

PREPARACIÓN DE UN COMPLEJO ANTIMONIO- β -CICLODEXTRINA PARA EL TRATAMIENTO DE LEISHMANIASIS

Rosemary Ochoa Bejarano,* Cynthia Peres Demicheli,** Rubén D. Sinisterra**

*Facultad de Ciencias Básicas. Universidad de Pamplona.
Ciudadela universitaria, Km1, vía Bucaramanga. E-mail: rochoa@unipamplona.edu.co

**Departamento de Química, ICEX, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

RESUMEN

Existe la necesidad de mejorar las limitaciones en el uso clínico de los antimoniales pentavalentes para el tratamiento de la leishmaniasis. En este trabajo se obtuvo un nuevo antimonial formado a partir de antimonio y la β -ciclodextrina. El complejo presenta potencial leishmanicida y fue caracterizado a través de análisis térmica (TG/DTG, DSC), conductividad, análisis elemental, absorción atómica, espectrometría vibracional en la región de infrarrojo, difracción de rayos-X y RMN de ^1H y ^{13}C . Los resultados indican la formación del complejo en una relación equimolar y sugieren que el oxígeno del C-2 sea el sitio de enlace del antimonio a la β -ciclodextrina.

PALABRAS CLAVES

antimonio, β -ciclodextrina, leishmaniasis, terapia antimonial

INTRODUCCIÓN

Los medicamentos de primera línea, para el uso humano contra todas las formas clínicas de la leishmaniasis, son los complejos hidrosolubles de antimonio pentavalente como el estibogluconato de sodio o pentostan® y el antimoniato de meglumina o Glucantime® (1-4). Sin embargo su uso es frecuentemente limitado por su alta toxicidad sistémica y la consecuente gravedad de sus efectos secundarios. Por otro lado, en la actualidad se exploran otras alternativas terapéuticas

(5-6) que, aunque promisorias, no han demostrado eficiencia e inocuidad suficientes para sustituir la terapia antimonial convencional (7).

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos compuestos de unidades de glucosa unidas a través de enlaces glucosídicos a 1-4. Debido a su particular estructura cíclica hueca con cavidad hidrofóbica, las ciclodextrinas pueden incluir dentro de su cavidad las mas variadas moléculas, formando especies hospedero-huésped. Además

de las propiedades de hospederio de moléculas en su cavidad hidrofóbica, las ciclodextrinas pueden acomplejar iones metálicos (ver figura1). Los complejos metálicos con ciclodextrinas no modificadas ocurren principalmente en medio alcalino en la primera esfera de coordinación a través de los grupos OH-2 Y OH-3 que son las posiciones más ácidas (8). En la industria farmacéutica las ciclodextrinas han sido usadas para mejorar la solubilidad, absorción, estabilidad química y biodisponibilidad de los fármacos (9-11). Buscando mejorar los aspectos limitantes de la terapia antimonial, en este trabajo se preparó y caracterizó un complejo de antimonio pentavalente (Sb (V)) con β -ciclodextrina (β -CD), Sb- β -CD.

EXPERIMENTAL

Reactivos

Fueron usados reactivos grado

analítico. Pentacloruro de antimonio (SbCl_5 , 99%) e Hidróxido de Potasio fueron obtenidos de Aldrich Chemical Co.(Milwaukee, WI, USA).

β -ciclodextrina ($\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{O}_{35} \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$) fue obtenida de Sigma Chemical Co.(St. Louis, Mo).

Preparación de antimonio- β -ciclodextrina (Sb- β -CD)

El complejo fue sintetizado de acuerdo al método de Demicheli y col. (3). Se adicionaron 0,004 mol de β -CD en 25,0 ml de agua destilada a temperatura ambiente. A esa solución se le adicionó, en una relación equimolar, oxido de antimonio (v) hidratado, obtenido de SbCl_5 hidrolizado en agua. El sistema fue agitado y mantenido a 60 °C durante 3 horas; el pH de la solución fue mantenido en torno de 7,00 con hidróxido de potasio. Después del calentamiento fue realizada una centrifugación para eliminar el oxido de

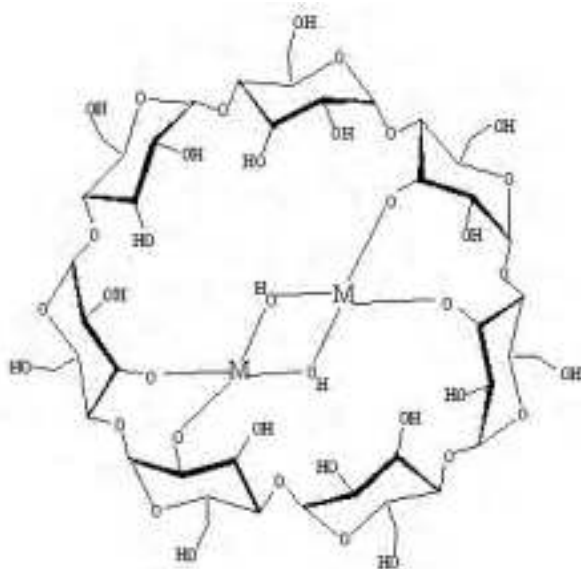


Figura 1: Esquema de los complejos metal-CD en la primera esfera de coordinación

antimonio que no reacciono. El complejo fue precipitado adicionando 75 mL de acetona. El precipitado fue filtrado y seco. Se obtuvo un sólido amorfo blanco con un porcentaje de rendimiento del 95%.

El análisis obtenido por análisis elemental (C, H, N), contenido de antimonio y conductividad, fue: C, 32,83; H, 5,70; Sb, 8,27%. Calculado para $KC_42H_70O_35 \cdot Sb \cdot 9 H_2O$ (complejo $[Sb-\beta-CD]K$ 1:1) C, 33,90; H, 5,70; Sb, 8,19%.

MÉTODOS

El análisis termogravimétrico (TG/DTG) fue realizado en un equipo Shimadzu TGA-50 utilizando porta muestras de alúmina. El análisis de Calorimetría Exploratoria Diferencial DSC fue realizada usando un equipo DSC-50, usando porta muestras de aluminio. Ambas técnicas de análisis térmica se efectuaron bajo atmósfera dinámica de nitrógeno con tasa de calentamiento de $10^\circ C/min$.

El análisis elemental fue llevado a cabo en un Analizador elemental Perkin-Elmer PE240. El contenido de antimonio fue determinado por absorción atómica usando un espectrómetro de absorción atómica Hitachi Z8200. Las medidas de conductividad fueron realizadas utilizando un conductivímetro Digimed, DM31, equipado con celda conductimétrica con capacidad de 3 mL y constante igual a $1 cm^{-1}$. Las medidas fueron realizadas a $25^\circ C$, en solución acuosa con una concentración de soluto de $10^{-3} mol L^{-1}$. Las soluciones utilizadas

fueron KBr, KCl, $BaCl_2$ y $(NH_4)_2Cr_2O_7$. Las medidas de pH fueron realizadas en un potenciómetro Micronal, modelo B371.

Los patrones de difracción de rayos-X fueron obtenidos en un equipo Rigaku Geirflex. Se utilizó tubo de cobre y radiación $Cu K\alpha$ ($\lambda=0,154178 nm$) con monocromador de LiF. Los datos fueron colectados en el modo 2 θ en el rango de 4 a 40° a una velocidad de $4^\circ/min$.

Los espectros en la región de IR fueron registrados en el rango de $4000-400 cm^{-1}$ con un espectrómetro FT-IR Galaxi 300 Mattson, usando pastillas de KBr.

Los espectros de RMN 1H Y ^{13}C fueron medidos en un espectrómetro BRUKER DRX400-AVANCE operando a $400,129 MHz$, usando $DMSO-d_6$ como solvente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El espectro infrarrojo FTIR del complejo (ver figura 2) presentó en la región de $4000-3000 cm^{-1}$ una banda correspondiente a los modos de estiramiento O-H, más ancha que la banda correspondiente a la β -ciclodextrina, lo cual indica la formación de nuevos enlaces de hidrógeno en el complejo. En la región de $1700-1500 cm^{-1}$, cuyas absorciones son atribuidas a los modos de deformación O-H del agua y donde según la literatura (10) aparecen nuevas bandas metal- β -ciclodextrina, se observan cambios importantes en la forma general de la banda del complejo Sb- β -CD, dando la apariencia de dos bandas sin resolver (flecha indicada en la figura 2).

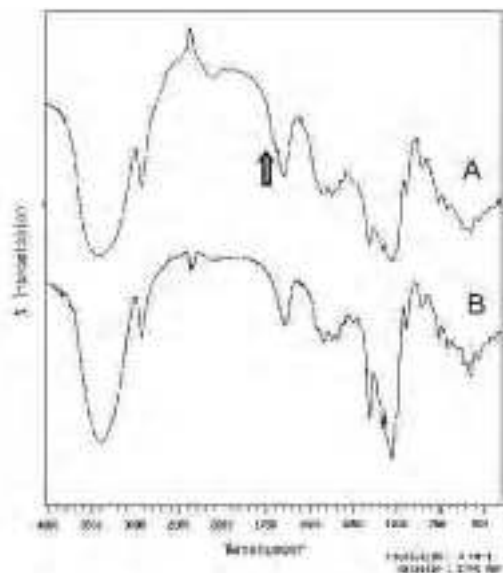


Figura 2: Espectros en la región de infrarrojo de: A) Sb-β-CD B) β-CD

En la región de 1200-800 cm^{-1} las bandas del complejo son más anchas que las bandas del espectro de la β -CD, lo que indica cambios en los estiramientos C-O. Las anteriores modificaciones sugieren la formación de un complejo entre el Sb y la β -CD. Esta hipótesis puede ser confirmada por análisis térmico, ya que el análisis

termogravimétrico mostró que el complejo pierde el mismo número de moléculas de agua (7) que la β -CD, indicando que la cavidad de la β -CD permanece libre después de la reacción. Otra observación importante es que la curva DSC del complejo (ver figura 3) no presenta el evento endotérmico observado en 316°C en la

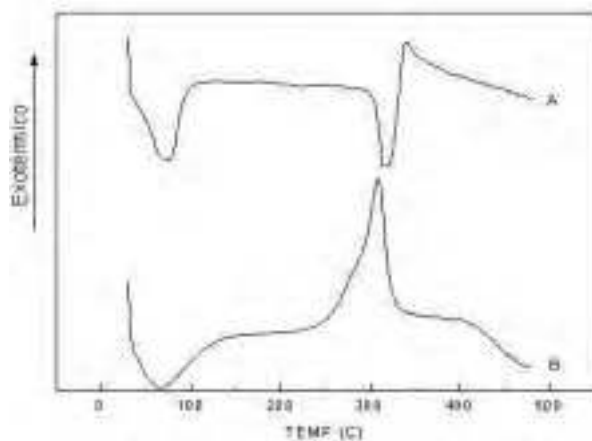


Figura 3: Curvas de DSC de: A) β -CD B) Sb- β -CD.

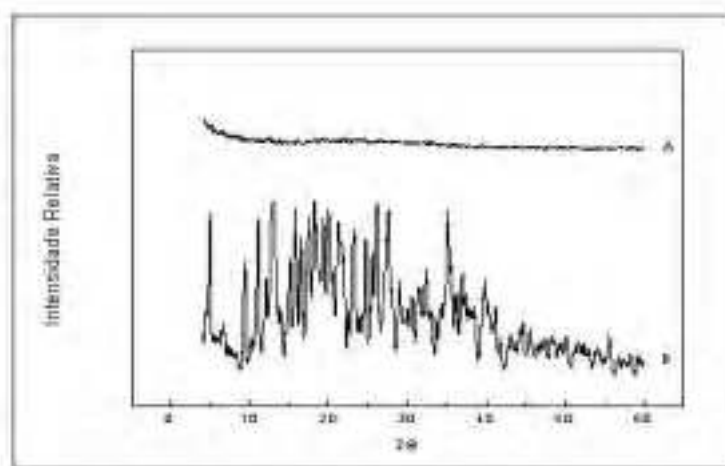


Figura 4: Difractogramas de Rayos-X de: A) Sb-β-CD B) β-CD

curva DSC de la β-CD (asociado a fusión con descomposición) y en su lugar presenta un evento exotérmico al rededor de 308°C correspondiente a su descomposición.

Los difractogramas de rayos-X (ver figura 4) refuerzan la hipótesis de formación del complejo entre el Sb y la β-CD. El patrón de difracción del complejo Sb-β-CD presenta un perfil característico de compuestos amorfos al contrario del carácter cristalino presentado por la β-CD (ver figura4).

En el espectro de RMN de ¹H del complejo Sb-β-CD (datos no

mostrados) se observa una disminución significativa de la señal correspondiente al OH-2 (dato obtenido a través del valor de integración), lo que sugiere que el oxígeno del C-2 sea el sitio de enlace del Sb. Esta hipótesis se ve reforzada por los valores de desplazamiento químico de RMN de ¹³C (ver tabla1). Se observa que casi todos los átomos de carbono del complejo Sb-β-CD se desplazan para frecuencias menores a las presentadas por los correspondientes átomos de carbono de la β-CD; solamente en el caso del carbono C-2, se observan 2 señales, una desplazada para frecuencia más baja y otra para

Tabla 1. Desplazamientos químicos de RMN de ¹³C, en DMSO-d₆ de la β-CD y del Sb-β-CD

¹³ C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
β-CD	102,05	72,15	73,17	81,64	72,51	60,05
Sb-β-CD	101,98	72,08 72,77	73,12	81,59	72,41	60,00

frecuencia más alta. Esto indica que probablemente el antimonio este enlazado a algunos de los átomos de oxígeno del carbono 2. Lo anterior está de acuerdo con lo relatado en la literatura (8), en que el metal reacciona con los grupos OH secundarios OH-2 que son los que poseen mayor acidez (pKa ~ 12,2).

CONCLUSIONES

Se obtuvo un complejo Sb-β-CD en una relación estequiométrica equimolar, que es interesante por tratarse de un nuevo compuesto antimonial con potencial leishmanicida y de una β-CD modificada. Los resultados de la caracterización indican la formación del complejo siendo el oxígeno del C-2 el sitio de enlace más probable del antimonio a la b-ciclodextrina.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Berman, J. D. 1988. Chemotherapy for leishmaniasis: biochemical mechanisms clinical efficacy, and future strategies. *Rev. Infect. Dis.* 10, 560.
2. Berman, J. D. 1997. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. *Clin. Infect. Dis.* 24,684.
3. Demicheli, C., R. Ochoa, I. S. Lula, F. C. Gozzo, M. N. Eberlin, and F. Frézard. 2003. Pentavalent organoantimonial derivatives: two simple and efficient synthetic methods for meglumine antimonate. *Appl. Organomet.Chem.* 17, 226.
4. Marsden, P. D. 1985. Pentavalent antimonials: old drug for new diseases. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 18, 187.
5. Dietze, R., S. F. Carvalho, L. C. Valli, J. Berman, T. Brewer, W. Milhous, J. Sanchez, B. Schuster, and M. Grogil. 2001. Phase 2 trial of WR6026, as an orally administered 8-aminoquinoline, in the treatment of visceral leishmaniasis caused by *Leishmania chagasi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 65, 685.
6. Kayser, O., C. Olbrich, V. Yardley, A. F. Kiderlen, and S. L. Croft. 2003. Formulation of amphotericin B as nanosuspension for oral administration. *Int. J. Pharm.* 254, 73.
7. Sundar, S., T. K. Jha, C. P. Thakur, J. Engel, H. Sindermann, C. Fisher, K. Junge, A. Bryceson, and J. Berman. 2002. Oral miltefosine for Indian visceral leishmaniasis. *N. Engl. J. Med.* 347, 1739.
8. Rizzareli, E.; Vecchio, G. 1999. Metal complexes of functionalized cyclodextrins as enzyme models and chiral receptors. *Coordination Chemistry Reviews*;, 188, 343.
9. Demicheli. C., R. Ochoa, I. S. Lula, F. C. Gozzo, M. N. Eberlin, F. Frézard., C.A. Falcao., B. Rossi- Bergmann., A. L. de Melo and R.D. Sinisterra. 2004. oral delivery of meglumine antimoniate-b-ciclodextrin complex for treatment of leishmaniasis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48 (1), 100.
10. Irie, T., and K. Uekama. 1997. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. III. Toxicological issues and safety evaluation. *J. Pharm. Sci.* 86,147.
11. Uekama, K., F. Hiramaya, and T. Irie. 1998. Cyclodextrin drug carrier system. *Chem. Rev.* 98, 2045.