

## Termodinámica de la inclusión de clorpropamida en $\alpha$ -ciclodextrina Thermodynamics of the inclusion of chlorpropamide within $\alpha$ -cyclodextrin

J. González-Barbosa <sup>\*</sup>, A. R. Hipólito-Nájera , R. Gómez-Balderas , N. Rodríguez-Laguna , R. Moya-Hernández 

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

### Resumen

La clorpropamida es un agente antidiabético perteneciente a la familia de las sulfonilureas, utilizado para el tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2, este fármaco presenta una baja solubilidad lo que conlleva a problemas de biodisponibilidad, una forma de solucionar esta complicación es utilizando ciclodextrinas, las cuales son oligosacáridos que presentan una forma toroidal semirrígida, poseen una cavidad hidrófoba, capaz de contener moléculas no polares en su interior formando un complejo de inclusión. La titulación calorimétrica isotérmica es una técnica que permite conocer el perfil termodinámico de la reacción de inclusión entre la clorpropamida y la  $\alpha$ -ciclodextrina ( $\log K = 1.95 \pm 0.01 \text{ M}^{-1}$ ,  $\Delta G^0 = -2.70 \pm 0.005 \text{ kcal mol}^{-1}$ ,  $\Delta H^0 = -3.47 \pm 0.06 \text{ kcal mol}^{-1}$ ,  $-T\Delta S^0 = 0.763 \pm 0.07 \text{ kcal mol}^{-1}$ ), de igual forma permite realizar reacciones a diferentes temperaturas, con lo cual es posible determinar la capacidad calorífica de la inclusión ( $\Delta C_p^0 = -0.119 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ). Los resultados obtenidos muestran que la reacción es exotérmica, espontánea y que las interacciones que predominan son las hidrofóbicas.

**Palabras Clave:** clorpropamida,  $\alpha$ -ciclodextrina, complejo de inclusión, ITC, capacidad calorífica.

### Abstract

Chlorpropamide is an antidiabetic agent belonging to the sulfonylurea family, used for the treatment of Type 2 Diabetes Mellitus this drug has low solubility, which leads to bioavailability problems. One way to solve this complication is by using cyclodextrins, cyclodextrins are oligosaccharides that have a semi-rigid toroidal shape with a hydrophobic cavity, which is capable of containing non-polar molecules inside, forming an inclusion complex. Isothermal titration calorimetry is a technique that allows knowing the thermodynamic profile of the inclusion reaction between chlorpropamide and  $\alpha$ -cyclodextrin ( $\log K = 1.95 \pm 0.01 \text{ M}^{-1}$ ,  $\Delta G^0 = -2.70 \pm 0.005 \text{ kcal mol}^{-1}$ ,  $\Delta H^0 = -3.47 \pm 0.06 \text{ kcal mol}^{-1}$ ,  $-T\Delta S^0 = 0.763 \pm 0.07 \text{ kcal mol}^{-1}$ ), in the same way it allows reactions to be carried out at different temperatures, with which it is possible to determine the calorific capacity of the inclusion ( $\Delta C_p^0 = -0.119 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ). The results obtained show that the reaction is exothermic, spontaneous and that the interactions that predominate of hydrophobic nature.

**Keywords:** chlorpropamide,  $\alpha$ -cyclodextrin, inclusion complex, ITC, heat capacity.

## 1. Introducción

La diabetes mellitus (DM) es un grupo de afecciones (síndrome metabólico) en las que los niveles de glucosa son anormalmente altos. La DM puede verse como un estado metabólico anormal, caracterizado por sobreproducción de glucosa e infrautilización de la misma. Estas anomalías son el resultado de una secreción insuficiente de insulina en respuesta a la glucosa y la insensibilidad de los tejidos a las acciones de la insulina (Emilien y Maloteaux, 1999).

La DM es una enfermedad que padecen alrededor de 8,600,000 personas en México, según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 publicada por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (Ojeda, 2020). La diabetes fue la tercera causa de muerte a nivel nacional en el 2021, con 151,214 decesos, solo por debajo de las enfermedades del corazón (218,885 muertes) y el COVID-19 (201,163 muertes) (Boletín UNAM, 2021). De forma general, existen dos tipos de DM la Tipo 1 (DM1) y la 2 (DM2).

<sup>\*</sup>Autor para la correspondencia: barjeo@gmail.com

**Correo electrónico:** barjeo@gmail.com (Jeovani González-Barbosa), arnhrcp@hotmail.com (Adrián Ricardo Hipólito-Nájera), gomezr@gmail.com (Rodolfo Gómez-Balderas), normarola@cuautitlan.unam.mx (Norma Rodríguez-Laguna), rosariomoya@gmail.com (Rosario Moya-Hernández)

### 1.1. Diabetes mellitus Tipo 1

En las personas con DM1, el páncreas produce muy poca o no produce insulina en absoluto. La DM1 es un trastorno autoinmune en el que las células T activadas se infiltran en los islotes de Langerhans y destruyen por completo las células  $\beta$  productoras de insulina. Los pacientes con esta afección dependen de las inyecciones diarias de insulina para sobrevivir, las cuales, son administradas en intervalos que se basan en la cantidad y el contenido de las comidas y la sensibilidad de cada paciente a los efectos biológicos de la hormona. Algunos síntomas son la micción frecuente, especialmente por la noche, aumento de la sed, pérdida de peso inexplicable (a pesar del aumento del apetito) y cansancio extremo. Estos síntomas son causados por la acumulación de azúcar en la sangre y su pérdida en la orina (OMS, 2020).

### 1.2. Diabetes mellitus Tipo 2

La DM2 es el tipo de diabetes más común, representa del 90 al 95 % de la diabetes diagnosticada y casi la totalidad de la diabetes no diagnosticada. Generalmente, se desarrolla en adultos mayores de 40 años y es más común en personas con sobrepeso. Las personas con DM2 producen algo de insulina, pero las células del cuerpo no pueden usarla de manera eficiente debido a que las células son resistentes a la insulina (Saeedi *et al.*, 2019). El principal tratamiento se basa en el uso de antidiabéticos orales, para la regulación de los niveles de glucosa en la sangre.

### 1.3. Tratamiento de la DM2 con sulfonilureas

Las sulfonilureas son fármacos derivados de un núcleo sulfonilureico (Figura 1), con 2 sustituyentes terminales a ambos extremos ( $R_1$ ,  $R_2$ ), de cuya sustitución se derivan los diferentes compuestos (Pallardo, 2008), se dividen en dos categorías, los de primera generación (clorpropamida, tolbutamida, acetohexamida y tolazamida) y segunda generación (glibenclamida, glipizida, glibornurida, gliquidona, gliclazida y glicempirida) (Furman, 2016).

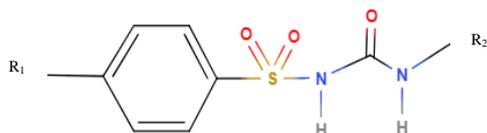


Figura 1: Núcleo sulfonilureico.

La clorpropamida (CPM) Figura 2, es un agente antidiabético introducido para uso clínico en 1958, es utilizado junto con una dieta balanceada y el ejercicio para reducir los niveles de glucosa en la sangre de pacientes con DM2, es administrada por vía oral, (Linderman y Syracuse, 1960). El fármaco es prácticamente insoluble en agua (2.2 mg/mL) lo que puede conducir a una mala disolución que a su vez puede provocar una disminución en la tasa de biodisponibilidad (Barega y Dastmalchi, 2007). Algunos efectos secundarios que presenta son: el aumento de peso, hipoglucemia, hepatitis, disminución de orina y alergia (Pallardo, 2008).

Las ciclodextrinas (CDs) son oligosacáridos cíclicos que constan de 6 a 8 unidades de glucosa unidos a través de enlaces glucosídicos  $\alpha$ -1,4 (Figura 3), tienen una estructura molecular

toroidal semirrígida y una cavidad interior de volumen específico (Peraro y Aconi, 2018), han sido ocupadas en la industria farmacéutica por su habilidad para contener moléculas hidrófobas en su interior en solución y en estado sólido, dando como resultado complejos de inclusión, con lo cual, se mejoran ciertas propiedades tales como, la solubilidad, estabilidad y biodisponibilidad de medicamentos, así como la disminución de algunos efectos secundarios, otra ventaja que conlleva la inclusión es la de convertir compuestos que son líquidos o gases en sólidos estables solubles en agua (Sonoda *et al.*, 2004).

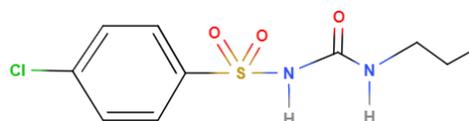


Figura 2: Estructura de la clorpropamida.

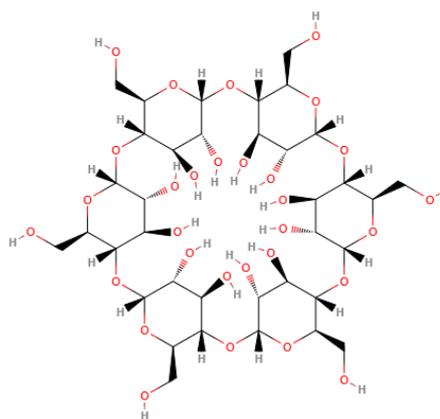


Figura 3: Estructura de la  $\alpha$ CD.

## 2. Métodos y Materiales

### 2.1. Materiales

La CPM (pureza, 97%) y la  $\alpha$ -ciclodextrina (pureza, 98%) utilizadas fueron de la marca Sigma-Aldrich, el fosfato de sodio dibásico anhidro (pureza, 99%) fue marca J. T. Baker; se usó agua desionizada obtenida de un purificador de agua PureLab-ELGA (18.2 m $\Omega$  cm).

### 2.2. Procedimiento para estudio por medio de Titulación Calorimétrica Isotérmica

La constante de inclusión, así como demás parámetros termodinámicos ( $\Delta H^0$ ,  $\Delta G^0$ ,  $-\Delta S^0$ ) de la interacción entre CPM con  $\alpha$ CD fueron determinados usando un calorímetro de titulación isotérmica (ITC MicroCal VP-ITC G. E. Healthcare). La disolución de CPM ( $1 \times 10^{-3}$  M) fue preparada en buffer de fosfatos 0.1 M a pH= 7, a este pH la especie predominante de CPM es el anión (CPM $^-$ ). La disolución de  $\alpha$ CD ( $1.5 \times 10^{-2}$  M) también se preparó en buffer de fosfatos 0.1 M a pH= 7. Para llevar a cabo la titulación calorimétrica isotérmica se colocó en la celda de reacción la CPM $^-$  y la microbureta se llenó con la disolución de  $\alpha$ CD. La primera inyección (2  $\mu$ L) se descartó para eliminar los efectos de difusión, se realizaron 13 inyecciones consecutivas de 20  $\mu$ L

con una duración de 40 s cada una, un espaciado entre cada inyección de 360 s, la velocidad de agitación fue de 306 rpm y una temperatura de 298.15 K. Para corregir el termograma y la curva de enlace de esta reacción, se llevó a cabo una titulación para obtener el calor de dilución que sufre la  $\alpha$ CD; para ello se colocó solución buffer en la celda de reacción y la disolución de  $\alpha$ CD en la microbureta. Los datos fueron recopilados y analizados con el programa PEAQ-ITC, considerando un modelo de estequiometría 1:1, como sigue.



### 2.3 Estudio para la determinación de $\Delta C_p^0$

Para la determinación del  $\Delta C_p^0$  del complejo de inclusión se obtuvieron los valores de  $\Delta H^0$  a cuatro temperaturas diferentes (298.15, 303.15, 308.15 y 313.15 K), las condiciones experimentales fueron las mismas que se ocuparon para la determinación de la constante de inclusión. De igual forma, los datos se recopilaron y analizaron por el programa PEAQ-ITC, usando el mismo modelo de equilibrio (1) con estequiometría 1:1.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1. Titulación Calorimétrica Isotérmica

La determinación de las constantes de estabilidad de los complejos de inclusión ha sido reportada por varios autores utilizando una variedad de técnicas, tales como solubilidad, potenciometría, polarografía y métodos espectroscópicos. Estos métodos, sin embargo, no parecen los más adecuados para los compuestos químicamente inestables, para los sistemas que no tienen cambios espectrales o cuando presentan interacciones débiles (Uekama *et al.*, 1978).

La titulación calorimétrica isotérmica (ITC) se ha aplicado ampliamente para investigar las fuerzas biomoleculares en la interacción entre CD y moléculas huésped. ITC determina las principales fuerzas motrices involucradas en la formación del complejo de inclusión, así como el perfil termodinámico: la constante de inclusión (K), la estequiometría (N), entalpía ( $\Delta H^0$ ), entropía ( $\Delta S^0$ ) y energía libre de Gibbs ( $\Delta G^0$ ) (Xavier *et al.*, 2019).

Los calores de la complejación se analizaron con el programa PEAQ-ITC y el análisis se realizó como se describió en el apartado de métodos y materiales. La Figura 4 muestra el termograma de reacción, y la isoterma de enlace de la inclusión entre  $\text{CPM}^-$  y la  $\alpha$ CD. Los parámetros termodinámicos ( $\Delta H^0$ ,  $\Delta G^0$  y  $-\Delta S^0$ ) y la constante de inclusión se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Perfil termodinámico del complejo  $\text{CPM-}\alpha\text{CD}^-$

$\log K$ ( $M^{-1}$ )	$\Delta H^0$ ( $\text{kcal mol}^{-1}$ )	$\Delta G^0$ ( $\text{kcal mol}^{-1}$ )	$-\Delta S^0$ ( $\text{kcal mol}^{-1}$ )
$1.95 \pm 0.01$	$-3.47 \pm 0.06$	$-2.70 \pm 0.005$	$0.763 \pm 0.07$

En el termograma (Figura 4) de reacción se puede observar que los picos son negativos, lo que indica que en el momento de hacer la adición de la  $\alpha$ CD en la celda de reacción donde se encuentra la  $\text{CPM}^-$ , se eleva la temperatura de ésta con

respecto a la celda de referencia, por lo tanto, el sistema debe disminuir la temperatura de la celda para igualarla con la temperatura de la celda de referencia, esto indica que se tiene una reacción exotérmica, por lo que, se obtendrá una entalpía negativa. Dado a que el valor absoluto de  $\Delta H^0$  es mayor que el de  $-\Delta S^0$  indica que las interacciones que predominan en el proceso de inclusión de la  $\text{CPM}^-$  en la cavidad de la  $\alpha$ CD son fuerzas de van der Waals, hidrofóbicas, y la formación de puentes de hidrógeno (Xavier *et al.*, 2019). El  $\Delta G^0$  negativo indica que la reacción de inclusión es espontánea en el sentido de la formación del complejo (Bouchemal y Mazzaferro, 2012).

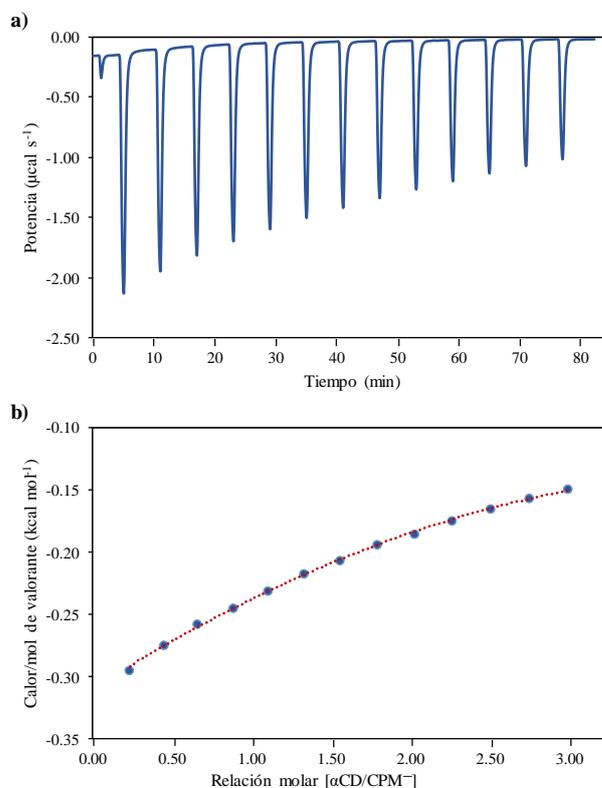


Figura 4: a) Termograma de reacción, b) Isoterma de enlace del complejo  $\text{CPM-}\alpha\text{CD}^-$  (los marcadores corresponden a datos experimentales y la línea punteada al ajuste de los datos).

### 3.2 Determinación de $\Delta C_p^0$ por medio de ITC

Para hacer la determinación del  $\Delta C_p^0$  se realizaron valoraciones de  $\text{CPM}^-$  con  $\alpha$ CD a 4 diferentes temperaturas (298.15, 303.15, 308.15 y 313.15 K) obteniendo los valores de  $\Delta H^0$  los cuales se muestran en la Tabla 2, acorde a estos valores se observa que al realizar la inclusión de la  $\text{CPM}^-$  en la ciclodextrina variando la temperatura, la reacción se fue haciendo más exotérmica con el aumento de temperatura y, por lo tanto, los valores de  $\Delta H^0$  se hicieron más negativos.

Tabla 2. Valores de  $\Delta H^0$  del complejo  $\text{CPM-}\alpha\text{CD}^-$  a diferentes temperaturas

Temperatura (K)	$\Delta H^0$ ( $\text{kcal mol}^{-1}$ ) $\pm \sigma$
298.15	$-3.74 \pm 0.06$
303.15	$-3.93 \pm 0.03$
308.15	$-4.94 \pm 0.11$
313.15	$-5.12 \pm 0.26$

Al graficar los valores de  $\Delta H^0$  contra la temperatura se obtiene la siguiente gráfica (Figura 5), en la cual se puede

observar una respuesta lineal con una pendiente negativa, para el complejo de inclusión (CPM- $\alpha$ CD<sup>-</sup>).

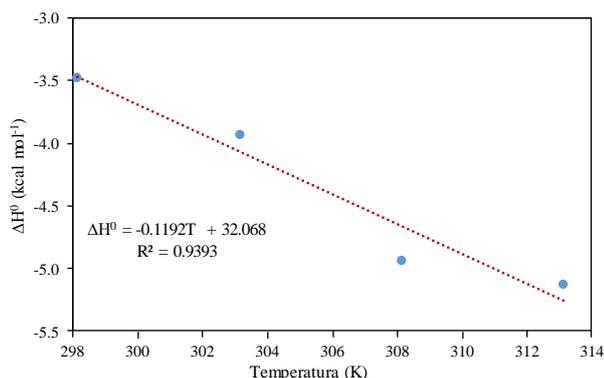


Figura 5: Gráfica del  $\Delta H^0$  en función de la temperatura (los marcadores corresponden a datos experimentales y la línea punteada al ajuste de los datos).

El valor de  $\Delta C_p^0$  se puede obtener de acuerdo con la Ecuación 2, por lo que, calculando la ecuación de la recta del gráfico anterior, se obtiene el valor del  $\Delta C_p^0$  (Illakurthy *et al.*, 2005), para el complejo CPM- $\alpha$ CD<sup>-</sup> se obtuvo un resultado de  $-0.119 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ .

$$\Delta C_p^0 = \frac{\Delta H^0(T_2) - \Delta H^0(T_1)}{T_2 - T_1} \quad (2)$$

Un valor negativo en el  $\Delta C_p^0$  es típico en asociaciones de macromoléculas en agua, en el caso del proceso de inclusión el valor negativo puede atribuirse al desplazamiento de las moléculas de agua al incluirse la CPM<sup>-</sup> en la cavidad de la  $\alpha$ CD (Illakurthy *et al.*, 2005).

#### 4. Conclusiones

En este trabajo, se estudiaron las interacciones que se originan entre la CPM<sup>-</sup> y  $\alpha$ CD por medio de ITC, dado que es un método cuantitativo que brinda de forma directa todo el perfil termodinámico al momento de la formación del complejo de inclusión, es importante señalar que por medio de este método es posible variar diversas condiciones de reacción (concentración, temperatura, fuerza iónica, etc.) por lo que es posible determinar la termodinámica de la reacción en condiciones variables. El análisis de la reacción indica que la formación de del complejo (CPM- $\alpha$ CD<sup>-</sup>) es espontánea, en donde las interacciones que predominan son las hidrofóbicas, de igual forma, el valor negativo de  $\Delta C_p^0$  indica que existe una reorganización de las moléculas de agua al momento en el que la CPM<sup>-</sup> entra a la cavidad de la  $\alpha$ CD.

#### Agradecimientos

J. González-Barbosa agradece a CONACYT por su beca de doctorado. R. Gómez-Balderas agradece al programa UNAM-PAPIIT IN221621 y N. Rodríguez-Laguna agradece a

los programas UNAM-PAPIIT IA208221 y IA209123 por el apoyo a esta investigación. R. Moya-Hernández agradece al proyecto PIAPI2035 y al Programa de Cátedras de Investigación CI2220 de la FESC-UNAM.

#### Referencias

- Barega Jalali, M., Dastmalchi, S., (2007). Kinetic analysis of chlorpropamide dissolution from solid dispersions. *Drug development and industrial pharmacy*, 63-70.  
DOI: 10.1080/03639040600762636
- Boletín UNAM., (2021). En aumento, los casos de diabetes en México. Dirección General de Comunicación Social.  
[https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2021\\_966.html#:~:text=Se%20g%20C3%20BAn%20datos%20del%20INEGI%20\(julio,21%20\(13.9%20por%20ciento\).](https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2021_966.html#:~:text=Se%20g%20C3%20BAn%20datos%20del%20INEGI%20(julio,21%20(13.9%20por%20ciento).)
- Bouchemal, K., Mazzaferro, S., (2012). How to conduct and Interpret ITC experiments accurately for cyclodextrin-guest interaction. *Drug discovery today*, 17(11), 623-629.  
DOI: 10.1016/j.drudis.2012.01.023
- Emilien, G., Maloteaux, J. M., Ponchon, M., (1999). Pharmacological management of diabetes: Recent progress and future perspective in daily drug treatment. *Pharmacology and therapeutics*, 37-51.  
DOI:10.1016/s0163-7258(98)00034-5
- Furman, B. L. (2016). Sulfonilureas. *Module in biomedical sciences*, 1-2.
- Illakurthy, A. C., Wyandt, C. M., Stodghill, S. P., (2005). Isothermal titration calorimetry method for determination of cyclodextrin complexation thermodynamics between artemisinin and naproxen under varying environmental condition. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 325-332.  
DOI: 10.1016/j.ejpb.2004.08.006
- Linderman, R. D., Syracuse, M. D., (1960). Severe hypoglycemia caused by chlorpropamide. *Diabetes*, 110-113.
- Ojeda, R., (2020). Diabetes en México: así se comporta la segunda causa de muerte en el país. Milenio.  
<https://www.milenio.com/ciencia-y-salud/diabetes-en-mexico-2020-estadisticas-y-porcentaje>
- OMS, (2020). Organización Mundial de la Salud: Temas de salud.  
[https://www.who.int/topics/diabetes\\_mellitus/es/](https://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/es/)
- Pallardo Sánchez, L. F., (2008). Sulfonilureas en el tratamiento del paciente con diabetes mellitus tipo 2. *Endocrinología y nutrición*, 17-25.  
DOI: 10.1016/S1575-0922(08)76259-4
- Peraro, C. R., Aconi, A., & Aconi, C. P., (2018). Formation of beta-Cyclodextrin inclusion compound with doxycycline: A theoretical approach. *Chemical physics letters*, 140-145.  
DOI: 10.1016/j.cplett.2017.12.024
- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., Williams, R., (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and clinical practice*, 1-10.  
DOI:10.1016/j.diabres.2019.107843
- Sonoda, Y., Hirayama, F., Arima, H., & Uekama, K., (2004). Effects 2-hydroxypropyl-B-cyclodextrin on polymorphic transition of chlorpropamide in various conditions: temperature, humidity and moulding pressure. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, 73-77.  
DOI:10.1007/s10847-004-8842-8
- Uekama, K., Hirayama, F., Nasu, S., Matsuo, N., & Irie, T., (1978). Determination of the stability constants for inclusion complexes of cyclodextrins with various drug molecules by high performance liquid chromatography. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 3477-3484.  
DOI:10.1248/cpb.26.3477
- Xavier Júnior, F. H., Tavares, C. T., Rabello, M. M., Hernandes, M. Z., Bezerra, B. P., Ayala, A. P., & Pessoa, O. D., (2019). Elucidation of the mechanism of complexation between oncolyxone A and cyclodextrins by isothermal titration calorimetry and molecular modeling. *Journal of molecular liquids*, 165-172.  
DOI:https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.10.129