maraschin, J., (2013). Classification of diabetes. En S. I. Ahmad (Ed.), *Diabetes. Advances in experimental medicine and biology*. New York, NY: Springer. DOI: 10.1007/978-1-4614-5441-0_2
- Rodríguez-Rivera, N., Cuautle-Rodríguez, P., Molina-Guarneros, J., (2017). Hipoglucemiantes orales para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2: uso y regulación en México. 4(84), 203-211. Obtenido de www.medigraphic.com/hospitaljuarez
- Sánchez, E., (2015). Síntesis, caracterización y evaluación de la actividad antidiabética de nuevos compuestos de vanadio (v). *Revista RIAA*. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12371/12586>
- Shaer, N. K., (2014). Diabetes personalized: the use of whole-exome sequencing in order to identify familial type 2 diabetes mellitus susceptibility factors (Vol. 15 (Suppl 2):P51). *BMC Genomics*. DOI: 10.1186/1471-2164-15-S2
- Song, S., (2013). Emerging type 2 diabetes in young adults. En S. I. Ahmad (Ed.), *Diabetes. Advances in experimental medicine and biology* (Vol. 771). New York: Springer. DOI: 10.1007/978-1-4614-5441-0_7