



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Termodinámica de la inclusión de flurbiprofeno en
ciclodextrinas en disolución acuosa**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN QUÍMICA INDUSTRIAL

P R E S E N T A:
Angel Alejandro Ceballos Aguilar

ASESORES:
Dra. Norma Rodríguez Laguna
Dr. Rodolfo Gómez Balderas

Cuatitlán Izcalli, Estado de México, 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Nada de esto podría ser posible sin el amor y apoyo incondicional que me entregó mi madre durante toda mi vida, realizaste cosas imposibles siempre para mi bienestar y sacarme adelante, guiándome por un camino de grandeza y valores como los tuyos, también quiero agradecer a mi abuela que estuvo al igual apoyándome durante toda mi vida, estas dos personas son los principales pilares de mi formación como persona y como estudiante, les debo todo.

A mi familia Ceballos Aguilar y Aguilar Villanueva, así como sus parejas e hijos quiero agradecerles ya que me apoyaron en diversas ocasiones, me brindaron todo tipo de apoyos a lo largo de mi vida, son del grupo de personas que más peso tienen en mi vida.

Agradezco a mi pareja que estuvo apoyándome desde que la conocí en diversos temas de mi vida, agradezco y valoro que hayas sido parte de mi etapa como estudiante y el comienzo de mi vida laboral en la rama de lo que estudié, además de haber estado en todos los procesos y complicaciones que estos implicaron.

A todos mis compañeros académicos de mis diversas etapas y grados escolares, ya que todos forman parte de mi construcción académica, gracias a las experiencias, apoyos e incluso los impedimentos que pudieron dar, ya que de todo esto es que el día de hoy estamos aquí.

Mis profesores, cada uno tuvo un aporte en la persona y la mentalidad que tengo hoy en día, agradezco que hayan compartido su conocimiento, me brindaran su tiempo y dedicación para enseñarme y enfatizar en mi persona cuando algo no me quedaba claro.

Especialmente quiero agradecer a mis asesores de tesis, el Dr. Rodolfo Gómez Balderas y la Dra. Norma Rodríguez Laguna, y al equipo de trabajo del Laboratorio 10 de la UIM, ya que durante la realización de mi servicio social y tesis, me brindaron bastante flexibilidad y comprensión con los problemas que se me presentaban.

Todos y cada uno de los antes mencionados tienen mi eterna gratitud, a algunos me gustaría poder volver a verlos simplemente para agradecerles en persona, pero solo puedo dejar marcada su

presencia y legado en mi documento que finaliza una de las etapas más importantes de mi vida, sin necesidad de decírselo saben que tienen un lugar en mi corazón.

Este logro no es solo mío, quiero que forme parte de cada una de las personas que fueron reconocidas en este documento.

El presente trabajo fue realizado gracias al apoyo del Programa UNAM-PAPIIT IN222224 “Termodinámica y naturaleza de las interacciones moleculares entre fármacos, iones metálicos y acarreadores en disolución”, y IA209123 “Equilibrio químico de algunos fármacos hipoglucemiantes con iones metálicos 3d y agentes acarreadores”; y a la Cátedra de Investigación de la FES-Cuautitlán UNAM CI2220 “Interacción multicomponente de fármacos hipoglucemiantes con iones metálicos y ciclodextrinas en disolución”.

ÍNDICE

1. RESUMEN	7
2. ABREVIATURAS	10
3. INTRODUCCIÓN	12
4. MARCO TEÓRICO	15
4.1 Fármacos antiinflamatorios no esteroideos.....	15
4.2 Flurbiprofeno.....	17
4.3 Ciclodextrinas.....	19
4.4 Complejos de Inclusión.....	20
4.5 Calorimetría por titulación isotérmica.....	22
5. JUSTIFICACIÓN	26
6. OBJETIVOS	28
6.1. Objetivo general.....	28
6.2. Objetivos particulares.....	28
7. METODOLOGÍA	30
7.1. Reactivos y equipos.....	30
7.2. Parte experimental.....	30
7.2.1 Sistema HFlur- α CD.....	33
7.2.2 Sistema HFlur- β CD.....	34
7.2.3 Sistema HFlur- γ CD.....	35
7.2.4 Sistema HFlur-2HP β CD.....	36
8. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	38
8.1 Parámetros termodinámicos del sistema HFlur/ α CD.....	38
8.2 Parámetros termodinámicos del sistema HFlur/ β CD.....	42
8.3 Parámetros termodinámicos del sistema HFlur/ γ CD.....	46
8.4 Parámetros termodinámicos del sistema HFlur/2HP β C.....	50
8.5 Comparación de sistemas HFlur- α CD, HFlur- β CD, HFlur- γ CD y HFlur-2HP β CD.....	54
9. CONCLUSIONES	58

10. REFERENCIAS	60
11. ANEXOS	64
11a. Participación en congreso	64
11b. Libro de resúmenes.....	65

1. RESUMEN

1. RESUMEN

La Calorimetría de Titulación Isotérmica es una técnica analítica novedosa que permite determinar el perfil termodinámico de una amplia variedad de interacciones biomoleculares, generalmente entre proteínas y metales, a través de la medición directa del calor que se libera o absorbe durante un evento de enlace biomolecular. Por otro lado, hoy en día, existe un gran interés en resolver la baja solubilidad que generalmente presentan los fármacos, ya que esto limita su biodisponibilidad y su potencial terapéutico. Una forma de resolver esta problemática es complejar los fármacos con agentes acarreadores tales como las ciclodextrinas, las cuales, por sus características hidrofóbicas en su cavidad e hidrofílicas en su superficie, son capaces de encapsular moléculas hidrofóbicas en su cavidad.

En el presente trabajo, se implementó el uso de la Calorimetría de Titulación Isotérmica en el estudio del fármaco antiinflamatorio no esterooidal Flurbiprofeno, en su forma neutra (HFlur), con las ciclodextrinas α , β , γ y 2-hidroxiopropil- β en solución a 30 °C. La finalidad de este estudio fue determinar la estequiometría (N), las constantes de formación de los complejos (K_f), la entalpía (ΔH°), la entropía (ΔS°) y la energía libre de Gibbs (ΔG°) asociados al proceso de formación de los complejos de inclusión. Los sistemas estudiados a lo largo de la tesis son llamados HFlur/ α -ciclodextrina, HFlur/ β -ciclodextrina, HFlur/ γ -ciclodextrina y HFlur/2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina.

Los resultados de este trabajo proporcionan información química fundamental sobre la formación de complejos binarios entre HFlur y algunas ciclodextrinas al determinar el perfil termodinámico asociado al proceso de complejación. Esta información es útil para el diseño de nuevas formulaciones con Flurbiprofeno con mayor solubilidad, mayor eficacia terapéutica y menos efectos secundarios.

El presente trabajo consta de los siguientes apartados:

1. RESUMEN. Es este mismo apartado.
2. ABREVIATURAS. Se muestran las abreviaturas que se emplean a lo largo del texto.

3. INTRODUCCIÓN. Se aborda el contexto de la tesis en términos del flurbiprofeno y de las ciclodextrinas.
4. MARCO TEÓRICO. En este capítulo se presenta una revisión bibliográfica sobre las definiciones y antecedentes de la parte medular del tema, entre ellos los fármacos antiinflamatorios no esteroideos, el flurbiprofeno, las ciclodextrinas, los complejos de inclusión y la calorimetría por titulación isotérmica.
5. JUSTIFICACIÓN. Se explican y argumentan las preguntas: ¿Por qué esta investigación y no otra?, ¿Por qué este tema o problema de investigación y no otro?; es decir, se plantea el valor que se tiene al estudiar el sistema flurbiprofeno/CDs.
6. OBJETIVOS. En este apartado se muestran los objetivos tanto general como particulares de este trabajo de investigación.
7. METODOLOGÍA. Se describe la metodología experimental; desde equipo, material, reactivos, hasta las condiciones y la técnica experimentales empleadas.
8. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS. Se presentan los resultados y el análisis de los parámetros termodinámicos obtenidos.
9. CONCLUSIONES. Se presentan las conclusiones del trabajo realizado y las sugerencias para futuros trabajos.
10. REFERENCIAS. Se muestran las referencias consultadas y empleadas para la realización de este trabajo de investigación.
11. ANEXOS. Se menciona la participación en un congreso nacional, en donde se aplicaron los conocimientos adquiridos sobre la técnica analítica de Calorimetría de Titulación Isotérmica.

2. ABREVIATURAS

2. ABREVIATURAS

Flur	Sistema de Flurbiprofeno
HFlur	Especie de Flurbiprofeno protonada (o neutra)
Flur ⁻	Especie de Flurbiprofeno desprotonada (o aniónica)
HFlur/ α CD	Sistema Flurbiprofeno protonado/ α -ciclodextrina
HFlur/ β CD	Sistema Flurbiprofeno protonado/ β -ciclodextrina
HFlur/ γ CD	Sistema Flurbiprofeno protonado/ γ -ciclodextrina
HFlur/2HP β CD	Sistema Flurbiprofeno protonado/2-hidroxipropil- β -ciclodextrina
(HFlur) ₂ - α CD	Complejo Flurbiprofeno protonado- α -ciclodextrina de estequiometría 2:1
(HFlur) ₂ - β CD	Complejo Flurbiprofeno protonado- β -ciclodextrina de estequiometría 2:1
(HFlur) ₂ - γ CD	Complejo Flurbiprofeno protonado- γ -ciclodextrina de estequiometría 2:1
(HFlur) ₂ -2HP β CD	Complejo Flurbiprofeno protonado-2-hidroxipropil- β -ciclodextrina de estequiometría 2:1
N	Estequiometría de la reacción
ΔH°	Entalpía de la reacción
ΔS°	Entropía de la reacción
ΔG°	Energía libre de Gibbs de la reacción
K_f	Constante de formación del complejo
K_d	Constante de disociación del complejo

3. INTRODUCCIÓN

3. INTRODUCCIÓN

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) representan uno de los grupos farmacológicos de mayor consumo a nivel mundial, con frecuencia son infrutilizados o se abusa de ellos, siendo a veces innecesaria su prescripción. Estos fármacos son un conjunto heterogéneo de compuestos químicos que no comparten específicamente nada entre ellos, pero se asemejan en sus acciones terapéuticas para el control de diversos grados de dolor, inflamación y fiebre (Prieto & Manuel, 2007) (Rainsford, 1999) (Cabezas Lefler et al., 2000). También son usados como anticomiciales, antidepresivos, antipsicóticos, etc. (Meloun et al., 2007).

Para los AINEs la velocidad de disolución es de vital importancia a la hora de que estos sean absorbidos y su principio activo pueda actuar en el organismo, es decir, deben estar disueltos. De esta forma, una vez disueltos se produce su paso al sistema sanguíneo. Por lo tanto, si un AINEs tiene problemas para disolverse, disminuirá su biodisponibilidad y su adsorción. Se puede decir que la velocidad de disolución repercute directamente en la biodisponibilidad que tomará lugar con sus principios activos (Prieto & Manuel, 2007) (López et al., 2019).

Un método para corregir esta baja solubilidad es el empleo de ciclodextrinas (CDs), ya que, al formar complejos solubles de gran estabilidad química con fármacos antiinflamatorios no esteroideos, mejoran la velocidad de disolución de los fármacos, aumentando la biodisponibilidad; de esta manera son utilizados de manera efectiva (Vila & Cano, s/f). Además, al estar “encapsuladas” dentro de las ciclodextrinas, adquieren cierta protección hasta llegar a su sitio de acción (Beig et al., 2013). En el apartado 4.2 *Ciclodextrinas* se explican, con mayor detalle, las estructuras y propiedades de las CDs.

En la literatura científica existen pocos trabajos sobre la inclusión del fármaco antiinflamatorio no esteroideo *Flurbiprofeno* con ciclodextrinas, es por ello que en este trabajo de tesis se estudia la formación de complejos de inclusión de Flurbiprofeno con las ciclodextrinas α , β , γ y 2-hidroxiopropil- β , en mezcla de agua-etanol 70-30 % a pH de 2 y temperatura de 30 °C, por Calorimetría por Titulación Isotérmica (ITC, por sus siglas en inglés). El objetivo de este trabajo fue determinar la estequiometría (N) y los parámetros termodinámicos: entalpía (ΔH°), entropía

(ΔS°), energía libre de Gibbs (ΔG°) y constante de formación (K_f) asociados a la formación de complejos en los sistemas bajo estudio. Estos sistemas son Flurbiprofeno protonado/ α -ciclodextrina (HFlur- α CD), Flurbiprofeno protonado/ β -ciclodextrina (HFlur- β CD), Flurbiprofeno protonado/ γ -ciclodextrina (HFlur- γ CD) y Flurbiprofeno protonado/2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HFlur-2HP β CD). Con los resultados obtenidos en este trabajo, se genera información química fundamental para el diseño de nuevos fármacos con una posible mayor actividad terapéutica y menores efectos secundarios.

4. MARCO TEÓRICO

4. MARCO TEÓRICO

En esta investigación se estudian los complejos de inclusión del fármaco Flurbiprofeno con las ciclodextrinas α , β , γ y 2HP β por Calorimetría de Titulación Isotérmica para determinar la estequiometría y los parámetros termodinámicos de los complejos formados en cada sistema. En los siguientes apartados del marco teórico, se da una descripción sobre fármacos antiinflamatorios no esteroidales, flurbiprofeno, de las ciclodextrinas, de los complejos de inclusión y de la técnica de Calorimetría por Titulación Isotérmica.

4.1 Fármacos antiinflamatorios no esteroidales

Son un conjunto heterogéneo de compuestos químicos generalmente no relacionados entre sí, que comparten acciones terapéuticas para el control en diverso grado del dolor, la inflamación y la fiebre. (Prieto & Manuel, 2007). Entre las propiedades fisicoquímicas comunes se destacan las siguientes: la mayoría, no todos, son ácidos débiles; poseen como mínimo un anillo aromático, aunque algunos tienen dos (fenilbutazona, indometacina, diclofenaco) y todos presentan un mecanismo de acción similar gracias a la forma plana de su molécula que facilita su unión a los receptores de la enzima ciclooxigenasa. La Tabla 1 muestra la clasificación de los AINEs según su estructura química (Santos et al., s/f).

El principal mecanismo de acción de los AINEs es la inhibición de las enzimas llamadas ciclooxigenasas (COX). Esta enzima condiciona el paso del ácido araquidónico a endoperóxidos cíclicos inestables que, a su vez, se transforman por acción de distintas vías enzimáticas, en prostaglandinas (PGE₂, PGD₂), tromboxano-A₂ (TXA₂) y prostaciclina. Las prostaglandinas (PG) se sintetizan en la mayoría de los tejidos del organismo y poseen numerosas acciones fisiológicas, pero también participan en los mecanismos patogénicos relacionados con la inflamación, el dolor y la fiebre (Cabezas Lefler et al., 2000). El efecto analgésico se encuentra fundamentado en el bloqueo de la producción periférica y central de prostaglandinas; a nivel central impiden la sensibilización de las neuronas medulares y supramedulares, permitiendo la inhibición central del dolor.

Tabla 1. Clasificación de los AINEs según su estructura química (Santos et al., s/f).

Grupo terapéutico	Fármaco
Salicilatos	Ácido acetilsalicílico, salsalato, diflunisal, fosfosal, acetilato de lisina
Pirazolonas	Fenilbutazona
Indolcéticos	Indometacina, tolmetín, sulindaco, acemetacina
Arielacéticos	Diclofenaco, aceclofenaco, nabumetona
Arilpropiónicos	Ibuprofeno, naproxeno, ketorolaco, flurbiprofeno
Oxicams y análogos	Piroxicam, tenoxicam, meloxicam
Fenamatos	Ácido mefenámico, meclofenamato
Inhibidores selectivos de COX-2	Celecoxib, etoricoxib

Los AINEs bloquean la acción de las enzimas COX-1 y COX-2. La COX-1 está involucrada en la producción de prostaglandinas que desempeñan un papel en funciones normales del cuerpo, como la protección del revestimiento del estómago y la regulación del flujo sanguíneo renal (los tejidos gastrointestinales y renal). Por otro lado, la COX-2 se induce principalmente en respuesta a la inflamación y contribuye a la producción de prostaglandinas relacionadas con la inflamación y el dolor; es decir, está presente en el tejido lesionado (Perea-Martínez et al., 2016; Rainsford, 1999; Ruilope & Coca, 2002). La inhibición de COX-2 media los efectos no deseados de la inflamación, pero la simultánea inhibición de COX-1 ocasiona efectos colaterales que son consecuencia de la disminución en la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos.

Los AINEs comparten un perfil de efectos secundarios tales como problemas gastrointestinales (dolor abdominal, acidez estomacal, náuseas, vómitos con sangre o heces con sangre); problemas cardiovasculares (ataques cardíacos y accidentes cerebrovasculares); problemas renales (función renal y presión arterial); retención de líquidos (hinchazón en extremidades); reacciones alérgicas (erupciones cutáneas, dificultad para respirar, etc.); problemas hepáticos, y problemas

hematológicos. Por lo anterior se recomienda no exceder en las dosis recomendadas por el médico (Cabezas Lefler et al., 2000; Prieto & Manuel, 2007; Rainsford, 1999).

Debido a las diferentes características intrínsecas (solubilidad acuosa y permeabilidad) que poseen los fármacos, se deben clasificar de acuerdo con parámetros recomendados por el Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (SCB). Dentro de los fármacos pertenecientes a la clase II (baja solubilidad, alta permeabilidad) la velocidad de disolución es el factor limitante para su absorción. Por lo tanto, la disolución del fármaco, en el proceso global de su liberación, es el proceso con mayor trascendencia en su posterior absorción y no la rapidez para atravesar las membranas (López et al., 2019), (Juárez, 2022). En esta clase de fármacos con esta limitante de la velocidad de disolución se encuentran los AINEs. (Keb Canul, 2022)

4.2 Flurbiprofeno

El Flurbiprofeno (Ácido 2-(2-fluoro-4-bifenilil) propanoico), es un antiinflamatorio no esterooidal que pertenece a los derivados del ácido propiónico (Figura 1). Se administra contra la inflamación, la artritis reumatoidea y artrosis. Ha mostrado éxito en el tratamiento del dolor dental, la dismenorrea primaria y la gota aguda. Sin embargo, su ingesta produce efectos adversos a la salud que incluyen malestares gástricos y algunos relacionados con la función renal y cardíaca (Cornelio & Mayorga, 2007).

La estructura molecular del Flurbiprofeno posee dos anillos aromáticos que le confieren propiedades liposolubles y que, en principio, favorecen la formación de complejos de inclusión con agentes acarreadores. Su solubilidad en agua es escasa (8 mg/L a temperatura ambiente) (Cornelio, R., & Mayorga, P. et al., 2007).

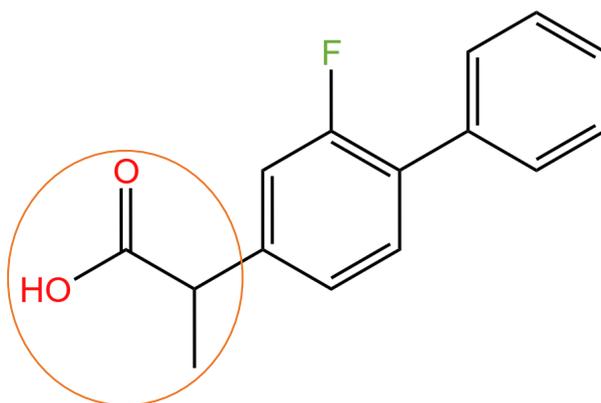


Figura 1. Estructura química del flurbiprofeno protonado (HFlur). En el círculo se resalta la estructura base del ácido propiónico.

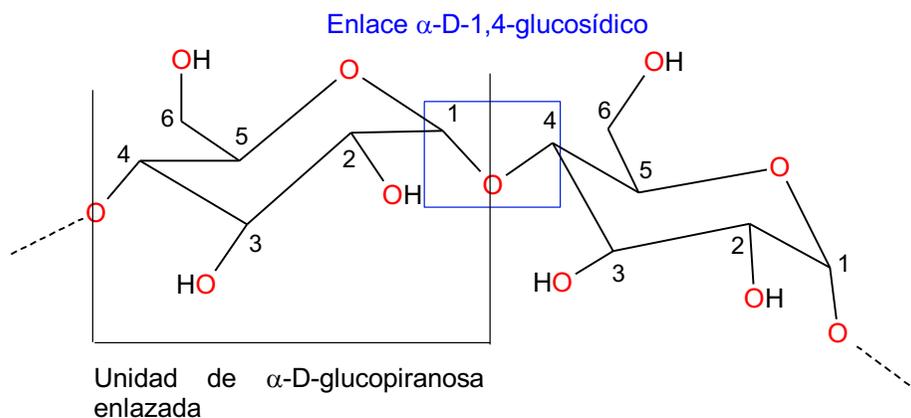
Entre sus propiedades fisicoquímicas se encuentran las mencionadas en la Tabla 2 (ChemicalBook, s/f).

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de Flurbiprofeno (ChemicalBook, s/f).

Propiedades	
Forma	Sólido
Color	Blanco a blanquecino
Masa molar	244.27 g/mol (Domaska et al., 2009)
Punto de fusión	110-112 °C
Punto de ebullición	376.2 ± 30.0 °C
Solubilidad en agua	8 mg/L (temperatura ambiente)
Solubilidad en metanol	50 mg/mL (temperatura ambiente)
pK _a	3.80, 4.22 (Anderson & Conradi, s/f), 4.50 (Domaska et al., 2009)
Volumen molar	145.6 cm ³ /mol (Domaska et al., 2009)

4.3 Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas son una familia de oligosacáridos cíclicos que consisten en un anillo macrocíclico de subunidades de glucopiranosas unidas por enlaces glucosídicos α -D-1,4 (Esquema 1). Su estructura forma una cavidad hidrofóbica, lo que permite que moléculas apolares se inserten dentro de ellas (Saokham et al., 2018). Las ciclodextrinas se producen a partir del almidón por conversión enzimática. Se utilizan en las industrias alimentaria, principalmente para enmascarar el sabor; farmacéutica, como intensificadores de la solubilidad, así como en la agricultura y la ingeniería ambiental (Aulton M.E. et al., 2004) (Radu et al., 2016) (Beig et al., 2013); pero, sobre todo, las ciclodextrinas son conocidas por su efecto sobre la estabilidad, solubilidad y biodisponibilidad de diversos fármacos, y por reducir los efectos secundarios de los fármacos (Pirnau et al., 2014). En la Figura 2 se muestran las estructuras químicas de α -ciclodextrina (α CD), β -ciclodextrina (β CD) y γ -ciclodextrina (γ CD).



Esquema 1. Enlace α -D-1,4-glucosídico.

Tanto en solución como en estado sólido, dentro de la cavidad de las CDs, se encuentran moléculas de agua; las cuales, pueden ser fácilmente sustituidas por huéspedes apropiados en donde se presenten interacciones favorables entre la huésped, estas suelen ser no covalentes del tipo: interacciones hidrofóbicas, disminución de la tensión conformacional, enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas o fuerzas de van der Waals. Se considera que la principal fuerza que

hace que se lleve a cabo la formación del complejo es el reemplazo de las moléculas de agua (interacción poco favorable, alta entalpía) por una molécula de menor polaridad (interacción apolar-apolar) (Mora, 2009).

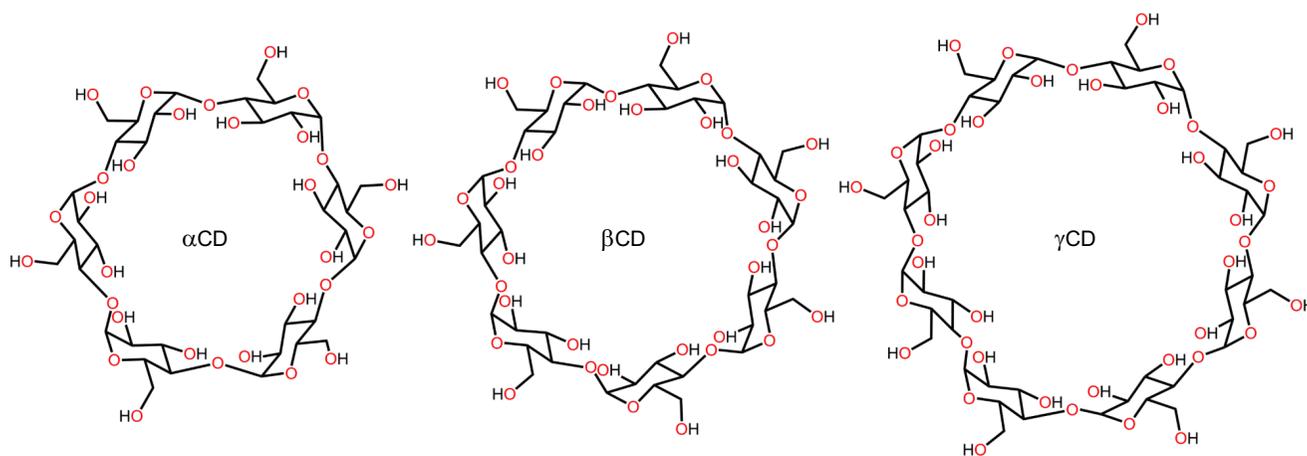


Figura 2. Estructura de las ciclodextrinas nativas α , β , y γ (Cárdenas et al., 2022).

4.4 Complejos de Inclusión

Uno de los avances dentro de la industria química ha sido el empleo de ciclodextrinas como agentes encapsulantes, para transportar todo tipo de ingredientes activos como fármacos, cosméticos, saborizantes, vitaminas; así también como desechos industriales y compuestos tóxicos entre otras muchas aplicaciones, ya que las ciclodextrinas pueden formar complejos de inclusión de gran estabilidad química con mayor solubilidad en el agua.

Las ciclodextrinas sirven también para liberar en forma controlada ingredientes activos de medicamentos (Leyva et al., 2004). El principal propósito del sistema de liberación controlada de fármacos es dosificar la cantidad de fármaco necesaria en el lugar específico durante un periodo de tiempo controlado de forma precisa y efectiva. Para diseñar medicamentos de alto rendimiento, se utilizan portadores compatibles con los fármacos para enmascarar las propiedades no deseables del fármaco, por lo que se ha buscado desarrollar varios tipos de biomateriales de alto rendimiento que se puedan mezclar con los fármacos y liberarlos en forma controlada. Las ciclodextrinas son

candidatos potenciales para este rol debido a su habilidad de alterar las propiedades físicas, químicas y biológicas de la molécula huésped (moléculas hidrófobas) a través de la formación del complejo de inclusión, en donde las CDs toman el papel de anfitrión. Los factores principales que están involucrados en la formación del complejo son las fuerzas de van der Waals, interacciones hidrofóbicas, puentes de hidrógeno y efectos estéricos. La constante de asociación es el resultado de todas estas interacciones (Leyva et al., 2004).

La asociación de las moléculas de sustrato y ligando, así como la disociación del complejo formado están gobernados por un equilibrio termodinámico que se representa como una constante de formación (K_f) o disociación (K_d), respectivamente. El complejo de inclusión tiene una estequiometría definida en donde las moléculas de sustrato y ligando se encuentran unidas por efectos fisicoquímicos (Espinoza & Hernández, 2005).

Generalmente, las moléculas de ciclodextrinas pueden contener una sola molécula de sustrato dentro de su cavidad (complejo sustrato:ciclodextrina 1:1). En casos especiales, las moléculas de ciclodextrina pueden contener dos moléculas de sustrato para formar un complejo 2:1, u otras estequiometrías. El compuesto huésped se sitúa en la cavidad del hospedador sin alterar su estructura (Espinoza & Hernández, 2005). La Figura 3 muestra el equilibrio de formación del complejo HFlur-CD.

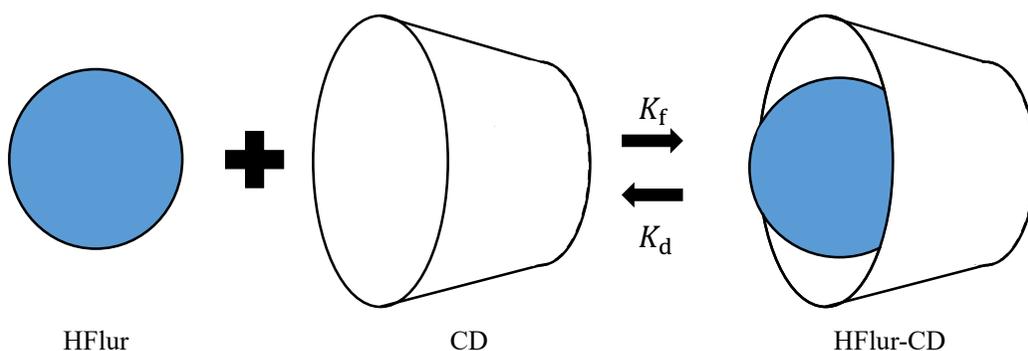


Figura 3. Equilibrio de formación de un complejo de inclusión HFlur-CD.

4.5 Calorimetría por titulación isotérmica

La Calorimetría por Titulación Isotérmica (ITC, por sus siglas en inglés) es una técnica que se utiliza en los estudios cuantitativos de una amplia variedad de interacciones biomoleculares. Funciona mediante la medición directa del calor que se libera o absorbe durante la formación de un enlace. ITC es la única técnica que puede determinar simultáneamente todos los parámetros termodinámicos en un solo experimento, midiendo la afinidad de los componentes del enlace en sus estados nativos. La medición de la transferencia de calor durante el enlace permite la determinación exacta de las constantes de enlace (K_f), la estequiometría de la reacción (N), la entalpía (ΔH°), la entropía (ΔS°) y la energía libre de Gibbs (ΔG°) (Flecha, s/f).

Las partes de un microcalorímetro se muestran en la Figura 4a, contiene dos celdas en la parte inferior, una llamada *celda de referencia*, y la otra *celda de reacción*; también consta de una jeringa (también llamada *microbureta*). En la celda de referencia se coloca generalmente agua, en la celda de reacción se coloca la muestra que se va a valorar (analito), y en la microbureta se llena con el reactivo valorante.

Para cada valoración calorimétrica se obtienen 2 gráficos: el primero es un termograma en donde se grafica la diferencia de calor entre la celda de reacción con la celda de referencia en función del tiempo ($DP/dt = f(t)$) (Figura 4b). En este gráfico, 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; el pico puede tener dirección hacia arriba en caso de ser una reacción endotérmica, o hacia abajo si la reacción es 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. (Flecha, s/f; Instruments, s/f)

El otro gráfico que se obtiene en la valoración calorimétrica es la curva o isoterma de enlace (Figura 4c), el cual es un gráfico del calor liberado o absorbido en cada adición (Q), en función de la relación molar (RM); es decir $Q = f(RM)$. En este gráfico se visualizan puntos que corresponden

a la integración de cada área de pico del termograma que representan el calor normalizado Q . A partir de esta curva se logra determinar la estequiometría de la reacción (N) y los parámetros termodinámicos asociados al proceso de formación de los complejos de inclusión. Un valor de ΔG° negativo indica que el complejo ML tiene menos energía libre que la suma de M y L libres.

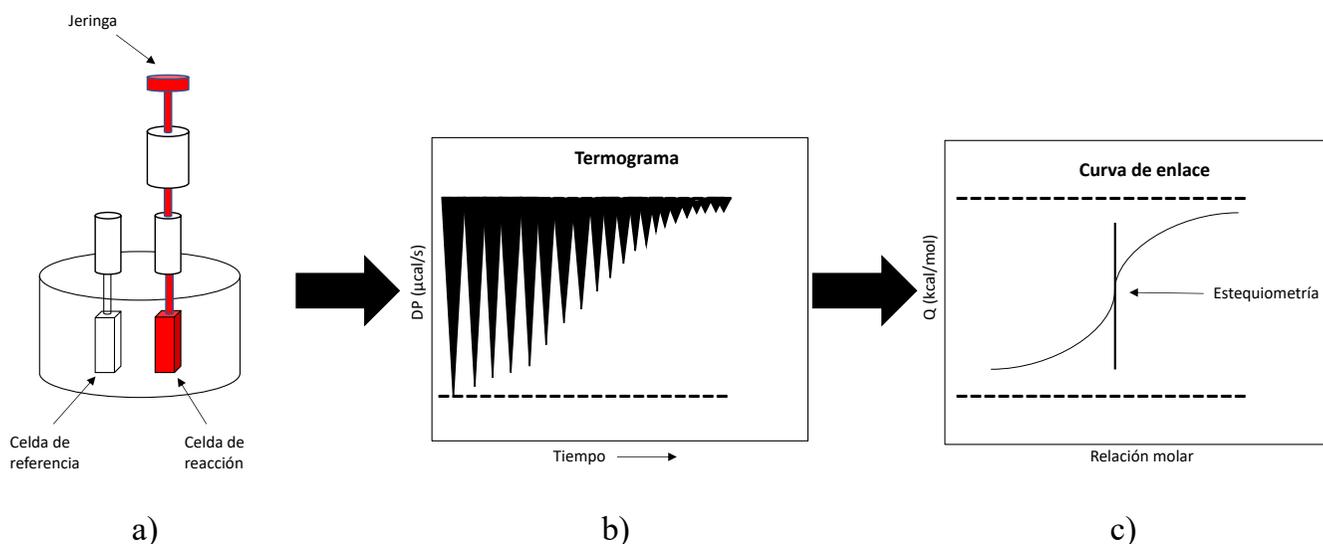


Figura 4. a) Partes que integran a un microcalorímetro, b) termograma $DP=f(\text{tiempo})$ y c) curva de enlace $Q=f(\text{Relación molar})$.

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 et al., 2003)

El valorante se coloca en una jeringa, que se encuentra en un dispositivo de inyección muy preciso, el dispositivo de inyección se inserta en la celda de la muestra que contiene al analito de interés. Una serie de pequeñas alícuotas de valorante se inyecta en la solución donde se encuentra el analito. El microcalorímetro mide todo el calor liberado hasta que la reacción de enlace alcanza el equilibrio, la cantidad de calor medida es directamente proporcional a la cantidad de enlace (Flecha, s/f).

La relación molar (RM) se define como la cantidad de sustancia del valorante entre la cantidad de sustancia del analito (Innocenti, s/f), y se puede calcular como sigue,

$$RM = \frac{C_{\text{val}} V_{\text{ag}}}{C_0 V_0} = \frac{n_{\text{val}}}{n_0} \quad (1)$$

donde, C_{val} es la concentración del valorante, V_{ag} es el volumen agregado del valorante, C_0 es la concentración del analito y V_0 es el volumen inicial de alícuota en la celda de reacción; n_{val} es el número de moles agregados del valorante y n_0 es el número de moles del analito. En este caso, el valor de V_0 del microcalorímetro utilizado tiene un valor de 1.4303 mL.

El microcalorímetro necesita mantener la celda de referencia y la celda de reacción exactamente a la misma temperatura (temperatura a la que se desea hacer el estudio). Los dispositivos de detección de calor registran la diferencia de temperatura entre las celdas cuando se produce el enlace y retroalimentan a los calentadores que compensan esta diferencia y devuelven las celdas a la misma temperatura. Cabe mencionar que para cada valoración calorimétrica entre un analito y un valorante, es necesario realizar un valoración para determinar el calor de dilución del valorante; en este caso el reactivo valorante se va agregando al disolvente empleado sin contener al analito.

La técnica ITC ofrece una medida directa a partir de la estequiometría, de la entalpía de formación y de la constante de formación de los enlaces moleculares, de manera que es posible calcular la energía de Gibbs de formación del enlace, representada por:

$$\Delta G^\circ = -R T \ln K = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ \quad (2)$$

donde K es la constante de equilibrio, R es la constante de gases, T la temperatura absoluta, ΔH° la entalpía, ΔS° la entropía (Holdgate et al., 2003).

5. JUSTIFICACIÓN

5. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, se han tomado medidas para desarrollar sistemas de administración de fármacos que tienen baja solubilidad en agua con la finalidad de mejorar su biodisponibilidad. Entre las diversas estrategias de formulación empleadas se incluyen la formación de sales, la complejación con ciclodextrinas, la micronización, las dispersiones sólidas y las formulaciones basadas en lípidos (López et al., 2019). Por lo anterior, en este trabajo se estudió la inclusión de Flurbiprofeno en diferentes ciclodextrinas para determinar el perfil termodinámico del proceso de complejación y la estequiometría de los complejos formados. Se determina si el proceso está impulsado por la entalpía o la entropía, y también se estudia la estabilidad de éstos.

Este trabajo de tesis proporciona información química básica que podría utilizarse en el diseño de nuevos fármacos antiinflamatorios, por lo que tiene el potencial de tener un impacto significativo en la industria farmacéutica y en el sector salud.

6. OBJETIVOS

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Obtener los parámetros termodinámicos de la formación de complejos de inclusión de Flurbiprofeno con ciclodextrinas en disolución; mediante la técnica de calorimetría por titulación isotérmica a 30 °C en disolución a pH de 2.0.

6.2. Objetivos particulares

- Determinar la estequiometría de los complejos de inclusión formados entre flurbiprofeno en su forma protonada y α -, β -, γ - y 2-hidroxipropil- β - ciclodextrinas.
- Determinar los parámetros termodinámicos K_f , ΔH° , ΔS° y ΔG° de la formación de los complejos de inclusión mediante calorimetría por titulación isotérmica.
- Analizar las constantes de inclusión y discutir los factores que favorecen la estabilidad de los complejos formados.

7. METODOLOGÍA

7. METODOLOGÍA

7.1. Reactivos y equipos

Reactivos

Flurbiprofeno (98.0 %, PM = 244.26 g/mol), α CD (98.0%, PM = 972.84 g/mol), β CD (97 %, PM = 1134.98 g/mol), γ CD (100 %, PM = 1580 g/mol) y 2HP β CD (98.0 %, PM = 1380 g/mol) de Sigma-Aldrich, ácido fosfórico (85.0 %, PM = 98 g/mol), fosfato de sodio monobásico anhidro (99 %, PM = 119.98 g/mol), alcohol etílico y agua desionizada $\rho = 18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$.

Equipo

Balanza analítica Ohaus PA214, PionnerTM ($\pm 0.0001 \text{ g}$); potenciómetro (Ion pH/mV/ORP) SevenMulti S47, Mettler Toledo (± 0.001 unidades 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); calorímetro MicroCal VP-ITC (G. E. Healthcare); desgacificador Microcal Thermovac, Hamilton; y un desionizador de agua ELGA Purelab Classic.

Software

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

7.2. Parte experimental

Como se mencionó anteriormente, el Flurbiprofeno presenta una solubilidad bastante baja en agua, y buena solubilidad en etanol; mientras que las ciclodextrinas presentan buena solubilidad en agua,

pero casi nula en etanol. Por lo tanto, se optó por realizar pruebas preliminares considerando mezclas agua-etanol en las proporciones 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 y 50:50 %.

Además de determinar la proporción adecuada del disolvente a emplear, también se realizaron experimentos a diferentes valores de pH para determinar su valor óptimo de trabajo, de tal manera que el sistema químico permaneciera de forma homogénea en solución. Por lo anterior el disolvente utilizado en este trabajo fue una solución del buffer de fosfatos a pH igual a 2 de concentración 0.1 M, en mezcla agua:etanol 70:30 %, ya que hubo mejor solubilidad para ambos componentes y mejores resultados en los gráficos calorimétricos (termograma y curva de enlace). Además, uno de los objetivos de este trabajo fue estudiar la formación de complejos de inclusión entre Flurbiprofeno en su forma protonada (HFlur) con las diferentes CDs. El buffer de fosfatos se preparó a partir de los reactivos analíticos H_3PO_4 y NaH_2PO_4 . La temperatura de trabajo fue de 30 °C.

En la Tabla 3 se muestran los diferentes sistemas estudiados en este trabajo, estos son: HFlur/ α -ciclodextrina, HFlur/ β -ciclodextrina, HFlur/ γ -ciclodextrina y HFlur/2-hidroxipropil- β -ciclodextrina. En la Tabla 3 se muestran los parámetros experimentales utilizados en las valoraciones calorimétricas.

Tabla 3. Sistemas estudiados entre Flurbiprofeno protonado (HFlur) y las diferentes ciclodextrinas (CD).

	Sistemas estudiados	Repeticiones
1	HFlur/ α CD	1a, 1b, 1c
2	HFlur/ β CD	2a, 2b, 2c
3	HFlur/ γ CD	3a, 3b, 3c
4	HFlur/2HP β CD	4a, 4b, 4c

Antes de iniciar una valoración calorimétrica se llevó a cabo la limpieza del equipo, realizando 4 lavados con agua desionizada, 4 con etanol y finalmente 4 con agua desionizada a la celda de reacción y a la microbureta de inyección para asegurar que el equipo estuviera libre de impurezas. Posteriormente, la celda de reacción se llenó con la disolución de la ciclodextrina correspondiente, en la celda de referencia se colocó agua desionizada, y en la microbureta se colocó la disolución

de HFlur. Las concentraciones reales de HFlur y de cada CD, el valor de relación molar, así como los parámetros experimentales, se muestran en las tablas correspondientes a cada sistema estudiado (apartados 7.2.1, 7.2.2, 7.2.3 y 7.2.4).

Para cada valoración calorimétrica entre HFlur y la CD, se obtuvo el calor de dilución, colocando en la celda de reacción al disolvente (buffer de fosfatos 0.1 M y pH 2.0) y colocando en la microbureta el mismo valorante (HFlur); para ello, se utilizaron los mismos parámetros experimentales que en la valoración de reacción. De esta manera cada valoración se corrigió restando el calor de dilución para eliminar el calor que se genera por efecto de dilución.

Posteriormente, los resultados calorimétricos de la reacción y de la dilución se alimentaron en el programa PEAQ-ITC, para obtener el termograma y la curva de enlace que ajusta los datos experimentales de cada sistema estudiado. El programa arroja los parámetros termodinámicos asociados al proceso de inclusión.

Para cada sistema estudiado entre HFlur y las diferentes ciclodextrinas se realizaron 3 valoraciones calorimétricas con la finalidad de reproducir los resultados termodinámicos asociados al proceso de inclusión.

7.2.1 Sistema HFlur- α CD

Para estudiar la complejación entre HFlur y α CD, se prepararon las disoluciones de estos dos componentes a las concentraciones 0.4032 mM y 0.01309 mM, respectivamente; empleando como disolvente un buffer de fosfatos a pH de 2.0 de concentración 0.1 M en mezcla agua:etanol 70:30 %. Se lavó el equipo de forma rigurosa como se menciona al inicio del apartado 6.2; posteriormente, se llenó la celda de reacción con la disolución de α CD, y la microbureta se llenó con disolución de HFlur. Se procedió a realizar la valoración calorimétrica utilizando los parámetros experimentales que se muestran en la Tabla 4. En esta Tabla también se muestra el valor de la relación molar a la cual se llegó al finalizar las adiciones del valorante.

Tabla 4. Parámetros experimentales, concentraciones reales y valores de relación molar empleados en la valoración de α CD con HFlur a pH de 2.0 y una temperatura de 30 °C, seguida por una valoración calorimétrica isotérmica. Las tres valoraciones realizadas para estudiar este sistema son llamadas 1a, 1b y 1c.

Parámetros	1a	1b	1c
Total de inyecciones	20	20	20
Volumen de inyección (μ L)	14	14	14
Espaciado entre inyecciones (s)	300	300	300
Duración de la inyección (s)	28	28	28
N	2	2	2
Concentración de HFlur (mM)	0.4032	0.5242	0.4839
Concentración de α CD (mM)	0.01309	0.0121	0.0121
Relación Molar	6.62	9.31	8.60
Poder de referencia (μ Cal/s)	3	3	3
Periodo de filtrado (s)	8	8	8
Velocidad de agitación (rpm)	307	307	307

7.2.2 Sistema HFlur- β CD

Las condiciones experimentales utilizadas en la valoración calorimétrica isotérmica de β CD como analito con HFlur como valorante (sistema HFlur/ β CD), las concentraciones reales utilizadas y el valor de la relación molar alcanzada al finalizar las adiciones, se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Parámetros experimentales, concentraciones reales y valores de relación molar empleados en la valoración de β CD con HFlur a pH de 2.0 y una temperatura de 30 °C, seguida por una valoración calorimétrica isotérmica. Las tres valoraciones realizadas para estudiar este sistema son llamadas 2a, 2b y 2c.

Parámetros	2a	2b	2c
Total de inyecciones	20	20	20
Volumen de inyección (μ L)	14	14	14
Espaciado entre inyecciones (s)	300	300	300
Duración de la inyección (s)	28	28	28
N	2	2	2
Concentración de HFlur (mM)	0.4032	0.4032	0.4033
Concentración de β CD (mM)	0.0128	0.0128	0.0103
Relación Molar	6.77	6.77	8.42
Poder de referencia (μ Cal/s)	3	3	3
Periodo de filtrado (s)	8	8	8
Velocidad de agitación (rpm)	307	307	307

7.2.3 Sistema HFlur- γ CD

Para estudiar el fenómeno de complejación del sistema HFlur/ γ CD se emplearon las condiciones experimentales que se muestran en la Tabla 6; también se muestran las concentraciones reales empleadas de ambos componentes, así como el valor de la relación molar que se alcanzó al finalizar las adiciones.

Tabla 6. Parámetros experimentales, concentraciones reales y valores de relación molar empleados en la valoración de β CD con HFlur a pH de 2.0 y una temperatura de 30 °C, seguida por una valoración calorimétrica isotérmica. Las tres valoraciones realizadas para estudiar este sistema son llamadas 3a, 3b y 3c.

Parámetros	3a	3b	3c
Total de inyecciones	20	20	20
Volumen de inyección (μ L)	14	14	14
Espaciado entre inyecciones (s)	300	300	300
Duración de la inyección (s)	28	28	28
N	2	2	2
Concentración de HFlur (mM)	0.4033	0.4033	0.4033
Concentración de γ CD (mM)	0.0128	0.0128	0.0128
Relación Molar	6.77	6.77	6.77
Poder de referencia (μ Cal/s)	3	3	3
Periodo de filtrado (s)	8	8	8
Velocidad de agitación (rpm)	307	307	307

7.2.4 Sistema HFlur-2HP β CD

Para estudiar el fenómeno de complejación en el sistema HFlur/2HP β CD, se prepararon las disoluciones de estos dos componentes a las concentraciones que se muestran en la Tabla 7, se lavó el equipo de forma rigurosa, y se procedió a realizar la valoración calorimétrica utilizando los parámetros experimentales que se muestran en la Tabla 7. En esta Tabla también se muestran las concentraciones reales de HFlur y de 2HP β CD empleadas, así como el valor de la relación molar a la cual se llegó al finalizar las adiciones del valorante.

Tabla 7. Concentraciones reales de HFlur y 2HP β CD, y su correspondiente valor de relación molar empleadas en cada experimento.

Parámetros	4a	4b	4c
Total de inyecciones	20	20	20
Volumen de inyección (μ L)	14	14	14
Espaciado entre inyecciones (s)	300	300	300
Duración de la inyección (s)	28	28	28
N	2	2	2
Concentración de HFlur (mM)	0.4032	0.4032	0.4032
Concentración de 2HP β CD (mM)	0.0121	0.0121	0.0121
Relación Molar	7.16	7.16	7.16
Poder de referencia (μ Cal/s)	3	3	3
Periodo de filtrado (s)	8	8	8
Velocidad de agitación (rpm)	307	307	307

8. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

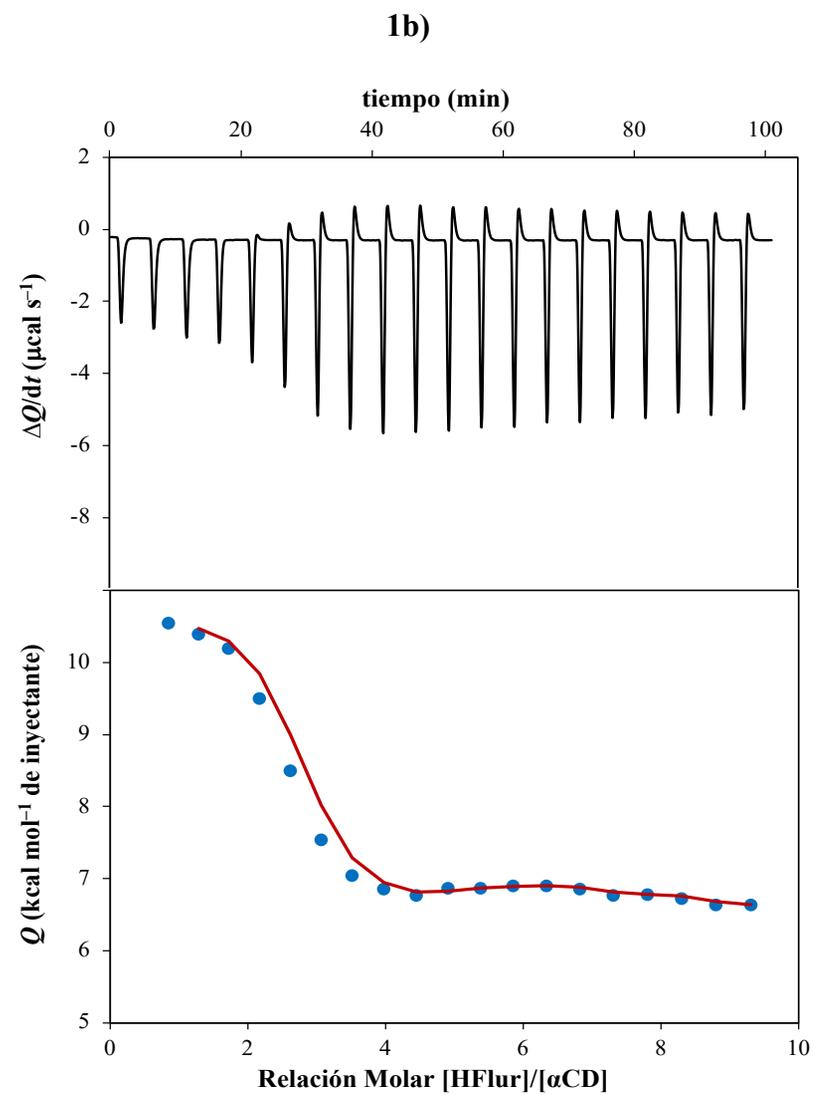
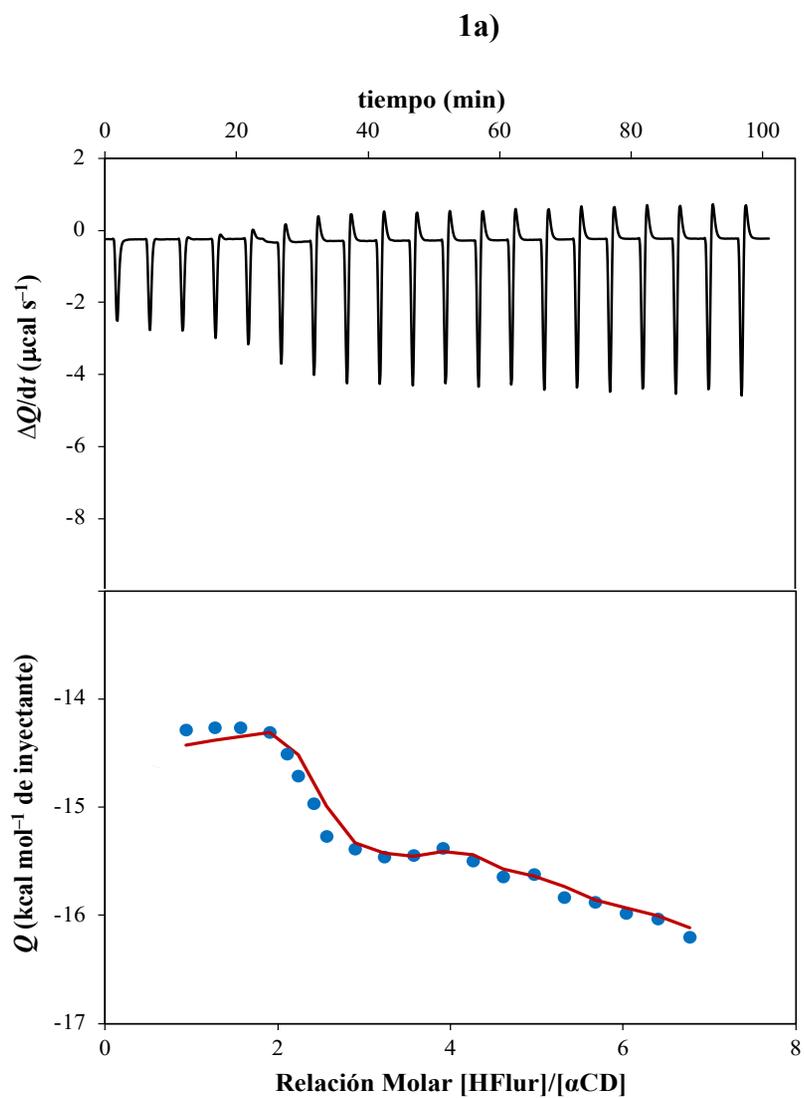
8. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

8.1 Parámetros termodinámicos del sistema HFlur/ α CD

Una vez que se realizaron los tres experimentos para el sistema HFlur/ α CD, los termogramas (gráficos superiores) y curvas de enlace (gráficos inferiores) obtenidos se muestran en la Figura 5, etiquetados como 1a, 1b y 1c, respectivamente.

Al comparar los termogramas de las Figuras 1a, 1b y 1c, se observa que presentan picos pequeños hacia arriba, y picos de mayor magnitud que apuntan hacia abajo, indicando que el proceso de complejación es exotérmico. Los termogramas de las Figuras 1a y 1b son más parecidos entre sí, siendo de mayor magnitud los picos correspondientes al termograma 1b, los cuales alcanzan un valor de $\Delta Q/dt$ de aproximadamente igual a $-6 \mu\text{cal s}^{-1}$, a diferencia de $-4 \mu\text{cal s}^{-1}$ para la Figura 1a. En cuanto a la Figura 1c, el termograma presenta picos pequeños hacia arriba de hasta aproximadamente $1.2 \mu\text{cal s}^{-1}$ que se presentan desde la primera adición, no así para las experimentaciones 1a y 1b, en donde los picos hacia arriba empiezan a parecer a partir de la quinta adición. Sin embargo, los picos hacia abajo en los tres casos presentan la misma forma.

Las curvas de enlace de los experimentos calorimétricos para el sistema HFlur/ α CD se muestran en la parte inferior de los experimentos 1a, 1b y 1c respectivamente; presentan una forma similar, sin embargo, en el experimento 1a se alcanza una relación molar RM de 6.62 aproximadamente, mientras que en el experimento 1b la RM es de 9.31, y en 1c es de 8.60. Los marcadores corresponden a los datos experimentales y la línea continua corresponda a la curva teórica que ajusta a los datos experimentales y que es construida con el programa PEAQ-ITC. Las tres curvas de enlace presentan un salto brusco en la propiedad de $\Delta Q/dt$ cercanos a un valor de 2, lo que indica que si la $RM=2$, entonces, de acuerdo con su definición de relación molar, la estequiometría de 2:1 en el orden HFlur: α CD, formándose así el complejo (HFlur) $_2\alpha$ CD. Además, los cambios bruscos están muy marcados; es decir, la pendiente está muy pronunciada lo que indica que la reacción es muy cuantitativa.



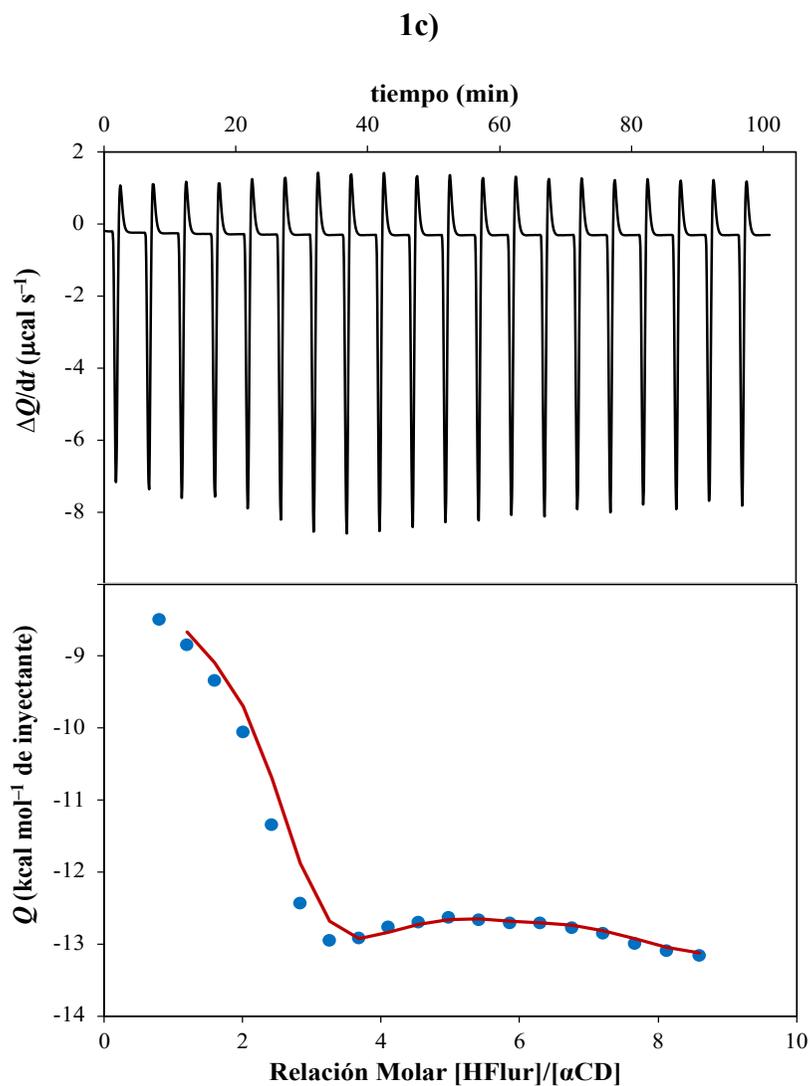


Figura 5. Termogramas (gráficos superiores) y curvas de enlace (gráficos inferiores) obtenidos en la valoración calorimétrica isotérmica de αCD con HFlur a $\text{pH}=2.0$ y $T=30\text{ }^\circ\text{C}$ usando como disolvente 70/30 % agua-etanol, correspondientes a los experimentos 1a, 1b y 1c descritos en la *sección 7.2.1*. En las curvas de enlace, los marcadores corresponden a los datos experimentales, y la línea continua representa el ajuste de la curva usando el programa PEAQ-ITC.

En la Tabla 8 se muestran los parámetros termodinámicos determinados usando el programa PEAQ-ITC asociadas a la formación del complejo 2:1 (HFlur)₂αCD. Al correr el programa se fijó un valor de N=2 debido a que el salto brusco en las curvas de enlace se daba cerca de 2; con este valor se logró obtener un buen ajuste de la curva de enlace experimental por lo que se determinó que en el sistema HFlur/αCD, dos moléculas de HFlur se meten a la cavidad de la αCD.

Tabla 8. Parámetros termodinámicos asociados a la formación del complejo de inclusión (HFlur)₂αCD a pH=2.0 y T=30 °C usando como disolvente 70/30 % agua-etanol, por calorimetría por titulación isotérmica.

Experimento	1a	1b	1c
N	2	2	2
Log K_f	6.79	5.79	6.31
ΔH° (kcal/mol)	$1.62 \pm 8.7e-2$	4.87 ± 0.398	4.44 ± 0.187
$-T\Delta S^\circ$ (kcal/mol)	-11	-12.9	-13.2
ΔG° (kcal/mol)	-9.43	-8.03	-8.75

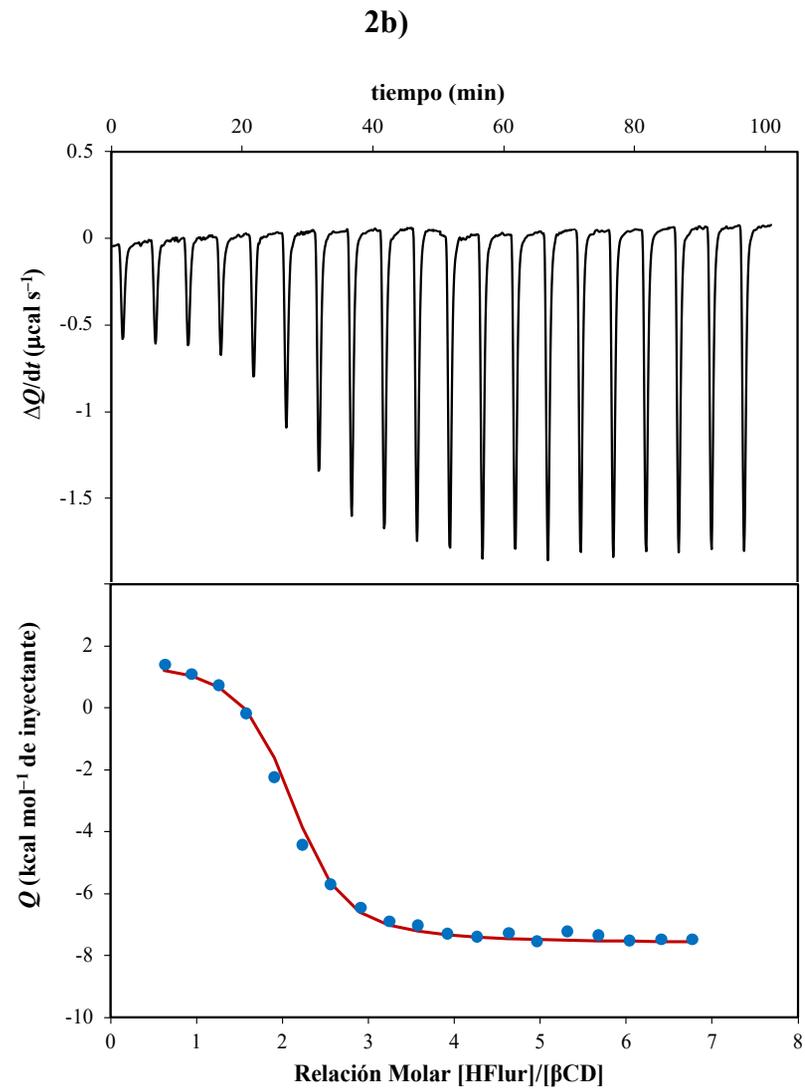
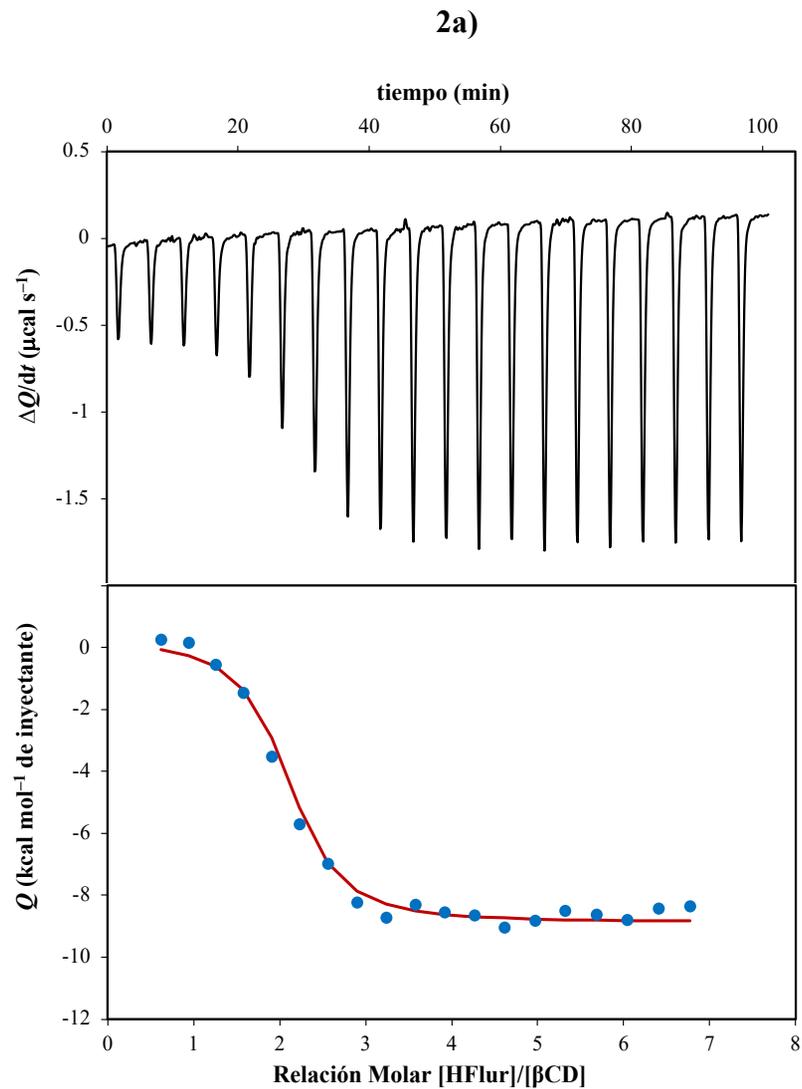
De acuerdo con la Ecuación 2 en donde se establece que $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$, es posible observar que el proceso de inclusión es un fenómeno entrópico, debido a que el término $-T\Delta S^\circ$ en los tres experimentos, contribuye más que el término entálpico ΔH° a la espontaneidad de la reacción (ΔG°). Por otro lado, el valor promedio del logaritmo de la constante de formación K_f es 6.30, lo que indica que se favorece la formación de un complejo de inclusión estable.

8.2 Parámetros termodinámicos del sistema HFlur/ β CD

Los termogramas (gráficos superiores) y curvas de enlace (graficos inferiores) obtenidos en las tres valoraciones calorimétricas del sistema HFlur/ β CD, se muestran en la Figura 6, etiquetados como 2a, 2b y 3c, respectivamente, para cada experimento. Los valores de RM alcanzados al finalizar las adiciones fueron de 6.77, 6.77 y 8.42, respectivamente. Los tres termogramas son similares y sólo muestran picos orientados hacia abajo, lo que indica que el proceso de complejación es exotérmico. Sin embargo, los termogramas de las Figuras 2a y 2b presentan mayor similitud entre ellos, ya que el termograma de la Figura 2c presenta picos ligeramente de menor magnitud.

Las Figuras de las curvas de enlace correspondientes a las Figuras 2a, 2b y 2c presentan la misma forma de la curva; los marcadores corresponden a los datos experimentales, y la línea continua es la curva de ajuste construida con el programa PEAQ-ITC. El programa se alimentó con un valor de $N=2$ debido a que los datos experimentales presentaron un cambio brusco en el eje de $\Delta Q/dt$ localizado a un valor de $RM = 2$. Se observó que las curvas teóricas ajustan bien a los datos experimentales por lo que se determinó que el complejo que se forma es de estequiometría 2:1 (HFlur)₂ β CD); es decir, 2 moléculas de HFlur se incluyen completamente en una molécula de β CD.

La Tabla 9 contiene los valores de los parámetros termodinámicos determinados para el sistema HFlur/ β CD de los tres experimentos realizados. Para hacer el ajuste de las curvas de enlace se fijó un valor de $N = 2$. El valor del logaritmo de la constante de formación ($\text{Log } K_f$) de los tres experimentos distan en sólo 0.07 unidades entre ellos, tomando un valor promedio de 6.23; este valor indica que el proceso de inclusión se ve favorecido y que el complejo es estable. De acuerdo con la Ecuación de $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$, se determinó que la inclusión para este sistema es un proceso entrópico, debido a que el término $-T\Delta S^\circ$ contribuye más a la espontaneidad de la reacción (ΔG°) que el término entálpico ΔH° .



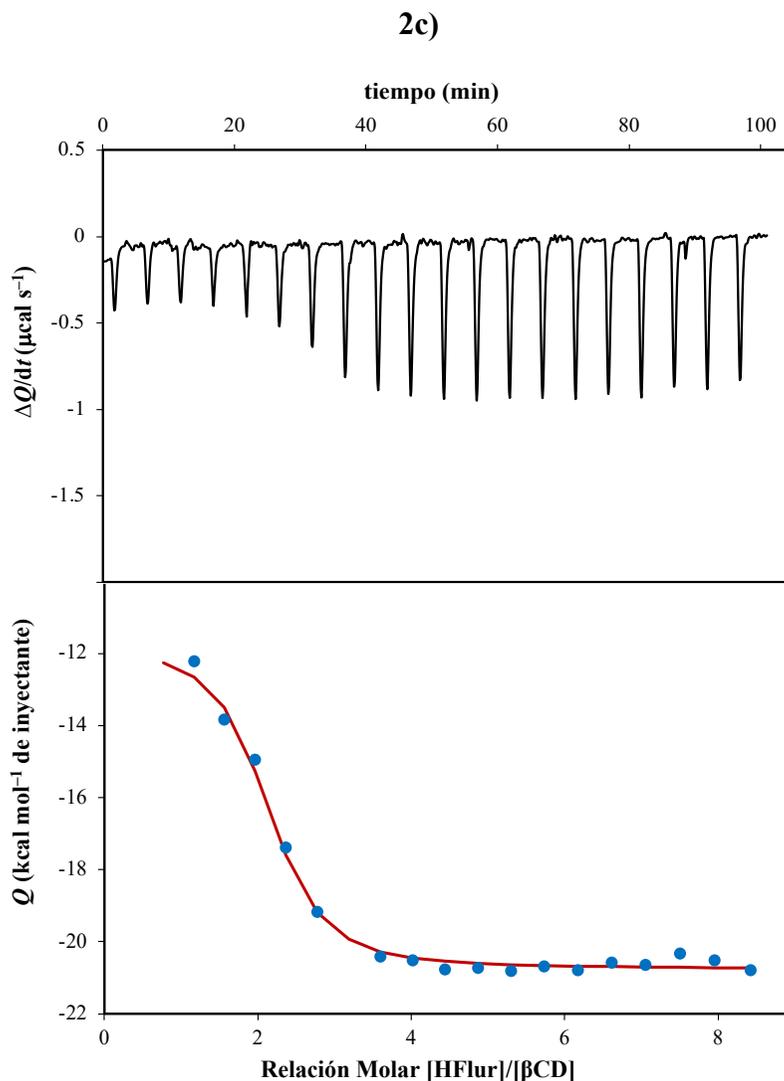


Figura 6. Termogramas (gráficos superiores) y curvas de enlace (gráficos inferiores) obtenidos en la valoración calorimétrica isotérmica de βCD con HFlur a $\text{pH}=2.0$ y $T=30\text{ }^\circ\text{C}$ usando como disolvente 70/30 % agua-etanol, correspondientes a los experimentos 2a, 2b y 2c descritos en la *sección 7.2.2*. En las curvas de enlace, los marcadores corresponden a los datos experimentales, y la línea continua representa el ajuste de la curva usando el programa PEAQ-ITC.

Tabla 9. Parámetros termodinámicos asociados a la formación del complejo de inclusión (HFlur)₂βCD a pH=2.0 y T=30 °C usando como disolvente 70/30 % agua-etanol, por calorimetría por titulación isotérmica.

Experimento	2a	2b	2c
N	2	2	2
Log K_f	6.26	6.24	6.19
ΔH° (kcal/mol)	8.95 ± 0.336	9.14 ± 0.346	9.03 ± 0.375
$-T\Delta S^\circ$ (kcal/mol)	-17.5	-17.7	-17.5
ΔG° (kcal/mol)	-8.55	-8.51	-8.44

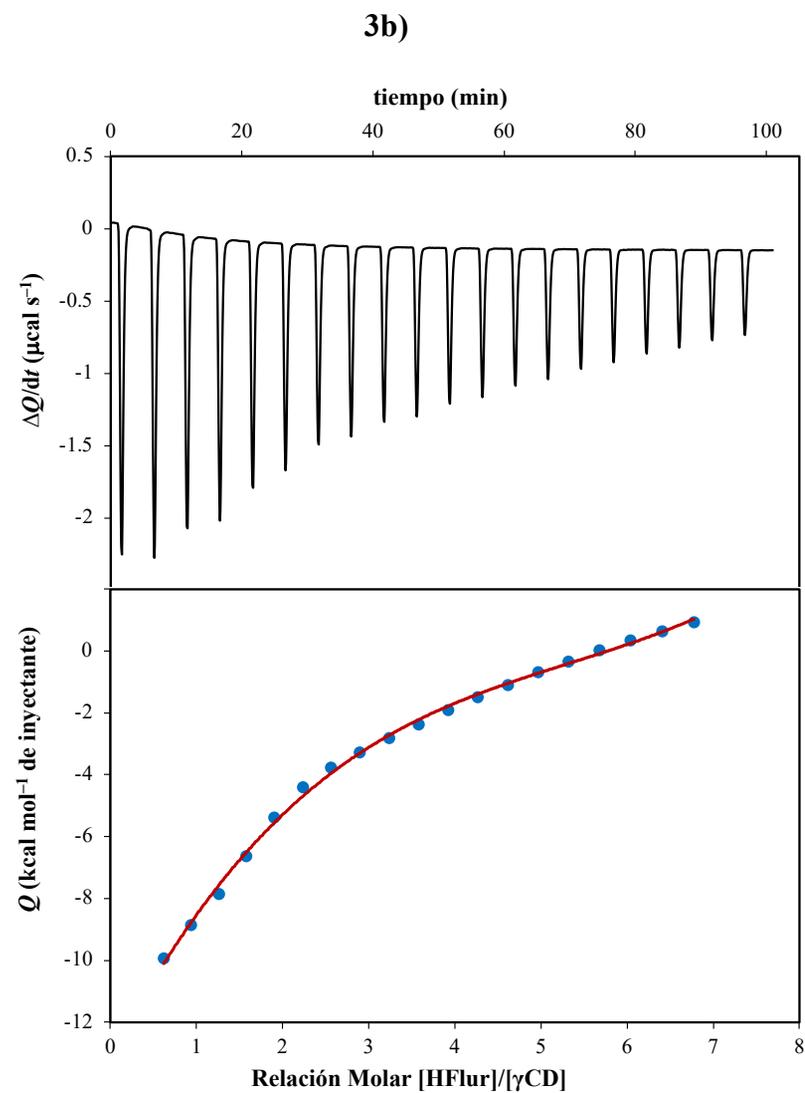
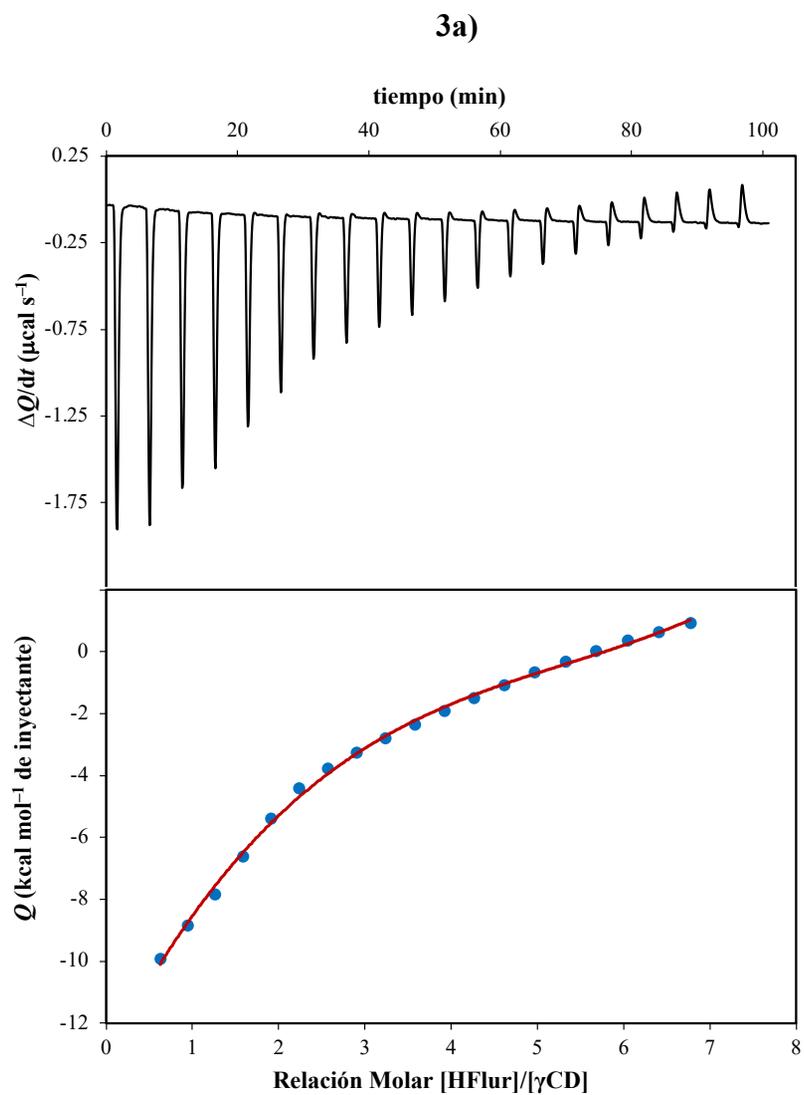
8.3 Parámetros termodinámicos del sistema HFlur/ γ CD

En la Figura 7 se muestran los termogramas (gráficos superiores) y curvas de enlace (gráficos inferiores) obtenidos para las tres valoraciones calorimétricas del sistema HFlur/ γ CD, etiquetados como 3a, 3b y 3c, respectivamente.

En cuanto a forma, los termogramas de los experimentos 3a y 3c son más similares entre sí, en comparación con el termograma del experimento 3b, ya que al inicio ambos gráficos presentan picos sólo exotérmicos, finalizando con picos de menor tamaño, pero endotérmicos. Mientras que en el segundo experimento, todos los picos están orientados hacia abajo; es decir, todo el proceso de interacción entre ambos componentes es exotérmico.

Las curvas de enlace de los tres experimentos calorimétricos realizados para el sistema HFlur/ γ CD se muestran en la parte inferior de los experimentos 3a, 3b y 3c respectivamente; presentan una forma muy similar entre sí, y además se alcanza una relación molar RM de 6.77 aproximadamente en los tres casos. En estas curvas, los marcadores corresponden a los datos experimentales y la línea continua corresponda a la curva teórica que ajusta a los datos experimentales y que es obtenida con el programa PEAQ-ITC. Se puede observar que las tres curvas de enlace no presentan un salto brusco en la propiedad de $\Delta Q/dt$, indicando que la reacción que se lleva a cabo entre HFlur y γ CD es poco cuantitativa. Sin embargo, el programa PEAQ-ITC también fue alimentado ajustando un valor de $N = 2$ logrando obtener un buen ajuste a los datos experimentales, obteniendo los parámetros termodinámicos que se muestran en la Tabla 10. Para este sistema, también se determinó que el complejo formado es de estequiometría 2:1, es decir el complejo formado es $(\text{HFlur})_2\gamma\text{CD}$.

Considerando que $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$, es posible determinar que la inclusión es un proceso entálpico debido a que el término ΔH° contribuye más a la espontaneidad de la reacción (ΔG°) que el término entrópico $-T\Delta S^\circ$.



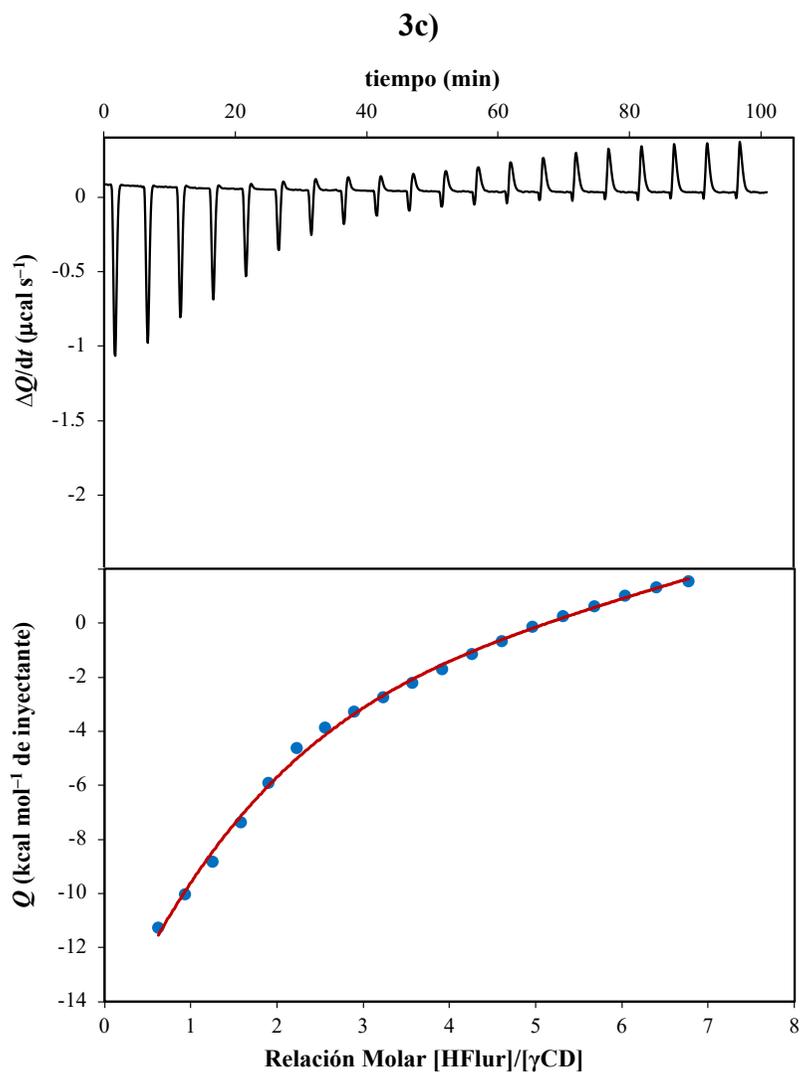


Figura 7. Termogramas (gráficos superiores) y curvas de enlace (gráficos inferiores) obtenidos en la valoración calorimetría isotérmica de γ CD con HFlur a pH=2.0 y T=30 °C usando como disolvente 70/30 % agua-etanol, correspondientes a los experimentos 3a, 3b y 3c descritos en la *sección 7.2.3*. En las curvas de enlace, los marcadores corresponden a los datos experimentales, y la línea continua representa el ajuste de la curva usando el programa PEAQ-ITC.

Tabla 10. Parámetros termodinámicos asociados a la formación del complejo de inclusión (HFlur)₂γCD a pH=2.0 y T=30 °C usando como disolvente 70/30 % agua-etanol, por calorimetría por titulación isotérmica.

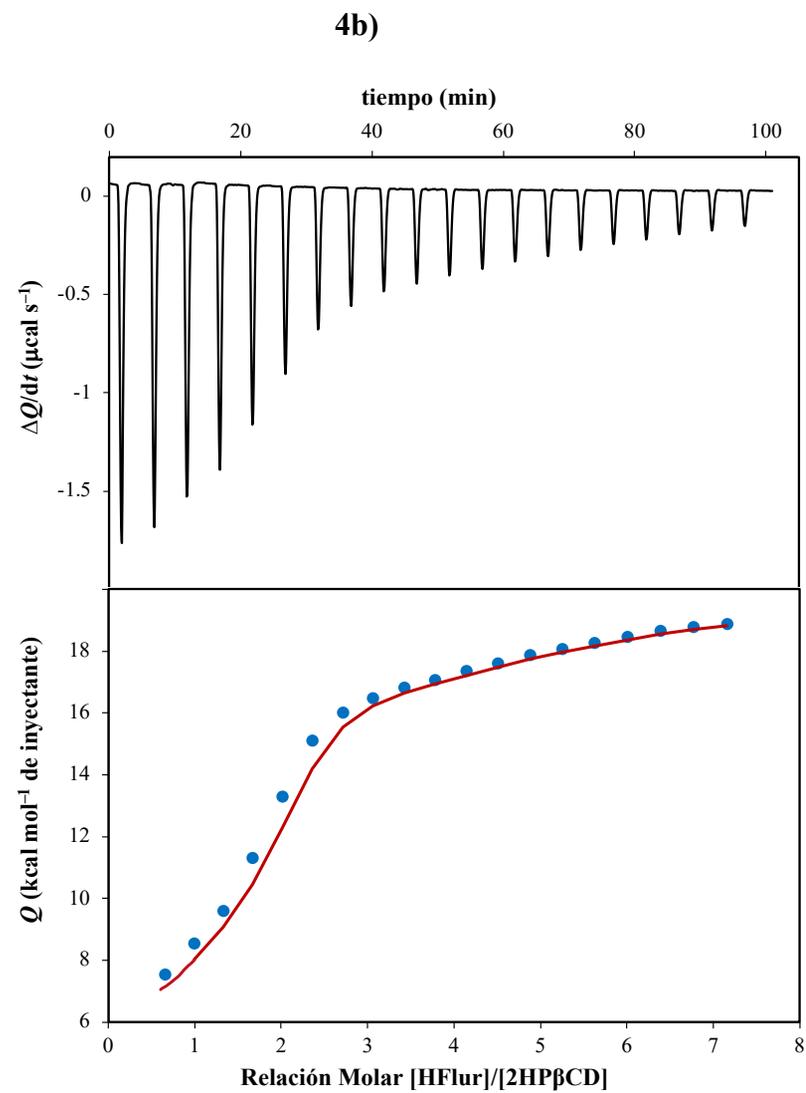
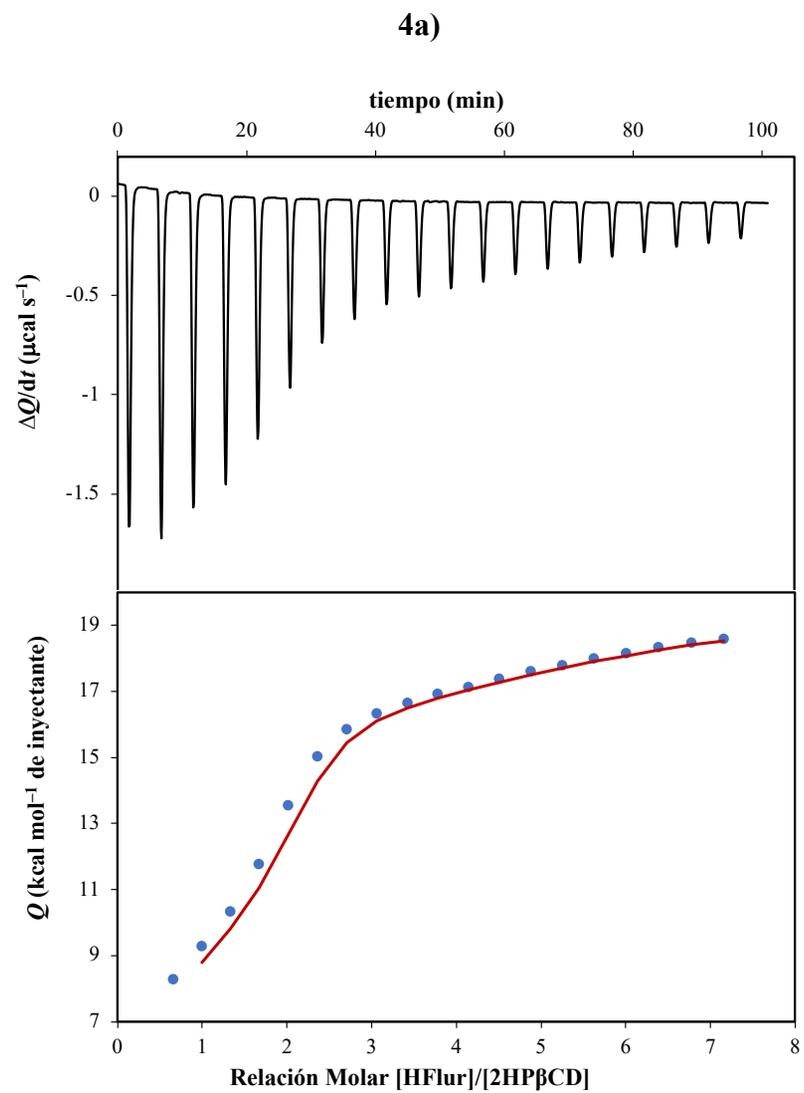
Experimento	3a	3b	3c
N	2	2	2
Log K_f	4.42	5.27	5.47
ΔH° (kcal/mol)	-13.2 ± 1	-12.9 ± 0.658	-13 ± 0.857
$-T\Delta S^\circ$ (kcal/mol)	5.65	5.57	5.39
ΔG° (kcal/mol)	-7.51	-7.30	-7.60

8.4 Parámetros termodinámicos del sistema HFlur/2HP β C

Los termogramas (gráficos superiores) y curvas de enlace (gráficos inferiores) obtenidos en las tres valoraciones calorimétricas del sistema HFlur/2HP β CD, se muestran en la Figura 8, etiquetados como experimentos 4a, 4b y 4c, respectivamente. Los tres termogramas son similares entre sí, en ellos se muestran picos orientados hacia abajo, indicando que el proceso de complejación es exotérmico.

Por otro lado, las curvas de enlace de los tres experimentos realizados para el sistema HFlur/2HP β CD presentan una forma muy similar entre ellas, lográndose observar una sigmoide en donde el salto brusco en la propiedad de $\Delta Q/dt$ se da a un valor de RM igual a 2.0 aproximadamente. Los valores de RM alcanzados al finalizar las adiciones para las tres valoraciones calorimétricas fueron de 7.16 en cada una de ellas. Por lo tanto, para hacer el ajuste de los datos experimentales, el programa PEAQ-ITC fue alimentado con un valor de $N = 2$, obteniendo un buen ajuste como se puede observar en cada una de las curvas de enlace.

La Tabla 11 contiene los valores de los parámetros termodinámicos determinados durante la reacción que se lleva a cabo en el sistema HFlur/2HP β CD de los tres experimentos realizados. El valor de $N = 2$ alimentado en PEAQ-ITC y la obtención de un buen ajuste a los datos experimentales, dieron indicio de que el complejo formado es de estequiometría 2:1; es decir, el complejo que se forma en el sistema es (HFlur)₂2HP β CD. El valor promedio del Log Kf es igual a 5.4, lo que indica que se forma un complejo estable. Analizando las contribuciones entálpicas y entrópicas al proceso de inclusión, la entalpía contribuye más que la entropía al valor de ΔG° . Se puede observar que la entropía en 4b aumenta 3.61 unidades con respecto a los experimentos 4a y 4c; sin embargo, el valor de ΔG° sigue siendo similar entre ellos, esto debido a que en el experimento 4b también existe un cambio en el valor de la entalpía, y el resultado de las contribuciones ocasiona que no exista una gran variación en la energía libre de Gibbs.



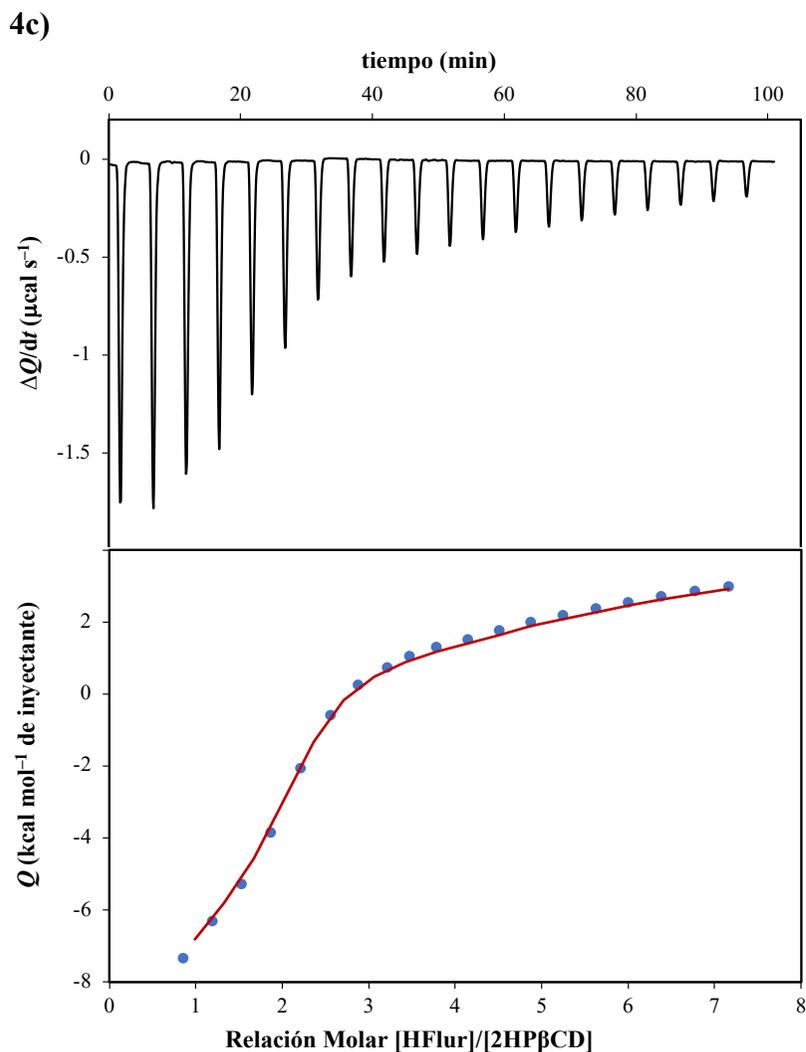


Figura 8. Termogramas (gráficos superiores) y curvas de enlace (gráficos inferiores) obtenidos en la valoración calorimétrica isotérmica de γ CD con HFlur a pH=2.0 y T=30 °C usando como disolvente 70/30 % agua-etanol, correspondientes a los experimentos 4a, 4b y 4c descritos en la sección 7.2.4. En las curvas de enlace, los marcadores corresponden a los datos experimentales, y la línea continua representa el ajuste de la curva usando el programa PEAQ-ITC.

Tabla 11. Parámetros termodinámicos asociados a la formación del complejo de inclusión (HFlur)₂HHPβCD a pH=2.0 y T=30 °C usando como disolvente 70/30 % agua-etanol, por calorimetría por titulación isotérmica.

Experimento	4a	4b	4 c
N	2	2	2
Log K_f	5.42	5.34	5.45
ΔH° (kcal/mol)	-12.30 ± 0.870	-15.81 ± 1.16	-12.34 ± 0.866
$-T\Delta S^\circ$ (kcal/mol)	4.79	8.40	4.79
ΔG° (kcal/mol)	-7.51	-7.41	-7.55

8.5 Comparación de sistemas HFlur- α CD, HFlur- β CD, HFlur- γ CD y HFlur-2HP β CD

Al comparar los parámetros termodinámicos de la Tabla 12 correspondientes a los sistemas HFlur- α CD, HFlur- β CD, HFlur- γ CD y HFlur-2HP β CD, se observa que la formación de los complejos con α y β CD son endotérmicos, mientras que para γ y 2HP β CD son endotérmicos. Analizando el factor entrópico en todos los sistemas estudiados, se obtuvo que hay un mayor desorden durante la formación del complejo HFlur- β CD; y un menor grado de desorden en el caso de HFlur- γ CD.

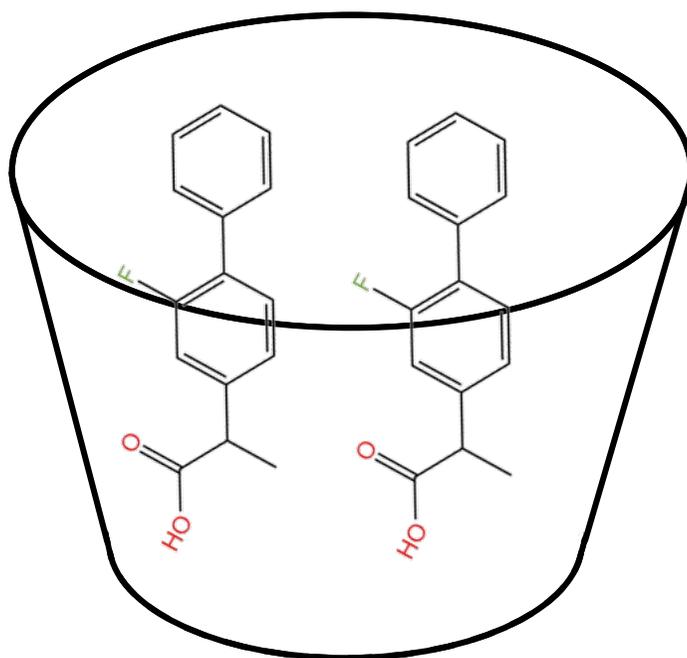


Figura 9. Estructura molecular propuesta del complejo de inclusión formado entre Flurbiprofeno y cada ciclodextrina estudiada (α , β , γ y 2HP β).

Se determinó que todos los procesos de formación de los complejos de inclusión son espontáneos, y que la geometría de los complejos es aquella en donde dos moléculas de HFlur se introducen en la cavidad de las CD, esto se confirma debido a que en todas las curvas de enlace presentaron un buen ajuste con el programa PEAQ-ITC de Malvern, usando un modelo con $N=2$, en donde la relación molar es aproximadamente 2 lo cual es posible cuando en el sistema hay una relación de dos moles de HFlur por cada mol de ciclodextrina. En la literatura científica se reporta que el grupo carboxílico es afín del lado hidroxilo primario (diámetro menor), y el grupo fenilo cerca del borde secundario (diámetro mayor) (Figura 9) (Pirnau et al., 2014).

Para un mejor análisis de los resultados termodinámicos, a continuación, se presenta la Tabla 12 que muestra de manera simultánea los resultados de cada uno de los sistemas HFlur/CD estudiados.

Tabla 12. Parámetros termodinámicos asociados a la formación del complejo de inclusión (HFlur)₂CD de los sistemas HFlur- α CD, HFlur- β CD, HFlur- γ CD y HFlur-2HP β CD, a pH=2.0 y T=30 °C usando como disolvente 70/30 % agua-etanol, por calorimetría por titulación isotérmica.

Sistema	Parámetro	Experimento		
		1a	1b	1c
HFlur- α CD	N	2	2	2
	Log K_f	6.79	5.79	6.31
	ΔH° (kcal/mol)	$1.62 \pm 8.7e-2$	4.87 ± 0.398	4.44 ± 0.187
	$-T\Delta S^\circ$ (kcal/mol)	-11	-12.9	-13.2
	ΔG° (kcal/mol)	-9.43	-8.03	-8.75
HFlur- β CD	N	2	2	2
	Log K_f	6.26	6.24	6.19
	ΔH° (kcal/mol)	8.95 ± 0.346	9.14 ± 0.346	9.03 ± 0.375
	$-T\Delta S^\circ$ (kcal/mol)	-17.5	-17.7	-17.5
	ΔG° (kcal/mol)	-8.55	-8.51	-8.44
HFlur- γ CD	N	2	2	2
	Log K_f	4.42	5.27	5.47
	ΔH° (kcal/mol)	-13.2 ± 1	-12.9 ± 0.658	-13 ± 0.857
	$-T\Delta S^\circ$ (kcal/mol)	5.65	5.57	5.39
	ΔG° (kcal/mol)	-7.51	-7.30	-7.60
HFlur-2HP β CD	N	2	2	2
	Log K_f	5.42	5.34	5.45
	ΔH° (kcal/mol)	-12.30 ± 0.870	-15.81 ± 1.16	-12.34 ± 0.870
	$-T\Delta S^\circ$ (kcal/mol)	4.79	8.40	4.79
	ΔG° (kcal/mol)	-7.51	-7.41	-7.55

Al comparar los termogramas con los resultados de los parámetros termodinámicos, se esperaba que en todos los sistemas estudiados el valor del ΔH° fuera negativo, debido a que en los termogramas los picos están orientados hacia abajo. Sin embargo, en los sistemas HFlur- α CD y HFlur- β CD el ΔH° es positivo (Tabla 12); esto se debe probablemente, a que los picos empiezan con una cierta magnitud (tamaño) y conforme se van haciendo las adiciones, la magnitud es cada vez más grande hasta llegar a un punto en el que ésta se hace constante. En cambio, para los sistemas HFlur- γ CD y HFlur-2HP β CD los termogramas presentan picos grandes orientados hacia abajo y conforme se van haciendo las adiciones, éstos decrecen en tamaño, ocasionando que el valor de ΔH° sea negativo.

En la Tabla 12 también se observa que en los sistemas HFlur- α CD y HFlur- β CD, el proceso de inclusión está impulsado por entropía, ya que su valor aporta más a la espontaneidad de la reacción; es decir, contribuye más a la energía libre de Gibbs ΔG° . Mientras que para los sistemas HFlur- γ CD y HFlur-2HP β CD, el proceso está impulsado por la entalpía, ya que su valor contribuye más a la energía libre de Gibbs.

Si ahora se compara el valor de $\text{Log } K_f$ de todos los sistemas HFlur/CD, se observa que usando las ciclodextrinas α y β , tienen un valor en el intervalo de 5.79 a 6.79, y de 6.19 a 6.26, respectivamente. Mientras que para los sistemas con γ y 2HP β CD, el valor de $\text{Log } K_f$ es de 4.42 hasta 5.47, y de 5.34 a 5.45, respectivamente. Con estos resultados, se concluye que los complejos con mayor estabilidad son aquellos que se forman entre HFlur y las CDs α y β .

9. CONCLUSIONES

9. CONCLUSIONES

A pesar de la baja solubilidad del Flurbiprofeno en medio acuoso, fue posible estudiar el proceso de complejación entre flurbiprofeno y las ciclodextrinas α , β , γ y 2-hidroxipropil- β en una mezcla etanol:agua 70:30 %. Se determinó la estequiometría y los parámetros termodinámicos de los complejos formados en cada uno de los sistemas estudiados (HFlur- α CD, HFlur- β CD, HFlur- γ CD y HFlur-2HP β CD), a pH de 2 y a una temperatura de 30 °C, por Calorimetría de Titulación Isotérmica.

Para todos los sistemas estudiados se determinó que el complejo que se forma presenta una estequiometría 2:1, y de acuerdo con los valores promedios de $\text{Log } K_f$, se determinó que el orden de estabilidad de los complejos $(\text{HFlur})_2\alpha\text{CD} > (\text{HFlur})_2\beta\text{CD} > (\text{HFlur})_22\text{HP}\beta\text{CD} > (\text{HFlur})_2\gamma\text{CD}$.

Se encontró que todos los procesos de formación de los complejos de inclusión son espontáneos al obtener valores negativos de ΔG° . La inclusión de HFlur en α y β ciclodextrina fue un proceso de endotérmico, contribuyendo más la entropía que la entalpía a la espontaneidad del proceso (ΔG°); mientras que para la formación de los complejos de inclusión de HFlur en γ y 2HP β ciclodextrina, el proceso fue exotérmico contribuyendo más a la espontaneidad de la reacción el término entálpico que el término entrópico.

Comparando la inclusión de HFlur con las ciclodextrinas nativas α , β y γ , se determinó que el complejo con α CD está más favorecido que con β y γ , debido a que en la α CD, al tener menor tamaño de cavidad, se favorecen más las interacciones intermoleculares como puentes de hidrógeno y fuerzas de van der Waals entre las dos moléculas de HFlur y la pared interna de la α CD. Contrastando la β y la 2HP β se determinó que el complejo con β CD es más estable, se determinó que los sustituyentes hidroxipropilo de la 2HP β desfavorecen la inclusión.

10. REFERENCIAS

10. REFERENCIAS

- Anderson, B. D., & Conradi, R. A. (s/f). *Predictive Relationships in the Water Solubility of Salts of a Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug*.
- Beig, A., Agbaria, R., & Dahan, A. (2013). Oral Delivery of Lipophilic Drugs: The Tradeoff between Solubility Increase and Permeability Decrease When Using Cyclodextrin-Based Formulations. *PLoS ONE*, 8(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068237>
- Cabezas Lefler, J. A., Benito Urbina, S., López Martín, J. A., & Elena Ibáñez, A. (2000). Antiinflamatorios no esteroideos (I). clasificación. mecanismo de acción. indicaciones. efectos secundarios. interacciones. empleo en situaciones clínicas especiales. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 8(28), 1440–1448. [https://doi.org/10.1016/s0304-5412\(00\)70278-2](https://doi.org/10.1016/s0304-5412(00)70278-2)
- ChemicalBook. (s/f). *Flurbiprofen*. Recuperado el 20 de febrero de 2024, de https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB7465967_EN.htm
- Cornelio, R., & Mayorga, P. (2007). Estudo da Penetração Cutânea do Flurbiprofeno. *Latin American Journal of Pharmacy*.
- Domaska, U., Pobudkowska, A., Pelczarska, A., & Gierycz, P. (2009). pKa and solubility of drugs in water, ethanol, and 1-octanol. *Journal of Physical Chemistry B*, 113(26), 8941–8947. <https://doi.org/10.1021/jp900468w>
- Espinoza, B., & Hernández, G. (2005). Formación, evaluación y caracterización del complejo de inclusión piroxicam/hidroxiopropil- β -ciclodextrina. *Volumen* 36. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57936104>
- Flecha, L. (s/f). *CALORIMETRÍA DE TITULACIÓN ISOTÉRMICA*.
- Holdgate, G. A., Ward, W. H. J., & Mctaggart, F. (2003). Molecular mechanism for inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (HMG-CoA) reductase by rosuvastatin. En 528 *Biochemical Society Transactions* (Vol. 31).
- Innocenti, A. (s/f). *Stoichiometry and Research - The Importance of Quantity in Biomedicine*. InTech.
- Instruments, M. (s/f). *Manual: MicroCal PEAQ-ITC Analysis Software user manual (English) MAN0576*. www.malvern.com

- Juarez, A. (2022). *Termodinámica de la inclusión de ibuprofeno en ciclodextrinas en disolución acuosa*. UNAM.
- Keb Canul, A. F. (2022). Mecanismo de los AINES y antiinflamatorios derivados para el control del dolor y la inflamación. Uso de antiinflamatorios en odontología. *Revista de la Asociación Dental Mexicana*, 79(1), 38–47. <https://doi.org/10.35366/103817>
- Leyva, E., Moctezuma, E., Leyva, R., & Oros, S. (2004). Estudio de los complejos de inclusión de ácido nalidíxico y ácido oxolínico con ciclodextrinas. En *Rev. Soc. Quím. Méx* (Vol. 48).
- López, A., Herazo, K., & Sotomayor, R. G. (2019). Diseño y desarrollo de un sistema de entrega de fármaco autoemulsificable líquido de ibuprofeno incorporado por el método de adsorción por portador en una forma farmacéutica sólida (comprimidos). *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas(Colombia)*, 48(3), 589–614. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n3.84960>
- Meloun, M., Bordovská, S., & Galla, L. (2007). The thermodynamic dissociation constants of four non-steroidal anti-inflammatory drugs by the least-squares nonlinear regression of multiwavelength spectrophotometric pH-titration data. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(4), 552–564. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.07.029>
- Mora, J. (2009). *Determinación de los parámetros termodinámicos de la formación del complejo de inclusión diclofenaco -ciclodextrina en solución acuosa*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Perea-Martínez, A., López-Navarrete, G., De La Osa-Busto, M., & Reyes-Gómez, U. (2016). Antiinflamatorios no esteroideos y sus aplicaciones terapéuticas (Parte 1). En *Bol Clin Hosp Infant Edo Son* (Vol. 33, Número 2).
- Pirnau, A., Floare, C. G., & Bogdan, M. (2014). The complexation of flurbiprofen with β -cyclodextrin: A NMR study in aqueous solution. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 78(1–4), 113–120. <https://doi.org/10.1007/s10847-012-0277-7>
- Prieto, S., & Manuel, J. (2007). *Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs). ¿Dónde estamos y hacia dónde nos dirigimos?*

- Radu, C. D., Parteni, O., & Ochiuz, L. (2016). Applications of cyclodextrins in medical textiles — review. En *Journal of Controlled Release* (Vol. 224, pp. 146–157). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.12.046>
- Rainsford, K. D. (1999). *Profile and Mechanisms of Gastrointestinal and Other Side Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs)*.
- Ruilope, L. M., & Coca, A. (2002). Inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2 (Coxibs) y morbilidad cardiovascular. En *Med Clin (Barc)* (Vol. 118, Número 6). <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/01/>
- Santos, C., Rosas, J., Senabre, J., Santos, G., Salas, E., Barber, X., & Sánchez, M. (s/f). *Enfermedades reumáticas: Actualización SVR*.
- Saokham, P., Muankaew, C., Jansook, P., & Loftsson, T. (2018). Solubility of cyclodextrins and drug/cyclodextrin complexes. En *Molecules* (Vol. 23, Número 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules23051161>
- Vila, J., & Cano, C. (s/f). *Tecnología farmacéutica*.

11. ANEXOS

11. ANEXOS

11a. Participación en congreso

Participación en modalidad Cartel en el XXXIV Congreso Nacional de Química Analítica organizado por la Asociación Mexicana de Química Analítica (AMQA), realizado en los días 21, 22 y 23 de septiembre de 2022 en el estado de Guanajuato, Guanajuato.

The image shows a certificate of participation. On the left side, there is a graphic with a map of Mexico and the text: "XXXIV Congreso Nacional de Química Analítica" and "XXIV Simposio Estudiantil". At the top left are the logos for AMQA (Asociación Mexicana de Química Analítica) and the Universidad de Guanajuato. The main text on the right reads: "La Asociación Mexicana de Química Analítica y la Universidad de Guanajuato otorgan la presente **Constancia** a: César O. Nevares Negrete, León D. Ponce Pérez, Ángel A. Ceballos Aguilar, Rosario Moya Hernández, Ricardo Hipólito Nájera, Norma Rodríguez Laguna, Rodolfo Gómez Balderas por la presentación del trabajo **Estudio de la Inclusión de Diflunisal en 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina** en el marco del XXXIV Congreso Nacional de Química Analítica llevado a cabo los días 21, 22 y 23 de septiembre". At the bottom, there are two signatures and names: "Dra. María Teresa Ramírez Silva, Presidenta de la AMQA" and "Dra. María del Pilar González Muñoz, Presidenta Comité Organizador local". The date "Guanajuato, Gto. Septiembre 2022" is printed at the bottom right.

11b. Libro de resúmenes

El trabajo presentado en el XXXIV Congreso Nacional de Química Analítica organizado por la Asociación Mexicana de Química Analítica (AMQA), fue publicado en el libro de resúmenes.



Guanajuato, Guanajuato
19 al 23 de septiembre de 2022

