

Reacciones de transferencia de protón en antitumorales análogos de camptotecina: una valiosa herramienta de estudio para evidenciar su mejor biodisponibilidad

Víctor E. Cervera-Carrascón

Grado en Farmacia. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.
vcervera@ucm.es

Tutores

Víctor González-Ruiz. Ana I. Olives Barba.

Sección Departamental de Química Analítica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.
vgruiz@farm.ucm.es

Resumen: Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos capaces de nanoencapsular una gran variedad de compuestos de interés en la industria farmacéutica. La luotonina A posee dos nitrógenos de carácter débilmente básico susceptibles de ser protonados en medio ácido a pH inferior a 4,0. En este trabajo se demuestra cómo el estudio de las reacciones ácido-base permite establecer la eficacia del proceso de vehiculización del fármaco. Así, la protección que aportan las ciclodextrinas hace que para lograr la protonación de la luotonina A se requieran concentraciones de ácido significativamente superiores a las requeridas cuando el fármaco está libre. Este hecho demuestra la vehiculización del antitumoral. Se proponen distintos modos y geometrías para la inclusión de la luotonina A en concordancia con resultados previos de nuestro grupo.

Palabras clave: Nanoencapsulación. Antitumorales. Biodisponibilidad. Luminiscencia.

INTRODUCCIÓN

Las ciclodextrinas (CDs) son oligosacáridos cíclicos capaces de nanoencapsular una gran variedad de compuestos de interés en la industria farmacéutica⁽¹⁾. Así, incrementan la biodisponibilidad (Fig. 1) de los fármacos por diferentes vías de administración⁽²⁾, y además pueden minimizar otros inconvenientes:

- Solubilidad limitada, lo que lleva a una reducida biodisponibilidad.
- Los disolventes orgánicos que sí podrían solubilizarlos no son biocompatibles.

- Foto-inestabilidad, sensibilidad a la oxidación, a la humedad u otros factores que pueden contribuir a disminuir la cantidad efectiva de los principios activos.
- Carácter irritante de mucosas o membranas, así como el hecho de que muchos fármacos presenten caracteres organolépticos desagradables.

En el caso de los compuestos hidrofóbicos, la inclusión en las CDs mejora su farmacocinética e incrementa su biodisponibilidad, por diferentes mecanismos⁽³⁾;

- Incrementan la solubilidad, velocidad de disolución y capacidad de humectación.
- Dificultan la degradación en el tracto gastrointestinal.
- Alteran la fluidez de las membranas facilitando así la absorción de los fármacos.
- Los equilibrios de inclusión competitivos de los fármacos con ácidos biliares, colesterol o lípidos, hacen que se liberen de forma más efectiva los fármacos.

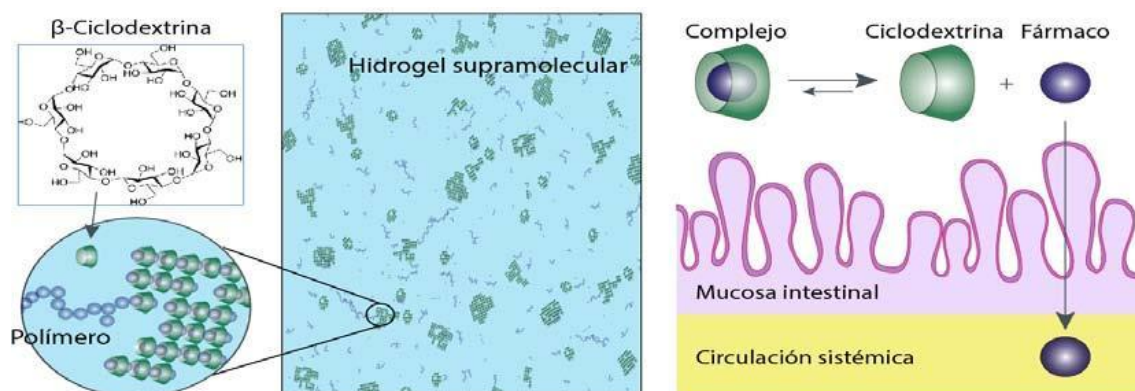


Figura 1. Nanoencapsulación de fármacos en CDs e hidrogeles. Mejora en su biodisponibilidad a través de la absorción a través del tracto gastrointestinal.

Propiedades luminiscentes de los antitumorales derivados de camptotecina

La notable fluorescencia nativa de la camptotecina⁽⁴⁾ y de la luotonina A⁽⁵⁾ (Fig. 2), ambos antitumorales inhibidores de la enzima topoisomerasa I, hacen de las técnicas analíticas fluorimétricas una valiosa herramienta para el estudio de estos compuestos así como para evidenciar la eficacia en los procesos de nanoencapsulación y vehiculización de estos fármacos en CDs, polímeros e hidrogeles (Fig. 1).

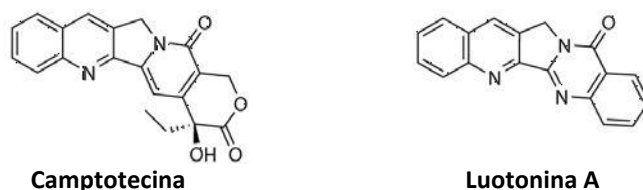


Figura 2. Estructuras químicas de los antitumorales objeto de estudio: camptotecina y luotonina A.

OBJETIVOS

Estudiar el efecto de la nanoencapsulación de la luotonina A, a través de la modificación en sus propiedades químicas (alteración del equilibrio ácido-base). Verificar la eficacia del proceso de inclusión de los fármacos en las nanocavidades.

PARTE EXPERIMENTAL

Los espectros de excitación y emisión de fluorescencia se obtuvieron empleando un espectrofluorímetro Horiba Jobin-Yvon Fluoromax 4P, controlado desde un ordenador equipado con el software FluorEssence 4.1. En las titulaciones con ácido perclórico se obtuvieron el espectro de emisión de fluorescencia excitando a la longitud de onda de emisión de la forma neutra (342 nm) y de la forma catiónica (392 nm), tanto para la luotonina A en disolución acuosa como para su complejos de inclusión obtenidos con beta-ciclodextrina (β -CD) y (2-hidroxipropil)-beta-ciclodextrina (HP β -CD).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La fluorescencia de la luotonina A⁽¹⁾ (LA) es dependiente del pH. Cuanto más ácido es el medio, menor es la intensidad de la forma neutra (426 nm) y mayor la de la catiónica (502-510 nm). Según el pH del medio puede observarse en el espectro de emisión de fluorescencia una mezcla de las dos especies (Fig. 3 A). La modificación en la posición de los máximos de emisión es consecuencia de la presencia de los nitrógenos básicos en la molécula, cuya protonación provoca la aparición de especies químicas con distintas propiedades luminiscentes según el equilibrio que se muestra en la figura 3 B.

Las moléculas nanoencapsuladas por las CDs resultan protegidas y, por tanto, son menos susceptibles de sufrir reacciones. En el caso que nos ocupa, la inclusión debe traducirse en una mayor dificultad para la protonación del antitumoral. En la figura 4 se muestran las curvas de titulación obtenidas en disolución acuosa y para el

complejo de inclusión de LA/HPβ-CD, en ambos casos se observa la protonación de la LA.

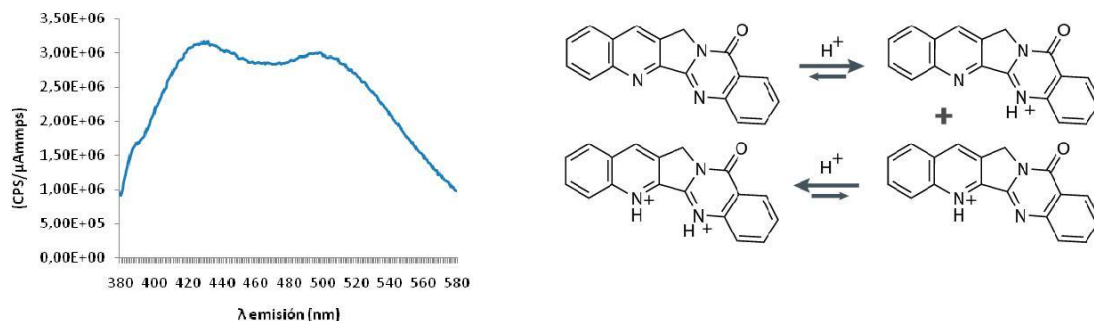


Figura 3. A. Espectro de emisión de fluorescencia de una disolución acuosa ácida de luotonina A mostrando el máximo de emisión de la forma neutra (426 nm) y el de la formas protonadas (508 nm). Excitación 342 nm. B. Equilibrios ácido-base en la molécula de luotonina A.

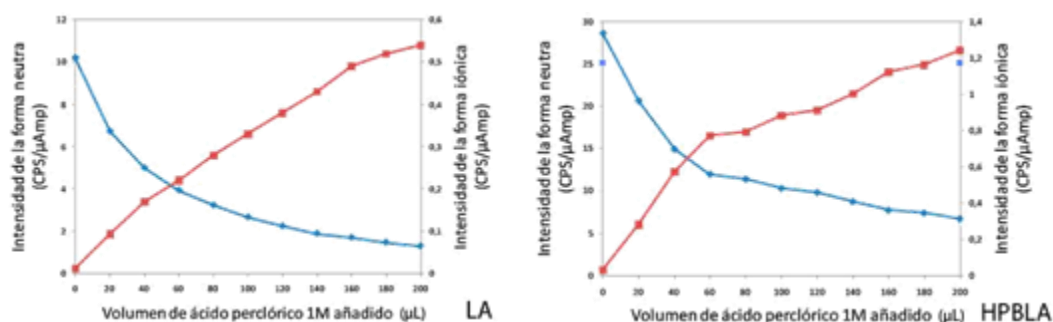


Figura 4. Variación en la intensidad de fluorescencia de la forma neutra y protonada de LA como consecuencia de la adición de ácido perclórico. (A) LA en disolución acuosa y (B) complejo de inclusión LA/HPβ-CD disuelto en agua.

Con la finalidad de verificar la eficacia del proceso de inclusión, se compararon los resultados obtenidos con LA libre y con los complejos de inclusión βLA/ -CD y LA/HPβ-CD. Como se muestra en la Fig. 5, la pendiente ascendente es significativamente mayor en el caso del compuesto LA con respecto a los dos complejos de inclusión estudiados. Este hecho demuestra la eficacia del proceso de inclusión, ya que puede apreciarse cómo las ciclodextrinas protegen a las moléculas incluidas frente a las reacciones ácido-base, evitando su protonación.

En la figura 6 se muestran a modo de resumen cómo los equilibrios coexistentes de transferencia de protón y de inclusión en las cavidades de las ciclodextrinas. Como se puede apreciar, es posible la formación de complejos de inclusión, estequiometría 1:1 o 1:2 (LA:CD). Estos resultados refuerzan los ya descritos respecto a los complejos de inclusión de LA estudiados mediante espectrometría de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN⁽⁶⁾.

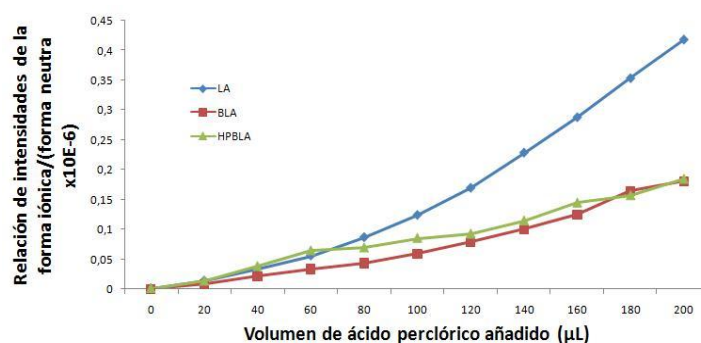


Figura 5. Comparación de la curvas de titulación obtenidas para LA en disolución acuosa y los complejos de inclusión LA/ β -CD y LA/HP β -CD.

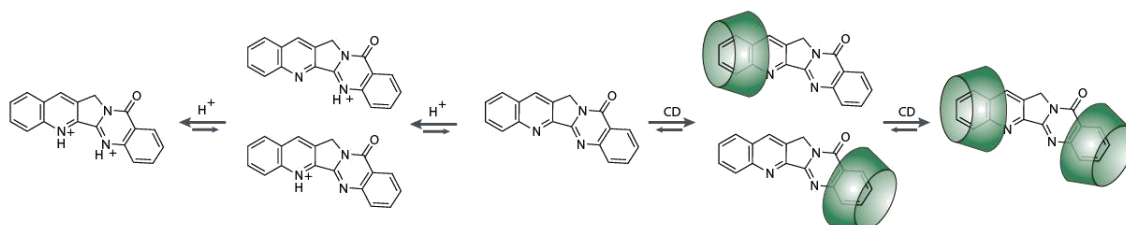


Figura 6. Coexistencia de los equilibrios ácido-base y de inclusión en las cavidades de las CDs para la luotonina A. Obsérvese que es posible la inclusión de LA a través del anillo A ó E.

A modo de conclusión, se podría afirmar que se ha verificado mediante espectrofluorimetría y utilizando las propiedades ácido-base de la LA, la inclusión de este compuesto en las cavidades de dos CDs. La mayor dificultad para la protonación observada en el caso de los complejos de inclusión, comparada con la LA libre, pone de manifiesto la eficaz protección del antitumoral. Por tanto, la vehiculización de LA mediante la inclusión en CDs es una herramienta capaz de aportar importantes mejoras a su biodisponibilidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Davis ME, Brewster ME. Cyclodextrin-Based Pharmaceuticals: Past, Present and Future. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2004; 3 (12): 1023-1035.
2. Arun R, Ashok KCK, Sravanthi VVNSS. Cyclodextrins as Drug Carrier Molecule: A Review. *Sci. Pharm.* 2008; 76: 567–598.
3. Vyas A, Saraf Sh, Saraf Sw. Cyclodextrin based novel drug delivery systems. *J Incl Phenom Macrocycl Chem*. 2008, 62: (1-2): 23–42.
4. di Nunzio MR, Cohen B, Douhal A. Structural Photodynamics of Camptothecin, an

Anticancer Drug in Aqueous Solutions. J. Phys. Chem. A 2011; 115 (20): 5094–5104.

5. González-Ruiz V, González-Cuevas Y, Arunachalam S, Martín MA, Olives AI, Ribelles P, Ramos MT, Menéndez JC. Fluorescence properties of the anti-tumor alkaloid luotonin A and new synthetic analogues: pH modulation as an approach to their fluorimetric quantitation in biological samples. J. Lumines. 2012; 132, (9): 2468–2475.
6. González-Ruiz V, Cervera-Carrascón V, Olives AI, Martín MA, Menéndez JC. Encapsulación de antitumorales inhibidores de topoisomerasa I en 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina. Preparación y caracterización, Libro de Resúmenes, XXXIV Reunión Bienal de la Real Sociedad Española de Química, Santander, 2013.

Recibido: 17 marzo 2014.

Aceptado: 26 abril 2014.