

ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES SOBRE LOS IONES  $\text{Ca}^{2+}$  DE LA IMIPRAMINA Y LA MAPROTILINA, EN MEDIO ACUOSO  
I. COEFICIENTES DE DIFUSION

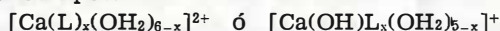
C. VALENZUELA CALAHORRO (\*), M. RUIZ DE ALMODÓVAR (\*\*),  
E. PUCHE CAÑAS (\*\*\*) y A. MUNDO SALVADOR (\*\*\*)

RESUMEN

A las temperaturas de 0°, 10°, 20°, 30° y 40° C se ha estudiado el proceso de difusión de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  en disolución acuosa ( $5 \times 10^{-5}$  M), en ausencia y en presencia de Imipramina o Maprotilina ( $5 \times 10^{-5}$  M ó  $2 \times 10^{-4}$  M en todos los casos).

Los coeficientes de difusión varían entre  $4,91 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  y  $19,66 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , aumentando en función de la concentración de antidepresivo y de la temperatura.

Los resultados obtenidos sugieren la posible formación de especies complejas de  $\text{Ca}^{2+}$  de los tipos:



donde L es la base del antidepresivo (IMI) o (MP).

ABSTRACT

The diffusion of  $\text{Ca}^{++}$  ions process ( $5 \times 10^{-5}$  M) in water with and without Imipramine or Maprotiline, have been studied.

The coefficients of diffusion range from  $4,91 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  to  $19,66 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  increasing with the concentration antidepressant and temperature.

The results showed the possible formation of complexes of calcium  $[\text{Ca}(\text{L})_x(\text{OH}_2)_{6-x}]^{2+}$  or  $[\text{Ca}(\text{OH})_Lx(\text{OH}_2)_{5-x}]^+$ , where L is the base of antidepressant (IMI) or (MP).

INTRODUCCION

La cardiotoxicidad de la imipramina y de la maprotilina ha sido puesta de manifiesto en diversos trabajos realizados tanto en medio clínico (1) (2) (3) como en medios de experimentación (4) (5) (6).

En un estudio comparativo, "in vitro", de la toxicidad cardíaca inducida por la imipramina y por la maprotilina (7) se ha podido establecer que la primera de tales sustancias presenta una toxicidad superior a la segunda. Asimismo, se ha podido observar que los efectos sobre el músculo cardíaco decrecen a medida que aumenta la concentración de iones  $\text{Ca}^{2+}$  en líquido de perfusión de experimentación (Krebs, Krebs-Ringer).

Este efecto de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  es más acusado frente a la actuación de la maprotilina que frente a la imipramina, y, en ambos casos, dicho efecto parece venir influenciado por las cantidades relativas de iones  $\text{Ca}^{2+}$  y de moléculas de antidepresivos presentes en el medio.

Los resultados del trabajo antes aludido (7) sugieren que el efecto tóxico, para el músculo cardíaco, de la imipramina y de la maprotilina puede ser debido a una perturbación del proceso de movilización de iones  $\text{Ca}^{++}$  a través de la membrana, causada por las citadas sustancias antidepresivas. Bajo el punto de vista físico-químico se llegaría a resultados equivalentes tanto si los citados antidepresivos perturbasen la permeabilidad celular, como si diesen lugar a la formación de especies iónicas de  $\text{Ca}^{++}$  de diferente tamaño y/o carga eléctrica; es decir, que se comportasen como ligando en el proceso de formación de especies complejas que contuviesen  $\text{Ca}^{++}$  como ión central. Es obvio que ello daría lugar a modificaciones sustanciales en el tamaño, potencial electrostático y movilidad de los iones acuocomplejos:  $[\text{Ca}(\text{OH}_2)_6]^{++}$  y  $[\text{Ca}(\text{OH})(\text{OH}_2)_5]^+$  presentes en el medio acuoso de experimentación (8) (9).

Con objeto de obtener información acerca de la influencia de la imipramina y de la maprotilina en la movilización de los iones  $\text{Ca}^{++}$  en medio acuoso, se ha procedido a estudiar el proceso de difusión de los iones  $^{45}\text{Ca}^{++}$  en medio acuoso tanto en ausencia como en presencia de las citadas sustancias antidepresivas. De parte de los resultados obtenidos se da cuenta en la presente memoria.

## MATERIAL Y METODOS

Se ha estudiado solución acuosa  $5,0 \times 10^{-5}$  M de  $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$  (Merck, R. A.), utilizando  $^{45}\text{Ca}^{++}$  ( $\text{Cl}_2$   $^{45}\text{Ca}$ ) como trazador. Asimismo se han realizado experiencias análogas con otras disoluciones acuosas de igual concen-

tración en  $\text{Ca}^{++}$  que a su vez eran  $5 \times 10^{-5} \text{ M}$  ó  $2 \times 10^{-4} \text{ M}$  en imipramina o en maprotilina. Dichas disoluciones serán designadas, respectivamente como  $(\text{Ca}^{++})$ ,  $(\text{Ca}^{++}/\text{I})$ ,  $(\text{Ca}^{++}/4\text{I})$ ,  $(\text{Ca}^{++}/\text{M})$  y  $(\text{Ca}^{++}/4\text{M})$ .

Tanto las células capilares de difusión empleadas (0,1 ml de volumen neto), como el método experimental seguido aparecen descritos en la bibliografía (10) (11). El baño envolvente de la célula de difusión estaba constituido por 8 ml de agua bidestilada.

Las temperaturas de trabajo han sido, en todos los casos, 0, 10, 20, 30 y  $40^\circ \text{C} \pm 0,1^\circ \text{C}$ , controladas mediante un baño termostático "Hermi". La duración de cada experiencia de difusión fue de 96 horas.

La determinación de  $\text{Ca}^{++}$  en las distintas fracciones resultantes de la participación de la columna capilar de difusión, se ha llevado a cabo utilizando un método analítico radiométrico, análogo a otros ya descritos (10) (11).

Para las medidas de actividad se ha empleado un equipo de contaje Geiger-Müller "Phillips".

## RESULTADOS Y DISCUSION

A partir de los resultados analíticos de cada una de las fracciones resultantes de la partición de la columna capilar de difusión, se ha determinado la concentración relativa ( $C/\text{Co}$ ) de iones  $\text{Ca}^{++}$  en cada una de ellas. La representación de los valores obtenidos de  $C/\text{Co}$  en función de la distancia,  $x$ , del punto medio de cada fracción a la interfase, ha permitido obtener las correspondientes curvas de difusión, las cuales son, en todos los casos, análogas a las que, a título de ejemplo, se han representado en la figura 1. El que los valores de  $x$ , representados en abscisas en la figura 1, vayan precedidos de signo negativo indica, como es habitual, que los datos correspondientes a  $C/\text{Co}$  están referidos a la "semicolumna" de difusión en la que inicialmente se encontraban todos los iones  $\text{Ca}^{++}$ .

De forma análoga a lo que puede observarse en la figura 1, las curvas de difusión aparecen, en todos los casos, bien definidas. Asimismo puede observarse que la cantidad global de iones  $\text{Ca}^{++}$  difundidos (proporcional al área comprendida entre el eje de ordenadas, la curva de difusión y la recta ( $C/\text{Co} = 1$ )) es tanto mayor cuanto más elevada es la temperatura.

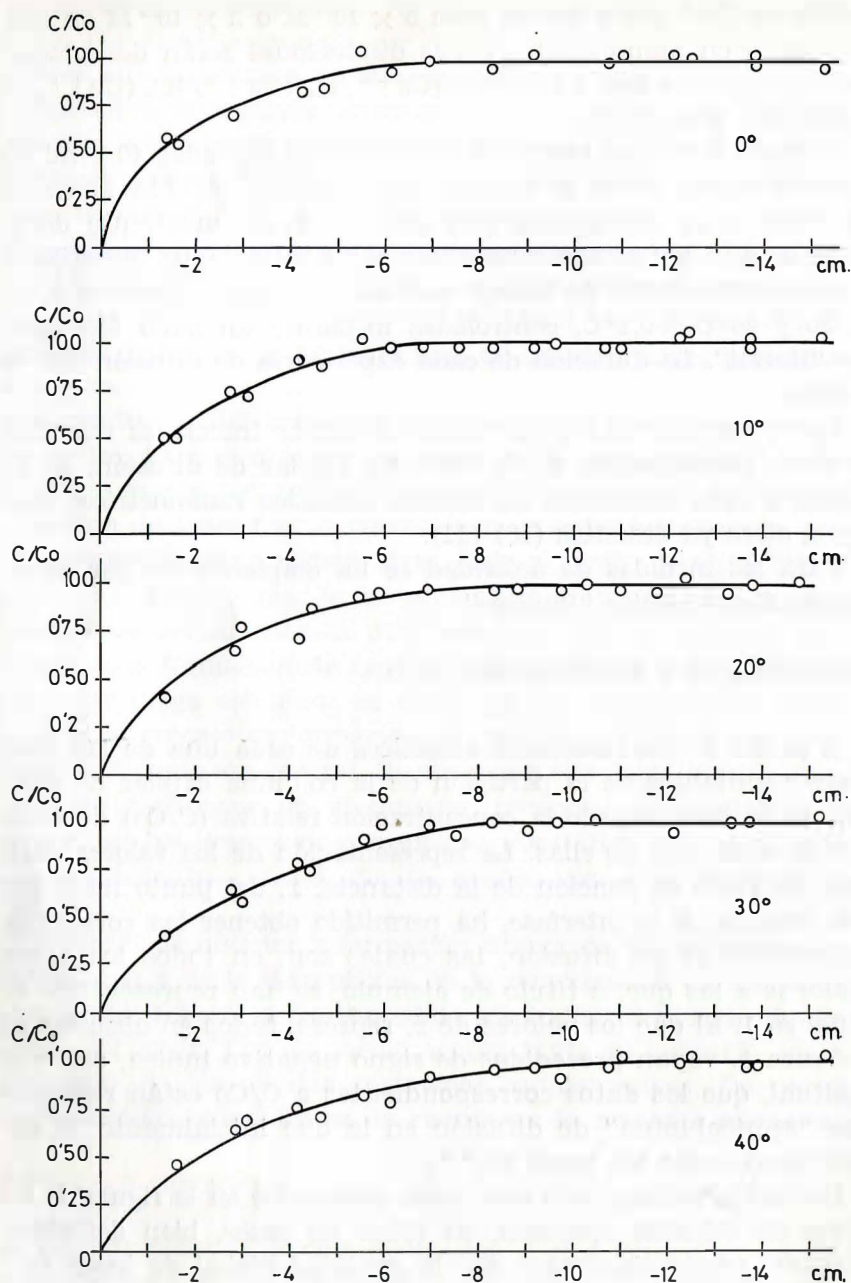


Figura 1

Curva de difusion de iones  $Ca^{2+}$  a distinta temperatura

A partir de las curvas de difusión de iones  $\text{Ca}^{++}$  obtenidas a  $0^\circ$ ,  $10^\circ$ ,  $20^\circ$ ,  $30^\circ$  y  $40^\circ$  C para los sistemas  $(\text{Ca}^{++})$ ,  $(\text{Ca}^{++}/\text{I})$ ,  $(\text{Ca}^{++}/4\text{I})$ ,  $(\text{Ca}^{++}/\text{M})$  y  $(\text{Ca}^{++}/4\text{M})$ , se han calculado los correspondientes coeficientes de difusión,  $D$ , de los iones  $\text{Ca}^{++}$  en cada uno de los medios y a cada una de las temperaturas estudiadas.

Para el cálculo de  $D$ , se ha seguido el método de la función de error (10). En consecuencia, se ha empleado la ecuación resultante de la integración de la expresión matemática de la segunda ley de Fick (12), para  $D \neq f(C)$ :

$$C_{(x,t)} = \frac{C_0}{2} \operatorname{erfc} \frac{x}{2\sqrt{D \cdot t}} \quad (\text{I})$$

en la que  $C_{(x,t)}$  es la concentración final de iones  $\text{Ca}^{++}$  alcanzada al cabo de un tiempo  $t$  (en segundos) en un punto situado a  $x$  centímetros de la interfase,  $C_0$  es la concentración inicial de  $\text{Ca}^{++}$  en la columna capilar de difusión; y  $\operatorname{erfc} = 1 - \operatorname{erf}$ , siendo  $\operatorname{erf}$  la función de error.

A la hora de aplicar la ecuación (I) conviene tener en cuenta que ésta está deducida para ser aplicada a la zona  $x > 0$  de las curvas de difusión. En nuestro caso, sólo se ha obtenido la semicurva de difusión correspondiente a la zona  $x < 0$ ; ahora bien, dado que la difusión neta de los iones  $\text{Ca}^{++}$  transcurre en forma monodimensional, en la dirección del eje capilar, la curva de difusión debe ser simétrica respecto del punto ( $x = 0$ ,  $C/C_0 = 0,5$ ) como s

En consecuencia, teniendo en cuenta la simetría de las dos semicurvas, las determinadas por nosotros a partir de los resultados experimentales, pueden ser utilizadas para determinar los coeficientes de difusión  $D$ . Para ello basta tener en cuenta que todo el intervalo de  $C/C_0$  representado en la figura 1 (desde  $C/C_0 = 0$  a  $C/C_0 = 1$ ) corresponde en realidad a 0,5 y que la semicurva de penetración de iones  $\text{Ca}^{++}$  "marcados" en la semicolumna inicialmente exenta de ellos,  $x$ , tendrá valores positivos en lugar de negativos. Teniendo en cuenta todas las consideraciones antes expuestas y a partir de las curvas de la figura 1 y las análogas construidas, a partir de los datos experimentales obtenidos en los sistemas  $(\text{Ca}^{++}/\text{I})$ ,  $(\text{Ca}^{++}/4\text{I})$ ,  $(\text{Ca}^{++}/\text{M})$  y  $(\text{Ca}^{++}/4\text{M})$ , y que por razo-

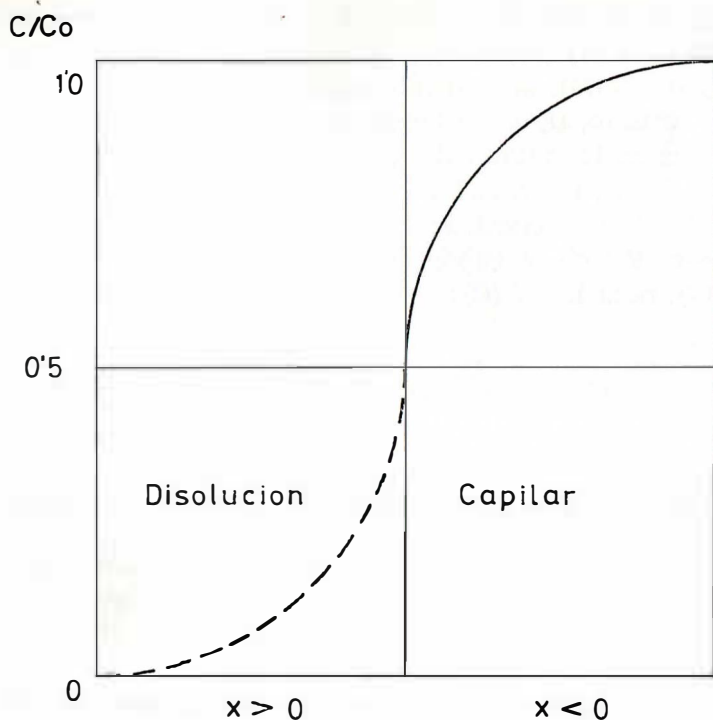


Figura 2

Curva teórica de un proceso de difusión capilar

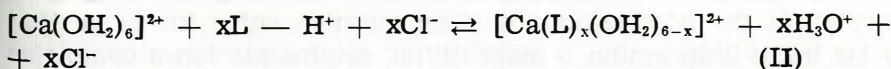
nes de brevedad no se han representado en esta publicación, se han determinado los coeficientes de difusión,  $D$ , de los iones  $\text{Ca}^{++}$ , en cada uno de los sistemas objeto de estudio. Los valores de  $D$  obtenidos son los que aparecen indicados en la Tabla I.

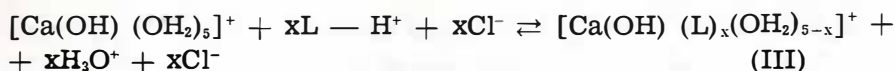
TABLA I  
COEFICIENTES DE DIFUSION DE  $\text{Ca}^{++}$   
 $D \times 10^{+6}$   
( $\text{cm}^2 \cdot \text{S}^{-1}$ )

T (°C)	$\text{Ca}^{++}$	$\text{Ca}^{++}/\text{I}$	$\text{Ca}^{++}/4\text{I}$	$\text{Ca}^{++}/\text{M}$	$\text{Ca}^{++}/4\text{M}$
0	4,91	6,16	7,07	6,16	7,07
10	6,16	7,07	8,05	7,07	8,05
20	8,05	9,09	9,09	10,77	10,19
30	11,35	12,58	12,58	12,58	15,22
40	13,87	15,22	16,64	19,66	18,22

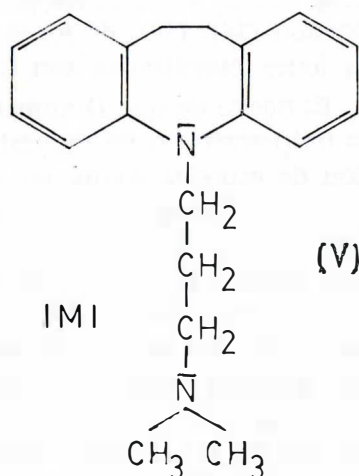
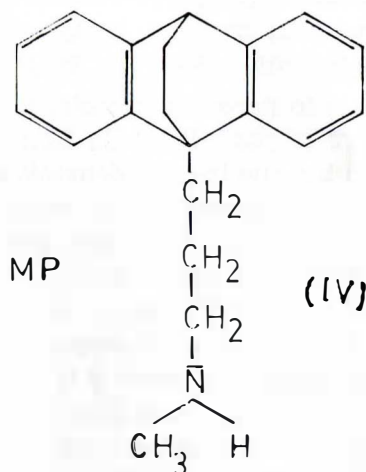
A la vista de la tabla I se puede observar que los coeficientes de difusión,  $D$ , de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  en agua varían entre  $4,91 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \times \text{s}^{-1}$  y  $19,66 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , aumentando, en general, conforme lo hace la concentración de imipramina (IMI) o de maprotilina (MP) en el medio de difusión y la temperatura de trabajo. Dichos valores de  $D$  son del mismo orden de magnitud de los encontrados al estudiar los procesos de difusión (13), (15) y de autodifusión (14), (10), de iones fosfato en agua; procesos en los que los iones movilizados son, predominantemente,  $\text{PO}_4\text{H}_2^-$  y  $\text{PO}_4\text{H}^{2-}$ .

El hecho de que  $D$  aumente conforme lo hace la concentración de imipramina o de maprotilina sugiere la posibilidad de formación de especies complejas de  $\text{Ca}^{2+}$ , en las que los antidepresivos citados se comportasen como ligandos. En efecto, en la disolución acuosa de  $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$  el catión se encuentra, según han señalado Prédali y Hernández (8) (9) entre otros, como  $[\text{Ca}(\text{OH}_2)_6]^{2+}$  y/o  $[\text{Ca}(\text{O})(\text{OH}_2)_5]^+$  dependiendo de la concentración y del pH del medio. En el caso de que no se produjeran interacciones de tipo químico entre los citados acuo-complejos de calcio y la imipramina o la maprotilina (ambas en forma de clorohidrato), la adición de estas sustancias al medio, liberaría aniones ( $\text{Cl}^-$ ) y cationes ( $\text{IMI}-\text{H}^+$  o  $\text{MP}-\text{H}^+$ ), lo que obviamente daría lugar a un aumento de la fuerza iónica. De acuerdo con lo previsto por la teoría de Debye-Hückel (16), el aumento de la concentración iónica hace aumentar las interacciones entre los mismos iones, haciendo decrecer su movilidad; en consecuencia, cabría esperar que  $D$  tomara valores, respecto a la disolución acuosa de  $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$  de referencia, tanto menores cuanto mayor fuera la concentración de psicofármaco en el medio de difusión. Sin embargo, a la vista de la tabla 1 se observa, como ya anteriormente se indicaba, que  $D$  crece a medida que aumenta la concentración de imipramina o de maprotilina en el medio. Ello puede ser justificado si se considera que la adición de tales sustancias modifica sensiblemente el potencial efectivo ( $Z/r^2$ ) de los iones complejos de  $\text{Ca}^{2+}$  que se difunden lo que, en definitiva, entraña la formación de nuevas especies complejas. Dichas especies complejas podrían formarse de acuerdo con un proceso de sustitución nucleofílico, según:





Donde L es la base imipramina o maprotilina, la cual, cabría pensar, que se coordinara a través del átomo de nitrógeno de la correspondiente cadena lateral.



Tanto si el proceso ocurriese en la forma descrita por la ecuación (II), la más probable, como por la que se expresa en la ecuación (III), la carga del ión complejo se mantiene constante. Sin embargo, en ambos casos, la sustitución de una molécula de agua coordinada por una molécula de base (L) daría lugar a un notable incremento del radio efectivo,  $r$ , del ión complejo, lo que, evidentemente, haría decrecer el potencial  $Z/r^2$ , dando lugar al aumento de  $D$  observado. En apoyo de esta hipótesis, viene el hecho observado (Tabla I) de que cuando la concentración de imipramina o de maprotilina aumenta cuatro veces,  $D$  aumenta también ya que, como es sabido, un aumento de  $L$  desplazaría los procesos de equilibrio químico (II) y (III) hacia la derecha.

Por último en la tabla I se observa que  $D$  aumenta a medida que lo hace la temperatura como es habitual en los procesos de difusión.

A la vista de todo cuanto se ha expuesto se puede sugerir la existencia de interacciones de tipo químico entre los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y las bases imipramina o maprotilina, originando iones complejos



de tamaño apreciablemente superior al de los correspondientes acuo-complejos de  $\text{Ca}^{2+}$ . Dichos complejos que contendrían como ligando a tales antidepressivos se movilizarían en el agua en forma apreciablemente mayor que los correspondientes acuo-complejos. Todo lo anteriormente expuesto, podría permitir sugerir que —independientemente de que la imipramina y la maprotilina puedan perturbar la permeabilidad celular— la cardiotoxicidad de tales psicofármacos puede estar relacionada con la posible formación de iones complejos voluminosos de  $\text{Ca}^{2+}$ , lo que originaría un descenso en la biodisponibilidad del  $\text{Ca}^{2+}$  presente en el medio extracelular.

#### BIBLIOGRAFIA

- (1) ALEXANDER, C. S., and NIÑO, R. A.: *Amer. Heart, J.*, 73, 757 (1969).
- (2) THORSTRAND, C.: *Acta. Med. Scand.*, 195, 505 (1974).
- (3) JEFFERSON, J.: *Psychosomatic. Med.*, 37, 160 (1975).
- (4) BOISSIER, J. R.; SIMON, P., and WICHITZ: *Thérapie*, 20, 67 (1965).
- (5) BARTH, N., and MUSCHOLL, E.: *Arch. of Pharmacol.*, 284, 215 (1974).
- (6) BIANCHETTI, G., et al.: *Br. J. Pharmacol.*, 60, 11 (1977).
- (7) PUCHE CAÑAS, E.; GARCÍA MORILLAS, M.; MUNDO SALVADOR, A., y BOLANOS, J.: *Arch. Farmacol. Toxicol.*, 4, 50 (1978).
- (8) PREDALI, J. J.: «Adsorption des sels d'acides gras à l'interface solide-liquide et flottation des Carbonates». Tesis doctoral Universidad de Nancy (Nancy, Francia) (1973).
- (9) HERNÁNDEZ ALVARO, J.: «Estudio de los procesos de cambio de los iones alcalinotérreos en membrana ácidas "Permaplex C-20"». Tesis doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada (Granada) (1976).
- (10) IBÁÑEZ APARICIO, A.: «Autodifusión de iones fosfato en disolución acuosa». Tesis doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada (Granada) (1978).
- (11) LÓPEZ GONZÁLEZ, J. DE D.; VALENZUELA, C. y MARTÍNEZ BECERRA, A.: *Anales de Química*, 65, 327 (1969).
- (12) FICK, A.: *Ann. Phys. Lpz.*, 59, 1970 (1855).
- (13) EDWARDS, O. W., y HUFFMAN, E. D.: *Phys. Chem.*, 63, 1830 (1959).
- (14) KIELMAN, H. S., y LEYTE, J. C.: *Ampere*, 2, 515 (1974).
- (15) RAO KANTIPUDI, R., y RAO PALURI, B.: *Indian J. Technol.*, 9 (9), 350 (1971).
- (16) GLASSTONE, S.: *Tratado de Química-Física*. Ed. Aguilar, Madrid (1964).