

# Perfil termodinámico del sistema metformina-vanadilo por calorimetría de titulación isotérmica

## Thermodynamic profile of the metformin-vanadyl system by isothermal titration calorimetry

N. Rodríguez-Laguna <sup>\*</sup>, Y. T. Manrique-Buendía , R. Gómez-Balderas , R. Moya-Hernández   
 J. González-Barbosa 

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

### Resumen

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

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

### Abstract

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

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

## 1. Introducción

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

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

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

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

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

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

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

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

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

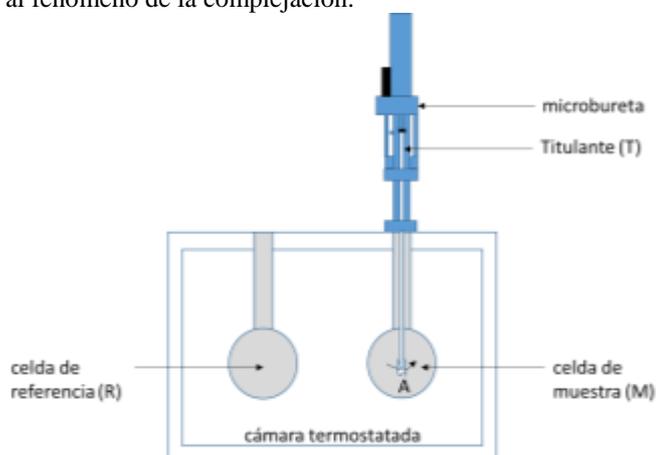


Figura 1: Partes internas del calorímetro MicroCal VP-ITC.

## 2. Experimentación

### 2.1. Reactivos, equipos y software

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

### 2.2. Metodología

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

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

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

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

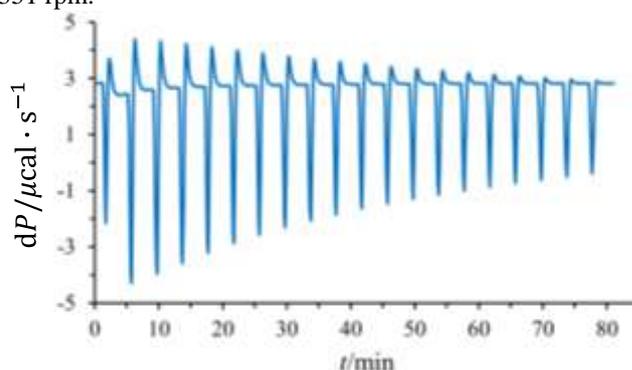


Figura 2: Termograma asociado a la interacción de metformina con el ion vanadilo a 25 °C.

### 3. Resultados y discusión

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

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

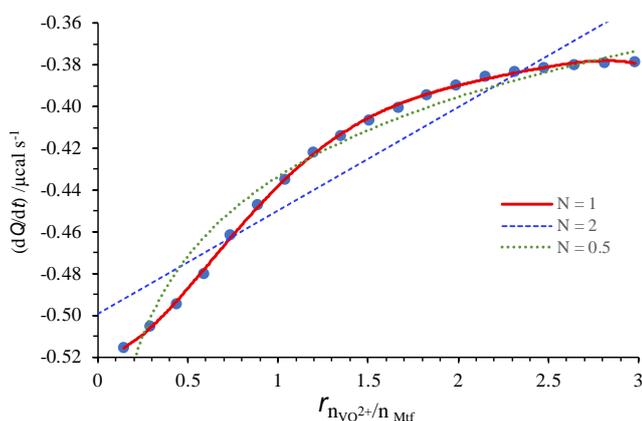
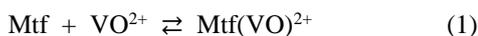


Figura 3: Curva de enlace asociada a la interacción de metformina con el ion vanadilo, para determinar los parámetros termodinámicos.



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

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

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

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

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

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

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

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

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

Este valor es el mismo que se muestra en la Tabla 1. Para determinar si el proceso de interacción entre  $\text{Mtf}$  y  $\text{VO}^{2+}$  es un proceso entálpico o entrópico, se muestra la Figura 4; esta figura muestra las magnitudes de  $\Delta G^\circ$ ,  $\Delta H^\circ$  y  $-\Delta S^\circ$ . En este gráfico se observa que la entropía contribuye más al valor de  $\Delta G^\circ$  que la entalpía, esto de acuerdo con la ecuación termodinámica  $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$ ; por esta razón, se determina que el proceso está impulsado por la entropía.

Tabla 1: Perfil termodinámico de la formación del complejo  $\text{Met}(\text{VO})^{2+}$  de estequiometría 1:1 ( $N=1$ ).

Sistema	$\log \beta$	$\Delta G^\circ$ (kcal/mol)	$\Delta H^\circ$ (kcal/mol)	$-\Delta S^\circ$ (kcal/mol)
$\text{Met}(\text{VO})^{2+}$	$3.520 \pm 0.037$	-4.810	$-0.202 \pm 0.006$	-4.610

Al comparar la forma de los picos que van hacia abajo en el termograma y el valor de  $\Delta H^\circ$ , se confirma que el proceso de la interacción es exotérmico.

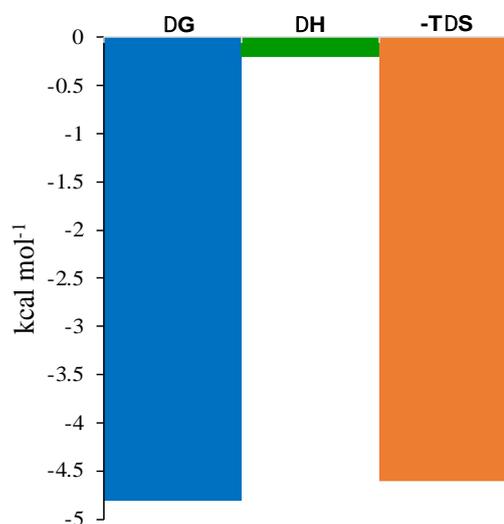


Figura 4: Perfil termodinámico de la interacción entre  $\text{Mtf}$  y  $\text{VO}^{2+}$  para formar el complejo con estequiometría 1:1.

### 4. Conclusiones

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

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

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

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

### Agradecimientos

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

### Referencias

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