



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

“DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES DE EQUILIBRIO DE
INCLUSIÓN DE LOS COMPLEJOS DE ISOXICAM CON 2-
HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA”

Tesis que presenta

Francisca Yuriko Rodriguez Orduño

Para obtener el grado de

Maestra en Ciencias Químicas

Asesores: Dr. Alberto Rojas Hernández
Dr. Giaan Arturo Álvarez Romero

Sinodales:

Presidente: Dra. María Teresa Ramírez Silva
Secretario: Dr. Carlos Andrés Galán Vidal
Vocal: Dra. Gabriela Roa Morales

México, D.F. 4 mayo 2017

A Dios y a mis padres: Ricardo y M^a Guadalupe por haber confiado en mí, por todo el amor y apoyo que siempre me han brindado

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar deseo expresar mi más sincero agradecimiento a mi tutor y guía de ésta tesis Dr. Alberto Rojas Hernández, por haberme brindado la oportunidad de trabajar con él, por haber tenido la paciencia necesaria para ayudarme, transmitirme su conocimiento y por su apoyo en todo momento.

Gracias al Dr. Giaan Arturo Álvarez Romero, por su grata asesoría, colaboración, y por sus valiosos consejos sobre este trabajo.

Gracias al Dr. Manuel Eduardo Palomar Pardavé, por sus observaciones y aportaciones, como parte del comité tutorial durante este trabajo.

A los sinodales encargados de revisar y hacer las correcciones pertinentes de este trabajo.

A la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de seguir adelante en mi formación académica y profesional.

Al PRODEP por el apoyo financiero parcial de este trabajo, a través de la Red Nacional de Investigación en Química Analítica y Electroquímica (RedNIQAE).

Al CONACyT por el otorgamiento de la beca 570599, gracias a la cual pude concluir mis estudios de maestría.

ÍNDICE

Introducción	5
Capítulo 1: Antecedentes teóricos	7
1.1 Oxicams	8
1.2. Ciclodextrinas	10
1.2.1. Hidroxipropil- β -Ciclodextrina	13
1.2.2 Complejos de inclusión	14
Capítulo 2: Modelo de cálculo robusto para el método de razones molares	18
2.1. Método de razones molares	19
2.2. Modelo de cálculo considerando el método de razones molares	25
2.2.1 Desarrollo algebraico del modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión $FmCD$ y $Fm(CD)_2$	25
2.2.2. Aplicación del modelo de cálculo robusto al sistema La^{3+} -NTA	29
2.2.3. Aplicación del modelo de cálculo robusto a reacciones poco cuantitativas	31
2.2.4 Bases para diseño de experimentos utilizando el modelo de cálculo robusto	38
2.2.5 Desarrollo algebraico del modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión $FmCD$ y Fm_2CD	38
Capítulo 3 Hipótesis y objetivos	52
Hipótesis	53
Objetivo general	53
Objetivo específico	53
Capítulo 4 complejos de inclusión del sistema Isoxicam-2-Hidroxipropil- β -Ciclodextrina	54

4.1 Experimentación	55
4.1.1 Reactivos	55
4.1.2. Espectroscopía	55
4.1.3. Conductimetría	58
4.1.4. Polarimetría	59
4.2. Resultados y análisis	60
4.2.1 Espectrofotometría	60
4.2.2. Polarimetría	76
Capítulo 5. Conclusiones y perspectivas	86
5.1 Conclusiones	87
5.2 Perspectivas	96
6. Bibliografía	90
7. Anexos	96
Anexo A	97
Anexo B	101

INTRODUCCIÓN

El isoxicam es un analgésico no esteroideo (AINEs), destaca ya que en comparación con otros como naproxeno o sudoxicam, el isoxicam posee un efecto prolongado en su actividad antiinflamatoria; no obstante de la familia de los oxicams no es comercializado para uso farmacéutico debido a la baja solubilidad que presenta.

Ante la desventaja ya mencionada, el uso de agentes complejantes como las ciclodextrinas, en particular la 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina (por ser más soluble respecto a otras ciclodextrinas) para la formación de complejos de inclusión, ofrece una alternativa para aumentar la solubilidad de este tipo de fármacos y así fomentar su uso^[1-8].

Actualmente se han reportado diversos estudios de complejos de inclusión con otros AINEs como tenoxicam, piroxicam, meloxicam, entre otros, sin embargo no se ha encontrado nada reportado en la literatura acerca de complejos de inclusión con isoxicam.

Dar a conocer la existencia de complejos de inclusión de isoxicam con ciclodextrinas, así como algunas de sus propiedades como: constantes de equilibrio, estequiometría, ángulo de rotación, conductividad, entre otras, puede ser de gran utilidad para que en un futuro se convierta en un analgésico competitivo como lo son piroxicam, tenoxicam, meloxicam, por mencionar algunos^[5-10].

La evaluación de los complejos de inclusión requiere diferentes métodos de análisis, los cuales se basan en la detección de cualquier variación física o química, consecuencia de la formación del complejo de inclusión entre el fármaco (huésped) y la ciclodextrina (anfitrión).

De las técnicas para determinar las propiedades de los complejos de inclusión se encuentra la espectroscopía UV/Vis la cual es económica, rápida y muy utilizada para conocer la relación huésped-anfitrión de los complejos de inclusión.

Sin embargo, existen técnicas muy útiles y confiables como son la polarimetría y la conductimetría, que en esta última década han cobrado importancia, ya que han demostrado ofrecer información termodinámica y estructural de los complejos formados; además de ser técnicas simples, rápidas y económicas^[11-13].

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES TEÓRICOS

1.1 OXICAMS

Los oxicams son un grupo de fármacos antiinflamatorios no esteroideos también conocidos como AINEs (Antiinflamatorios no esteroideos) o por sus siglas en inglés como NSAIDs (Nonsteroidal anti-inflammatory drugs); dentro de este grupo se encuentra el tenoxicam, piroxicam, meloxicam, isoxicam, entre los más relevantes^[1,4].

En general, la familia de oxicams poseen una estructura tautomérica de ceto-enol; cuyo nombre según las reglas de la IUPAC es 4-hidroxi-1,2-benzotiazina-3-carboxamida (figura 1.1), por lo que son llamados también como enol-carboxamidas.

Esta familia de fármacos, tienen valores de pKa que oscilan entre 3 y 7, enlaces π ; así como uno o más heteroátomos en su estructura ^[5-7].

Debido a las propiedades de los oxicams ya descritas, para su estudio se utilizan diversas técnicas analíticas, entre las que incluyen espectrofotometría, polarimetría, voltamperometría, cromatografía, potenciometría, resonancia magnética nuclear RMN, cristalografía, entre otras; sin olvidar que también han sido ampliamente estudiados mediante métodos de modelación molecular.

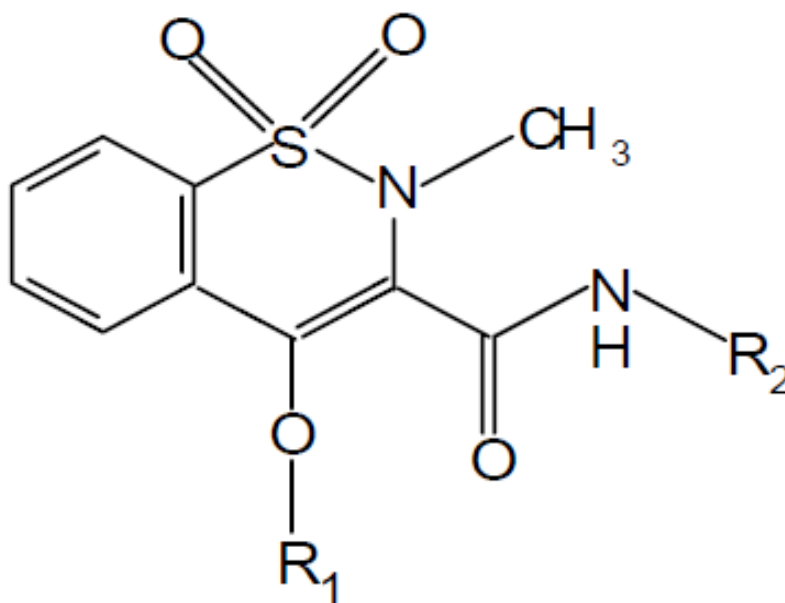


Figura 1.1. Estructura química general de un Oxicam^[1].

El isoxicam (4-hidroxi-2-metil-N-[5-metil-3-isoxolyl-2H-1,2-benzotiazin-3-carboxamida 1,1 dióxido]) (figura 1.2) es un fármaco perteneciente a los oxicams; este tipo de fármacos son muy conocidos por sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas ^[8,9].

Los AINEs a nivel mundial se utilizan principalmente para combatir el dolor ante enfermedades como artritis, diferentes tipos de cáncer y condiciones postoperatorias. De este grupo, el isoxicam es muy importante ya que posee actividad prolongada ante situaciones de inflamación, por otra parte provoca menor efecto ulcerogénico y tóxico, teniendo así una indicación terapéutica superior comparada con otros AINEs como naproxeno o sudoxicam.

No obstante, pese a las ventajas que ofrece el uso de isoxicam, este posee una solubilidad mucho menor comparada a la de otros AINEs, por lo cual actualmente no se comercializa para uso farmacéutico^[1-10].

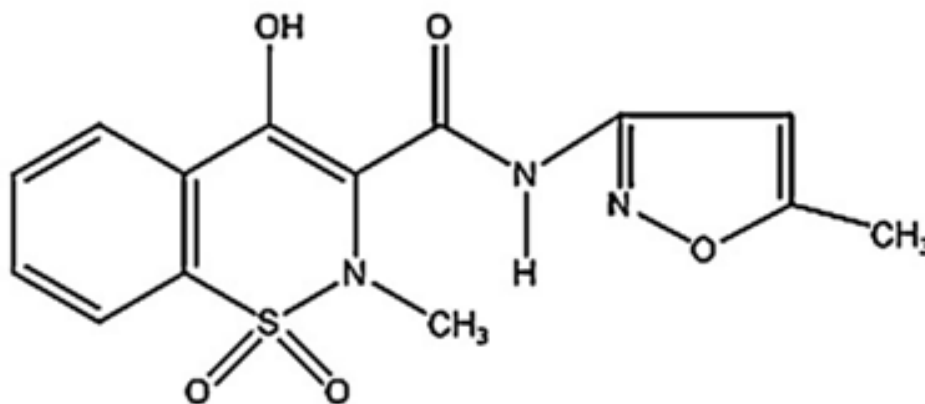


Figura 1.2. Fórmula desarrollada del isoxicam^[7].

1.2. CICLODEXTRINAS

Los macrociclos conocidos como ciclodextrinas (CDs) son oligosacáridos cíclicos unidos por subunidades de glucopiranosas, obtenidas por la degradación del almidón por la enzima ciclodextrina glucosiltransferasa^[11,12].

Históricamente las ciclodextrinas no son compuestos recientes, pues desde 1891 Villesr ya había trabajado con estos compuestos; sin embargo, hasta 1903 Shardingner caracterizó y estudió concretamente algunos compuestos de la familia de las ciclodextrinas. Para la década de los 50s´ a nivel mundial surgió un auge en cuanto a su estudio y empleo debido a sus aplicaciones farmacéuticas.

A pesar de que ya pasaron más de cien años de su descubrimiento, en la actualidad se siguen encontrando nuevas propiedades y aplicaciones de las ciclodextrinas^[13-16].

De acuerdo al número de unidades de glucopiranosas, las CDs se clasifican en: α -ciclodextrina (α -CD, ciclohexilamilosa, con 6 unidades de glucopiranosas), β -ciclodextrina (β -CD, cicloheptamilosa, con 7 unidades de glucopiranosas), y γ -ciclodextrina (γ -CD, octamilosa, 8 unidades de glucopiranosas).

Las CDs tienen forma de cono truncado debido a la conformación de silla en sus unidades de glucopiranosas, poseen una estructura tridimensional caracterizada por una superficie exterior hidrófila y una cavidad interna hidrófoba como se observa en la figura 1.3.

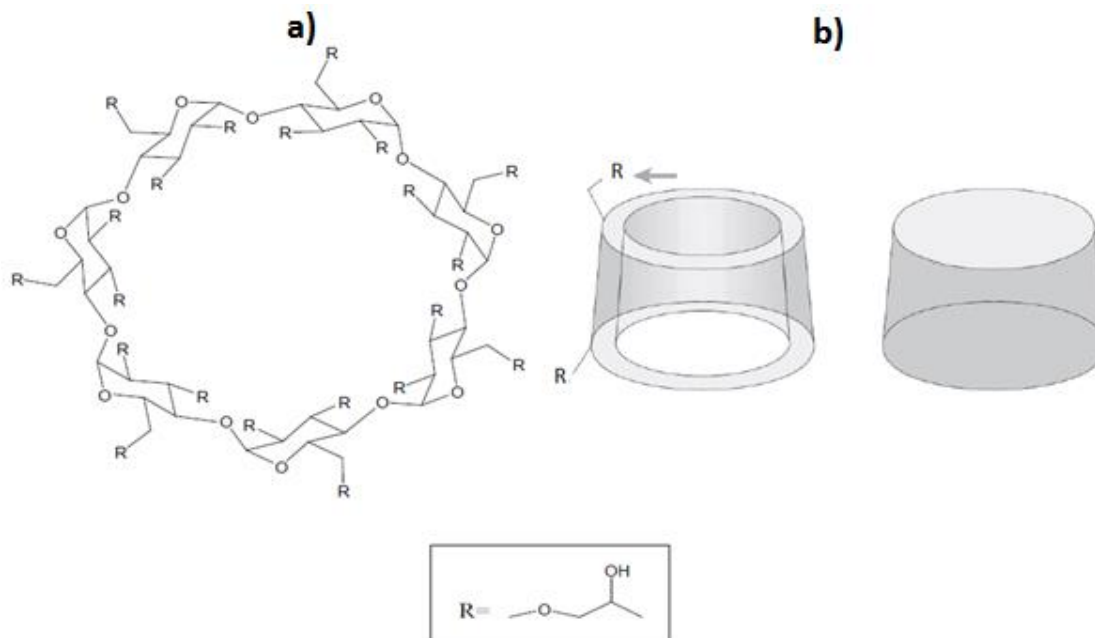


Figura 1.3. a) Estructura bidimensional de la 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina b) Esquema tridimensional en forma de cono truncado de la 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina^[19].

La cavidad interna se encuentra delineada por átomos de hidrógeno y un puente glucosidal, este último está formado por pares electrónicos no enlazados de los átomos de oxígeno ocasionando alta densidad electrónica y un entorno similar al de las bases de Lewis, provocando un carácter hidrófobo.

En el exterior de la cavidad se encuentran los grupos hidroxilo (OH), en el borde más ancho se encuentran los secundarios, mientras que en el borde más estrecho se encuentran los primarios (figura 1.4)^[17-21].

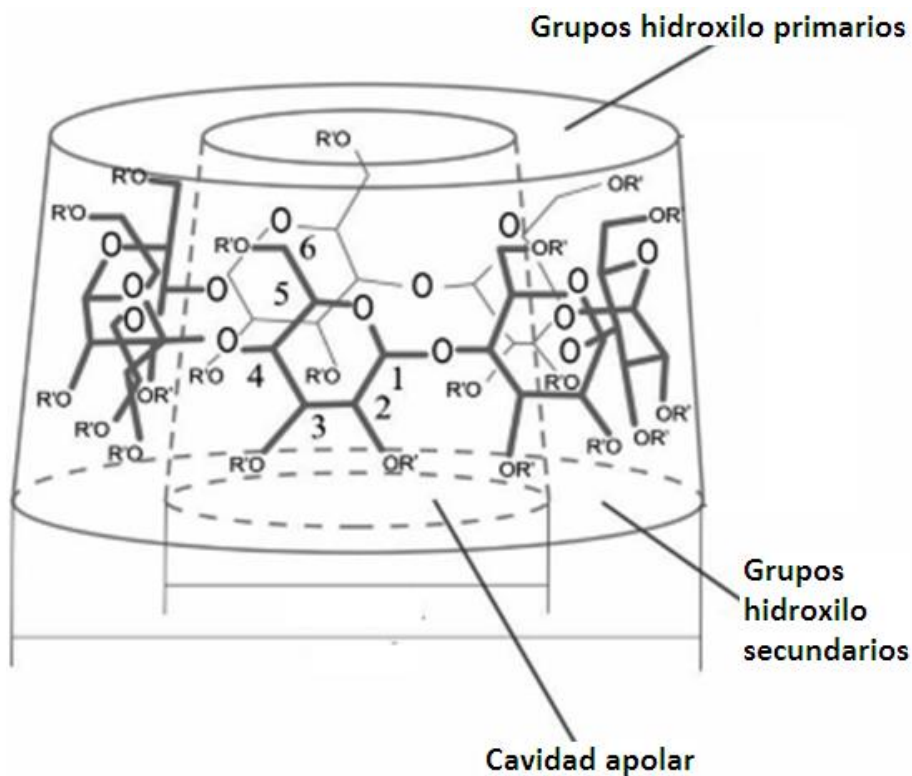


Figura 1.4. Superficie y cavidad de una ciclodextrina^[21].

El tamaño de la cavidad depende de la cantidad de unidades de glucosa (a mayor número de unidades el tamaño aumenta y viceversa) aunque la altura es constante (6.0-7.0 Å); sin embargo, en la solubilidad no ocurre así pues la β -CD es considerablemente menos soluble en agua que la α -CD y γ -CD, esta disminución en la solubilidad es debido a los puentes de H entre los grupos hidroxilo que hay en el C2 y C3 de la molécula ocasionando una mayor rigidez en la β -CD.

A pesar de que la solubilidad de la β -CD es menor (comparada con la α -CD y la γ -CD), el tamaño de su cavidad es más apropiado para encapsular gran variedad de moléculas con propiedades biológicas y farmacológicas; por otra parte, la sustitución de los grupos OH del C2 y C3 ha hecho que se favorezca la solubilidad.

1.2.1-Hidroxipropil- β -ciclodextrina

En general, la hidroxipropil- β -ciclodextrina se obtiene por la hidroxilación de la β -ciclodextrina específicamente en la posición 2 para la 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina.

Las CDs naturales tienen una hidrosolubilidad limitada (especialmente la β -CD) sin embargo, la HP- β -CD (2-hidroxipropil- β -ciclodextrina) cuenta con una excelente solubilidad tanto en agua como en disolventes orgánicos, mayor a 600mg/mL (Tabla 1.1).

Este aumento de solubilidad, también consigue evitar un inconveniente que se presenta con el uso de la β -CD, que es la precipitación de complejos de la β -CD formados con otros principios activos y compuestos naturales de elevada lipofilia.

Tabla 1.1. Solubilidad de las especies de ciclodextrinas más utilizadas^[22].

Ciclodextrina	Sustitución ^a	Masa ^b	Solubilidad en agua (mg/mL) ^c
α -ciclodextrina	-	972	145
β -ciclodextrina (β -CD)	-	1135	18.5
2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina	0.65	1400	>600
β -ciclodextrina aleatoriamente metilada	1.8	1312	>500
Sal β -CD sulfobutil éter de sodio	0.9	2163	>500
γ -ciclodextrina	-	1297	232
2-Hidroxipropil- γ -ciclodextrina	0.6	1576	>500

^aPromedio del número de sustituyentes por unidad repetida de glucopiranososa.

^bMasa en Daltons

^cSolubilidad en agua a 25°C

Por otra parte, la toxicidad de la 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina, es mucho menor comparada con la β -ciclodextrina, ya que esta última se encuentra restringida para

la vía parenteral, mientras que la 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina se permite hasta en 500mg/kg por vía intravenosa.

Además de las ventajas ya mencionadas, otras que ofrece el uso de ciclodextrinas son: evitar la precipitación de complejos de inclusión formados, mejorar la estabilidad de algunas moléculas, aumentar el principio terapéutico, mejorar propiedades farmacocinéticas, además de disminuir la toxicidad en muchos de los casos^[17,19,22-26].

1.2.2 Complejos de inclusión

La particular estructura tridimensional de las CDs, está caracterizada por una superficie externa hidrófila y una cavidad interna hidrófoba, que es la responsable de encapsular parcial o totalmente moléculas de tamaño adecuado dentro de su cavidad dando lugar a la formación de complejos de inclusión.

Para la formación de complejos de inclusión, se requiere de una molécula hidrofóbica o bien una molécula polar con una parte hidrofóbica (huésped), la cual se va incorporar a la CDs (anfitrión), promoviendo el desplazamiento de las moléculas al interior de la cavidad, ocasionando así repulsiones entre el huésped apolar y el agua polar de la CDs (anfitrión); este proceso ocasiona la encapsulación parcial o total de la molécula huésped aumentando así la solubilidad del compuesto a trabajar.

El complejo de inclusión está presente en solución en equilibrio dinámico caracterizado por la ausencia de enlaces covalentes. La formación de complejos de inclusión implica la interacción entre las moléculas del huésped y el anfitrión, involucrando diversas fuerzas iónicas como, van der Waals, enlaces de hidrógeno, dipolo-dipolo, interacciones electrostáticas de dispersión y efecto hidrófobo sin olvidar que es importante considerar el tamaño y la forma de las moléculas; no obstante la fuerza más importante es la interacción polar-apolar provocada por las moléculas de la cavidad de la CD (anfitrión) por una parte y por la otra el huésped.

Sin embargo la estabilidad de los complejos de inclusión se debe principalmente a las fuerzas hidrofóbicas^[18,27-29].

La capacidad de las CDs de formar complejos de inclusión con una amplia variedad de moléculas huésped es la base para la mayoría de sus aplicaciones en el campo farmacéutico, agroquímico, industria alimenticia y cosmética. En la figura 1.5 se representa una imagen tridimensional, de la formación de un complejo de inclusión de isoxicam- β -CD relación 1:1, tomada del trabajo que están realizando la Dra. Annia Galano Jiménez y el Dr. Alberto Rojas Hernández.

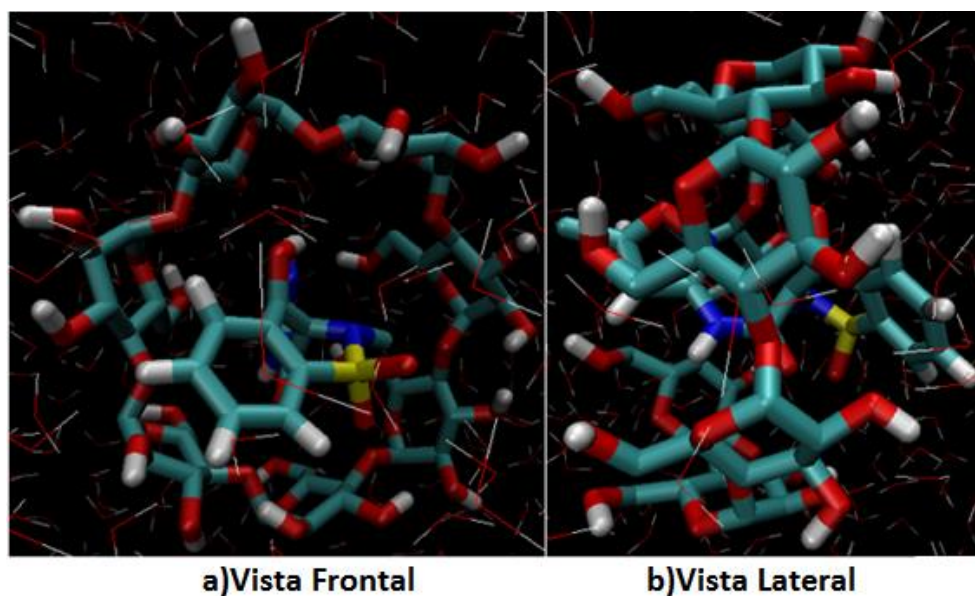


Figura 1.5. Representación tridimensional de un complejo de inclusión 1:1 de Isoxicam- β -ciclodextrina, en donde el isoxicam se encuentra totalmente encapsulado por la β -ciclodextrina, en a) imagen frontal y en b) imagen lateral, del complejo de inclusión

El estudio de complejos de inclusión no es un tema reciente, desde hace más de cinco décadas se han reportado diversos estudios acerca de la formación, estequiometría, constantes de equilibrio, comportamiento, interacciones, cinética,

ventajas, etc. sobre complejos de inclusión de diversos metales y fármacos como barbitúricos, antibióticos, azoles, antihistamínicos, analgésicos, antihipertensivos, entre otros. No obstante, aún hay diversas propiedades de estos complejos que no se conocen^[12,14,29].

H.M. Cabral Marques y colaboradores en 1990 realizaron un estudio utilizando un modelo molecular y H-NMR sobre complejos de inclusión entre β -ciclodextrina y salbutamol, en el cual evidenciaron la formación de los mismos, así como su comportamiento y algunas características. Una década más tarde, Ernesto Estada y colaboradores retomaron el estudio anterior y otros sobre complejos de inclusión de Salbutamol y β -Ciclodextrina, utilizando un modelado molecular, NMR y análisis térmico, y determinaron propiedades como estequiometría y la orientación del salbutamol dentro de la cavidad de la β -ciclodextrina. En 2012, A. Antony Muthu Prabhu y colaboradores realizaron otro estudio sobre complejos de inclusión salbutamol- β -ciclodextrina y otros fármacos, encontrando complejos con estequiometría diferente así como nuevas propiedades, complementando la información que ya se tenía sobre los mismos^[28-30].

Otro fármaco del que han sido muy estudiados sus complejos de inclusión es el piroxicam. A. Braibanti y colaboradores en 1998 reportaron la evidencia de formación de complejos de inclusión piroxicam- β -ciclodextrina relación 1:1, y con ciertas propiedades^[31]. No obstante, en 1999 Graciela M. Escandar y colaboradores demostraron la formación de complejos de inclusión con piroxicam relación 1:2^[32]. Actualmente se siguen estudiando las propiedades de estos complejos de inclusión, retomando lo que ya está reportado^[31-35].

Para el estudio de complejos de inclusión con fármacos sobre los cuales no existe nada reportado, como el isoxicam, es indispensable considerar estudios realizados sobre propiedades, constantes de equilibrio, estabilidad, etc., acerca de complejos de inclusión con moléculas parecidas estructuralmente al fármaco en cuestión.

En particular, en el campo farmacéutico la complejación se utiliza para aumentar la solubilidad, mejorar la biodisponibilidad y la estabilidad de fármacos. Por otra parte, los complejos de inclusión pueden ser explotados para enmascarar sabores u olores desagradables, reducir la evaporación, estabilizar sustancias volátiles, proteger moléculas sensibles a la luz o el oxígeno, reducir irritación gástrica y cutánea, prevenir incompatibilidades e interacciones entre sustancias; estos y otros beneficios han despertado el interés científico en la última década^[34-36].

Para la determinación y evaluación de las propiedades físicas, químicas y farmacológicas se utilizan diversas técnicas como potenciometría, conductividad eléctrica, RMN, dicroísmo circular, polarimetría, espectrofotometría, infrarrojo, entre otras^[37-39].

Para el estudio de complejos de inclusión, es importante conocer las ventajas y desventajas que ofrece cada técnica instrumental; sin embargo, cabe destacar que en los últimos años la polarimetría ha sido una de las técnicas muy utilizadas por ser rápida, económica y fácil de llevar a cabo en estudios de complejos de inclusión^[40-44].

Para el procesamiento de datos acerca de los complejos de inclusión, una herramienta muy útil es el método de razones molares, ya que a partir de este método es posible conocer la estequiometría de los complejos formados, no obstante, sólo es posible utilizarlo en reacciones cuantitativas y en complejos relación 1:1, donde la respuesta generada es únicamente debida a los complejos formados.

Sin embargo, en reacciones no cuantitativas y que generen complejos de inclusión de estequiometría 1:1, 1:2, 2:1, etc. se puede utilizar como referencia el método de razones molares y diseñar un modelo de cálculo robusto que permita su estudio.

CAPÍTULO 2

MODELO DE CÁLCULO ROBUSTO PARA EL MÉTODO DE RAZONES MOLARES

2.1 MÉTODO DE RAZONES MOLARES

En química analítica, para determinar la relación estequiométrica de complejos formados a partir de un metal o un fármaco (M) con algún ligante (L), un método muy útil es el Método de Razones Molares; sin embargo actualmente no es fácil encontrar una presentación de tema en libros de texto de química analítica o inorgánica.

Lo primero que se debe determinar para este método es la tabla de variación de cantidad de sustancia (TVS), siendo el profesor francés Gaston Charlot quien la diseñó.

Dicha tabla de variación de sustancia (TVS), se construye considerando los diversos equilibrios involucrados en la reacción de formación de interés.

La presentación clásica del método razones molares se utiliza en reacciones cuantitativas de formación de un complejo (M_aL_b), como se muestra en la ecuación 1.



con

$$\beta_{ab} = \frac{[M_aL_b]}{[M]^a[L]^b} \ggg 1 \dots\dots\dots(2)$$

donde M=Metal y L=Ligante

En esta reacción una cantidad de (ligante) L se adiciona a M (metal o en nuestro caso, el fármaco), en diferentes sistemas, con un volumen total constante (V_T), para que la respuesta (R) sea proporcional a la cantidad del producto de reacción M_aL_b (n), y k es el factor de respuesta; como se indica en la ecuación 3.

$$R = k_{M_a L_b} [M_a L_b] = k_{M_a L_b} \left(\frac{n_{M_a} L_b}{V_T} \right) \dots \dots \dots (3)$$

Considerando los puntos anteriores es posible construir de forma genérica la tabla 2.1 para cualquier reacción cuantitativa.

Tabla 2.1 Tabla de variación de sustancia, construida a partir del método de razones molares, donde n_M permanece constante y el volumen total es el mismo e igual a $V_T^*_{CENL}$, dicha expresión representa la cantidad de L para la condición estequiometría.

	aM	bL ⇌	M _a L _b
Inicio	n_M		
Agr.		n_L	
$n_L < \frac{b}{a} n_M$	$n_M - (a/b)n_L$	$b\epsilon \approx 0$	$(1/b) n_L$
$\frac{b}{a} n_M = CENL$	$a\epsilon \approx 0$	$b\epsilon \approx 0$	$(1/a) n_M$
$\frac{b}{a} n_M > n_L$	$a\epsilon \approx 0$	$n_L - (b/a)n_M$	$(1/a) n_M$

Considerando los datos de la tabla 2.1; si la primera columna se divide entre n_M y las demás columnas se dividen entre V_T y si además se multiplican por el correspondiente factor de respuesta, es posible deducir la razón molar (r) y la respuesta R (en unidades arbitrarias) del complejo ML formado. Lo anterior está representado en la tabla 2.2.

Tabla 2.2. Tabla de variación de cantidad de sustancia expresada en términos de razón molar (r_L) y respuesta R del sistema; c_{EFL} , representa la razón molar de L para la condición estequiométrica.

	aM	$bL \rightleftharpoons$	M_aL_b
Inicio	n_M		
Agr.		n_L	
$r_L < \frac{b}{a}$	$k_M(n_M - (a/b)n_L)/V_T$	≈ 0	$k_{M_aL_b}(1/b) r_L(n_M)/V_T$
$c_{EFL} = \frac{b}{a}$	≈ 0	≈ 0	$k_{M_aL_b} (1/a) n_M/ V_T$
$\frac{b}{a} < r_L$	≈ 0	$k_L(n_L - (b/a)n_M)/V_T$	$k_{M_aL_b} (1/a) n_M/ V_T$

De acuerdo a la tabla 2.2, considerando la reacción de formación de un complejo y $k_M = k_L = 0$, se construye una gráfica $R = f(r_L)$, donde la intersección entre las dos líneas rectas formadas indica la razón molar del complejo formado en condición estequiométrica, el cual es igual al coeficiente estequiométrico L dividido entre el coeficiente M; $c_{EFL} = \frac{b}{a}$, como se muestra en la figura 2.1.

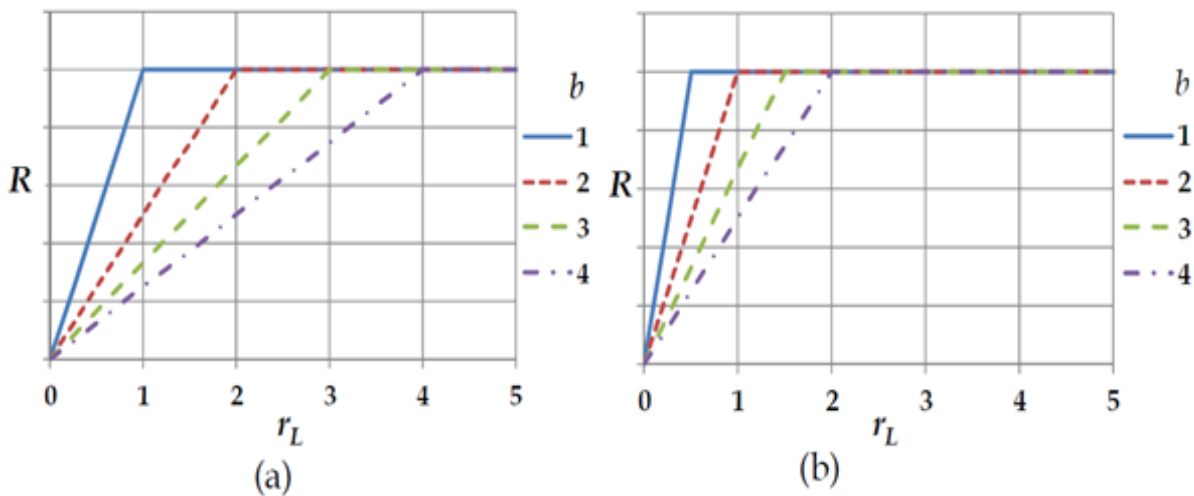


Figura 2.1 Curvas de Respuesta= $R=f(r_L)$, aplicando el método de razones molares donde a) $a=1$ para la formación de especies de complejos k_{MLb} b) $a=2$ para la formación de especies del complejo k_{M_2Lb} ^[45].

Las gráficas de la figura 2.1, que son las que normalmente se encuentran reportadas en la literatura, únicamente proporcionan información sobre la formación de un complejo, sin embargo en la naturaleza existen muchas reacciones que involucran más de un complejo^[45-49].

De la revisión que se ha hecho acerca del método de razones molares, en todos los casos se ha considerado solamente la formación de un complejo para reacciones cuantitativas, además la respuesta únicamente depende del producto formado, como se pudo observar en la figura 2.1.

No obstante, considerando las ecuaciones de la tabla de variación de cantidad de sustancia, así como las ecuaciones ya descritas, se llegó a la conclusión de que a partir del método clásico de razones molares en donde sólo se considera la formación de un complejo, es posible estudiar reacciones sucesivas de formación de complejos; dicho lo anterior la tabla 2.3 fue construida con la misma metodología de la tablas 2.1 y 2.2.

Tabla 2.3. Tabla de variación de cantidad de sustancia para una reacción de formación sucesiva de complejos, en la cual se está considerando la formación de dos complejos ML y ML_2 .

	M	+	L	ML	$Kf1 \gg 1$
INICIO	nM				
Agr.			nL		
Antes condición estequiométrica 1 $0 < r < 1$	nM-nL		$\epsilon_1 \approx 0$	nL	
Condición estequiométrica 1 $r=1$	$\epsilon_1 \approx 0$		$\epsilon_1 \approx 0$	nM	
	ML	+	L	ML_2	$Kf2 \gg 1$
Condición estequiométrica 1	nM				
Agr.			n'L		
Antes Condición estequiométrica 2 $1 < r < 2$ $0 < r' < 1$	nM-n'L		$\epsilon_2 \approx 0$	n'L	
Condición estequiométrica 2 $r=2$ $r'=1$	$\epsilon_2 \approx 0$		$\epsilon_2 \approx 0$	nM	
Después condición estequiométrica 2 $2 < r$ $r' > 1$	$\epsilon_2 \approx 0$		n'L-nM	nM	

Considerando la tabla 2.3 y bajo los mismos supuestos del método de razones molares, indican que su aplicación es para reacciones cuantitativas, la respuesta

sólo debe estar dada por los complejos formados y que esta es lineal, es posible construir la Figura 2.2.

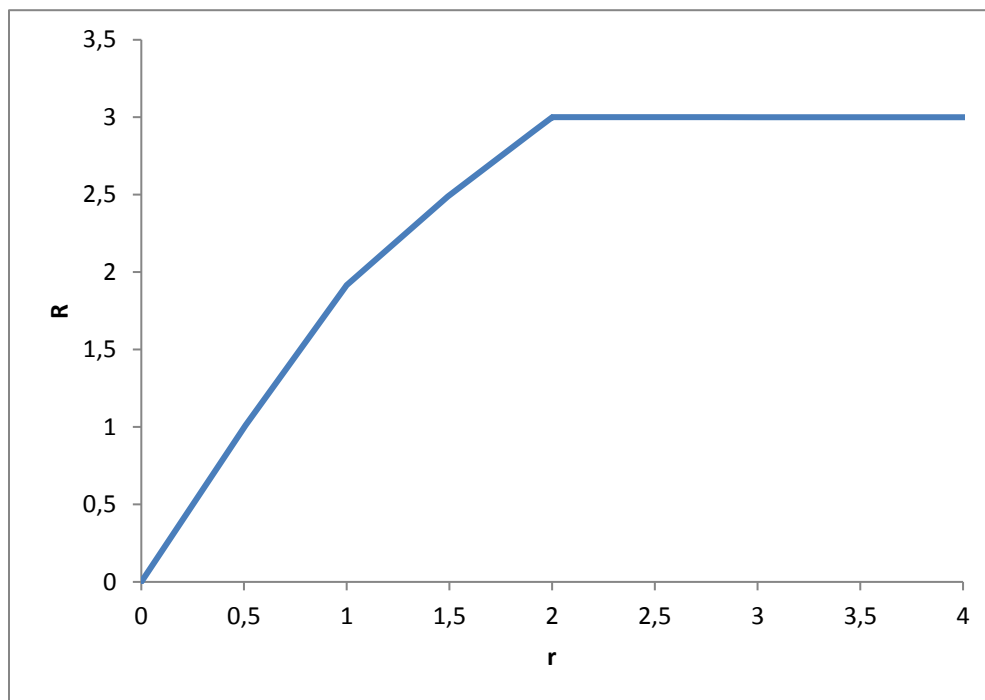


Figura 2.2. Curva de Respuesta= $R=f(r)$, siguiendo el método de razones molares, para una reacción de formación sucesiva de complejos; donde $a=1$ para la formación de la especie del complejos k_{MLb} observado en el primer cruce de rectas b) $a=2$ para la formación de especies del complejo k_{M_2Lb} en el segundo cruce de rectas. $k_{ML} > k_{ML_2}$.

En la figura 2.1 únicamente es posible observar un cruce de líneas rectas porque sólo está mostrando la formación de un complejo en la reacción, no obstante en la figura 2.2 es posible visualizar dos cruces de líneas rectas ya que involucra las reacciones de formación de dos complejos.

La tabla 2.3 sólo considera la formación de dos complejos, sin embargo, a partir de este modelo y considerando la tabla se puede determinar la estequiometría de reacciones sucesivas.

En el caso de reacciones sucesivas de formación de complejos, cada cruce de rectas indicaría la formación de especies formadas.

2.2. MODELO DE CÁLCULO CONSIDERANDO EL MÉTODO DE RAZONES MOLARES.

Debido a que en la química no todas las reacciones son cuantitativas, y por tanto la respuesta generada por las mismas no sólo depende de los productos formados, para esta investigación fue necesario desarrollar un modelo de cálculo basado en el método de razones molares que permita el estudio de reacciones no cuantitativas con la formación de más de un complejo.

Se necesita entonces un algoritmo que permita obtener la gráfica de la respuesta como función de la razón molar, $R=f(r)$, en un sistema donde la concentración de fármaco total ($[Fm]_{TOTAL}$) es constante y la concentración de ciclodextrina total ($[CD]_{TOTAL}$) es variable, y se forman los complejos $FmCD$ y $Fm(CD)_2$.

2.2.1 Desarrollo algebraico del modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión $FmCD$ y $Fm(CD)_2$

La ecuación de balance del fármaco en un sistema donde se forman los complejos de inclusión $FmCD$ y $Fm(CD)_2$, es entonces:

$$[Fm]_{total}=[Fm]+[FmCD]+[Fm(CD)_2].....(4)$$

A continuación, se definirán las fracciones de todas las especies que contienen fármaco, en ese sistema.

$$f_{Fm}=f_0=\frac{[Fm]}{[Fm]_{total}}.....(5)$$

$$f_{FmCD} = f_1 = \frac{[FmCD]}{[Fm]_{total}} \dots\dots\dots(6)$$

$$f_{Fm(CD)_2} = f_2 = \frac{[Fm(CD)_2]}{[Fm]_{total}} \dots\dots\dots(7)$$

Considerando ahora los equilibrios de formación globales:

$$Fm + CD \leftrightarrow FmCD \quad \beta_{11} = \frac{[FmCD]}{[Fm][CD]} \dots\dots\dots(8)$$

$$Fm + 2CD \leftrightarrow Fm(CD)_2 \quad \beta_{12} = \frac{[Fm(CD)_2]}{[Fm][CD]^2} \dots\dots\dots(9)$$

Despejando [FmCD] de la ecuación 8, la [Fm(CD)₂] de la ecuación 9; y sustituyéndolas en la ecuación de balance del fármaco, se tiene:

$$[Fm]_{total} = [Fm] + \beta_{11}[Fm][CD] + \beta_{12}[Fm][CD]^2 \dots\dots\dots(10)$$

Sustituyendo la ecuación 8 en el denominador de cada una de las fracciones, se llega a:

$$f_0 = \frac{[Fm]}{[Fm]_{total}} = \frac{[Fm]}{[Fm] + \beta_{11}[CD][Fm] + \beta_{12}[CD]^2[Fm]} = \frac{[Fm]}{[Fm](1 + [\beta_{11}[CD] + \beta_{12}[CD]^2])} = \frac{1}{1 + \beta_{11}[CD] + \beta_{12}[CD]^2} \dots\dots\dots(11)$$

$$f_1 = \frac{[FmCD]}{[Fm]_{total}} = \frac{\beta_{11}[Fm][CD]}{\frac{[Fm]}{f_0}} = \beta_{11}[CD]f_0 \dots\dots\dots(12)$$

$$f_2 = \frac{[Fm(CD)_2]}{[Fm]_{total}} = \frac{\beta_{12}[Fm][CD]^2}{\frac{[Fm]}{f_0}} = \beta_{12}[CD]f_0 \dots \dots \dots (13)$$

Como se observa en las ecuaciones 11-13, las fracciones de las especies que contienen fármaco en el sistema sólo dependen de la [CD] como variable y de los valores de las constantes globales como parámetros.

Por otra parte, la repuesta R es una función lineal de las concentraciones de equilibrio de las especies:

$$R = k_{Fm}[Fm] + k_{Fm(CD)}[Fm(CD)] + k_{Fm(CD)_2}[Fm(CD)_2] + k_{CD}[CD] \dots \dots \dots (14)$$

y considerando a partir de la ecuación (11):

$$[Fm] = f_0[Fm]_{TOTAL} \dots \dots \dots (15)$$

De la ecuación (12)

$$[FmCD] = f_0\beta_{11}[CD][Fm]_{TOTAL} \dots \dots \dots (16)$$

Y de la ecuación (13)

$$[FmCD_2] = f_0\beta_{12}[CD]^2[Fm]_{TOTAL} \dots \dots \dots (17)$$

Al sustituir las ecuaciones 15-17 en la ecuación de R (14) se obtiene (18):

$$R=f_0[Fm]_{TOTAL}(k_{Fm}+k_{Fm(CD)}\beta_{11}[CD]+k_{Fm(CD)2}\beta_{12}[CD]^2)+k_{CD}[CD].....(18)$$

La ecuación 18 muestra que para calcular R se necesita conocer la [CD] como variable, las constantes globales de formación y los factores de repuesta como parámetros y la [Fm]_{TOTAL} (que es constante).

Finalmente, del balance de ciclodextrina se obtiene (19)

$$[CD]_{TOTAL}=[CD]+[Fm(CD)]+2[Fm(CD)_2].....(19)$$

Sustituyendo 16 y 17 en 19:

$$[CD]_{TOTAL}=[CD]+f_0\beta_{11}[CD][Fm]_{TOTAL}+f_0\beta_{12}[CD]^2[Fm]_{TOTAL}.....(20)$$

Así, la relación molar de CD a Fm (r) es:

$$r=r_{CD/FM}=\frac{n_{CD_{TOTAL}}}{n_{Fm_{TOTAL}}} = \frac{[CD]_{TOTAL}}{[Fm]_{TOTAL}}.....(21)$$

Sustituyendo 20 en 21:

$$r= \frac{[CD]}{[Fm]_{TOTAL}} + f_0\beta_{11}[CD] + f_0\beta_{12}[CD]^2.....(22)$$

Como se observa de la ecuación 22, r depende de [CD] como variable, de las constantes globales como parámetro y de [Fm]_{TOTAL} (que es constante), además conocer el valor de r es indispensable para determinar la estequiometría de la

especie o de las especies formada en una reacción, siendo así un parámetro fundamental dentro del modelo de cálculo desarrollado. .

Entonces, para obtener la gráfica de $R=f(r)$, se puede hacer una hoja de cálculo en donde en una columna se dan valores a $[CD]$, en otra se calcula f_0 con la ecuación 11, en una tercera columna se calcula R con la ecuación 18 y en una cuarta columna se calcula r con la ecuación 22.

Si el modelo ya descrito es aplicado a reacciones cuantitativas, la respuesta generada es la misma que en el método de razones molares clásico^[45].

Sin embargo, si este modelo es aplicado a sistemas en que se forman dos complejos con reacciones poco cuantitativas se obtienen respuestas que no han sido reportadas o que no han sido bien comprendidas. Además de eso, se pueden generar otras gráficas que tal vez podrían ayudar a estudiar estos últimos sistemas.

2.2.2 Aplicación del modelo de cálculo robusto al sistema La^{3+} -NTA

En la reacción de formación de complejos de lantano (III) (La^{3+}) con triacetatonitrilo de sodio (NTA) La^{3+} -NTA, que da lugar a reacciones cuantitativas, se obtiene la figura 2.3 la cual es similar a la que se obtendría utilizando el método clásico de razones molares, así como el correspondiente diagrama de distribución del mismo sistema; lo cual indica que para reacciones cuantitativas este modelo da el mismo resultado y es igual de eficiente que el de razones molares. ^[50]

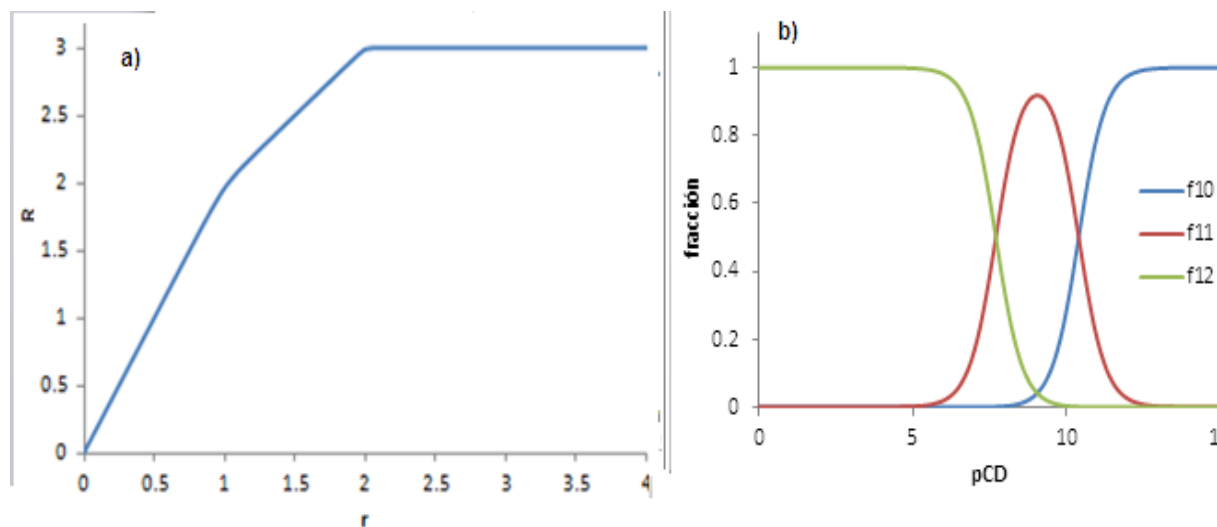


Figura 2.3. a) Gráfica de respuesta $R=f(r)$, y b) diagrama de distribución $f=f(pCD)$, siguiendo el modelo de cálculo ya descrito, para una reacción de formación sucesiva de complejos de La^{3+} -NTA; suponiendo un $\log\beta_{11}=10.4, \log\beta_{12}=18.1$ [50], $[La^{3+}]=1 \times 10^{-4}$ M; $k_M=k_L=0$, $k_{ML}=20000$ Lmol $^{-1}$, $K_{ML_2}=30000$ Lmol $^{-1}$.

En la figura 2.3 en $a=1$ indica la formación de la especie del complejo K_{LaNTA} observado en el primer cruce de rectas y en $a=2$ corresponde a la formación de la especie del complejo K_{La_2NTA} observado en el segundo cruce de rectas. El diagrama de distribución, permite visualizar las fracciones de especies que predominan en el sistema.

Este modelo también permite la elaboración de gráficas en función del ligante, lo cual es de gran aplicación ya que hay experimentos en los que no es posible medir directamente la concentración directa de L (en este caso NTA), y se recurre a la medición del ligante total o viceversa; en el caso de reacciones cuantitativas como la de La-NTA, no es muy útil la curva de NTA total ya que no muestra información sobre el comportamiento del sistema, como se puede observar en la figura 2.4. No obstante, en reacciones no cuantitativas ocurre todo lo contrario, como más adelante se detallará.

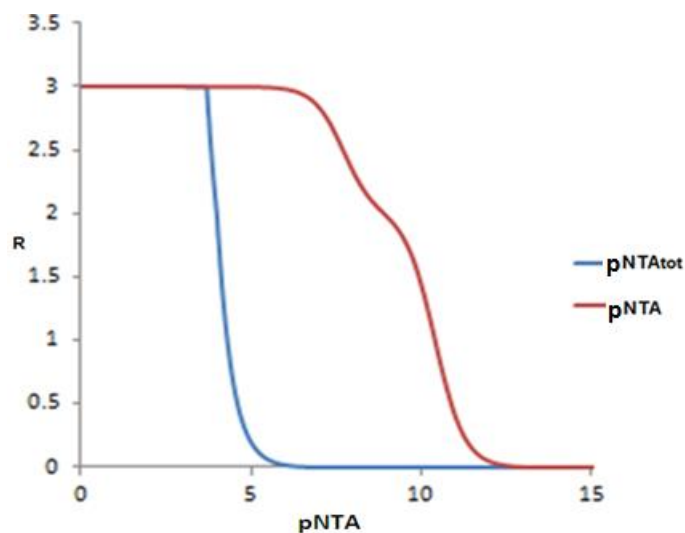


Figura 2.4. Gráfica de Respuesta $R=f(pNTA)$, siguiendo el modelo de cálculo ya descrito, para una reacción de formación sucesiva de complejos de La^{3+} -NTA; suponiendo un $\log\beta_{11}=10.4, \log\beta_{12}=18.1$ ^[50], $[La^{3+}]=1 \times 10^{-4}$ M, $k_M=k_L=0$, y como factores de respuesta $k_{ML}=20000, k_{ML_2}=30000$.

2.2.3 Aplicación del modelo de cálculo robusto a reacciones poco cuantitativas

En la química existen muchas reacciones que no son cuantitativas, y específicamente en el caso de reacciones de complejación con oxicams la mayoría son de este tipo.

Para aplicar el modelo de cálculo robusto a reacciones poco cuantitativas, se realizó una búsqueda bibliográfica sobre complejos de inclusión de Piroxicam-ciclodextrina, ya que no se encontró ningún trabajo sobre complejos con isoxicam. Entonces, de los trabajos de piroxicam con β -ciclodextrina, únicamente se habla de la formación de un complejo en el sistema, A. Braibanti y colaboradores proponen la formación de un complejo 1Piroxicam:1 β CD con un $\log\beta=3.54$ ^[31] para pH=9 mediante calorimetría de flujo. Sin embargo, M-G. Escandar propone la formación de un

complejo 1Piroxicam:2 β CD con $\log\beta=4.34$ ^[32] para pH=3.5 determinado por fluorescencia.

Los trabajos citados en el párrafo anterior consideran la presencia de un solo equilibrio, no obstante en ambos sistemas es muy probable que existan los dos equilibrios de formación de complejos. Por otra parte los valores de $\log\beta$ de estos complejos son muy pequeños comparados con los valores de los complejos La^{3+} -NTA, lo cual indica que se trata de una reacción poco cuantitativa.

Con los datos encontrados en la literatura de los complejos de inclusión Piroxicam- β -ciclodextrina, aunque obtenidos en diferente medio, se procedió a hacer un sistema modelo teórico considerando que se forman dos complejos en el mismo sistema, con $\log\beta_{11}= 3.54$ y $\log\beta_{12}=4.34$, con factores de respuesta similares a los reportados en la literatura para coeficientes de absorptividad para piroxicam y sus complejos de inclusión en UV/Vis (aunque se pudo haber trabajado con otros valores de $\log\beta_{11}$ y $\log\beta_{12}$).

Se eligió el sistema piroxicam- β -ciclodextrina, ya que el isoxicam y el piroxicam por ser de la misma familia de fármacos, son moléculas muy parecidas estructuralmente y que hipotéticamente deberían reaccionar en forma similar con las ciclodextrinas.

Como se puede apreciar en la gráfica de $R=f(r)$ de la figura 1.5, es imposible a partir de éste identificar si se forman uno o más complejos porque en la gráfica no se observan tendencias lineales rectas y, por lo tanto, tampoco se puede determinar la posible relación estequiométrica que guardan entre sí los posibles complejos formados.

Por otra parte, si se considera que la respuesta sólo depende de los complejos formados, la gráfica parte del punto de origen; pero si se considera que la respuesta va estar dada no solo por los complejos formados, sino también por otros factores como el fármaco o la ciclodextrina sin estar complejados, entonces la gráfica se mueve de punto de origen, como se puede ver en la figura 2.5.

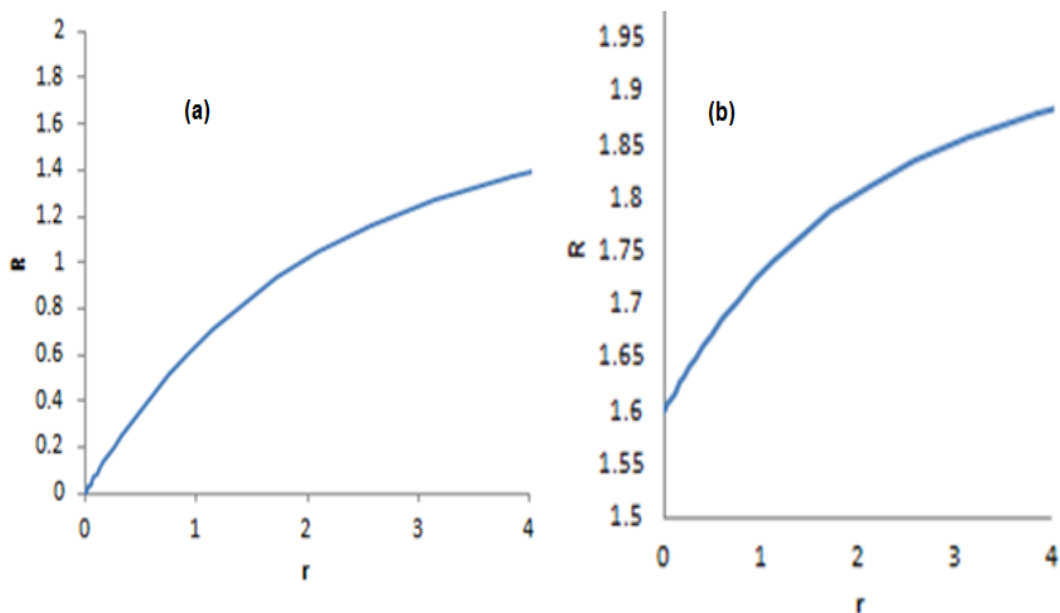


Figura 2.5. a) Gráfica de $R=f(r)$ de formación de complejos de piroxicam- β -ciclodextrina, suponiendo que la respuesta es dada sólo por los complejos formados. Con $[Fm]=2 \times 10^{-4}M$, $\log\beta_1=3.54$, $\log\beta_2=4.34$ ^[31,32], $kFmCD=1 \times 10^4$, $kFmCD_2=1.5 \times 10^4$. b) Gráfica de $R=f(r)$ de formación de complejos de piroxicam- β -ciclodextrina, suponiendo que la respuesta es dada no sólo por los complejos. Con $[Fm]=2 \times 10^{-4}M$, $\log\beta_{11}=3.54$, $\log\beta_{12}=4.34$, $kFmCD=1 \times 10^4$, $kFmCD_2=1.5 \times 10^4$, $kFm=8 \times 10^3$.

Posteriormente se construye una gráfica de $R=f(pCD)$ (figura 2.6), la cual a diferencia de la figura 2.5 ofrece información muy importante sobre la cantidad y el comportamiento de complejos formados a partir de reacciones no cuantitativas, además se asume que la respuesta es generada solamente por los complejos formados.

La curva de pCD_{tot} es muy útil en el caso de que el método utilizado no permita medir pCD libre (figura 2.6), ya que a partir de pCD_{tot} es posible observar también en comportamiento del o los complejos formados.

Por otra parte, para el estudio de complejos de los que no hay nada reportado en la literatura es conveniente considerar compuestos de la misma familia que el fármaco

de interés para así poder diseñar experimentos que permitan el estudio de estos nuevos compuestos; como es el caso de isoxicam que no hay nada reportado acerca de complejos de inclusión con ciclodextrinas y se puede considerar lo reportado acerca de los complejos de inclusión con piroxicam- β -CD.

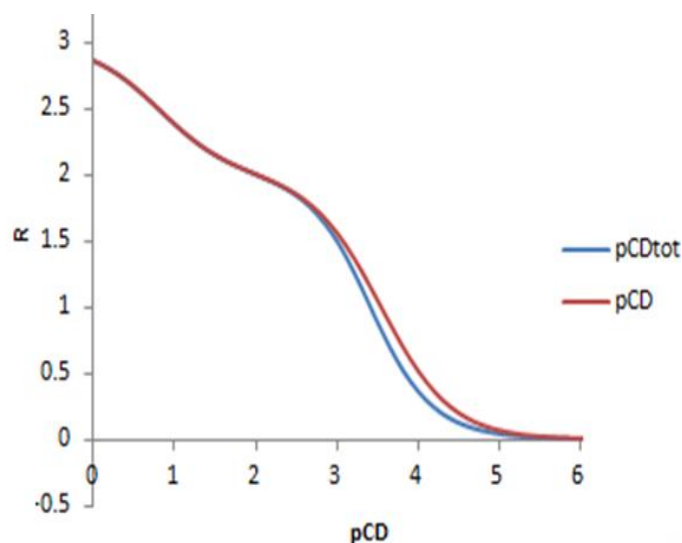


Figura 2.6. Gráfica de respuesta $R=f(pCD)$ en rojo y $R=f(pCD_{total})$ en azul de complejos piroxicam- β -CD. Suponiendo $[F_m]=2 \times 10^{-4} M$ $\log \beta_{11}=3.54$, $\log \beta_{12}=4.34$ [31,32], $k_{FmCD}=1 \times 10^4 Lmol^{-1}$, $k_{FmCD_2}=1.5 \times 10^4 Lmol^{-1}$. Se asume que la respuesta es dada únicamente por los complejos formados en ambos casos.

La figura 2.7 se realizó a partir de los mismos datos que la figura 2.6, la diferencia radica en que en esta última se asume que la respuesta es generada además por el fármaco y el ligante sin complejar, y no solamente por los complejos formados (como normalmente ocurre). Esto va ocasionar que las gráficas queden más juntas, es decir aparentemente darían la misma información y en ambos casos no tocarían el eje de las ordenadas.

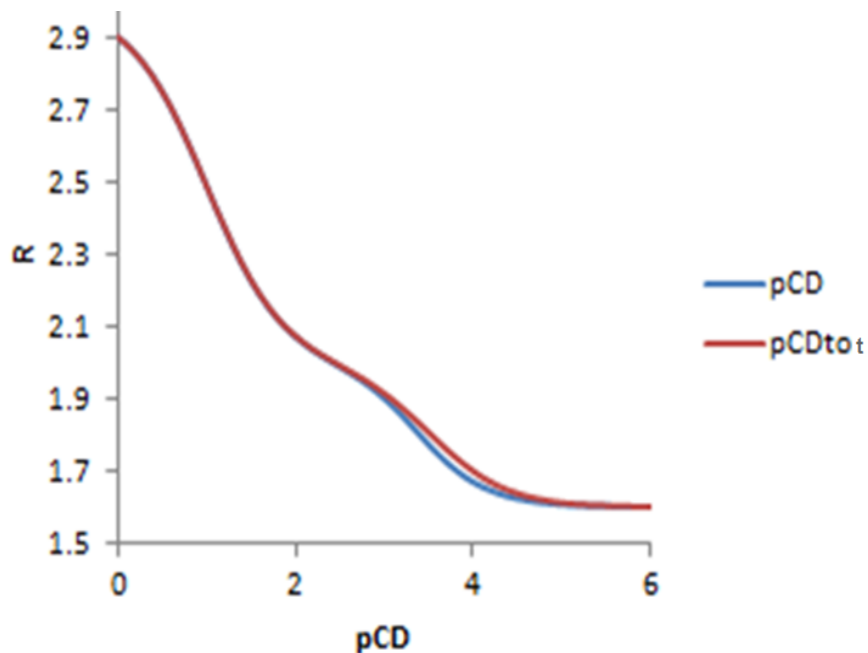


Figura 2.7. Gráfica de respuesta $R=f(pCD)$ en rojo y $R= f(pCD_{total})$ en azul de complejos piroxicam- β -CD. Suponiendo $[Fm]= 2 \times 10^{-4} M$ $\log\beta_{11}= 3.54$, $\log\beta_{12}= 4.34$ [31,32], $kFmCD= 1 \times 10^4 Lmol^{-1}$, $kFmCD_2= 1.5 \times 10^4 Lmol^{-1}$, $kFm=8 \times 10^3 Lmol^{-1}$. Se asume que la respuesta es dada únicamente por los complejos formados en ambos casos.

Con este modelo además, es posible realizar gráficas de la derivada de pCD libre y pCD_{total} en función del pH, en las cuales es más evidente la existencia y formación de dos complejos piroxicam- β ciclodextrina, como se muestra en la figura 2.8, la cual se construyó utilizando los mismos datos que para la figura 2.6 y 2.7.

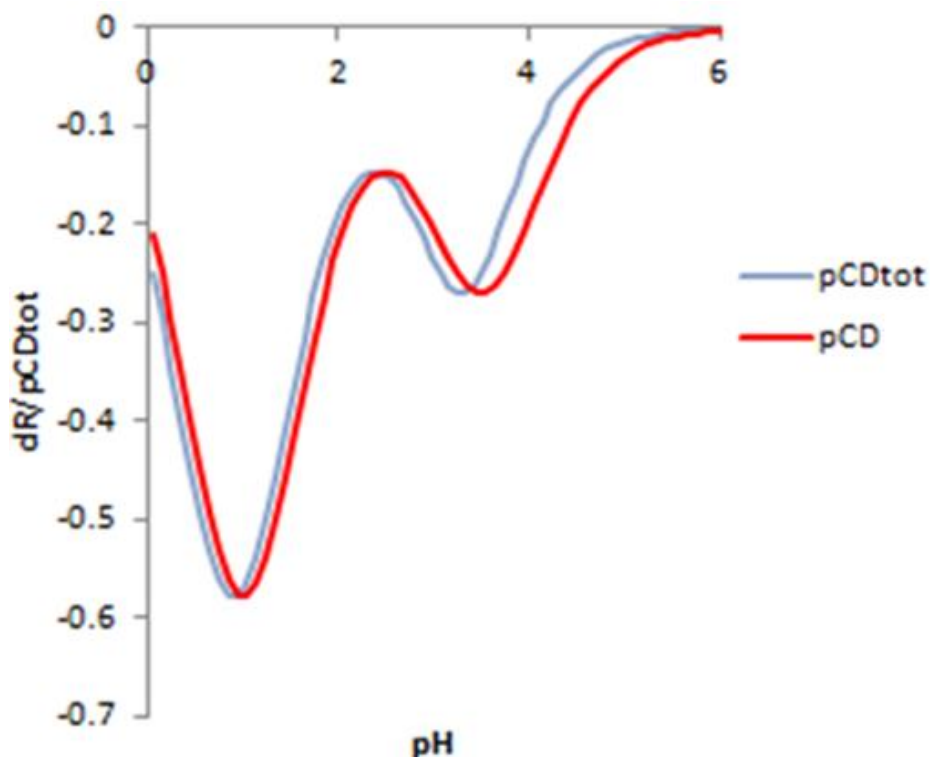


Figura 2.8. Derivada de la respuesta (R) en función del pH, en rojo se considera la derivada de la respuesta de pCD libre y en azul la derivada de la respuesta de pCD total del sistema piroxicam- β -CD. Con $[Fm]=2 \times 10^{-4} M$ $\log \beta_{11}=3.54$, $\log \beta_{12}=4.34^{[31,32]}$, $kFmCD=1 \times 10^4 Lmol^{-1}$, $kFmCD_2=1.5 \times 10^4 Lmol^{-1}$, $kFm=8 \times 10^3 Lmol^{-1}$.

También se realizó el diagrama de distribución, como el de la figura 2.9, el cual se ve totalmente diferente al de los complejos de Lantánido, ya que esta es una reacción poco cuantitativa.

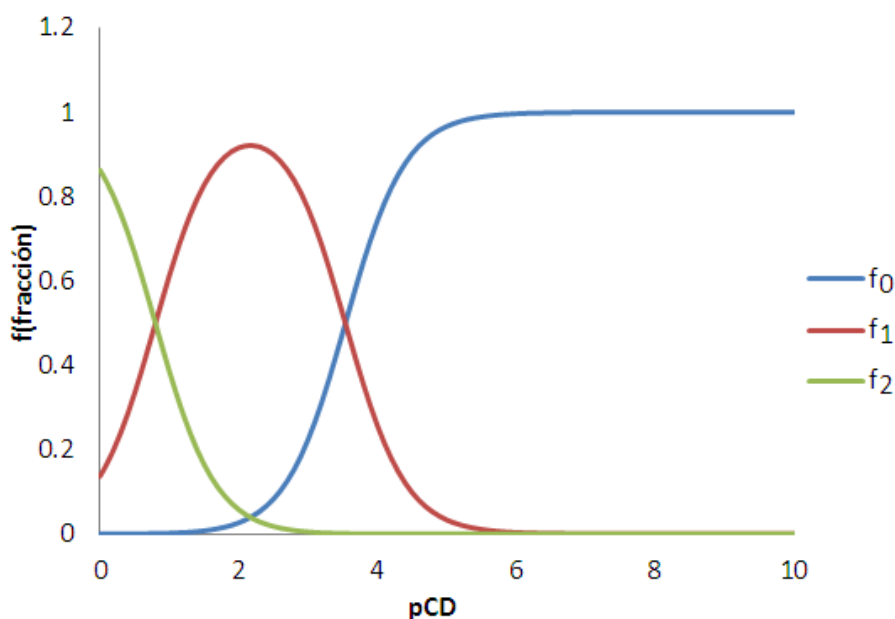


Figura 2.9. Diagrama de distribución del sistema piroxicam- β -CD. Con $[Fm]=2 \times 10^{-4}$ M $\log \beta_{11}=3.54$, $\log \beta_{12}=4.34^{[31,32]}$, $kFmCD=1 \times 10^4$ Lmol $^{-1}$, $kFmCD_2=1.5 \times 10^4$ Lmol $^{-1}$, $kFm=8 \times 10^3$ Lmol $^{-1}$.

Con el uso de este modelo es posible estudiar complejos formados desde muchas perspectivas y así poder diseñar experimentos para el estudio de formación de complejos en el laboratorio de una manera más acertada, y así obtener resultados confiables y esperados.

Cabe mencionar que este modelo es aplicable a cualquier sistema de donadores de partículas los cuales pueden estar formadas con metales ML o con fármacos FmL. En el caso de que no se tenga evidencia de la formación de complejos de manera cuantitativa mediante la interpretación de las gráficas se puede conocer esta información.

Además, este modelo es de gran utilidad para el diseño de experimentos, ya que mediante las gráficas obtenidas es posible observar qué tanto se relaciona el metal o el fármaco de interés con el ligante, y con esto conocer aproximadamente la

cantidad a utilizar de fármaco y ligante para poder detectar una respuesta instrumental confiable^[45-50].

2.2.4 Bases para diseño de experimentos utilizando el modelo de cálculo robusto

En reacciones poco cuantitativas la gráfica de $R=f(r)$ muestra una utilidad menor que en el método clásico de razones molares.

En el caso de oxicams y particularmente del isoxicam se recomienda el uso de una ciclodextrina más soluble por ejemplo 2-Hidroxiopropil-β-ciclodextrina, para lograr ver en la gráfica de $R=f(pCD)_{TOTAL}$ si existe la formación de uno o más complejos.

A partir del modelo de cálculo robusto se puede conocer el intervalo de r en que conviene trabajar, para favorecer la formación de los complejos de inclusión.

2.2.5 Desarrollo algebraico del modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión F_mCD y $F_{m_2}CD$

La concentración analítica de fármaco en un sistema donde se forman los complejos de inclusión F_mCD y $F_{m_2}CD$, es entonces:

$$[Fm]_{total}=[Fm]+[FmCD]+2[Fm_2CD].....(23)$$

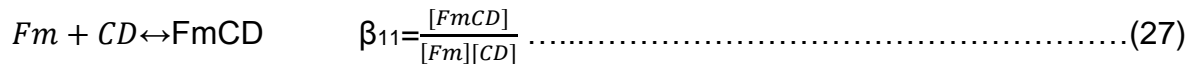
Entonces, al definir las fracciones de todas las especies que contienen fármaco, en ese sistema, a partir de la ecuación 23 se tiene:

$$F_{Fm} = F_0 = \frac{[Fm]}{[Fm]_{total}}.....(24)$$

$$F_{FmCD} = F_1 = \frac{[FmCD]}{[Fm]_{total}} \dots\dots\dots(25)$$

$$F_{Fm_2CD} = F_2 = \frac{2[Fm_2CD]}{[Fm]_{total}} \dots\dots\dots(26)$$

Considerando ahora los equilibrios de formación globales



Despejando [FmCD] de la ecuación 27, la [Fm₂CD] de la ecuación 28 y sustituyéndolas en la ecuación de balance del fármaco (23), se tiene:

$$[Fm]_{total} = [Fm] + \beta_{11}[Fm][CD] + 2\beta_{21}[Fm]^2[CD] \dots\dots\dots(29)$$

La ecuación 29, a diferencia de la ecuación 10, es cuadrática en la [Fm], por lo que fracciones del fármaco en este caso ya no son independientes de la concentración total de fármaco. Así, dividiendo la ecuación 29 entre la concentración de fármaco total e identificando la fracción F₀ a partir de su ecuación de definición, se llega a:

$$2\beta_{21}[CD][Fm]_{total}(F_0)^2 + (1 + \beta_{11}[CD])F_0 = 1 \dots\dots\dots(30)$$

Al resolver la ecuación 30 por medio de la solución general de ecuaciones cuadráticas, se obtiene una expresión algebraica para calcular F₀.

$$F_0 = \frac{-(1 + \beta_{11}[CD]) + \sqrt{(1 + \beta_{11}[CD])^2 + 8\beta_{21}[CD][Fm]_{total}}}{4\beta_{21}[CD][Fm]_{total}} \quad (31)$$

con lo que:

$$F_1 = \frac{[Fm_{CD}]}{[Fm]_{total}} = \frac{\beta_{11}[Fm][CD]}{\frac{[Fm]}{F_0}} = \beta_{11}[CD]F_0 \dots\dots\dots (32)$$

$$F_2 = \frac{2[Fm_2(CD)]}{[Fm]_{total}} = \frac{2\beta_{21}[Fm]^2[CD]}{\frac{[Fm]}{F_0}} = 2\beta_{21}[CD][Fm]_{total}(F_0)^2 \dots\dots\dots (33)$$

Como se había anticipado, en las ecuaciones 31-33, las fracciones de las especies que contienen fármaco en el sistema dependen de la [CD] y de la [Fm]_{total} como variables y de los valores de las constantes globales como parámetros.

De nueva cuenta, si la repuesta R es una función lineal de las concentraciones de equilibrio de las especies, de acuerdo a la ecuación 34:

$$R = k_{Fm}[Fm] + k_{Fm(CD)}[Fm(CD)] + k_{Fm_2(CD)}[Fm_2(CD)] + k_{CD}[CD] \dots\dots\dots (34)$$

y considerando a partir de la ecuación 31:

$$[Fm] = F_0[Fm]_{total} \dots\dots\dots (35)$$

De la ecuación 32:

$$[FmCD]=F_0\beta_{11}[CD][Fm]_{total}.....(36)$$

y de la ecuación 33:

$$[Fm_2CD]=\beta_{21}[CD]\{F_0[Fm]_{total}\}^2.....(37)$$

Al sustituir las ecuaciones 35-37 en la ecuación de R (18):

$$R=(k_{Fm}+k_{Fm(CD)}\beta_{11}[CD])F_0[Fm]_{total}+k_{Fm_2(CD)}\beta_{21}[CD]\{F_0[Fm]_{total}\}^2+k_{CD}[CD].....(38)$$

La ecuación 38 muestra que para calcular R se necesita conocer la [CD] como variable, las constantes globales de formación, los factores de repuesta como parámetros y la [Fm]_{total} (que es constante).

Finalmente, del balance de ciclodextrina se obtiene:

$$[CD]_{TOTAL}=[CD]+[Fm(CD)]+ [Fm_2(CD)].....(39)$$

Sustituyendo 36 y 37 en 39:

$$[CD]_{total}=[CD]+ \beta_{11}[CD]F_0[Fm]_{TOTAL}+\beta_{21}[CD]\{F_0[Fm]_{total}\}^2.....(40)$$

Nuevamente, la relación molar de CD a Fm es:

$$r = r_{CD/Fm} = \frac{n_{CD_{total}}}{n_{Fm_{total}}} = \frac{[CD]_{total}}{[Fm]_{total}} \dots\dots\dots(41)$$

y al sustituir 40 en 41:

$$r = \frac{[CD]}{[Fm]_{total}} + \beta_{11}[CD]F_0 + \beta_{21}[CD]\{F_0\}^2[Fm]_{total} \dots\dots\dots(42)$$

Como se observa de la ecuación 42, r depende de [CD] como variable, de las constantes globales como parámetro y de [Fm]_{total} (que es constante). Como ya se había mencionado es esencial determinar el valor de r para establecer la estequiometría de las especies formadas en una reacción.

Entonces, para obtener la gráfica de R=f(r), se puede hacer una hoja de cálculo en donde en una columna se dan valores a [CD], en otra se calcula F₀ con la ecuación 31, en una tercera columna se calcula R con la ecuación 38 y en una cuarta columna se calcula r con la ecuación 42. De igual forma se pueden incorporar en los cálculos todas las curvas que se muestran en el caso anterior.

2.2.5.1 Aplicación del modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión FmCD y Fm₂CD, para una reacción cuantitativa.

Si se considera una reacción cuantitativa, para la formación de complejos de tipo FmCD y Fm₂CD, aplicando las ecuaciones anteriores es posible obtener la figura 2.10, de un diagrama de distribución para una reacción cuantitativa en el que se forma un complejo relación 1 molécula de fármaco: 1 molécula de ciclodextrina (F₁₁) y uno con 2 moléculas de fármaco: 1 molécula de ciclodextrina (F₂₁), donde en cada cruce de rectas (círculos rojos) indica la región de zona de predominio para cada complejo del sistema.

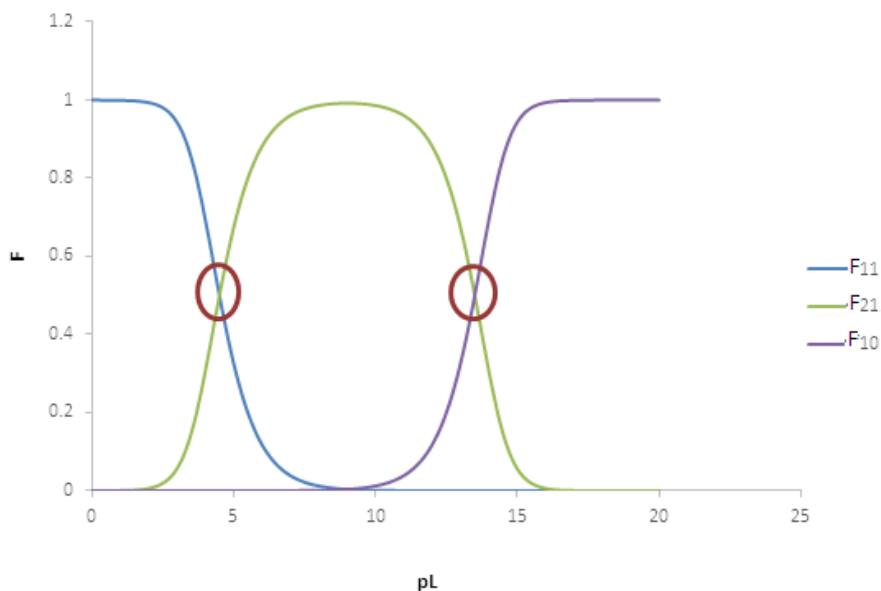


Figura 2.10. Diagrama de distribución $f=f(pL)$ de un sistema de complejos $FmCD$ y Fm_2CD , aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Fm]_{total}=1 \times 10^{-3}M$, $\log\beta_{11}=9$, $\log\beta_{21}=16.5$, $k_L=0$, $k_M=10000 \text{ Lmol}^{-1}$, $k_{ML}=15000 \text{ Lmol}^{-1}$ y $k_{M_2L}=23000 \text{ Lmol}^{-1}$.

También es posible realizar gráficas de $R=f(r)$, para ver el comportamiento claramente de por lo menos uno de los complejos formados en el sistema el cual estaría representado en el primer punto de inflexión de la gráfica, y permite predecir el comportamiento del otro complejo formado, aunque se curva la gráfica (figura 2.11).

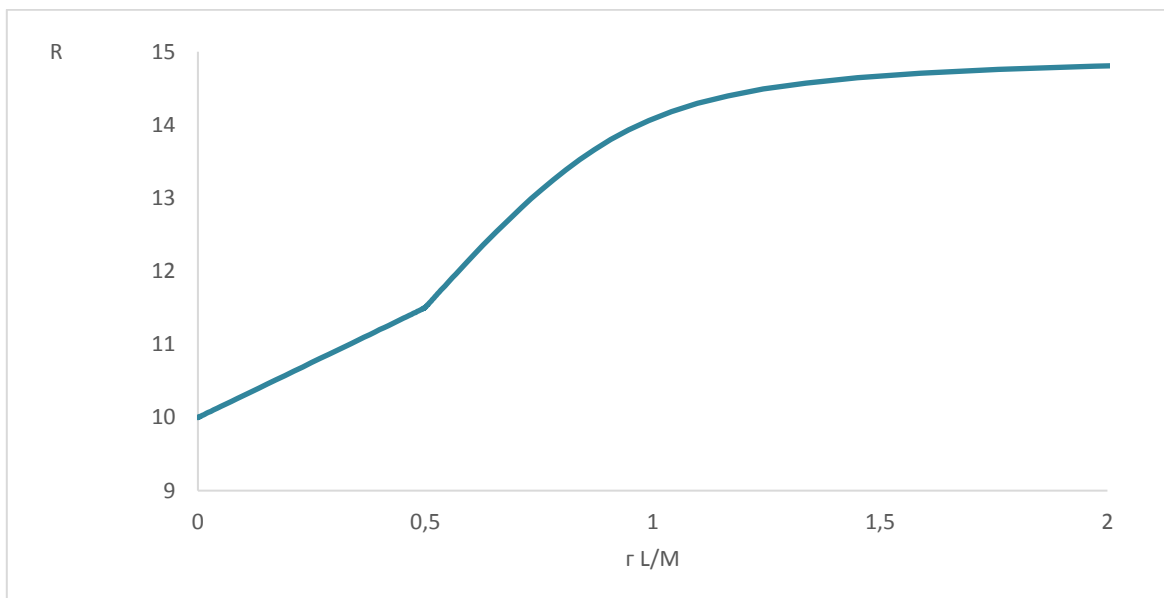


Figura 2.11. Gráfica de respuesta $R=f(r L/M)$ de un sistema de complejos $FmCD$ y Fm_2CD , aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Fm]_{total}=1 \times 10^{-3}M$, $\log\beta_{11}=9$, $\log\beta_{21}=16.5$, $k_L=0$, $k_M=10000 \text{ Lmol}^{-1}$, $k_{ML}=15000 \text{ Lmol}^{-1}$ y $k_{M_2L}=23000 \text{ Lmol}^{-1}$.

Este modelo también permite elaborar gráficas de $R=f(pL)$ y de $R=f(pL_{total})$ como se aprecia en la figura 2.12, en la que claramente se ven dos curvas sigmoideas, las cuales representan la formación de ambos complejos.

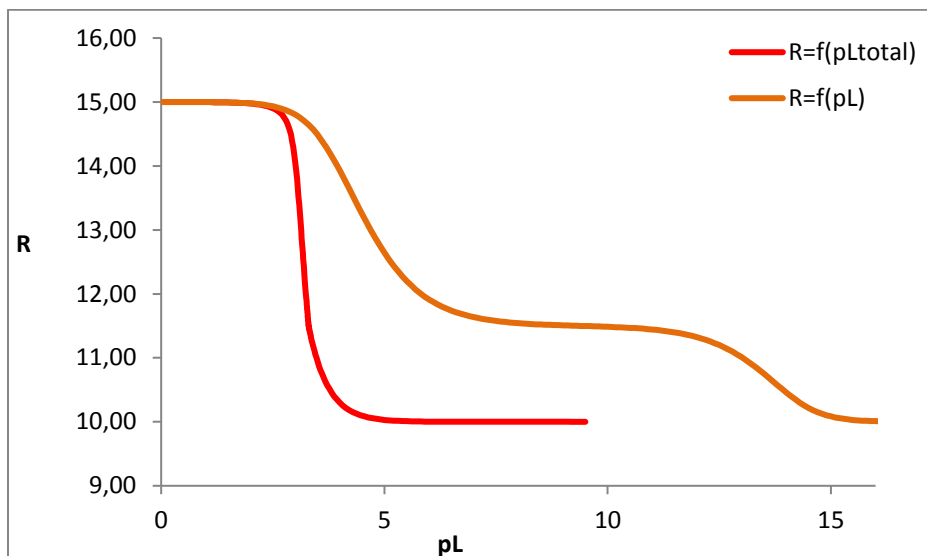


Figura 2.12. Gráfica de respuesta $R=f(pL)$ y $R=f(pL_{total})$ de un sistema de complejos $FmCD$ y Fm_2CD , aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Fm]=1 \times 10^{-3}M$, $\log\beta_{11}=9$, $\log\beta_{21}=16.5$, $k_L=0$, $k_M=10000 \text{ Lmol}^{-1}$, $k_{ML}=15000 \text{ Lmol}^{-1}$ y $k_{M_2L}=23000 \text{ Lmol}^{-1}$.

Para construir una gráfica de $R=f(pL)$ con datos experimentales, se tendría que conocer el valor de pL , sin embargo para este tipo de sistemas de complejos $FmCD$ y Fm_2CD no es posible, porque no se puede medir pL libre directamente por lo que también se puede realizar la construcción de gráficas de $R=f(pL_{total})$, aunque en reacciones cuantitativas como es en este caso no sean de gran utilidad (figura 2.12), para reacciones poco cuantitativas son muy valiosas, como más adelante se detallará.

2.2.5.2 Aplicación del modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión $FmCD$ y Fm_2CD , para una reacción poco cuantitativa y alta concentración total de Fm .

Este modelo es posible aplicarlo a reacciones poco cuantitativas a altas concentraciones de Fm , generando un diagrama de distribución donde el complejo 2:1 disminuye la zona de predominio, respecto al complejo 1:1 (figura 2.13).

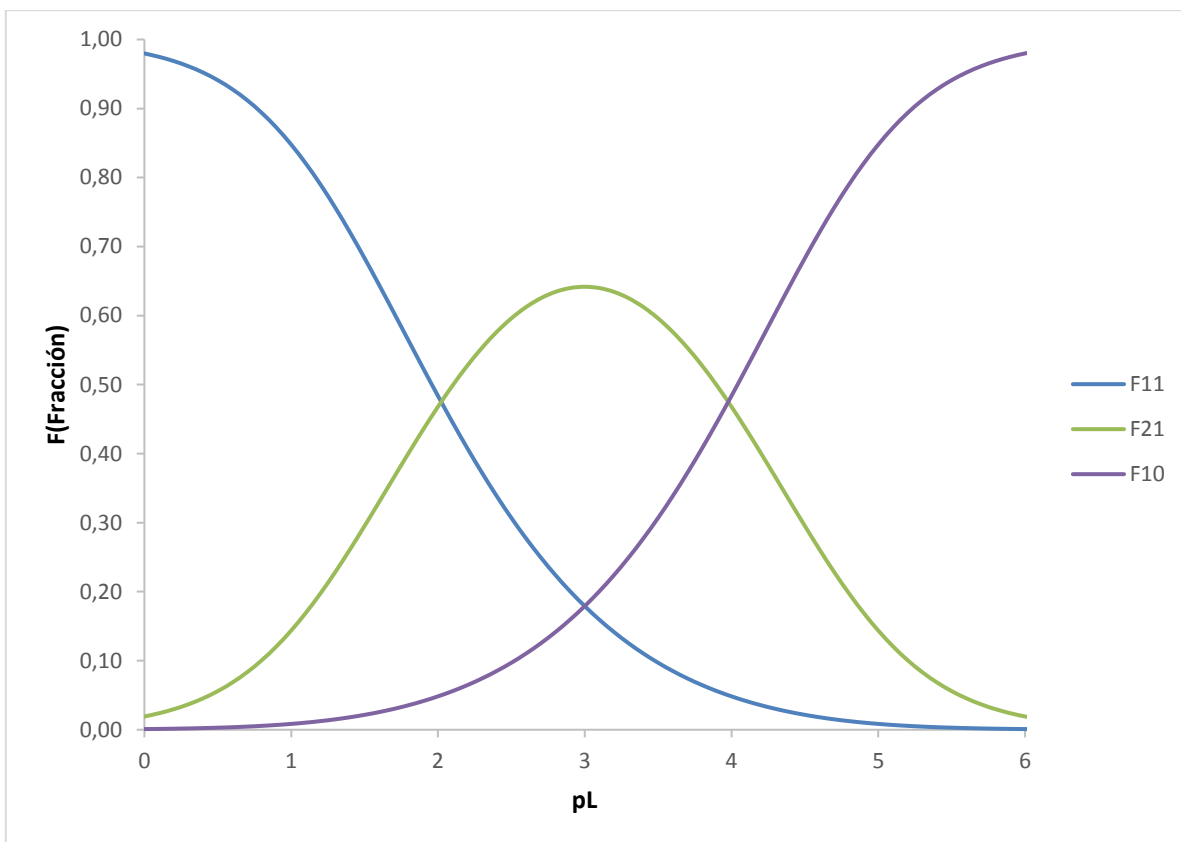


Figura 2.13. Diagrama de distribución $f=f(pL)$ de un sistema de complejos $FmCD$ y Fm_2CD , aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Fm]_{total}=1 \times 10^{-1}M$, $\log\beta_{11}=3$, $\log\beta_{21}=5$, $kL=0$, $KM=10000 \text{ Lmol}^{-1}$, $kML=15000 \text{ Lmol}^{-1}$ y $kM_2L=23000 \text{ Lmol}^{-1}$.

En gráficas de $R=f(pL)$ como en la figura 2.14, donde se ve una sola curva sigmoidea, no es posible distinguir la formación de dos tipos de complejos; como se mostró en la figura 2.11, se observa como si sólo existiera una especie en el sistema. Por otro lado, en la gráfica de $R=f(r)$ de la misma figura 2.14, se ve una sola curva; aunque la concentración de F_m es alta la reacción al ser poco cuantitativa ocasiona que se curve la recta y no sea posible distinguir a simple vista la formación de las especies en el sistema.

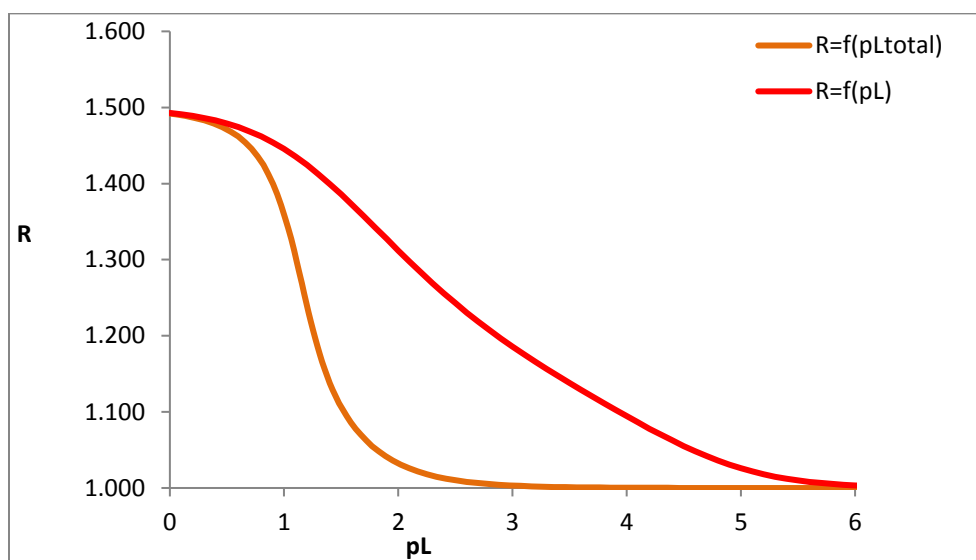


Figura 2.14. Gráfica de $R=f(pL)$ de un sistema de complejos F_mCD y $F_{m_2}CD$, aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[F_m]_{total}=1 \times 10^{-1}M$, $\log\beta_{11}=3$, $\log\beta_{21}=5$, $k_L=0$, $k_M=10000 \text{ Lmol}^{-1}$, $k_{ML}=15000 \text{ Lmol}^{-1}$ y $k_{M_2L}=23000 \text{ Lmol}^{-1}$.

Finalmente, con este modelo se pueden elaborar gráficas de $R=f(pL)$ y de $R=f(pL_{total})$ como la que se presenta en la figura 2.14, la cual nos brinda información sobre cómo sería la respuesta experimental del sistema si pudiéramos medir pL_{total} ; esta gráfica será muy diferente a la gráfica de $R=f(pL)$.

2.2.5.3 Aplicación del modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión FmCD y Fm₂CD, para una reacción poco cuantitativa y a baja concentración total de Fm.

Si este modelo se aplica a la misma reacción poco cuantitativa como la del caso anterior, pero con Fm a baja concentración total, a pesar de que el sistema es el mismo en cuanto a $\log\beta_{11}$, $\log\beta_{21}$ y los factores de respuesta; las gráficas resultantes son muy diferentes en todos los casos.

La construcción de un diagrama de distribución bajo estas condiciones indica que sólo se forma el complejo 1:1 a una proporción considerable, y el complejo 2:1 se forma en muy poca proporción por lo que es difícil detectar su respuesta (figura 2.15)

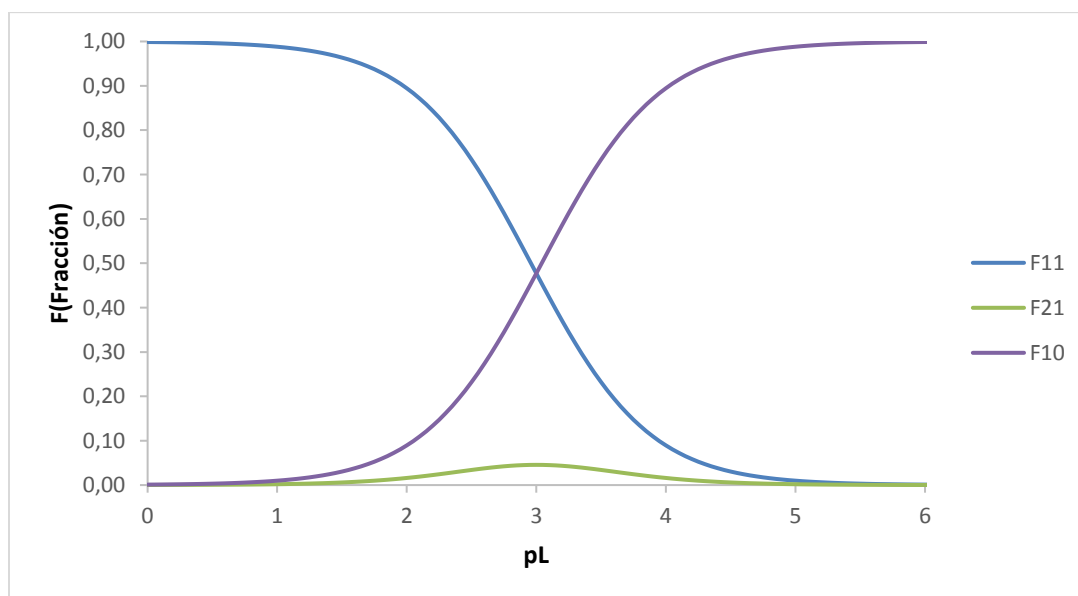


Figura 2.15. Gráfica de $f=f(pL_{total})$ de un sistema de complejos FmCD y Fm₂CD, aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Fm]_{total}=1 \times 10^{-3}M$, $\log\beta_{11}=3$, $\log\beta_{21}=5$, $kL=0$, $kM=10000 \text{ Lmol}^{-1}$, $kML=15000 \text{ Lmol}^{-1}$ y $kM_2L=23000 \text{ Lmol}^{-1}$.

Si se realiza una gráfica de $R=f(r)$ (figura 2.16), el resultado es una curva, debido a que la reacción es poco cuantitativa, no es posible ver un punto de inflexión en la recta como en el caso de una reacción cuantitativa, por lo que en este tipo de sistemas estas gráficas son de poca utilidad.

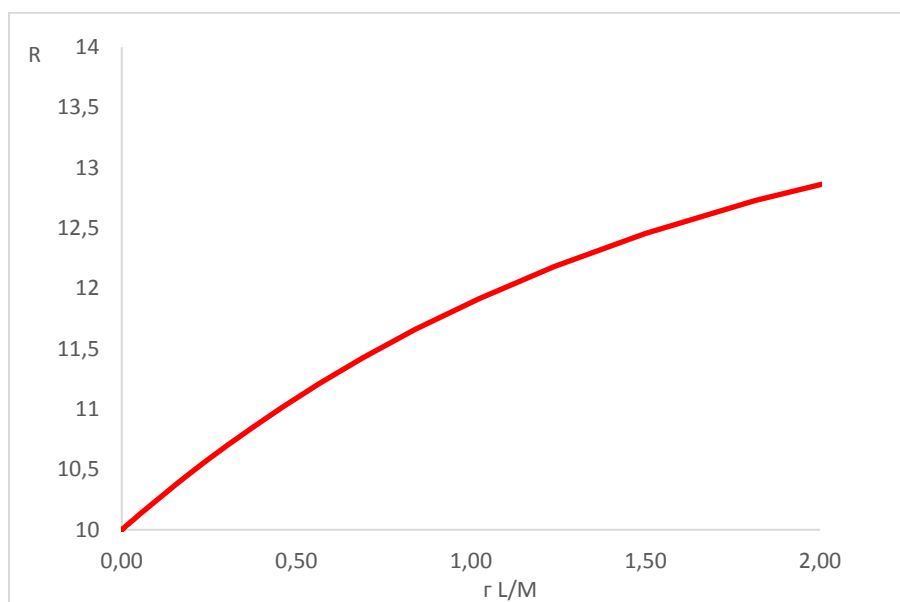


Figura 2.16. Gráfica de $R=f(r)$ de un sistema de complejos $FmCD$ y Fm_2CD , aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Fm]_{total}=1 \times 10^{-3}M$, $\log\beta_1=3$, $\log\beta_2=5$, $k_L=0$, $k_M=10000 \text{ Lmol}^{-1}$, $k_{M1}=15000 \text{ Lmol}^{-1}$ y $k_{M2}=23000 \text{ Lmol}^{-1}$.

En gráficas de $R=f(pL)$ (figura 2.17), se observa una sola curva sigmoidea muy pronunciada como si sólo existiera una especie, ya que el complejo 1:1 es el que genera la repuesta; también se presenta una gráfica de $R=f(pL_{total})$ en la que el comportamiento va ser similar que el de $R=f(pL)$, debido a que sólo se está formando un complejo, la reacción es poco cuantitativa y la concentración de Fm es baja.

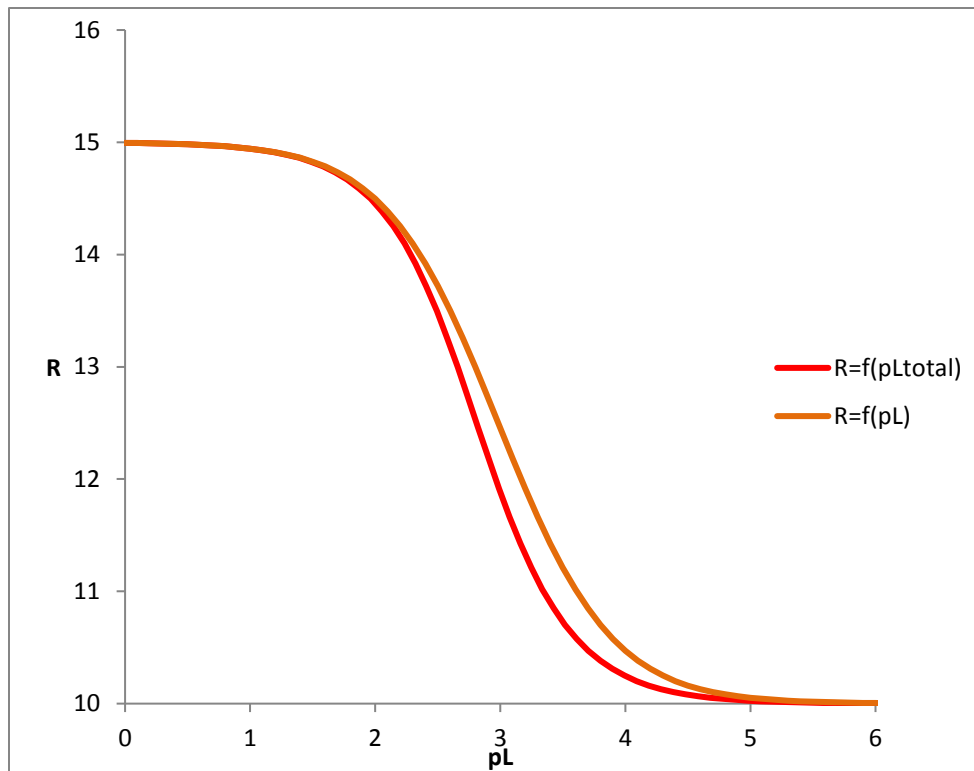


Figura 2.17. Gráfica de $R=f(pL)$ y $R=f(pL_{total})$ de un sistema de complejos $FmCD$ y Fm_2CD , aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Fm]_{total}=1 \times 10^{-3}M$, $\log\beta_{11}=3$, $\log\beta_{21}=5$, $k_L=0$, $k_M=10000 \text{ Lmol}^{-1}$, $k_{ML}=15000 \text{ Lmol}^{-1}$ y $k_{M_2L}=23000 \text{ Lmol}^{-1}$.

Como se ya se describió, este modelo es aplicado a reacciones cuantitativas y también a poco cuantitativas; en el caso de reacciones poco cuantitativas pero a altas concentraciones de Fm total, su comportamiento va ser similar al de reacciones cuantitativas, además bajo estas condiciones de concentración se forma el complejo Fm_2CD en proporción considerable y generando una respuesta medible en todas las gráficas realizadas.

Por otra parte, cuando se trata la misma reacción poco cuantitativa ya descrita pero a baja concentración de Fm total, el complejo Fm_2CD , no se forma a una magnitud que sea

medible y la respuesta generada por el sistema va a ser únicamente la del complejo FmCD.

CAPÍTULO 3

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. HIPÓTESIS

Mediante espectrofotometría, polarimetría y conductimetría, es posible poner en evidencia la formación de complejos de inclusión del isoxicam con la HP- β -CD, en medio ácido y básico; así como la determinación de sus constantes de equilibrio.

3.2. OBJETIVO GENERAL

Estudio y determinación del comportamiento de los complejos de inclusión formados por isoxicam con (2-Hidroxipropil)- β -ciclodextrina (HP- β -CD) mediante el uso de espectrofotometría, polarimetría y conductimetría.

3.3. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ❖ Determinar la estequiometría de los complejos de inclusión Isoxicam-HP- β -CD, utilizando el método de razones molares.
- ❖ Determinar las constantes de equilibrio de inclusión de los complejos formados con isoxicam y HP- β -CD mediante espectrofotometría UV/Vis y titulaciones ácido-base.
- ❖ Establecer la rotación específica y molar de los complejos de inclusión Isoxicam-HP- β -CD utilizando polarimetría, para realizar curvas típicas de razones molares.
- ❖ Diseñar un modelo de cálculo a partir del método de razones molares, para determinar la estequiometría de complejos de inclusión aplicable a reacciones cuantitativas y no cuantitativas.
- ❖ Confirmar los modelos de complejos de inclusión por titulaciones conductimétricas.

CAPÍTULO 4

COMPLEJOS DE INCLUSIÓN DEL SISTEMA ISOXICAM-2- HIDROXIPROPIL- β -CICLODEXTRINA

4.1. EXPERIMENTACIÓN

4.1.1 Reactivos

En todos los experimentos se utilizó isoxicam y 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina (HPBCD), de pureza 99.99%; ambos de la empresa Sigma Aldrich, agua desionizada con resistividad de 18.2 M Ω cm.

También se utilizaron soluciones estandarizadas 1M de NaOH y 1M de HCl de J.T Baker.

4.1.2 Espectroscopía

4.1.2.1 Equipo

Todos los experimentos espectroscópicos fueron monitoreados en un espectrofotómetro Lambda 950 con celdas de cuarzo de capacidad de 3mL y longitud de paso óptico de 1cm.

El cambio de pH en las valoraciones fue detectado mediante un potenciómetro MeterLab modelo PHM240, con electrodo combinado Radiometer Analytical modelo pHC3359-8.

4.1.2.2 Complejos en medio básico

Se preparó una serie de soluciones de HPBCD a concentraciones desde 10^{-6} M hasta 0.1 M, mezclando con isoxicam a concentración constante de 1.5×10^{-5} M, en solución acuosa de NaOH a pH=10.0 \pm 0.2. Se utilizaron como blancos una solución de isoxicam 1.5×10^{-5} M en ausencia de HPBCD y una de HPBCD 0.1 M en ausencia de isoxicam. Se monitoreó cada solución mediante espectroscopía durante 20 días, a un intervalo de longitud de onda de 200-700nm.

Se hicieron dos conjuntos de las soluciones ya mencionadas, pero al primero se aplicó ultrasonido durante 15 minutos después de ser preparado, al otro conjunto no se le aplicó ultrasonido.

Se preparó una serie de soluciones de HPBCD a concentraciones desde 10^{-6} M hasta 0.1 M, mezclando con isoxicam a concentración constante de 10^{-4} M, en solución acuosa de NaOH a $\text{pH}=10.0\pm 0.2$. Se utilizaron como blancos una solución de isoxicam 10^{-4} M en ausencia de HPBCD y una de HPBCD 0.1 M en ausencia de isoxicam. Se monitoreó cada solución mediante espectroscopía durante 40 días, a un intervalo de longitud de onda de 200-700nm.

Se trabajó con una serie de soluciones de HPBCD a concentraciones desde 10^{-6} M hasta 0.1 M, mezclando con isoxicam a concentración constante de 2×10^{-4} M, en solución acuosa de NaOH a $\text{pH}=10.0\pm 0.2$. Se utilizaron como blancos una solución de isoxicam 2×10^{-4} M en ausencia de HPBCD y una de HPBCD 0.1 M en ausencia de isoxicam. Se monitoreó cada solución mediante espectroscopía durante 40 días, a un intervalo de longitud de onda de 200-700nm.

Se realizaron una serie de soluciones de HPBCD a concentraciones desde 2×10^{-3} M hasta 7×10^{-2} M, mezclando con isoxicam a concentración constante de 0.01 M, en solución acuosa de NaOH a $\text{pH}=10.0\pm 0.2$. Se utilizaron como blancos una solución de isoxicam 0.1 M en ausencia de HPBCD y una de HPBCD 0.1 M en ausencia de isoxicam. Se monitoreó cada solución mediante espectroscopía durante 40 días, a un intervalo de longitud de onda de 200-700nm.

4.1.2.3 Complejos en medio ácido

Considerando que el isoxicam es una especie cuyo comportamiento puede ser monitoreado mediante espectroscopía UV/Vis, incluso a muy bajas concentraciones debido a su estructura, a diferencia de la 2-Hidroxiopropil- β -Ciclodextrina que mediante esta genera poca (casi nula) respuesta; se procedió a comenzar el trabajo

mediante esta técnica analítica, para medir la respuesta generada en sistemas de Isoxicam-HPBCD en medio ácido.

Se preparó una serie de soluciones de HPBCD siguiendo el patrón de concentración y procedimiento de los complejos en medio básico, con isoxicam a concentración constante de 1×10^{-6} M (para que la solución de isoxicam sin HPBCD no precipite al modificar el pH), ajustando el $\text{pH} = 3.0 \pm 0.2$, con HCl 1 M. Se usan como blancos una solución de isoxicam 10^{-6} M en ausencia de HPBCD y una de HPBCD 0.1 M en ausencia de isoxicam. Se monitoreó cada solución mediante espectroscopía UV/Vis, durante 5 días, ya que después de este tiempo en todas las soluciones había presencia de precipitados, lo cual impedía estudiarlas espectroscópicamente.

4.1.2.4 Valoraciones ácido-base seguidas espectrofotométricamente

a) Valoración ácido-base de isoxicam 7.9×10^{-6} M

Se preparó una solución de isoxicam 7.9×10^{-6} M en solución acuosa de NaOH, siendo ≈ 10.2 el pH inicial y se fue adicionando HCl 1M poco a poco esperando a que se estabilizara el complejo formado, hasta llegar a un pH menor a 1.

Desde la solución inicial y en cada adición realizada se monitoreó mediante espectroscopía UV/Vis en un intervalo de longitud de onda de 200 nm a 700 nm.

b) Valoraciones de sistemas isoxicam-HPBCD

Se hizo una solución de isoxicam 10^{-4} M/HP- β -CD 10^{-1} M en solución acuosa de NaOH, siendo el $\text{pH} = 10 \pm 0.2$ al inicio y se fue adicionando HCl 1M poco a poco esperando a que se estabilizara la lectura de pH, hasta llegar a un pH menor a 1.

Desde la solución inicial y cada adición se monitoreó mediante espectroscopía UV/Vis en un intervalo de longitud de onda de 200nm a 700nm.

Se siguió el mismo procedimiento con soluciones de isoxicam 10^{-5} M, 10^{-4} M y 2×10^{-4} M con 0.1 M, 0.5 M, 0.25 M, 10^{-2} M, 10^{-3} M, 10^{-4} M, de HP- β -CD, en cada caso.

En todas las valoraciones se hizo corrección de la absorbancia, considerando el cambio de volumen (efecto de dilución) que ocurría a cada adición de HCl 1M, durante la valoración.

4.1.3 Conductimetría

4.1.3.1 Equipo

En todos los procedimientos se utilizó un conductímetro Radiometer Copenhagen modelo CDM 230, con una celda de inmersión Radiometer Analytical, número 13296-F09 y modelo: CDC641T, para volúmenes pequeños.

4.1.3.2 Valoraciones ácido-base seguidas conductimétricamente

Se trabajó con una solución de isoxicam 10^{-4} M / 10^{-1} M de H-P- β -CD en solución acuosa de NaOH, siendo el pH=10 +0.2 al inicio y se fue adicionando HCl 1M poco a poco esperando a que se estabilizara la lectura, hasta llegar a un pH menor a 1.

Desde la solución inicial y en cada adición realizada se midió la conductancia de la solución.

Además se hizo la corrección de volumen en cada adición, corrigiendo el efecto de dilución.

Se siguió el mismo procedimiento con soluciones de isoxicam 2.5×10^{-4} M con 10^{-1} M de HPBCD en solución acuosa de NaOH siendo el pH inicial de 10.0 ± 0.2 .

4.1.4 Polarimetría

Considerando que mediante polarimetría se puede medir la desviación de la luz generada por centros quirales de ciertas moléculas como las ciclodextrinas, se procedió a trabajar con soluciones de 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina en ausencia y

en presencia de isoxicam el cual no genera respuesta mediante esta técnica analítica, por lo que resulta útil en la evaluación de este tipo de complejos de inclusión.

4.1.4.1 Equipo

Todos los experimentos polarimétricos fueron llevados a cabo en un polarímetro Antonn Par modelo MVP300, utilizando una longitud de onda de 589 nm, en una celda de aleación de níquel y platino con ventanas de cuarzo de 10 cm de longitud de paso óptico, a temperatura de 20 ± 0.1 °C controlada con un sistema Peltier.

Se utilizaron los reactivos y las soluciones ya descritas, en la sección 3.5.1.

4.1.4.2 Curva estándar de 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina.

Se preparó un conjunto de soluciones de 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina, 0.2 M, 0.05M, 0.02M, 0.005M y 0.002M; todas las soluciones se realizaron en NaOH acuosa con un pH=10 \pm 0.2.

4.1.4.3 Serie de complejos 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina-isoxicam

Se hizo una serie de soluciones de HPBCD a diferentes concentraciones desde 0.1 M hasta 0.005 M, con isoxicam a concentración constante de 10^{-2} M, en solución acuosa de NaOH a pH=11 \pm 0.2. Se monitoreó cada solución durante 60 días.

4.2. RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.2.1. Espectrofotometría

4.2.1.1 Estudio de la estabilidad de sistemas isoxicam-HPBCD en medio básico.

Considerando los resultados anteriores, se diseñó un experimento en el cual se mantuvo fija la concentración del isoxicam de 1.5×10^{-5} M con diferentes concentraciones de HPBCD desde 0.1M hasta 1×10^{-6} M en NaOH 10^{-3} M, este experimento fue monitoreado mediante espectroscopía UV/Vis en un rango de longitud de onda de 200-700nm durante 21 días, los resultados se muestran en la figura 4.1.

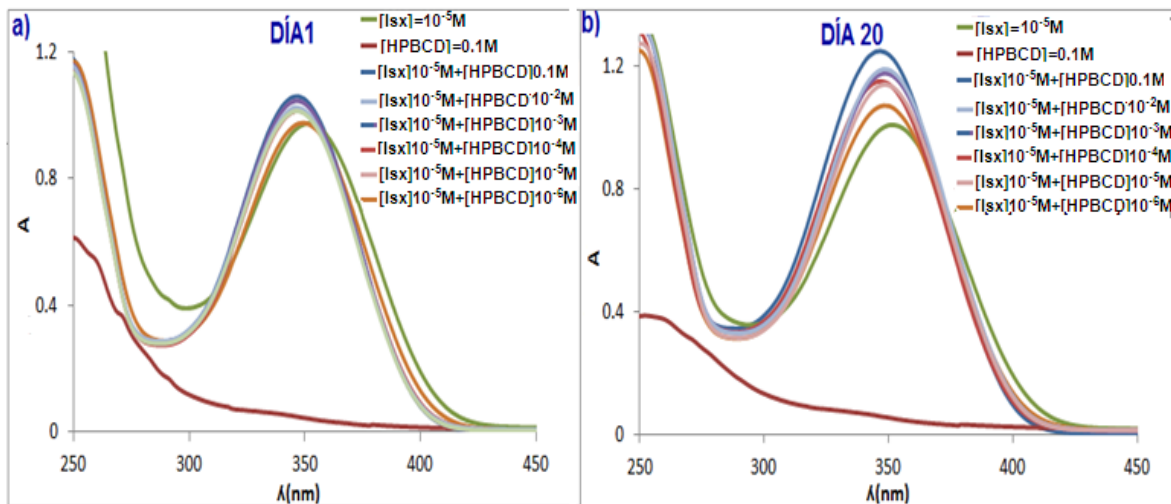


Figura 4.1. Espectros de absorción de soluciones acuosas de $[\text{isoxicam}] = 1.5 \times 10^{-5}$ M con HPBCD a concentraciones de 10^{-1} M a 10^{-6} M en medio básico. a) Día 1, b) Día 20. El espectro de absorbancias más bajas es de la $[\text{HPBCD}] = 0.1$ M.

Se realizaron gráficas de $pCD = f(A)$, durante los 21 días de los diferentes sistemas Isoxicam-HPBCD, encontrándose que existe fluctuación durante los días; por otra parte la solución de Isoxicam-HPBCD en ausencia de isoxicam es el único punto que permanece sin cambios probablemente debido a su baja absorbancia; como se puede observar en la figura 4.2.

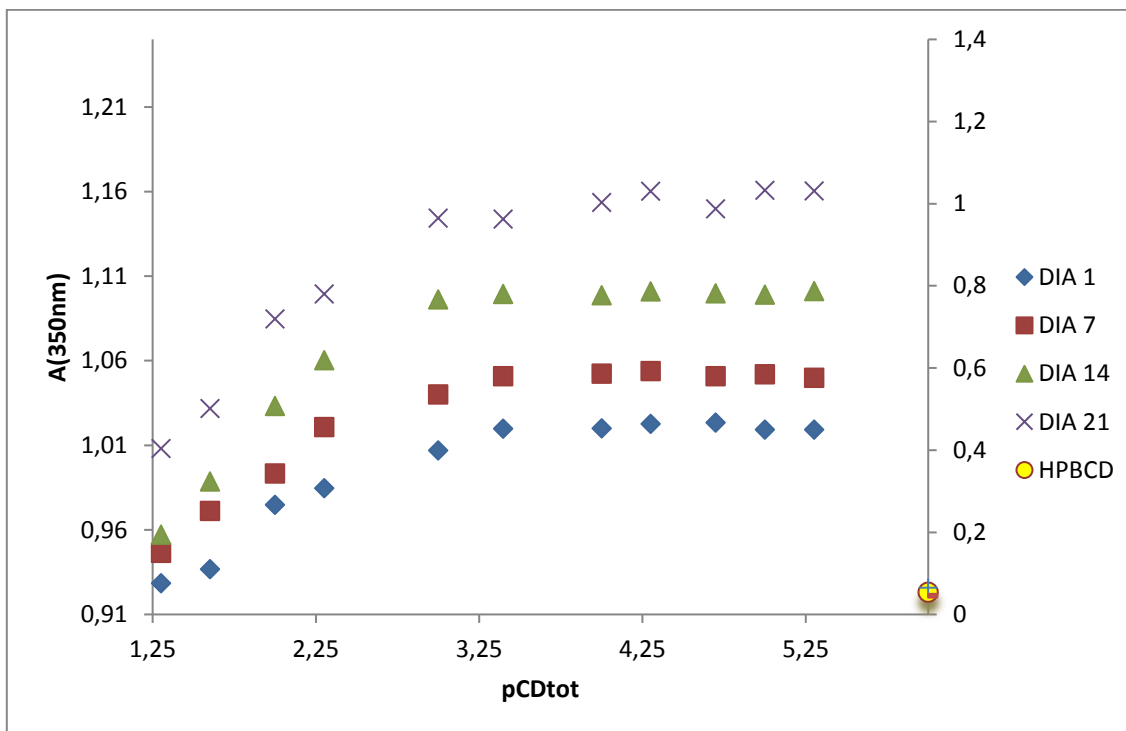


Figura 4.2. Grafica de $A=f(pCD_{tot})$ de HPBCD 0.1 M (eje secundario) y de los diferentes sistemas HPBCD-Isoxicam (eje principal); en medio básico durante 21 días.

Se encontró que la absorbancia de HPBCD 0.1 M e isoxicam 10^{-4} M en medio básico, se mantuvo constante, aunque con mayores fluctuaciones después de una semana, como se observa en la figura 4.3 (A) y (B).

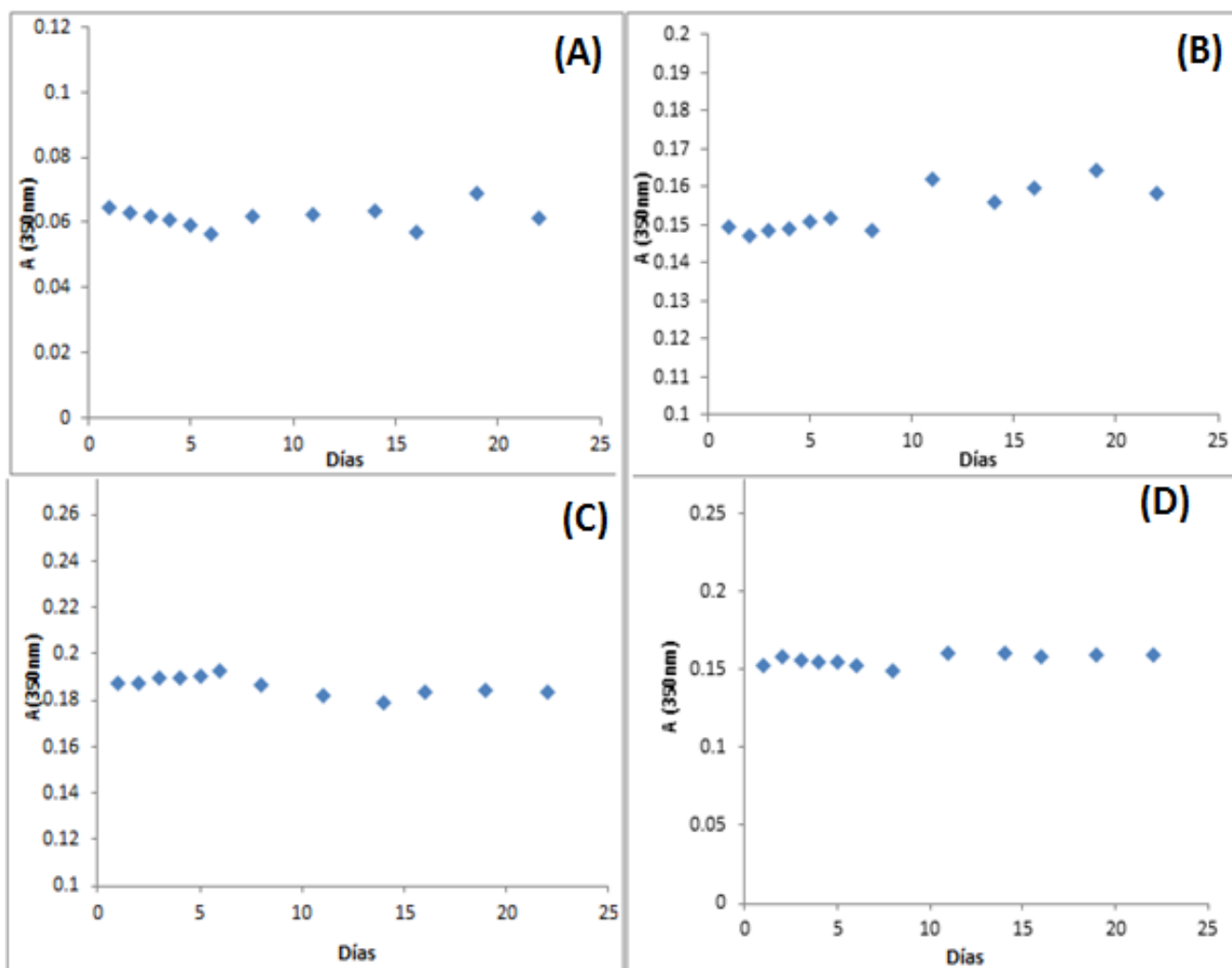


Figura 4.3. Seguimiento espectrofotométrico a 350 nm durante 21 días de:
 (A) HPBCD 0.1 M. (B) Isoxicam 1.5×10^{-5} M durante. (C) Sistema isoxicam 1.5×10^{-5} M con HPBCD 0.1 M. (D). Sistema isoxicam 1.5×10^{-5} M - HPBCD 5×10^{-3} M.

En los sistemas isoxicam 1.5×10^{-5} M con HPBCD 0.1 M e isoxicam 1.5×10^{-5} M - HPBCD 5×10^{-3} M, la absorbancia permanece prácticamente constante durante las tres semanas (figura 4.3 (C) y (D)).

4.2.1.2 Estudio de la estabilidad de sistemas isoxicam-HPBCD en medio ácido

Posteriormente se realizó un seguimiento de soluciones de isoxicam-HPBCD, en medio ácido a un $\text{pH} \approx 3$, ajustado con HCl 1M. En este caso sólo fue durante 5 días debido a que en las soluciones se formaba precipitado, lo cual indica que los complejos o el isoxicam en medio ácido son más insolubles. El primer día en que se prepararon las soluciones, no se observó la formación de precipitado en ninguna solución preparada, sin embargo, a medida que pasan los días y a menor concentración de HPBCD se forma más precipitado en la solución, lo cual impide su seguimiento por espectrofotometría durante más días.

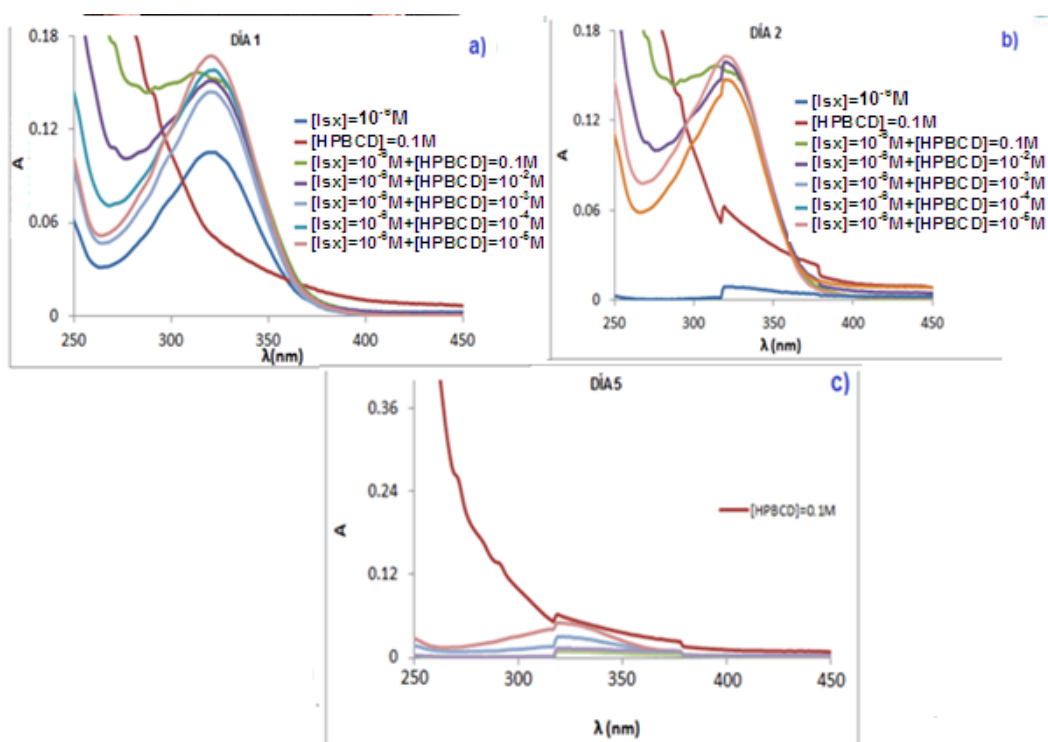


Figura 4.4. Sistemas de isoxicam-HPBCD a diferentes concentraciones y a un $\text{pH} \approx 3$.

Como se puede observar en la figura 4.4a, a pesar de que las soluciones estaban a pH ácido, todas las especies se encuentran en solución incluyendo el isoxicam sin HPBCD, sin embargo al siguiente día se formó precipitado en los sistemas que tenían concentraciones menores a 10^{-3} M de HPBCD como se ve en 4.4b; al día 5 lo único que permaneció en solución fue la solución de HPBCD 0.1 M, sin isoxicam (4.4 c)).

Lo anterior ocurre probablemente porque el exceso de HPBCD en los sistemas promueve que los complejos formados, así como isoxicam libre permanezcan en solución más tiempo, podría ser que precipite el isoxicam sin estar complejado o algún complejo isoxicam-HPBCD.

En la figura 4.5 se presenta una gráfica de $A(350\text{nm}) = f(\text{tiempo})$, confirmando que durante el día 1 todos los sistemas están en solución, al día 2 prácticamente la mitad de las soluciones precipitan, mientras que al quinto día lo único que queda disuelto es la HPBCD en concentración 0.1 M.

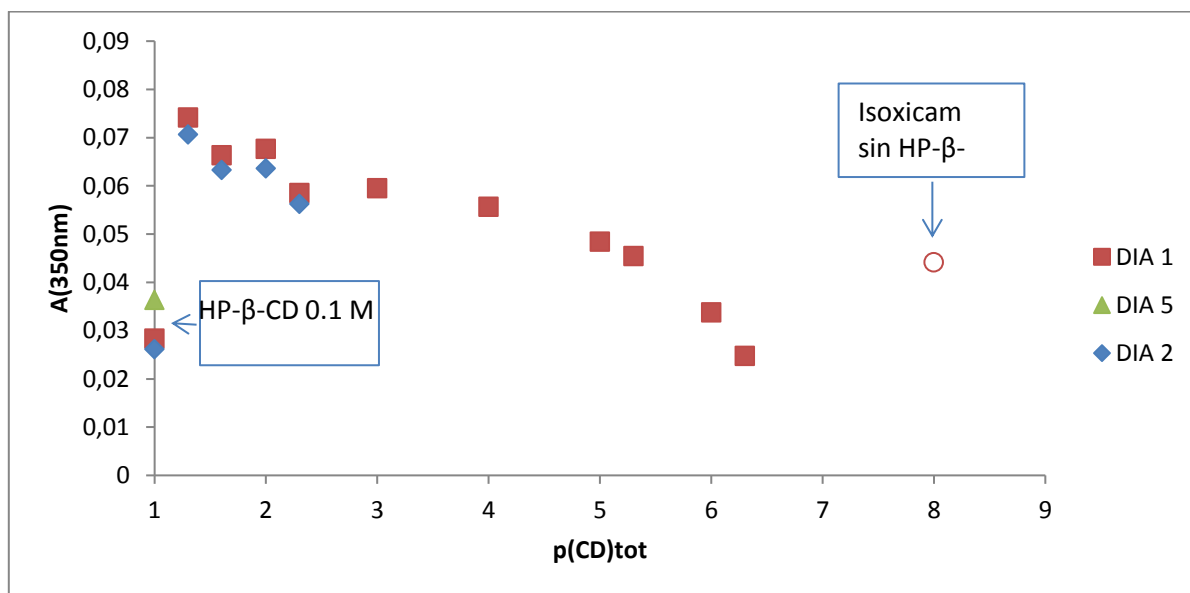


Figura 4.5. Grafica de $A=f(pCD)_{tot}$ de HPBCD 0.1 M y de los diferentes sistemas HPBCD-Isoxicam; en medio ácido durante 5 días.

Considerando que se pueden formar complejos en medio ácido y básico, y que además el isoxicam permanece en solución aún en sistemas muy ácidos si está presente la HPBCD en altas concentraciones, se decidió realizar valoraciones de sistemas isoxicam-HPBCD con ácido clorhídrico, para posteriormente ajustar los datos obtenidos a un modelo de equilibrios ácido-base.

4.2.1.3 Valoración ácido-base de isoxicam seguida espectrofotométricamente

La figura 4.6, muestra la valoración de 20 mL de una solución de isoxicam de concentración 7.9×10^{-6} M, en solución acuosa de NaOH siendo el pH=11±0.2 inicial, a la cual se le fue adicionando HCl 1 M poco a poco; la valoración fue monitoreada con espectroscopía UV/Vis en un rango de longitud de onda de 200-700 nm desde la solución inicial y durante cada adición de HCl 1M.

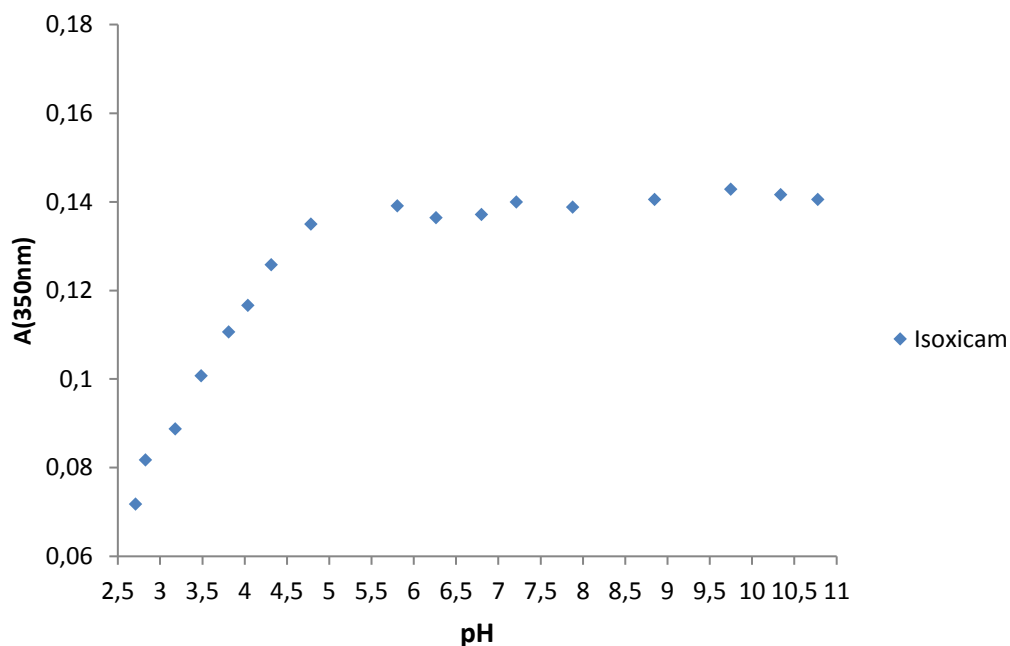


Figura 4.6. Valoración ácido-base seguida por espectrofotometría, a una longitud de onda de 350nm, de 20 mL de Isoxicam 7.9×10^{-6} M con HCl 1M. Se grafica la absorbancia corregida como función del pH.

Con esta valoración se determinó el comportamiento del isoxicam en medio ácido y básico, pero debido a la baja solubilidad del mismo, la concentración a la que se trabajó fue muy baja, generando absorbancias del orden de 0.1; además de que alguna sustancia (probablemente isoxicam neutro) precipita a pH menores a 2.5.

También se realizó una gráfica de la valoración de volumen en función de pH (figura 4.7), y el comportamiento es similar al de una valoración típica de un ácido fuerte con una base fuerte.

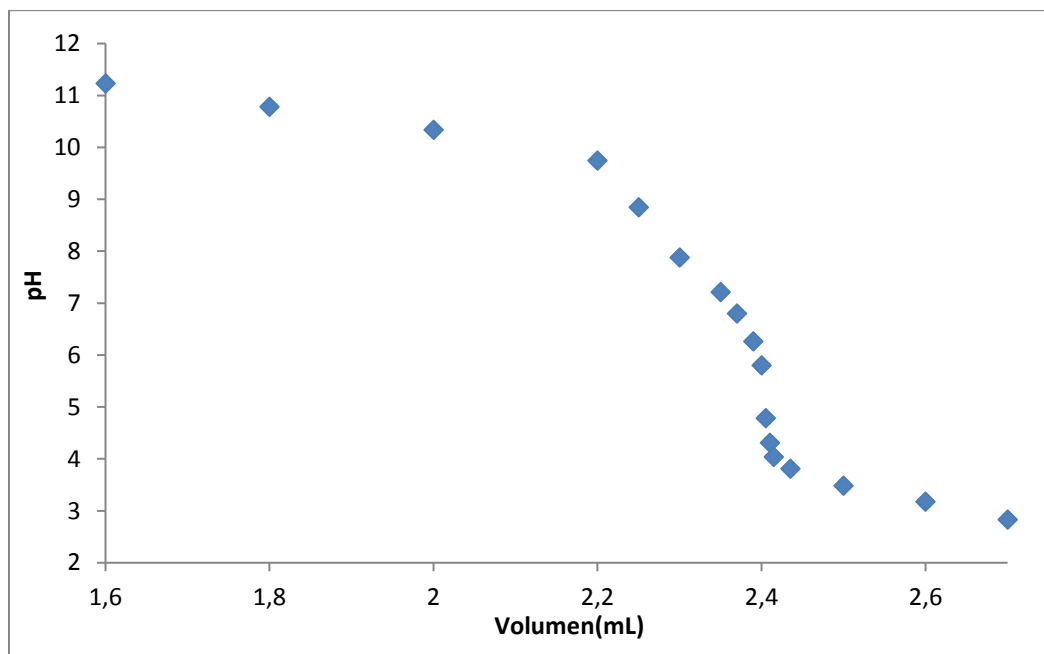


Figura 4.7. Valoración ácido-base, de 20 mL de Isoxicam 7.9×10^{-6} M con HCl 1M.

4.2.1,4 Valoraciones ácido-base de sistemas isoxicam-HPBCD seguidas espectrofotométricamente

Posteriormente se hicieron valoraciones de 20 mL de isoxicam 2×10^{-4} M, 10^{-4} M y 10^{-6} M con HPBCD 0.1M y 0.01M, con HCl 1M. En todas las valoraciones se disolvió el isoxicam y la HPBCD en solución acuosa de NaOH.

En todos los casos la complejación con la HPBCD permitió en primera instancia aumentar la concentración de isoxicam en solución, así como llegar a un pH más

ácido que en la valoración sin HPBCD, como se hizo en la figura 4.6 de la valoración de isoxicam en la cual además de ser muy baja la concentración de isoxicam el sistema precipitó pH menores de 2.5.

En la figura 4.8 se muestra una comparación de los tres sistemas de valoraciones que se hicieron a diferentes concentraciones de isoxicam con 0.1 M de HPBCD, con valores de absorbancia corregidas considerando el efecto de dilución.

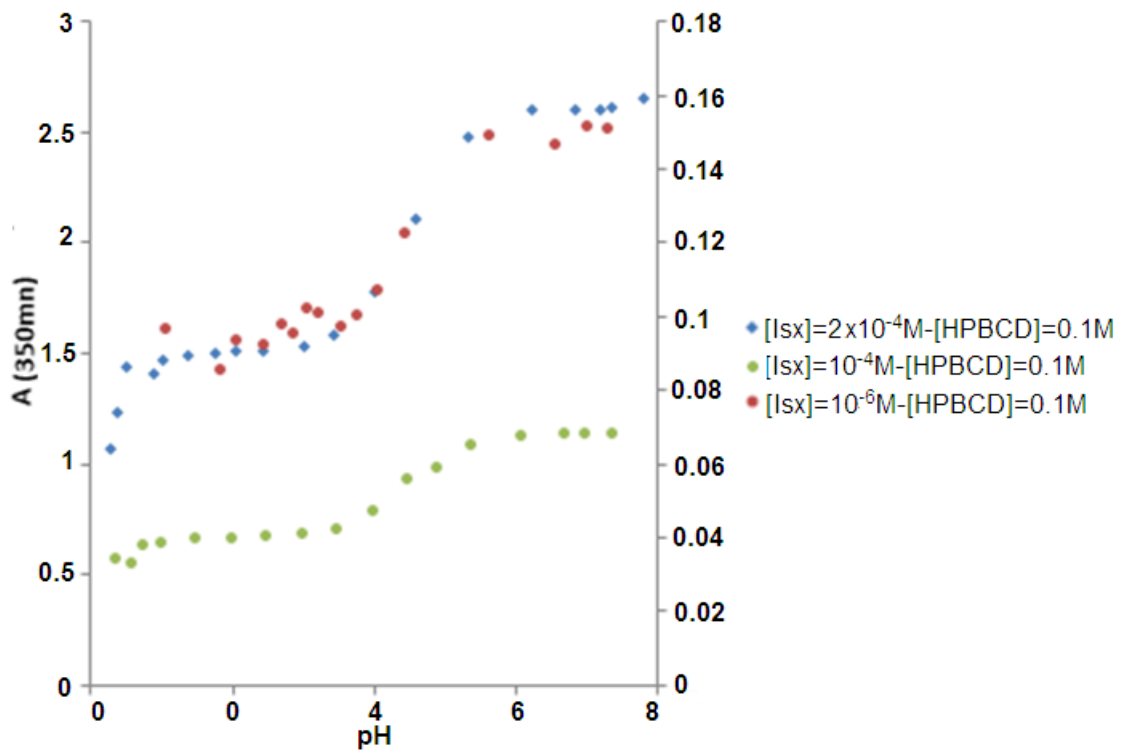


Figura 4.8. Comparación de valoraciones de concentración variable de isoxicam; el eje secundario corresponde a la valoración que se hizo con isoxicam 10^{-6} M.

A pesar de que las valoraciones se hicieron a diferentes concentraciones de isoxicam, al hacer la comparación ya descrita podemos observar de la figura 4.8 que el comportamiento de las sigmoides es similar pero con diferentes absorbancias por la variación en la concentración de isoxicam.

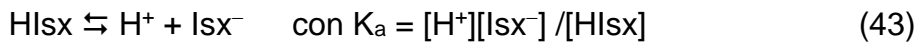
El uso de la HPBCD en los sistemas permite obtener datos de absorbancia a valores de pH cerca de 1, además de poder aumentar la concentración del isoxicam en solución.

4.2.1.5 Ajuste del modelo de cálculo con datos experimentales

Una vez que se analizaron los datos obtenidos de los sistemas de las titulaciones acido-base seguidas con espectrofotometría y considerando el modelo de cálculo ya descrito, se procedió al ajuste de datos experimentales con dicho modelo.

Haciendo las siguientes consideraciones:

Si el isoxicam tiene un valor de $pK_a = 3.81^{[33]}$, el equilibrio químico entre sus formas ácida ($HIsx$) y básica (Isx^-) puede escribirse como:



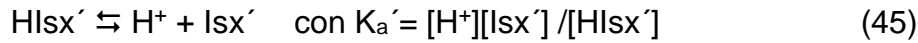
La absorbancia a una cierta longitud de onda (en donde absorba al menos una de las especies del isoxicam) como función del pH, debe dar una respuesta de tipo sigmoideal que se puede modelar con la ecuación (2)^[33]:

$$A^{(\lambda)} = A^{(\lambda)}_{HIsx} + A^{(\lambda)}_{Isx^-} = \epsilon^{(\lambda)}_{HIsx} f_{HIsx} | [Isx]_{total} + \epsilon^{(\lambda)}_{Isx^-} f_{Isx^-} | [Isx]_{total} = [\epsilon^{(\lambda)}_{HIsx} f_{HIsx} + \epsilon^{(\lambda)}_{Isx^-} f_{Isx^-}] | [Isx]_{total} =$$

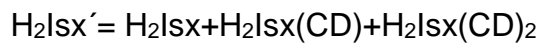
$$[\epsilon^{(\lambda)}_{HIsx} f_1 + \epsilon^{(\lambda)}_{Isx^-} f_0] | [Isx]_{total} \quad (44)$$

siendo $f_{Isx^-} = f_0 = \{1/[1 + [H^+]/K_a]\}$ y $f_{HIsx} = f_1 = f_0 [H^+]/K_a$ las fracciones de las especies del isoxicam en el sistema.

El modelo es similar en el caso en que se imponga en el sistema la concentración de la HPBCD, que es lo que se hizo experimentalmente para $[HPBCD] = 0.1 \text{ M}$, pero con un equilibrio generalizado como se muestra en la ecuación (45).



donde



y

$K_{a'}$, la constante de acidez condicional del isoxicam, puede depender de la concentración de HPBCD impuesta, pero que es constante si esta concentración lo es.

Además,



Dicho lo anterior se modelaron los resultados obtenidos mediante el procedimiento ya explicado con el modelo de cálculo y los valores de absorbancia en todos los casos se corrigió el efecto de dilución causado durante cada adición de HCl 1M y así poder tener fija la concentración del isoxicam.

Con la valoración que se hizo de isoxicam 7.9×10^{-6} M sin HPBCD se aplicó el modelo de calculo y se obtuvo la sigmoide de la figura 4.9.

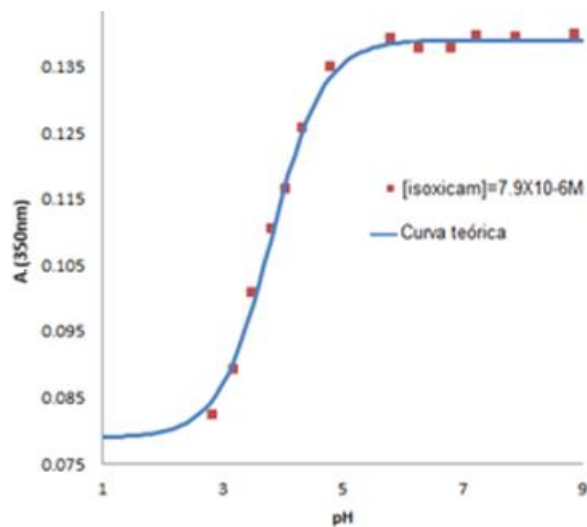


Figura 4.9. Modelo robusto aplicado a la valoración de isoxicam 7.9×10^{-6} M con HCl 1M, con un $\log\beta=3.81$ que es igual al reportado en la literatura ^[31,32]. Se consideran los siguientes factores de respuesta: $[ISX]=7.9 \times 10^{-6}$ M, $\log K=3.81$, $kH_{Isx}=1 \times 10^4 \text{Lmol}^{-1}$, $kF_m=1 \times 10^3 \text{Lmol}^{-1}$.

En la figura 4.10 se puede observar la comparación entre el modelo y los datos experimentales en cuanto a la respuesta dada por el sistema isoxicam-HP- β -CD.

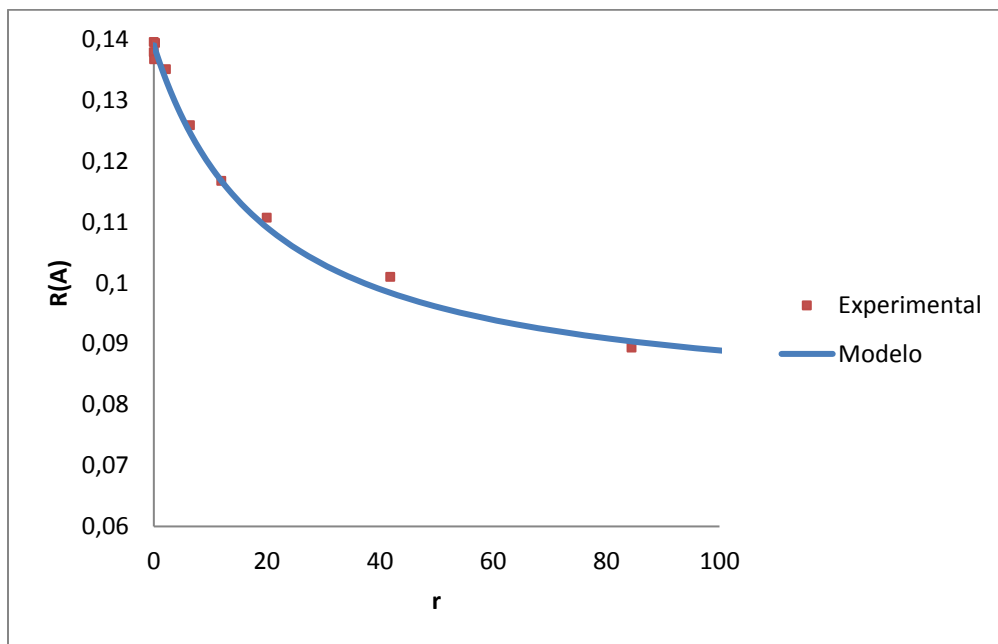


Figura 4.10. Modelo robusto aplicado a la valoración de isoxicam 7.9×10^{-6} M con HCl 1M, comparación de la respuesta teórica y experimental. Con los siguientes factores de respuesta: $[ISX]=7.9 \times 10^{-6}$ M, $\log K=3.81$, $k_{FmCD}=1 \times 10^4$ Lmol $^{-1}$, $k_{Fm}=1 \times 10^3$ Lmol $^{-1}$.

En la figura 4.9 y 4.10, se observa la comparación del modelo con los datos experimentales de respuesta en función de pH.

De la valoración del sistema Isoxicam-HPBCD 2×10^{-4} M-0.1 M, en la figura 4.11 se puede observar una sigmoide del ajuste del modelo de cálculo, en el que la respuesta (R), que es la absorbancia, se gráfica como función de pH.

En la gráfica azul de la figura 4.11 se consideraron $\log K_a'=4.5$ con un respuesta (R) obtenida a partir de cálculos teóricos y en la gráfica roja se tomaron en cuenta los mismos valores de $\log K$ pero en este caso la respuesta (R) es la absorbancia obtenida experimentalmente a diferentes condiciones de pH durante la valoración.

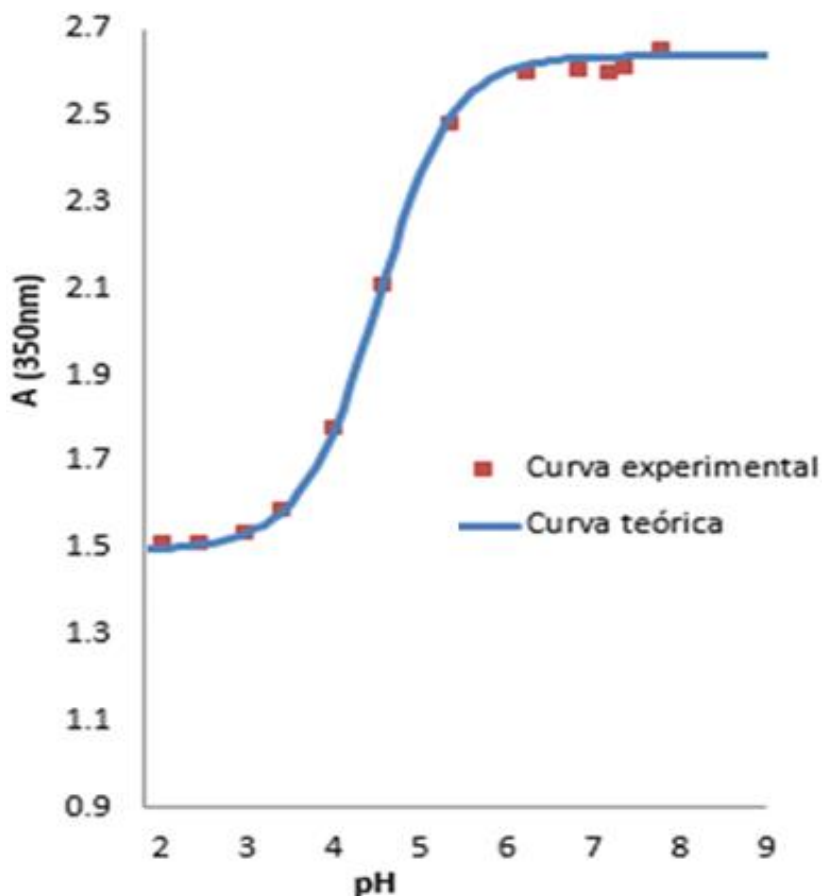


Figura 4.11. Comparación de la respuesta teórica y experimental a diferentes valores de pH de la valoración del sistema Isoxicam-HPBCD de concentración $2 \times 10^{-4} \text{M}$ - 0.1M respectivamente. Con los siguientes factores de respuesta: $\log K' = 4.5$, $k_{\text{HISX}} = 5 \times 10^3 \text{Lmol}^{-1}$, $k_{\text{ISX}} = 10550 \text{Lmol}^{-1}$ para el ajuste.

En la figura 4.12 se puede observar que la respuesta (R) es la absorbancia y r es la razón de concentración del H^+ al fármaco obtenida a partir de los diferentes valores de pH experimentales de la valoración. En la gráfica azul se consideraron $\log K' = 4.5$ con un respuesta (R) obtenida a partir del modelo y en la gráfica roja se tomaron en cuenta los mismos valores de $\log K'$ pero en este caso la respuesta (R) es la absorbancia obtenida experimentalmente y r es la relación que se tiene con la concentración de H^+ a concentración de isoxicam para cada cambio de pH.

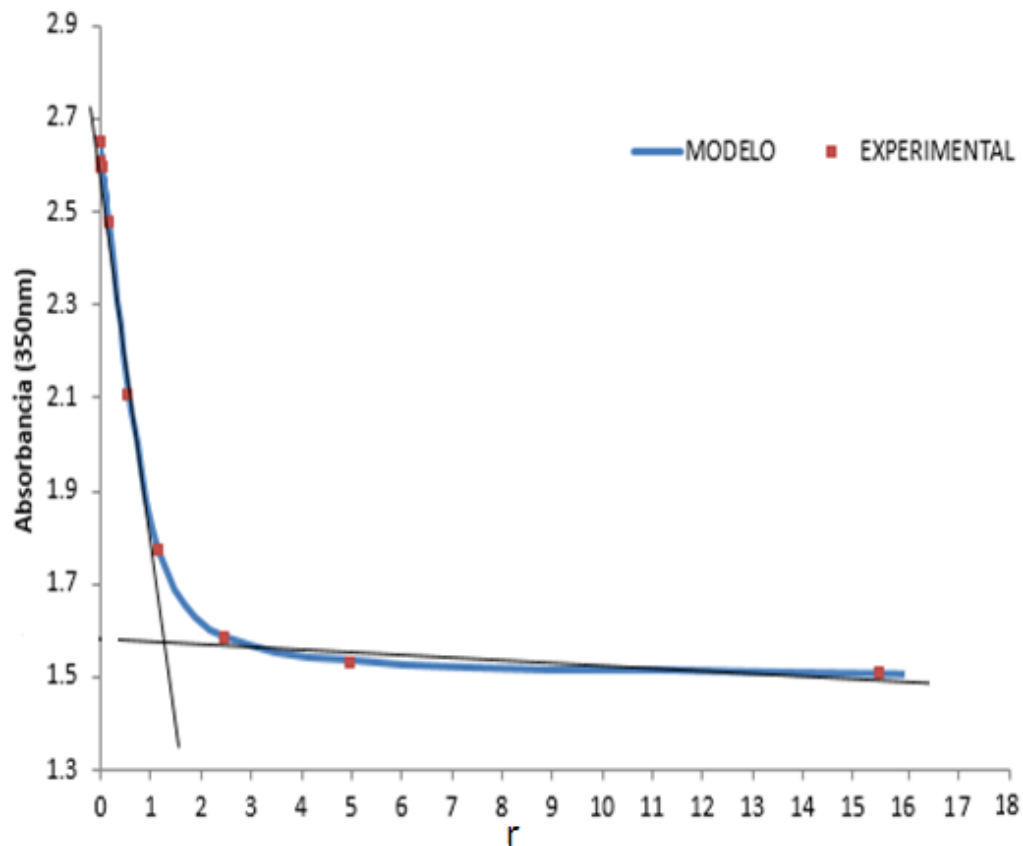


Figura 4.12. Gráfica de razones molares teórica y experimental a 350 nm. Con los siguientes factores de respuesta: $\log K_{a'} = 4.5$, $k_{HLSX'} = 6 \times 10^3 \text{Lmol}^{-1}$, $k_{ISX'} = 10550 \text{Lmol}^{-1}$ para el ajuste.

Una vez que se determinó la respuesta (R) de los sistemas, considerando los cambios de absorbancia y de pH durante la valoración, se determinó la derivada de la respuesta (R) (considerando los datos experimentales es la A (absorbancia) obtenida en los diferentes valores de pH durante la valoración) en función de los cambios de pH; tanto pH promedio límite como pH promedio total, como se muestra en la figura 4.13.

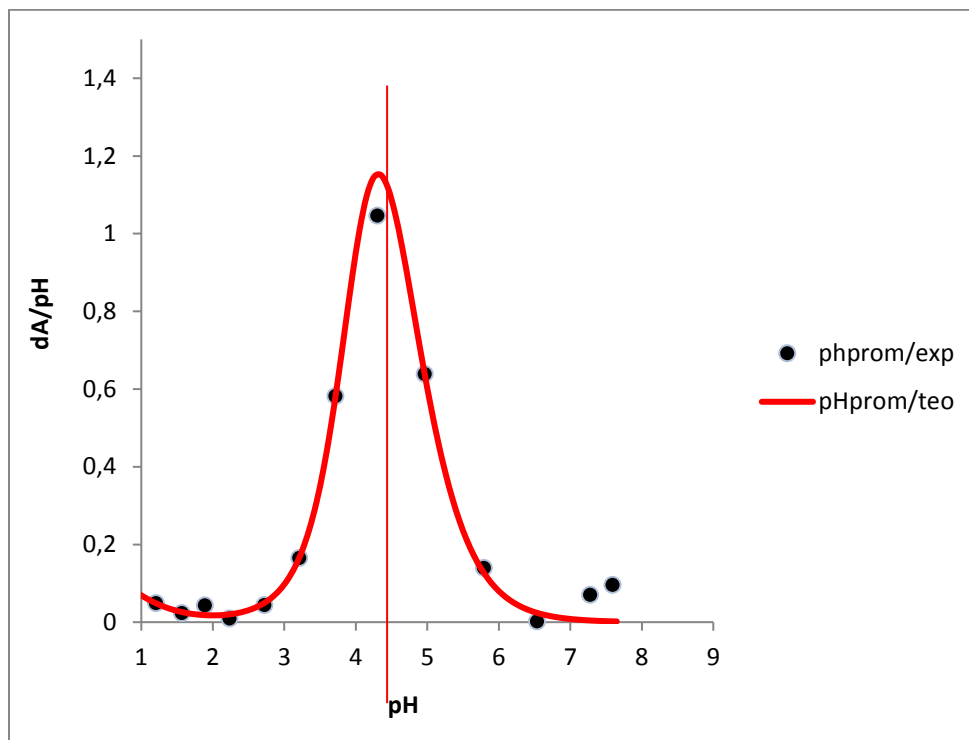


Figura 4.13. Derivada teórica y experimental de pH promedio del sistema isoxicam- HP- β -CD. Con los siguientes factores de respuesta: $\log K a' = 4.5$, $k_{HISX} = 5 \times 10^3 \text{ Lmol}^{-1}$, $k_{ISX} = 10550 \text{ Lmol}^{-1}$ para el ajuste.

También se aplicó el modelo ya mencionado a los diferentes sistemas de concentraciones variables de isoxicam-HPBCD.

Comparando las valoraciones realizadas con los diferentes sistemas, aplicando el modelo de cálculo, se descubrió que a concentraciones menores de $2 \times 10^{-4} \text{ M}$ de isoxicam con HPBCD menor o igual 0.01 M , el comportamiento de la valoración es el mismo que el de la valoración ácido-base de isoxicam en ausencia de HPBCD, lo cual indica que a estas concentraciones del sistema no hay formación de complejos de inclusión, como se puede apreciar en la figura 4.14.

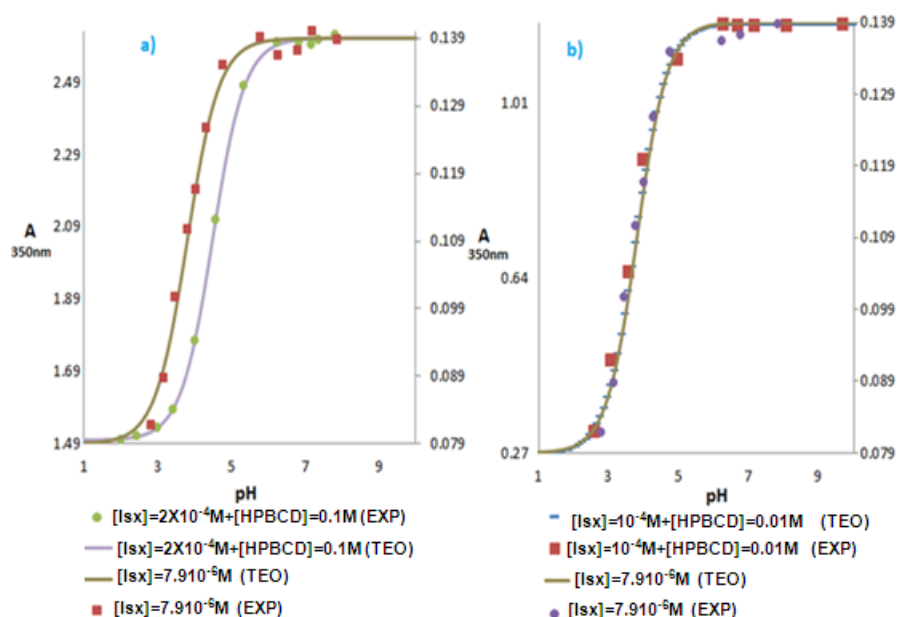


Figura 4.14. Comparación del modelo de cálculo aplicado a valoraciones seguidas espectrofotométricamente de sistemas isoxicam-HPBCD, a) Modelo teórico y experimental de la valoración del sistema $2 \times 10^{-4} \text{ M}$ - 0.1 M isoxicam- HPBCD con $pK_a' = 4.5$; el eje principal secundario al sistema de isoxicam $7.9 \times 10^{-6} \text{ M}$ con $pK_a = 3.81$; b) Modelo teórico y experimental de la valoración de isoxicam $7.9 \times 10^{-6} \text{ M}$ con y de la valoración del sistema ISX-HPBCD $2 \times 10^{-4} \text{ M}$ - 0.01 M con $pK_a = pK_a' = 3.81$.

En cambio, cuando la concentración de HPBCD es mayor a 0.01 , el pK_a' cambia debido a que comienza la formación de complejos de inclusión, de forma que el $pK_a' = 4.5$ cuando la concentración de HPBCD es 0.1 M . Para explicar porqué el pK_a' condicional es mayor que el pK_a se hizo un desarrollo teórico que se muestra en el Anexo A. La explicación más intuitiva sería pensar en complejos de inclusión de ISX y HIsx de estequiometría 1:1 con HPBCD en donde el de la forma ácida es más estable que el de la forma básica.

4.2.2 POLARIMETRÍA

De los diferentes sistemas isoxicam-2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina a concentraciones variables de esta última, se puede observar que a mayor concentración de 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina, la rotación molar aumenta respecto a la curva estándar, conforme pasan los días es mayor este aumento cuando la concentración de HPBCD es más elevada, como se observa en la figura 4.15.

Por otra parte esa variación en la rotación molar en los sistemas indica la probable formación de complejos de inclusión Isoxicam-2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina, pero debido a la elevada concentración de HPBCD el equilibrio en los sistemas no se logra.

También se determinó el ángulo de rotación específica de la curva estándar experimental siendo $[\alpha]^{20}_{589\text{nm}} = +134^\circ$, el reportado en la literatura que es de $[\alpha]^{20}_D +135 \pm 10^\circ$, $c = 1\%$ in H_2O , lo que demuestra la confiabilidad de las mediciones.

Se intentó trabajar las mismas muestras a 365 nm, sin embargo a esta longitud de onda el isoxicam absorbe mucha luz y con el equipo que se utiliza no es posible hacer mediciones, se necesitaría una celda más pequeña o diluir la muestra, por lo que se decidió trabajar únicamente a 589nm.

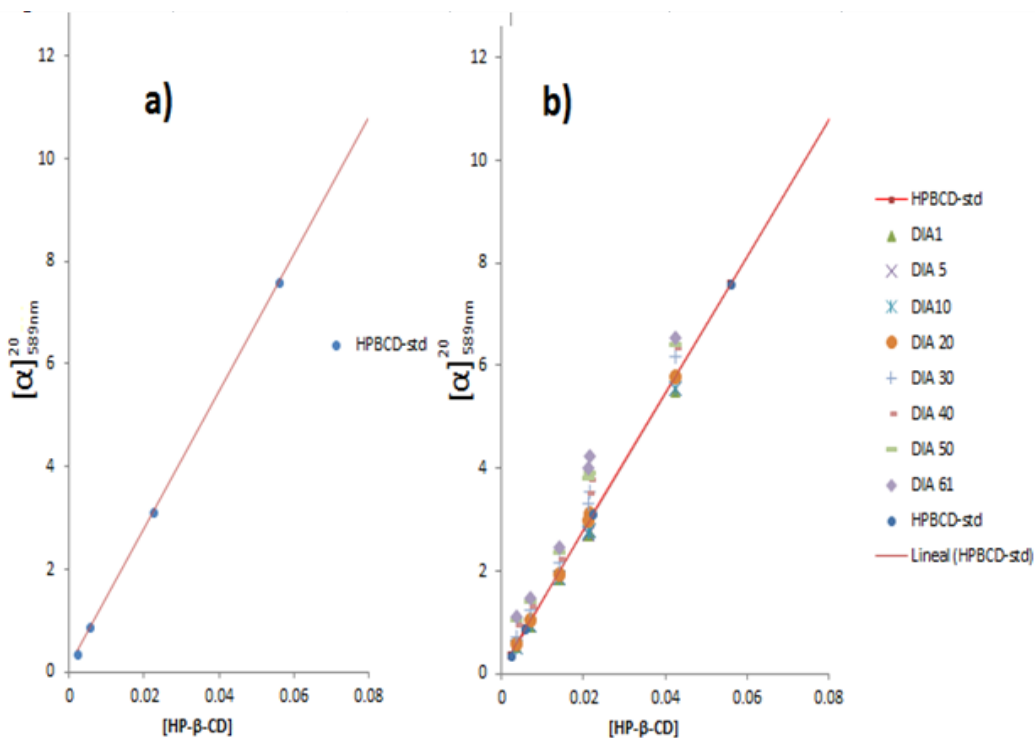


Figura 4.15. a) Gráfica de $[\alpha]_{589nm}^{20}$ rotación óptica = $f([HPBCD])$ = g/mL, para una curva estándar, de concentraciones variables de HPBCD desde 0.0002M hasta 0.05M, b) Gráfica de α rotación molar = $f([HPBCD])$ de sistemas Isoxicam 10^{-2} M y concentraciones variables de 2-Hidroxiopropil-β-ciclodextrina, desde 1:0.5 hasta 1:1.25.

A los resultados obtenidos de polarimetría se les aplicó el modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión FmCD y Fm₂CD, para una reacción poco cuantitativa y a alta concentración de Fm total, desde el día 1 y hasta el día 60.

Para aplicar este modelo y seguir con la nomenclatura antes descrita consideramos a Fm = Isoxicam y CD = 2-Hidroxiopropil-β-ciclodextrina

Se realizó la gráfica de $R = f(pL_{total})$ utilizando los datos experimentales y contrastándolos con el modelo, y ambos coinciden perfectamente (figura 4.16).

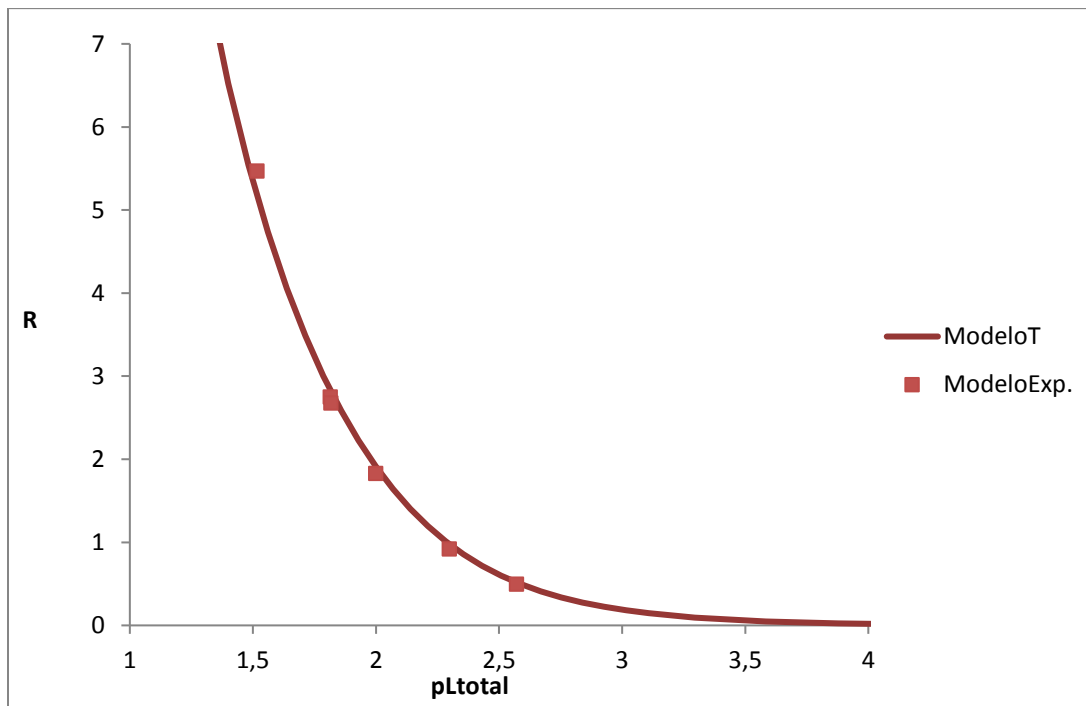


Figura 4.16. Comparación teórica y experimental de la gráfica de $f=f(pL_{total})$ del sistema de complejos $FmCD$ y Fm_2CD , aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Fm]=1 \times 10^{-2}M$, $\log K_I=2.3$, $\log K_{II}=4.1$, $k_L=133^\circ Lmol^{-1}$, $k_M=0$, $k_{ML}=300^\circ Lmol^{-1}$ y $k_{M_2L}=100^\circ Lmol^{-1}$.

Para el día 1 se realizó el diagrama de distribución, considerando únicamente los datos teóricos ya que se tiene muy pocos puntos experimentales, obteniéndose la figura 4.17, en la cual se observa la formación del complejo $FmCD$ y Fm_2CD , estando este último en menor proporción pero presente.

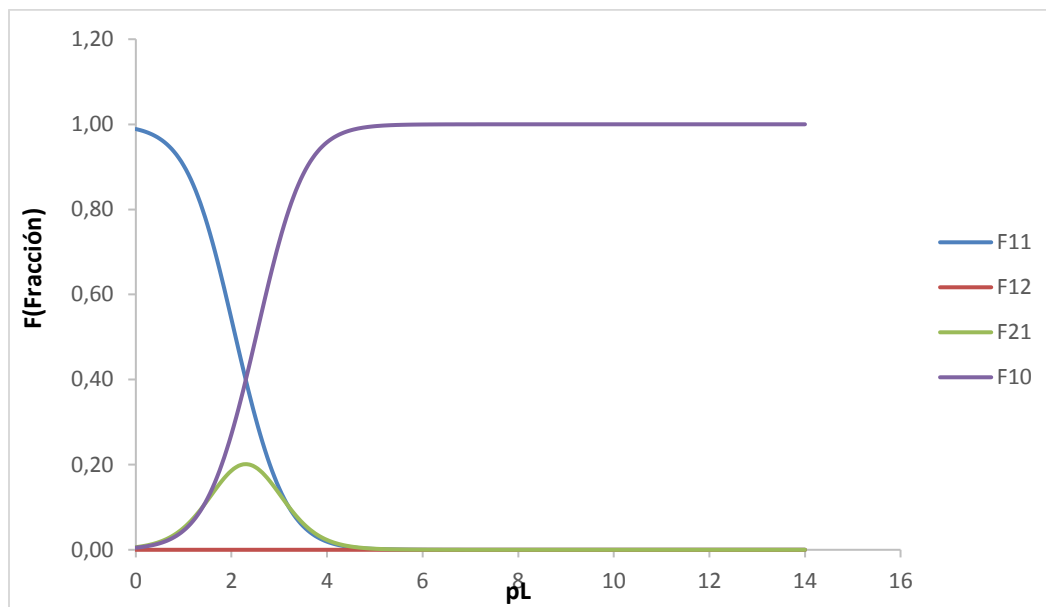


Figura 4.17. Diagrama de distribución teórica de $F=f(pL)$ del sistema de complejos F_mCD y $F_{m2}CD$, aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[F_m]=1 \times 10^{-2}M$, $\log K_I=2.3$, $\log K_{II}=4.1$, $k_L=133^\circ Lmol^{-1}$, $k_M=0$, $k_{ML}=300^\circ Lmol^{-1}$ y $k_{M_2L}=100^\circ Lmol^{-1}$.

Se realizó una gráfica de $R=f(r)$, en la que aunque ajustan los datos teóricos con los experimentales, no es posible apreciar la nomenclatura de los complejos formados (figura 4.18).

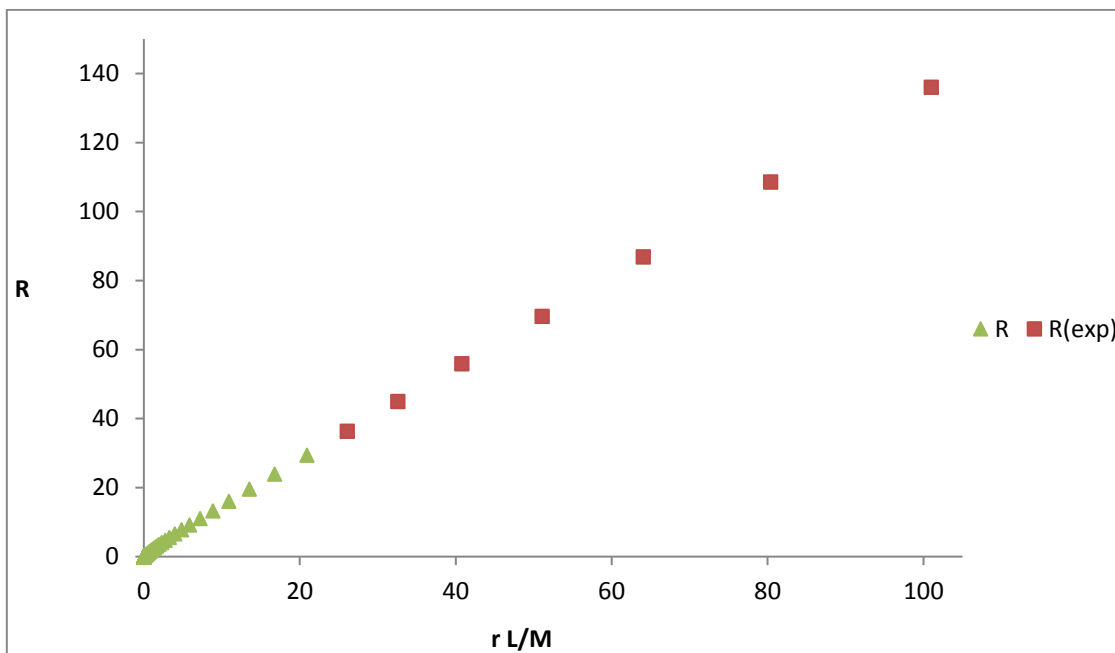


Figura 4.18. Comparación teórica y experimental de la gráfica de $R=f(r)$ del sistema de complejos $FmCD$ y Fm_2CD , aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Fm]=1 \times 10^{-2}M$, $\log K_I=2.3$, $\log K_{II}=4.1$, $k_L=133^\circ Lmol^{-1}$, $k_M=0$, $k_{ML}=300^\circ Lmol^{-1}$ y $k_{M_2L}=100^\circ Lmol^{-1}$.

Sólo se presentan gráficas del primer día ya que en general los resultados permanecen constantes durante los 61 días.

A las muestras trabajadas en polarimetría también se les midió su espectro de absorción, obteniéndose la gráfica 4.19.

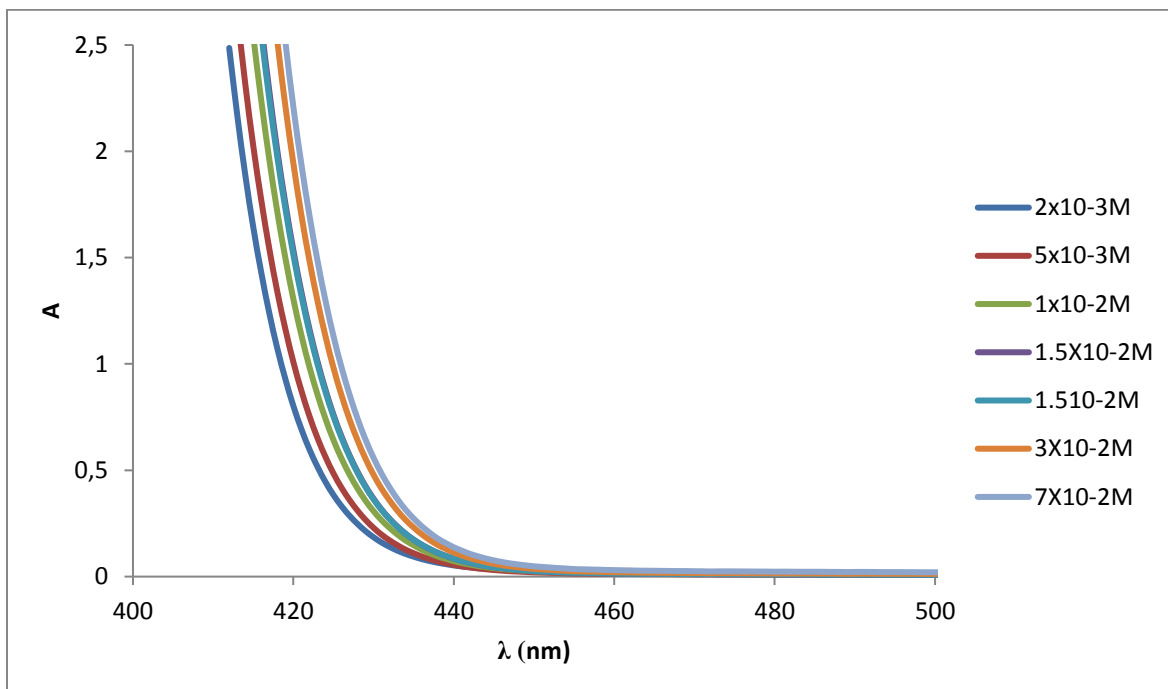


Figura 4.19. Espectros de absorción de soluciones acuosas de [isoxicam]=0.01M con HPBCD a concentraciones de 2×10^{-3} M a 7×10^{-2} M en medio básico.

Debido a que el detector del equipo se satura por la concentración de isoxicam, no se tiene ningún máximo, sin embargo el comportamiento de las soluciones sigue el mismo patrón sigmoideo, que las soluciones donde el isoxicam y la Hidroxipropil- β -ciclodextrina están a menor concentración, considerando una longitud de onda de 420 nm, como en la figura 4.20.

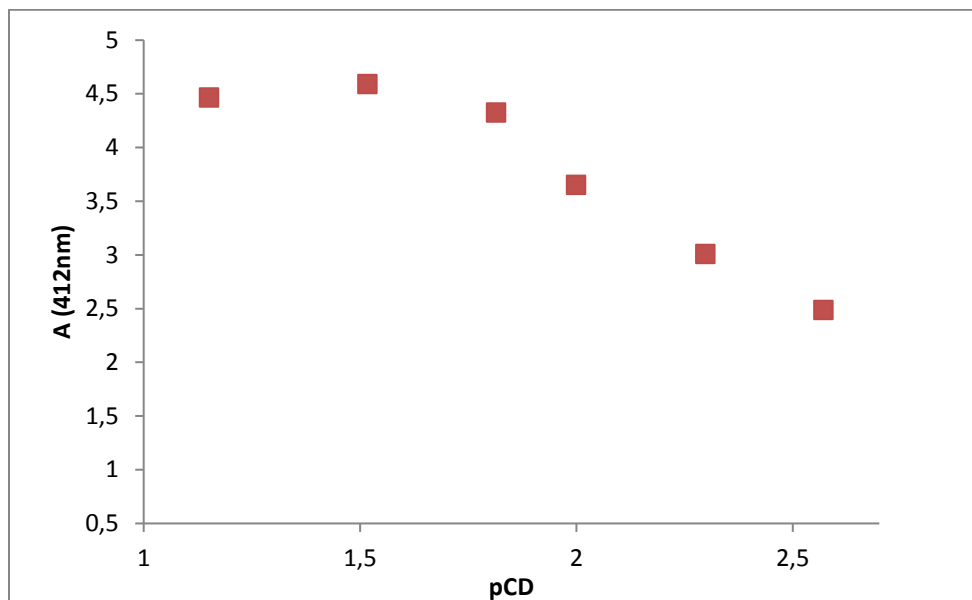


Figura 4.20. Gráfica de $A=f(pCD)_{tot}$ de isoxicam 0.1 M-HPBCD a concentraciones de 2×10^{-3} M a 7×10^{-2} M; en medio básico a 412nm.

En la figura 4.20, claramente se observa una curva sigmoidea, aunque en la gráfica 4.19 no se observa la presencia de algún máximo, los espectros siguen un patrón, a mayor concentración de 2-HP- β -ciclodextrina se observa un desplazamiento al rojo o efecto batocrómico.

A los resultados obtenidos de la figura 4.19 se les aplicó el modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión $FmCD$ y Fm_2CD , para una reacción poco cuantitativa y a alta concentración de Fm total, considerando una longitud de onda de 420nm, con los mismos valores de $\log K_I$ y $\log K_{II}$ que al modelo aplicado midiendo polarimetría, únicamente cambiando los factores de respuesta ya que es otra técnica analítica, la cual permite ver la respuesta generada por el isoxicam a diferencia de la polarimetría con la que se puede apreciar la respuesta de la HPBCD; obteniéndose así la gráfica 4.21.

Para aplicar este modelo y seguir con la nomenclatura antes descrita consideramos a $Fm=Isoxicam$ y $CD=HPBCD$.

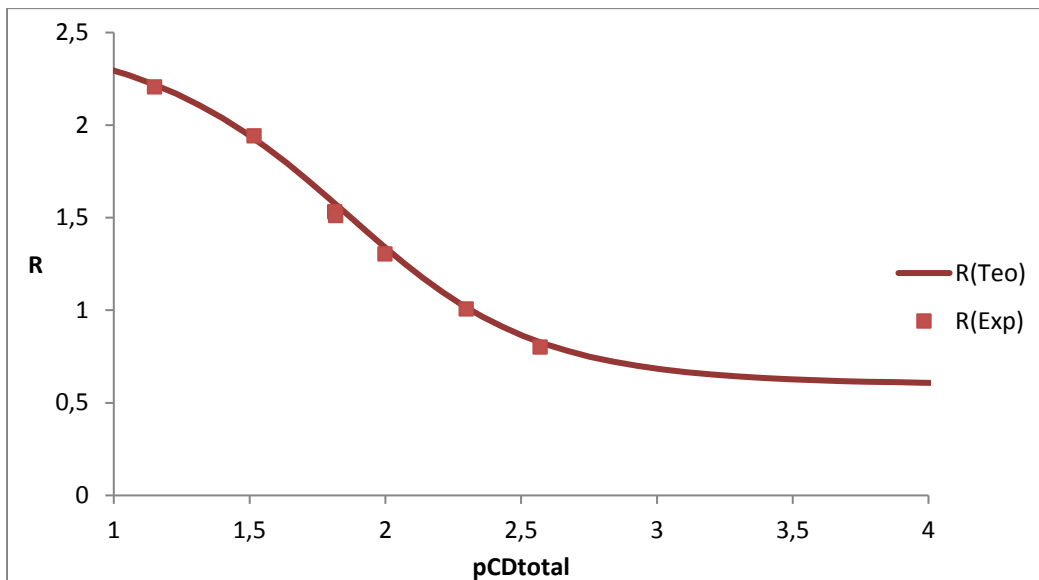


Figura 4.21. Comparación teórica y experimental de la gráfica de $f=f(pCD_{total})$ del sistema de complejos $FmCD$ y Fm_2CD , aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Fm]=1 \times 10^{-2} M$, $\log K_I=2.3$, $\log K_{II}=4.1$, $k_L=0$, $k_M=60 Lmol^{-1}$, $k_{ML}=250 Lmol^{-1}$ y $k_{M_2L}=100 Lmol^{-1}$.

Se realizó también el diagrama de distribución, considerando los datos teóricos únicamente ya que se obtuvieron muy pocos puntos experimentales, obteniéndose la figura 4.22, en la cual se observa la formación del complejo $FmCD$ y Fm_2CD , aunque este último en menor proporción, pero presente en el sistema y con una respuesta posiblemente detectable.

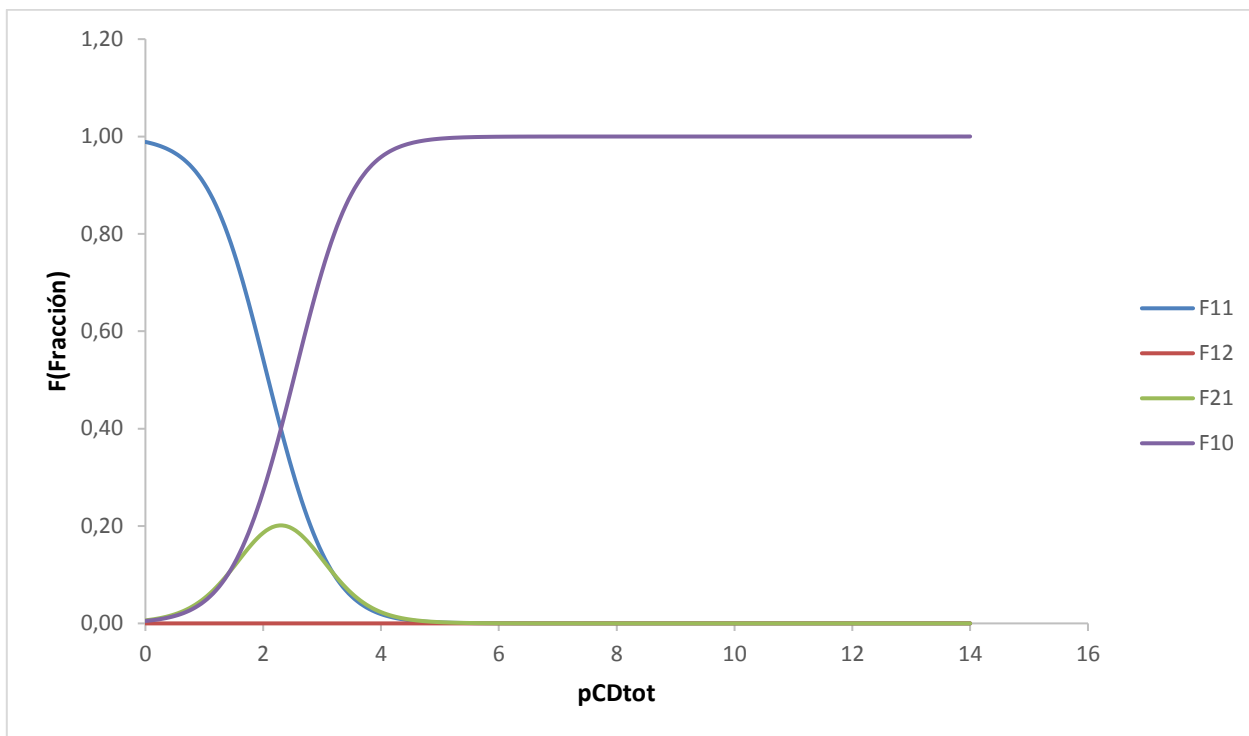


Figura 4.22. Diagrama de distribución teórica del sistema de complejos FmCD y Fm₂CD, aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Fm]=1 \times 10^{-2} M$, $\log K_{I1}=2.3$, $\log K_{I2}=4.1$, $k_L=0$, $k_M=60 \text{ Lmol}^{-1}$, $k_{ML}=250 \text{ Lmol}^{-1}$ y $k_{M2L}=100 \text{ Lmol}^{-1}$.

Se construyó además una gráfica de $R=f(r)$, en la que aunque ajustan los datos teóricos con los experimentales, no es posible apreciar la nomenclatura de los complejos formados (figura 4.23).

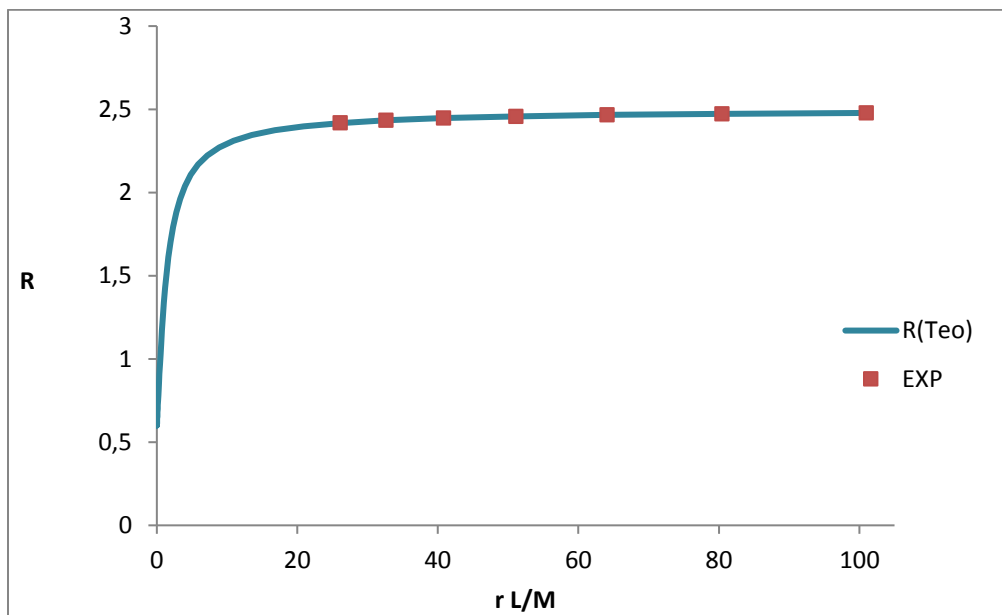


Figura 4.23. Gráfica de $R=f(r)$ del sistema de complejos FmCD y Fm₂CD, aplicando el modelo de cálculo robusto, con $[Fm]=1 \times 10^{-2} M$, $\log K_{I} = 2.3$, $\log K_{II} = 4.1$, $k_L = 0$, $k_M = 60 \text{ L mol}^{-1}$, $k_{ML} = 250 \text{ L mol}^{-1}$ y $k_{M_2L} = 100 \text{ L mol}^{-1}$.

Como se puede observar de todas las gráficas anteriores, al aplicar el modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión FmCD y Fm₂CD, para una reacción poco cuantitativa y a alta concentración de Fm total, se obtiene el mismo resultado tanto por espectroscopía como por polarimetría.

Por tanto mediante polarimetría es posible medir la respuesta de la Hidroxipropil- β -ciclodextrina, y por otro lado al utilizar espectrofotometría se evalúa la respuesta del isoxicam y en ambos casos resultado de $\log K_I$ y $\log K_{II}$ es el mismo, confirmando así la formación de los complejos de inclusión.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

5.1 CONCLUSIONES

Conforme al análisis de los sistemas de complejos Isoxicam-HPBCD en medio básico monitoreados durante 21 días y los complejos en medio ácido, es posible establecer que los complejos en medio básico son mucho más solubles que los formados en medio ácido.

Por otra parte, si los sistemas de complejos en medio básico son sonicados para su preparación, muestran una mayor absorbancia que si se preparan sin sonicar, lo cual sugiere que alcanzan más rápido su equilibrio si se les aplica ultrasonido. De este sistema se estimó un valor de $\log K_I = 2.3$.

El uso de la HPBCD 0.1M, con el isoxicam permitió en las valoraciones llegar a un pH más bajo y utilizar una concentración mayor de isoxicam comparado con la valoración que se realizó sin HPBCD, esto pone en evidencia la formación de complejos de inclusión isoxicam-HPBCD.

El uso de la HPBCD 0.01 M en los sistemas de valoraciones, permite saber que utilizando estas concentraciones, no es posible formar complejos de inclusión, como era de esperarse ya que no son reacciones cuantitativas; a diferencia de los sistemas de valoraciones con HPBCD 0.1M. De las valoraciones aplicándoles el modelo se obtuvo un valor de $pK_a' = 4.5$

Finalmente con el valor de $\log K_I$ y $\log K_a'$ se obtuvo un valor de $\log K_{II} = 3$, el cual de acuerdo a las gráficas descritas anteriormente, así como algunos datos que se procesaron con el programa SQUAD indican que es correcto.

El modelo de cálculo aplicado a los datos encontrados en la literatura para piroxicam fue fundamental para el diseño de los experimentos del sistema isoxicam-HPBCD.

Las mediciones de rotación molar de los diferentes sistemas de Isoxicam- HPBCD en diferentes intervalos de días, manifiesta un cambio en la rotación molar de los sistemas respecto a la curva estándar, lo cual indica la presencia de complejos de inclusión Isoxicam-HPBCD.

El valor de $\log K_{II}$ también se confirmó con polarimetría (para medir la respuesta generada por la Hidroxipropil- β -ciclodextrina) y espectrofotometría (con la que se

detectó el cambio generado por el isoxicam) aplicando en ambos casos el modelo de cálculo robusto para el sistema en que se forman los complejos de inclusión $FmCD$ y Fm_2CD , para una reacción poco cuantitativa.

Los resultados obtenidos hasta ahora han sido indicativos en cuanto a la formación de complejos de inclusión isoxicam-HPBCD, de los cuales no se ha encontrado nada reportado.

5.2. PERSPECTCTIVAS

Las valoraciones conductimetricas de los sistemas isoxicam-HPBCD, muestran un comportamiento diferente al de la valoración de NaOH, lo cual pone en evidencia la

formación de complejos de inclusión Isoxicam-HPBCD, sin embargo se requiere estudiar más a fondo y con más experimentos el comportamiento de estos sistemas mediante esta técnica analítica.

Se seguirá trabajando con el ajuste del modelo teórico, así como con el programa SQUAD, para determinar constantes de equilibrio de complejos de inclusión.

6.BIBLIOGRAFÍA

1. D-C. Amzoiu, E. Amzoiu, F. Popescu. Oxicams Structural Characteristics Determined by Molecular Modeling Methods. *Curr. Health Sci. J.* **36** [2] 101-105 (2010).
2. K. T.Olkkola,A. V. Brunetto,J. M. Mattila.Pharmacokinetics of oxycam nonsteoidal anti-inflammatory agents. *Clin Pharmacokinet.* **26**[2] 107-120 (1994).
3. C. M. Modi, S.K. Mody, H.B. Patel, G.B. Dudhatra, A. Kumar, M. Avale. Toxicopathological overview of analgesic and anti-inflammatory drugs in animals. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2** [1] 149-157 (2012).
4. G. Tamasi. Structure, biological activity and strategies for administration. *J Appl Crystallogr.* **3** [1] 41-53(2010)
5. G. Salgado-Morána, L. Gerli-Candiab, J. I. Martínez-Arayac, R. Ramírez-Tagledand, D. Glossman-Mitnike. Oxicams: computational thermochemical parameters and solubility. *International J. Pharm. Bio Sci.* **4** [2] 374-382 (2013).
6. G. Dal, Z. Octayer, A-K. D. Dogrukol. Validated method for the determination of piroxicam by capillary zone electrophoresis and its application to tablets. *J Anal Methods Chem.* **2014** [1] 1-7 (2014).
7. M.R Hernández, A. Maderos, S. Domínguez, A. Orlandini, C.A. Ghilarcli, F. Cecconi, et al. Speciation study of the anti-inflammatory drug tenoxicam (Htenox) with Cu(II): X ray crystal structure of $[Cu(tenox)_2(Py)_2] \cdot etOH$. *J Inorg Biochem.* **95** [1] 131-140(2003).
8. G. Dipasquale, C. Rassaert, R. Richer, P. Welaj, R. Gingold, R. Singer, The anti-inflammatory properties of isoxicam (4-hidroxy-2-methyl-N-[5-Methyl-3-isoxolyl-2H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide 1,1 dioxide]).*Inflam. Res.* **5**, 256-263 (1975).

9. M. M. Rojas, C. F. Lozano, G.G Zorrilla, G. E. Vergara, A. M. Quiroz. Direct electrosynthesis of Cu, Cd, Zn complexes of piroxicam (4-hydroxy-2-methyl-N-(2pyridyl)-2H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide) and isoxicam (4-hydroxy-2-methyl-N-(5-methyl-3-isoxazolyl)-2H-1,2-benzothiazine-3carboxamide-1,1-dioxide) in nonaqueous media by in situ generation of supporting electrolyte. *Polyhedron*. **18** [1] 2651-2658 (1999).
10. D. Demertzi-Kovala, Recent advances on non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs: Organotin complexes of NSAIDs, *J Organomet Chem*. **691** [8]1767–1774 (2006).
11. G. Martínez, M. Gómez. Ciclodextrina complejos de inclusión en polímeros. *R. Iberoam. Polim*. **8** [4] 300-312 (2007).
12. M-D Valle. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochem*. **39** [9] 1033-1046 (2004).
13. T. Loftson, D. Duchene. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int. J. Pharm*. **329** [1] 1-11. (2007).
14. A. Villers. Sur la fermentation de la féculé par l'actopn du butgrique. *Compt. Rend. Acad. Sci*. **112** [1] 536-538 (1891).
15. F. Schardinger. Uber thermophile bakterien aus verschiedenen speisen and milch, sowe uber einige. Umsetzungsprodukte derselben in kohlenhydrathaltigen nahrlosungen, darunter krystallisierte polysaccharide (dextrin) aus starke. *Z. Untersuchh. Nahr. Genussm*. **6**[1] 865-880 (1903).
16. F. Schardinger. Bildung kristallisierter polysaccharide (dextrine) aus starkleister durch microben. *Zentralbl.Bakteriol.Parasintek*. **29** [2] 188-197 (1911).
17. C. de Garcia Venturini, J. Nicolini, C. Machado, V. Gageiro Machado. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. *Quim. Nova*. **31** [2] 360-368 (2008).

18. R. Saltão, F. Veiga. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. **37** [1] 1-17 (2001).
19. B. Pose Vilarnovo. Efecto de las ciclodextrinas sobre la cesión de fármacos en matrices de hidroxipropilmetilcelulosa [tesis doctoral]. Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Farmacia; 2005.
20. C. Filho, S. Barreto. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl. **28** [1] 1-9 (2007).
21. J.C. Miranda, T-A Martins, F. Veiga, H. G. Ferraz. Cyclodextrins and ternary complexes: technology to improve solubility of poorly soluble drugs. Braz. J. Pharm. Sci. **47**[4] 665-681 (2011).
22. T. Loftson, M. Masson, M. E. Brewster. Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. J. Pharm. Sci. **93**[1] 1091-1099 (2004).
23. T. Loftson, A. Magnúsdóttir, M. Masson, J. F. Sigurjonsdóttir. Self-association and cyclodextrin solubilization of drugs. J. Pharm. Sci. **91** [1] 2307-2316 (2002).
24. J. Jang, T-L Yaksh, F. Hill. Use of 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin as an intrathecal drug vehicle with opioids. J. Pharmacol. Exp. Ther. **261** [2] 592-600 (1992).
25. D. Araujo, S. Tsuneda, C. Cereda, F. Carvalho, P. Preté, S. Fernández, et al. Development and pharmacological evaluation of ropivacaine-2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex. Pharm. Sci. **33** [1] 60-71 (2008).
26. R. Challa, A. Ahyia, J. Ali, R. Khar. Cyclodextrins in drug delivery: An updated review. Pharm. Sci. Tech. **6** [2] 329-357 (2005).
27. V-C. Carrascón. Mejora de la solubilidad de antitumorales inhibidores de topoisomerasa I mediante la formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas. Reduca. **6** [1] 57-62 (2014).

28. H.M. Cabral, J. Hadgraf, I.W. Kellaway. Studies of cyclodextrin inclusion complexes. I. The salbutamol-cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC. *Int. J. Pharm.* **63** [1] 259-266 (1990).
29. J. Szejtli. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem. Rev.* **98** [1] 1743-1753 (1998).
30. A.M. Prabhu, V.K. Subramanian, N. Rajendiran. Excimer formation in inclusion complexes of β -cyclodextrin with salbutamol, sotalol and atenolol: spectral and molecular modeling studies. *Spectrochim. Acta.* **96** [1] 95-107 (2012).
31. A. Braibanti, E. Fiscaro, A. Ghiozzi, C. Compari, G. Bovis. Host-guest interactions between β -cyclodextrin and piroxicam. *React. Funct. Polym.* **36** [1] 95-107 (1998).
32. M-G. Escanadar. Spectrofluorimetric determination of piroxicam in the presence and absence of β -cyclodextrin with salbutamol, sotalol and atenolol: Spectral and molecular modeling studies. *Analyst.* **124** [1] 587-591 (1999).
33. Woodcock, B.; Acerbi, G.D.; Merz, P.G.; Rietbrock, S.; Rietbrock, N. Supermolecular inclusion of piroxicam with beta-cyclodextrin: pharmacokinetic properties in man. *Eur. J. Rheumatol. Inflamm.* **12** [1], 12-28 (1993).
34. M. J. Jenita, G. Venkatesh, V.K. Subramanian, N. Rajendiran. Excimer formation in inclusion complexes of antihypertensive drugs with HP- α - and HP- β -cyclodextrins. *Indian J. Chem.* **52** [1] 207-2016 (2013).
35. C. Nicolescu, C. Arama, A. Nedelcu, C-M. Monciu. Phase solubility studies of the inclusion complexes of β -cyclodextrin and β -cyclodextrin derivatives. *Farmacia.* **58** [5] 620-628 (2010).

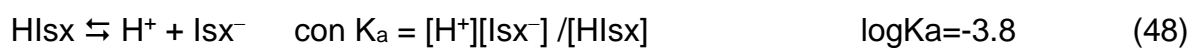
36. A. B. Rivera, O. B. Agulea. Síntesis y caracterización de complejo de inclusión de cromo con fenilalanina en β -ciclodextrina [β -CD(d-Cr(phe)₃)]. El hombre y la máquina. **33** [1] 118-132 (2009).
37. R. Singh, N. Bharti, J. Madan, S. N. Hiremath. Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complexes – A Review. J. Pharm. Sci. Technol. **2**[3] 171-183 (2010).
38. D. Rodríguez-Barrientos, A. Rojas-Hernández, A. Gutiérrez, R. Moya-Hernández, R. Gómez-Balderas, M. T. Ramírez-Silva. Determination of pKa values of tenoxicam from ¹H NMR chemical shifts and of oxicams from electrophoretic mobilities (CZE) with the aid of programs SQUAD and HYPNMR. Talanta. **80** [1] 754-762 (2009).
39. P. Mura. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in aqueous solution: A review. Biomed. Anal. **101** [1] 238-250 (2014).
40. D. S. Guzmán-Hernández, M. T. Ramírez-Silva, A. Rojas-Hernández, M. Palomar-Pardavé, M. A. Romero-Romo. Spectrophotometric and electrochemical quantification of the host–guest interaction of tenoxicam and β -CD in aqueous solution at different pH values. J. Electroanal. Chem. **143** [1] 20-26 (2015).
41. T. F. Pessine, A. Calderini, G. Alexandrino. Review: Cyclodextrin Inclusion Complexes Probed by NMR Techniques. Intech. **12** [1] 237-264 (2012).
42. A. Micci, L. Schenetti, A. Vandelli, B. Ruozi, F. Forni. Evidence of the existence of 2:1 Guest-Host complex between diclofenac and cyclodextrins in D₂O solutions. A ¹H and ¹³C NMR study on diclofenac/ β -cyclodextrin and diclofenac/2-Hidroxypropyl- β -cyclodextrin systems. J. Chem. Research. **7** [7] 414-415 (1999).
43. Y. Matsui, K. Kinugawa. Spectrophotometric and polarimetric investigations on complex formation between copper (II) and cyclodextrins in an alkalene solutions. Bul. Chem. Soc. Jpn. **58** [1] 2981-2986 (1985).

44. L.P. Meo, F. D'Anna, M. Gruttadauria, S. Riela, R. Noto. Binding properties of mono-(6-deoxy-6-amino)- β -cyclodextrin towards p-nitroaniline derivatives: a polarimetric study. *Tetrahedron*. **65** [50] 10413-10417 (2009).
45. A. Rojas-Hernández, N. Rodríguez-Laguna, M. T. Ramírez-Silva, R. Moya-Hernández. Distribution Diagrams and Graphical Methods to Determine or to Use the Stoichiometric Coefficients of Acid-Base and Complexation Reactions. *Stoichiom. Res.* **13** [1] 288-310 (2012)
46. Y. Marcus. On the Use of the Molar Ratio Method for Determining Association Stoichiometry. *Isr. J. Chem.* **5** [4] 143-149 (1967).
47. J. O Wear. Mathematics of the Variation and Mole Ratio Methods of Complex Determination. *J. Ark Acad.* **22** [1] 99-101 (1968).
48. N. Rodríguez-Laguna, A. Rojas-Hernández, M. T. Ramírez-Silva. Estudio y comportamiento de la capacidad buffer de mezclas de especies de un mismo sistema polidonor de protones. *Educ. Quim.* **25** [1] 210-222 (2014).
49. Gaston Charlot. Curso de química analítica general. Tomo I. 2ªed. Ed. Toray Masson.
50. A. Ringbom Formación de Complejos en Química Analítica. Alhambra. 1979.

7. ANEXOS

Anexo A

Si el isoxicam tiene un valor de $pK_a = 3.81^{[33]}$, el equilibrio químico entre sus formas ácida (HIsx) y básica (Isx⁻) puede escribirse como:



Considerando la formación de un complejos 1:1 de $Isx(CD)$; se tiene:



Y



Considerando los resultados experimentales y el modelo de cálculo robusto se tiene que:



De acuerdo a la ley de Hess y los equilibrios anteriores

$$\log K_{a'} = \log K_a + \log K_I - \log K_{II} \quad (52)$$

Para conocer $\log K_{a'}$ se necesita conocer valores de $\log K_I$ y $\log K_{II}$ y los experimentos que se hicieron variando la concentración de CD se pueden utilizar para estimar dichos valores.

Para determinar $\log K_I$, se utilizó en el sistema isoxicam $2 \times 10^{-4}M$ y $10^{-4}M$ y concentraciones variables de HPBCD en medio básico, descritos en la sección de experimentación, resultando un valor de $\log K_I = 2.3$ para todos los sistemas y aunque aumenta la absorbancia con el tiempo, el valor de $\log K_I$ es el mismo (aunque los coeficientes de absorción varían un poco por el cambio de absorbancia).

La comparación de ambos sistemas se muestra en la figura 1A.

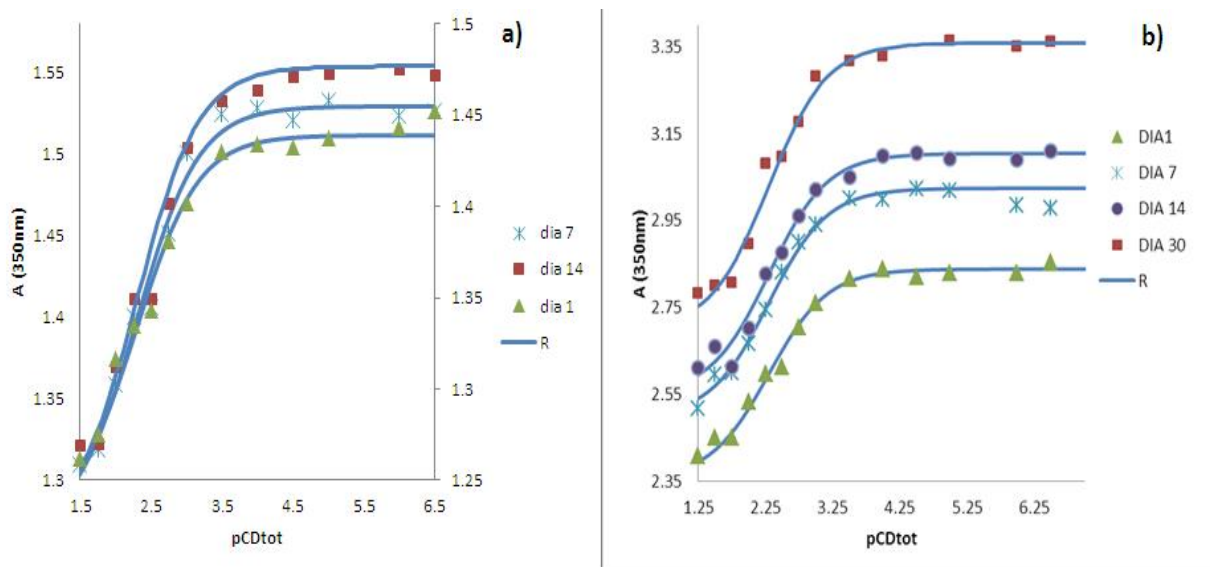


Figura 1A. Modelo robusto de los sistemas a) isoxicam 10^{-4} M y b) isoxicam 2×10^{-4} M, con HPBCD a concentraciones variables, en medio básico, con $\log K_{II}=2.3$ para ambos sistemas y constante durante todos los días.

Para determinar $\log K_{II}$ se utilizó el seguimiento de sistemas en medio ácido de isoxicam a concentración constante de 10^{-6} M y concentraciones variables de HP- β -CD, descritos en la sección de experimentación, resultando un valor de $\log K_{II}=5.8$.

Se aplicó el modelo de cálculo y se obtuvo la sigmoide de la figura 2A.

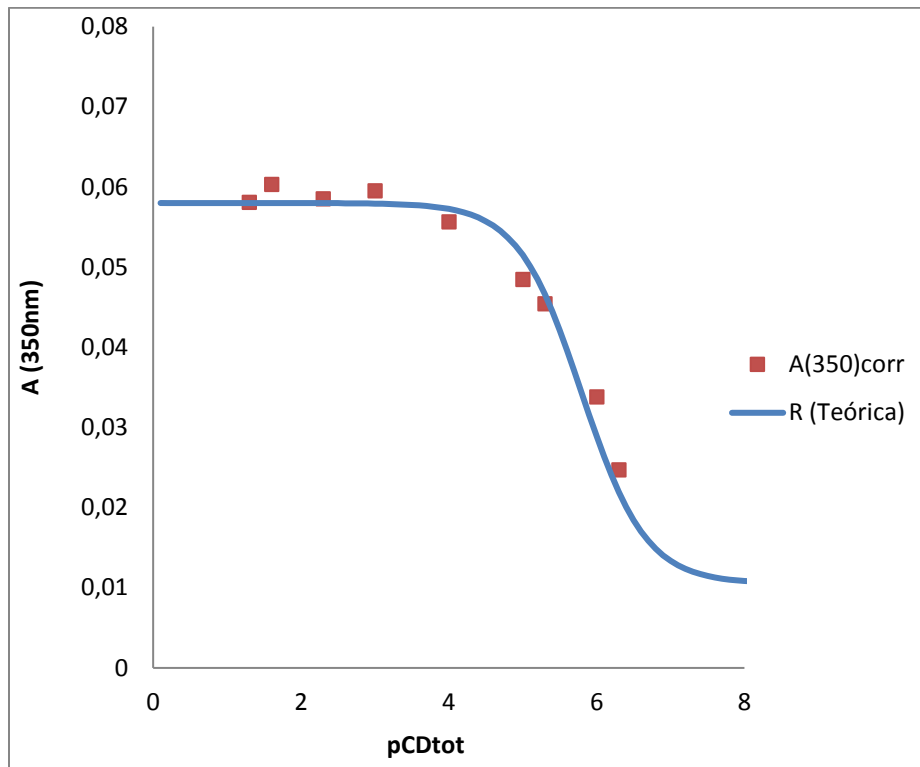


Figura 2A. Modelo robusto de los sistemas isoxicam 10^{-6} M con HP- β -CD a concentraciones variables, en medio ácido (día 1). Con los siguientes factores de respuesta: $[ISX]=10^{-6}$ M, $\log K_{II}=5.8$, $kFm_{CD}=58000\text{Lmol}^{-1}$, $kFm=10550\text{Lmol}^{-1}$.

Sustituyendo los valores de $\log K_I$ y $\log K_{II}$, a partir de los datos experimentales, el modelo de cálculo robusto y los datos reportados en la bibliografía se tiene que:

Si $\log Ka' = \log Ka + \log K_I - \log K_{II}$ como se estableció en la ecuación 52.

Entonces, sustituyendo los valores de $\log K_I$ y $\log K_{II}$ en la ecuación 52

$$\log Ka' = -3.8 + 2.3 - 5.8 = -7.3$$

Considerando los valores obtenidos de K_I y K_{II} , se esperaba (por el resultado de las valoraciones) un $\log K_a'$ de -4.5, sin embargo el valor determinado en este anexo no concuerda.

De los dos valores de constante de inclusión, el valor de $\log K_I$ es más confiable ya que se pudo trabajar a una mayor concentración de isoxicam, se logró mayor reproducibilidad (se trabajaron tres sistemas). Además, en las soluciones no hubo formación de precipitado durante los 30 días; y si bien hubo aumento en la absorbancia con el tiempo cuando el isoxicam estaba en concentración 2×10^{-4} M, el valor de $\log K_I = 2.3$ permitió ajustar todas las curvas.

El valor de $\log K_{II}$ no es tan confiable, ya que la concentración de isoxicam a la que se pudo trabajar es muy baja (1×10^{-6} M), además que el sistema solo está en solución durante el primer día, por lo que no se podría asegurar que las soluciones estén en equilibrio.

Si se acepta entonces que $\log K_a' = -4.5$ como se obtuvo en las titulaciones ácido-base con ciclodextrina fija y $\log K_I = 2.3$, se podría estimar un valor más plausible de $\log K_{II}$ despejando su valor de la ecuación 52.

$$\log K_a' = \log K_a + \log K_I - \log K_{II}$$

$$\log K_{II} = \log K_a + \log K_I - \log K_a' = -3.8 + 2.3 + 4.5 = 3.0$$

ANEXO B

CONDUCTIMETRÍA

Se hizo una valoración de NaOH para tener una referencia al trabajar los sistemas de complejos, como se puede observar de la figura 1B la medición de conductividad en mS/cm va en forma descendente hasta que alcanza un punto de inflexión donde ahora asciende de manera sigificativa.

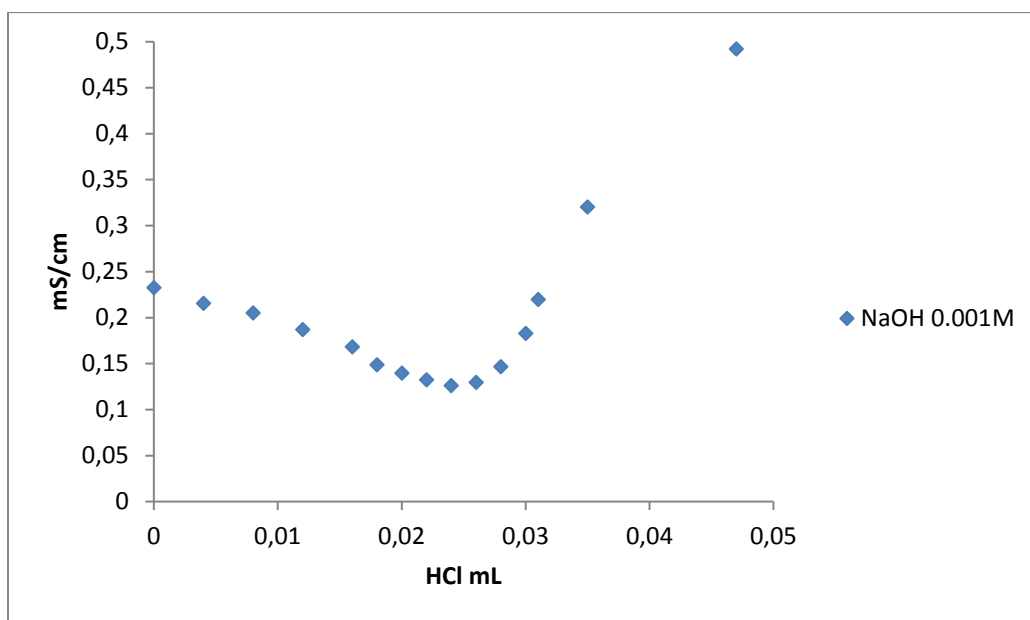


Figura 1B. Gráfica de mS/cm en función de volumen agregado de HCl 1 M, la conductividad de la solución desciende hasta aproximadamente 0.025, para despues subir de manera drástica.

De las valoraciones conductímetricas de sistemas Isoxicam-HPBCD se observó que la conductividad de la HPBCD cambiaba respecto a la valoración que se hizo de NaOH para tomar como referencia, al inicio de la valoración la conductividad va en ascenso de manera gradual hasta llegar a un punto donde aumenta de manera rápida, lo cual pone en evidencia la formación de complejos de inclusión, ya que a diferencia de la que se hizo solo con NaOH en la de los sistemas Isoxicam- HPBCD

la conductividad nunca disminuyó en todo el proceso, se comportó de manera ascendente como se muestra en la figura 2B.

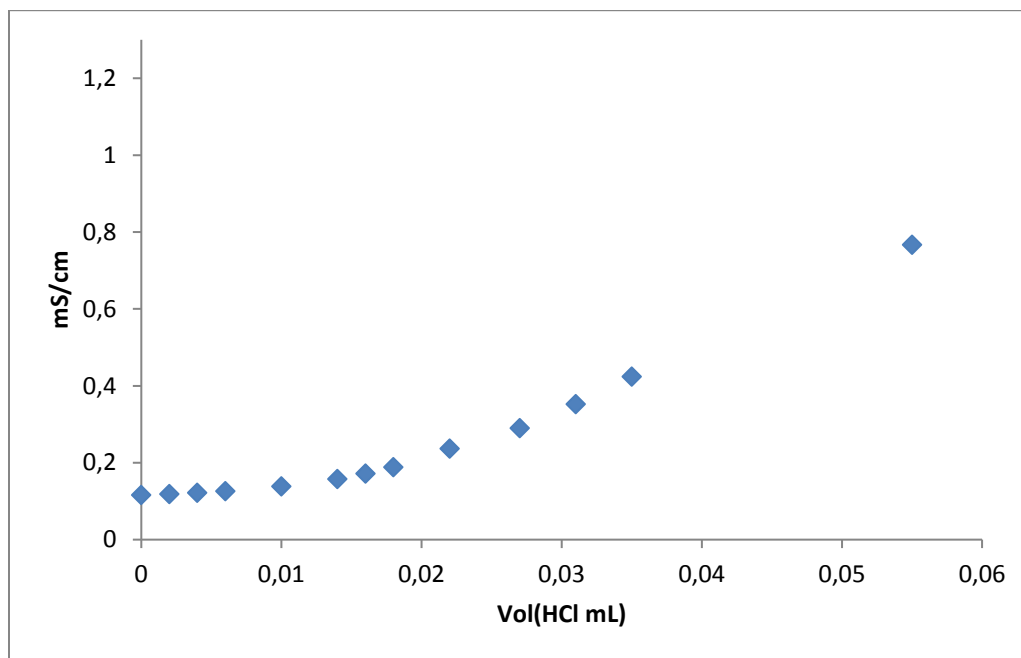


Figura 2B. Valoración conductímetrca del sistema Isoxicam 2.4×10^{-4} M- HPBCD 0.1M en NaOH 10^{-3} M.

En la figura 2B se puede observar que con la adición de HPBCD al sistema al inicio hay un ligero aumento de mS/cm, lo cual no ocurre al valorar NaOH sin HPBCD - Isoxicam, esto indica la probable formación de un complejo de inclusión.



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00067
Matrícula: 234360743

DETERMINACIÓN DE LAS
CONSTANTES DE EQUILIBRIO
DE INCLUSIÓN DE LOS
COMPLEJOS DE ISOXICAM CON
2- HIDROXIPROPIL-β-
CICLODEXTRINA

En la Ciudad de México, se presentaron a las 10:00 horas del día 4 del mes de mayo del año 2017 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. MARIA TERESA RAMIREZ SILVA
DRA. GABRIELA ROA MORALES
DR. CARLOS ANDRES GALAN VIDAL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD AUTÓNOMA IZTAPALAPA

Desde el día 09 MAY 2017

09 MAY 2017

COORDINACIÓN DE SISTEMAS ESCOLARES

En la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS (QUIMICA)
DE: FRANCISCA YURIMO RODRIGUEZ ORDUÑO



FRANCISCA YURIMO RODRIGUEZ ORDUÑO
ALUMNA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

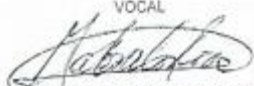
Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTOR DE LA DIVISION DE CBI

DR. JOSE GILBERTO CORDOBA HERRERA

PRESIDENTA

DRA. MARIA TERESA RAMIREZ SILVA

VOCAL

DRA. GABRIELA ROA MORALES

SECRETARIO

DR. CARLOS ANDRES GALAN VIDAL