

DEPARTAMENTO DE QUIMICA INORGANICA DE LA FACULTAD DE
FARMACIA (*)
DEPARTAMENTO DE RADIOLOGIA (**),
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA Y TERAPEUTICA (***).
DE LA FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

ESTUDIO DE LA SINTERACCIONES SOBRE LOS IONES Ca^{2+}
CON LA IMIPRAMINA Y LA MAPROTILINA, EN MEDIO
ACUOSO. II.—Funciones termodinámicas de activación

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

RESUMEN

A partir de los coeficientes de difusión, determinados a diferentes temperaturas, se han calculado las energías de activación de los procesos de difusión de los iones Ca^{2+} en las disoluciones acuosas, en ausencia y en presencia de imipramina y de maprotilina. Asimismo se han calculado las distancias cuadráticas medias netas por salto iónico, tiempo invertido en cada salto iónico, velocidades específicas netas de difusión, entalpías, entropías y energías libres de activación.

SUMMARY

The activation energies for the diffusion process of Ca^{2+} ions through aqueous solutions, with and without imipramine and maprotiline, have been calculated from the diffusion coefficients at different temperatures.

The mean square distances for ionic jumps, mean times for ionic jumps, net specific velocities of diffusion, enthalpies, entropies and free activation energies have been also calculated.

INTRODUCCION

El estudio, "in vitro", de la cardiotoxicidad de dos psicofármacos, la imipramina (IMI) y la maprotilina (MP), puso de manifiesto que el primero de ellos presenta una mayor toxicidad que la segunda (1). Asimismo, se pudo observar que la cardiotoxicidad de ambos medicamentos disminuye cuando se encuentran presentes iones Ca^{2+} ; decreciendo tanto más cuanto mayor es la concentración de iones Ca^{2+} en el medio. Estas observaciones hicieron pensar en la posibilidad de que se pro-

dujeran interacciones de tipo químico entre los iones Ca^{2+} e IMI o MP.

A fin de obtener información acerca de la posible naturaleza y magnitud de las interacciones entre los citados psicofármacos y los iones Ca^{2+} , se procedió a estudiar el proceso de difusión de iones $^{45}\text{Ca}^{2+}$ en agua, tanto en ausencia como en presencia de IMI. Parte de los resultados obtenidos en dicho estudio, fueron expuestos en una publicación anterior (2); en la cual se indican los valores que toman los coeficientes de difusión (D), de los iones Ca^{2+} , y su variación en función de la concentración en Imipramina y Maprotilina de la disolución acuosa. El análisis de los valores de D sugiere la posible formación de especies complejas, las cuales podrían afectar, quizás, a la biodisponibilidad celular de calcio.

Con el fin de contrastar en lo posible la bondad de la hipótesis enunciada en el trabajo antes citado, y, a la vez, de obtener una mayor información acerca de la naturaleza y magnitud de las fuerzas que intervienen en la movilización de los iones calcio en los diferentes medios estudiados, a partir de las curvas experimentales de difusión y de los respectivos valores del coeficiente de difusión (D), se han determinado las funciones termodinámicas de activación, así como otras magnitudes relacionadas con el proceso de difusión.

RESULTADOS Y DISCUSION

a) *Energía de activación*

Como es sabido, la energía de activación, E , de un proceso de difusión puede ser calculada a partir de los coeficientes de difusión, D , ya que ambos están relacionados mediante la ecuación (3)

$$D = A \exp (- E/RT) \quad (1)$$

en la que R es la constante de los gases, T la temperatura absoluta y A el factor de frecuencia. En el caso de que E se mantenga constante dentro del intervalo de temperatura de trabajo, la representación de $\log D = f(1/T)$ debe dar una línea recta, como en efecto ocurre en los procesos estudiados por nosotros (Figura 1).

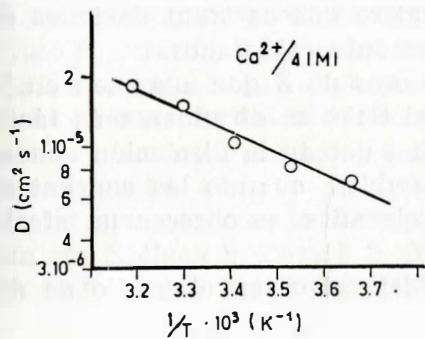
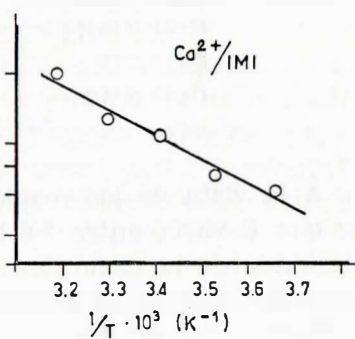
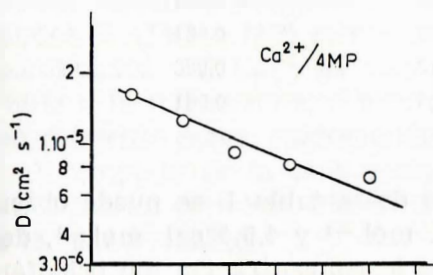
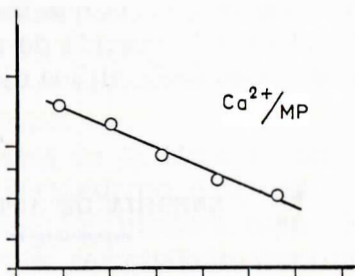
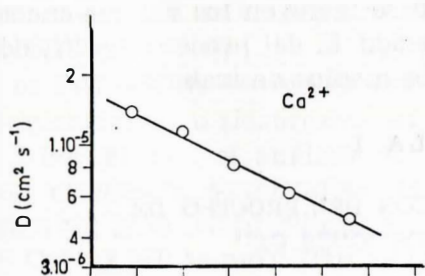


FIGURA - 1 -

Cada una de las rectas de la figura 1, han sido ajustadas siguiendo el método de los mínimos cuadrados. Los valores encontrados para el coeficiente de correlación lineal, r , aparecen en la Tabla I, en la que también se incluyen los valores encontrados para la energía de activación E , del proceso de difusión de los iones Ca^{2+} en los distintos medios de trabajo.

TABLA I

ENERGIA DE ACTIVACION DEL PROCESO DE
DIFUSION DE LOS IONES Ca^{2+}

Sistema	Kcal.mol ⁻¹	r
Ca^{2+}	4,6	0,995
$\text{Ca}^{2+}/\text{IMI}$	4,9	0,981
$\text{Ca}^{2+}/4\text{IMI}$	4,3	0,981
Ca^{2+}/MP	4,3	0,988
$\text{Ca}^{2+}/4\text{MP}$	3,6	0,981

A la vista de los resultados de la tabla I, se puede observar que E varía entre 3,6 Kcal. mol.⁻¹ y 4,9 Kcal. mol.⁻¹, dependiendo de la naturaleza y de la concentración del psicofármaco utilizado en el medio de difusión. Estos valores de E son inferiores, casi en un 50 por ciento, a los encontrados al estudiar los procesos de difusión y de autodifusión de otros iones en aqua (4), (5), (6), lo que sugiere que se trata de iones de mayor volumen que los anteriormente estudiados.

Al comparar entre sí los valores de E que aparecen en la tabla I, se puede observar que el Ca^{2+} se difunden más fácilmente en presencia de Maprotilina que en la disolución acuosa exenta de este antidepresivo; también, cuando las concentraciones de Imipramina son más elevadas, se observa un efecto análogo. Asimismo se observa que E decrece a medida que aumenta la concentración de antidepresivos en el medio de difusión.

El hecho de que E se haga menor en presencia de imipramina o de maprotilina, en lugar de aumentar como cabría esperar a la vista de la teoría de Debye-Hückel (7), hace pensar que en presencia de tales sustancias, los acuocomplejos de cal-

cio (8), (9) se podrían transformar, mediante una reacción de sustitución en otras especies complejas (2), en las que las bases IMI y MP se coordinan al ión Ca^{2+} , para dar uniones Ca^{2+} -IMI y Ca^{2+} -MP. La estabilidad relativa de las posibles especies complejas $[\text{C}_n^{\text{II}} \text{L}_x (\text{OH}_2)_{6-x}]^{2+}$ y/o $[\text{C}_n^{\text{II}} (\text{OH}) \text{L}_x (\text{OH}_2)_{5-x}]^+$ (donde L es IMI o MP) dependerá del pH de la concentración del correspondiente antidepresivo en el medio.

Por último, el análisis de los datos de la tabla I, sugiere una diferencia cuantitativa de comportamiento entre la imipramina y la maprotilina. Al parecer, los posibles complejos de Ca^{2+} y MP se movilizan mejor que los correspondientes complejos de Ca^{2+} e IMI, lo que sugiere una apreciable diferencia entre los potenciales Z/r^2 de ambas posibles especies complejas. Si se tiene en cuenta que el ión central es el mismo y los parecidos tamaños, estructura y composición química de los ligandos, L (IMI o MP) sabría pensar, o bien que el número de coordinación del Ca^{2+} es mayor frente a la maprotilina que frente a la imipramina, o bien que se trata de especies iónicas con diferente carga, correspondiendo el mayor valor de la carga Z al complejo de la imipramina. Es obvio que los resultados expuestos no permiten discernir cual de estas dos posibilidades es la más probable.

b) *Distancia cuadrática media "neta" por salto iónico*

Aun cuando la movilización de los iones Ca^{2+} tiene lugar en las tres direcciones del espacio, se puede considerar que la difusión neta de tales iones monodimensionalmente en la dirección del eje de la columna capilar y en sentido descendente de la misma. En tal caso se puede considerar como λ la distancia cuadrática media "neta" recorrida por los iones Ca^{2+} en cada salto.

De acuerdo con lo indicado anteriormente, se puede demostrar fácilmente (5) que la distancia cuadrática media "neta" por salto iónico, λ , viene dada por la ecuación:

$$\lambda = \frac{1}{\sum (C/\text{Co})} \cdot \left(\frac{\sum (C/\text{Co}) \cdot x^2}{\text{Co} \cdot N} \right)^{1/2} \quad (\text{II})$$

donde

N = número de Avogrado

x = distancia a la interfase en cm.

C = Concentración de iones Ca^{2+} (referida a iones marcados) en la porción de la columna capilar de difusión considerada

C_0 = concentración inicial de iones Ca^{2+} (referida a iones marcados) en la columna capilar de difusión.

La aplicación de la ecuación (II) a los datos de difusión obtenidos por nosotros, ha permitido determinar los valores de λ , los cuales se indican en la Tabla II.

TABLA II

DISTANCIA CUADRATICA MEDIA POR SALTO IONICO

T (°C)	λ (cm) . 10^{-10}				
	Ca^{2+}	$\text{Ca}^{2+}/\text{IMI}$	$\text{Ca}^{2+}/4\text{IMI}$	Ca^{2+}/MP	$\text{Ca}^{2+}/4\text{MP}$
0	9,5	9,4	0,8	9,5	9,6
10	9,6	9,7	9,8	9,6	9,6
20	9,7	9,9	10,1	9,7	10,1
30	9,9	10,0	10,1	10,0	10,2
40	10,1	10,5	10,0	10,0	10,5

A la vista de la tabla II se observa que λ varía entre $9,4 \cdot 10^{-10}$ cm y $10,5 \cdot 10^{-10}$ cm, aumentando con la temperatura de trabajo y dependiendo del psicofármaco presente en el medio. Estos valores de λ son unas diez veces superiores a los encontrados al estudiar la autodifusión de los iones fosfato en agua (10), y son, asimismo, del orden de 10^7 veces inferiores a las distancias medias teóricas a que se encontrarían los iones calcio en las correspondientes disoluciones acuosas. En realidad esto último no debe extrañar si se tiene en cuenta que los iones que se difunden lo hacen siguiendo un recorrido laberíntico, a lo largo del cual se producen múltiples cambios de dirección y sentido.

c) *Tiempo medio por salto iónico*

Si se considera que el sistema capilar a través del cual se estudia el proceso de difusión de iones Ca^{2+} , se comporta como

un sistema homogéneo, es posible demostrar que el coeficiente de difusión, D , y la distancia cuadrática media "neta" por salto iónico, λ , están relacionados entre sí (11) mediante la ecuación:

$$D = \lambda^2/2T \quad (\text{III})$$

donde T es el tiempo medio "neto" por salto iónico.

La utilización de la ecuación (III), ha permitido la determinación de los valores de T que se indican en la Tabla III.

TABLA III

TIEMPO MEDIO "NETO" POR SALTO IONICO

T (°C)	T 10^{-14} (segundos)				
	Ca ²⁺	Ca ²⁺ /IMI	Ca ²⁺ /4IMI	Ca ²⁺ /MP	Ca ²⁺ /4MP
0	9,2	7,1	6,8	7,4	6,5
10	7,4	6,7	5,9	6,6	5,7
20	5,9	4,5	5,0	5,4	5,6
30	4,3	3,9	3,4	4,0	4,1
40	3,7	2,8	3,0	3,3	3,3

En la referida tabla se observa que los valores de T varían entre $2,8 \cdot 10^{-14}$ s. y $9,2 \cdot 10^{-14}$ s., decreciendo al aumentar la temperatura. En cuanto a la influencia del antidepresivo presente en el sistema, se observa que esta viene condicionada por la temperatura, de manera que mientras a temperaturas inferiores a 20°C, T , decrece en el orden: $\text{Ca}^{2+} > \text{Ca}^{2+}\text{-IMI} > \text{Ca}^{2+}\text{-MP}$; para temperaturas superiores lo hacen según el orden: $\text{Ca}^{2+} > \text{Ca}^{2+}\text{-MP} > \text{Ca}^{2+}\text{-IMI}$. Esto parece sugerir una mayor fortaleza del enlace formado con la interacción entre la imipramina y los iones Ca^{2+} que entre éstos y la maprotilina, cuando se trabaja a temperaturas superiores a 20°C. Estos resultados parecen estar de acuerdo con los obtenidos al estudiar "in vitro" y comparativamente la cardiotoxicidad de estos psicofármacos (1).

d) *Velocidad específica neta de difusión*

Como es sabido, el coeficiente de difusión, D , se puede definir como la velocidad de transferencia por unidad de concen-

tración. De acuerdo con esta definición, al considerar el flujo de iones Ca^{2+} "marcados" (^{45}Ca), que se difunden en el espacio comprendido entre dos superficies separadas entre si por una distancia infinitesimal, dx , medida en la dirección del eje de la columna capilar de difusión, se llega a demostrar fácilmente la expresión (5):

$$k = D/\lambda^2 \quad (\text{IV})$$

donde k es la velocidad específica "neta" de difusión y D y λ tienen el significado ya indicado anteriormente.

Los valores de k encontrados al estudiar la movilización de los iones Ca^{2+} en los sistemas indicados, aparecen expresados en la tabla IV, en la cual se puede observar que k toma valores comprendidos entre $5,4 \cdot 10^{12} \text{ s}^{-1}$ y $18 \cdot 10^{12} \text{ s}^{-1}$, valores que son unas mil veces inferiores a los correspondientes de autodifusión de iones fosfato en agua (12). Conviene hacer notar también, que hay una diferencia marcada en cuanto se refiere a la influencia del psicofármaco en la movilización de Ca^{2+} , por debajo y por encima de la temperatura de 20°C . En cualquier caso, las posibles especies complejas formadas en los sistemas Ca-IMI y Ca-MP se movilizan con mayor velocidad específica que los correspondientes acuoiones de calcio. Sin embargo, por debajo de 20°C , k aumenta en el orden $\text{Ca}^{2+} < \text{Ca}^{2+}\text{-IMI} < \text{Ca}^{2+}\text{-MP}$; mientras que por encima de la temperatura citada k aumenta en el orden $\text{Ca}^{2+} < \text{Ca}^{2+}\text{-MP} < \text{Ca}^{2+}\text{-IMI}$. Es decir, que también el estudio de los valores de k aboga en favor de la hipótesis de una mayor estabilidad de la posible especie com-

TABLA IV

VELOCIDAD ESPECIFICA "NETA" DE DIFUSION

T (°C)	k · 10 ⁻¹² (segundos ⁻¹)				
	Ca ²⁺	Ca/IMI	Ca/4IMI	Ca/MP	Ca/4MP
0	5,4	7,1	7,4	6,8	7,8
10	6,7	7,5	8,5	7,6	8,7
20	8,5	11,1	10,1	9,3	8,9
30	11,6	12,7	14,9	12,6	12,1
40	13,6	18,0	16,8	15,2	15,2

pleja de Ca^{2+} e IMI, a temperaturas comprendidas entre 20°C y 40°C ; dando lugar en estas condiciones, a una mayor interacción entre el Ca^{2+} y la imipramina que entre el Ca^{2+} y la maprotilina. Este resultado podría justificar el mayor potencial cardiotóxico de la IMI, respecto de la MP, como se ha observado en un trabajo anterior (1). Como puede observarse en la tabla IV, k , aumenta a medida que lo hace la temperatura.

La representación de $\log k/T = f(1/T)$, (fig. 2), pone de manifiesto que k varía con la temperatura en la forma prevista por la teoría de las velocidades absolutas (7), según la cual:

$$k = \frac{R \cdot T}{N \cdot h} \cdot \exp(-\Delta G^*/RT) \quad (\text{V})$$

donde R es la constante de los gases, h , la constante de Planck y ΔG^* , la energía libre de activación del proceso de difusión; el resto de los símbolos utilizados en la expresión tienen el significado habitual, ya conocido.

e) Funciones termodinámicas de activación

A partir de las pendientes y las ordenadas en el origen de cada una de las rectas de la figura 2 (las cuales fueron ajustadas por el procedimiento matemático de mínimos cuadrados) se han determinado las entalpías medias de activación, (ΔH^*), y las entropías medias de activación, (ΔS^*) de los procesos de difusión estudiados, para el intervalo de temperaturas comprendido entre 0° y 40°C . Los correspondientes valores para ΔH^* y ΔS^* aparecen recogidos en la Tabla V.

TABLA V

ENTALPIAS Y ENTROPIAS MEDIAS DE ACTIVACION
DEL PROCESO DE DIFUSION

Sistema	ΔH^* Kcal.mol ⁻¹	ΔS^* Cal.K ⁻¹ .mol ⁻¹
Ca^{2+}	3,4	-47,1
Ca/IMI	3,5	-47,1
Ca/4IMI	3,2	-47,1
Ca/MP	3,0	-47,1
Ca/4MP	2,2	-47,1

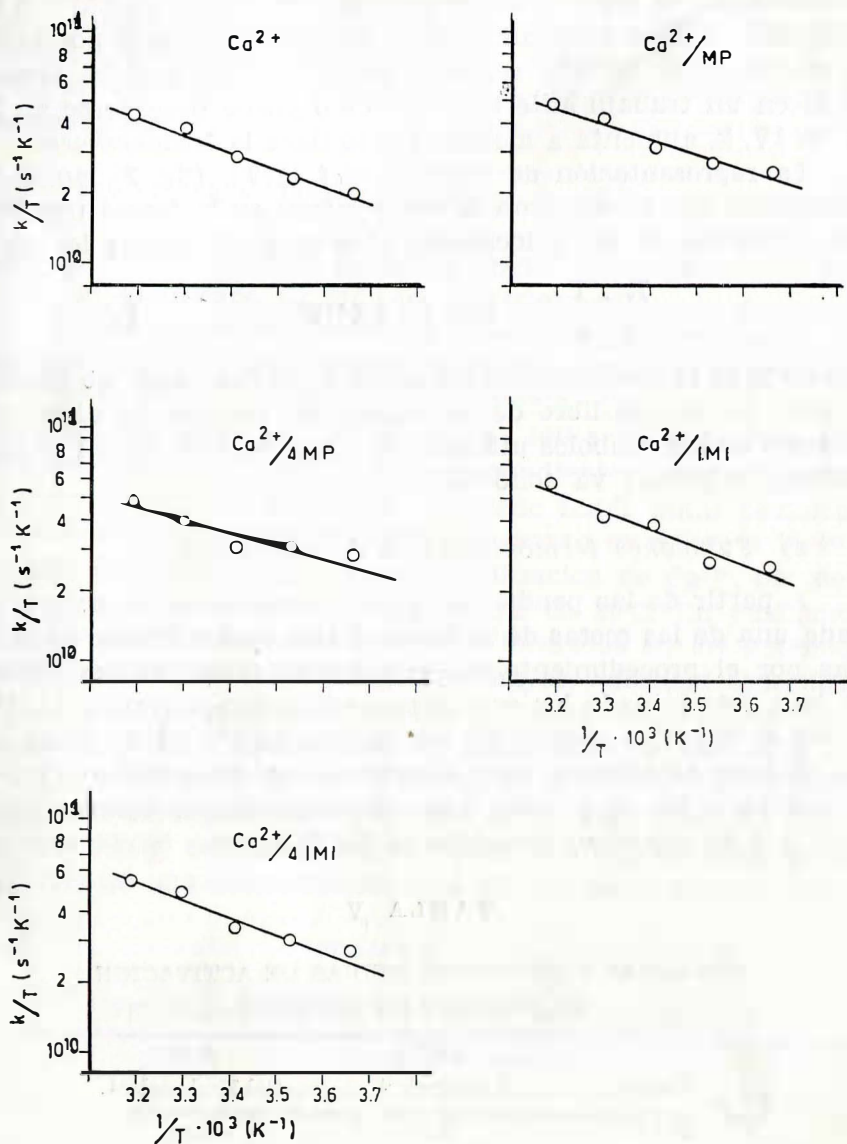


FIGURA - 2 -

A la vista de la tabla V se puede observar que las entalpías medias de activación varían entre 2,2 Kcal.mol⁻¹ y 3,5 Kcal.mol⁻¹. Es decir, que la formación de la especie activada a través de la cual transcurre el proceso de difusión, tiene lugar en un régimen endotérmico, pero que, en todos los casos, la entalpía de formación de dicha especie es tan pequeña relativamente, como para que pueda ser transferida desde el entorno ambiental. Por otra parte ΔS^* es en todos los casos igual a $-47,1 \text{ cal.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$. El hecho de que ΔS^* sea negativo indica que, como cabría esperar, la citada especie activada tiene mayor orden que el que disfrutan, en la disolución las especies que se difunden. Por otra parte, el que ΔS^* sea constante sugiere que dicha especie tiene una composición análoga en todos los casos, lo que hace pensar en la posibilidad de que el número de moléculas de IMI y de MP coordinadas a los iones Ca²⁺ en las correspondientes especies complejas postuladas como posibles, pueda ser el mismo, en ambos casos.

Como es bien sabido, la energía libre de activación (ΔG^*), que es una medida de la probabilidad termodinámica de que se realice el proceso de difusión, viene dada por:

$$\Delta G^* = \Delta H^* - T \Delta S^* \quad (\text{VI})$$

donde todas las magnitudes tiene el significado habitual.

La aplicación de la ecuación (VI) a los datos de la tabla IV ha permitido calcular los valores de ΔG^* que se indican en la tabla VI.

A la vista de la tabla VI, se observa que ΔG^* toma valores comprendidos entre 3,0 y 4,2 Kcal.mol⁻¹, aumentando a medida que lo hace la temperatura, no estando ΔG^* influenciado

TABLE VI
ENERGIAS LIBRES DE ACTIVACION DEL PROCESO DE DIFUSION

T (°C)	ΔG^* (Kcal.mol ⁻¹)				
	Ca ²⁺	Ca/IMI	Ca/4IMI	Ca/MP	Ca/4MP
0	3,0	3,2	3,2	3,2	3,2
10	3,3	3,3	3,4	3,3	3,4
20	3,5	3,7	3,6	3,6	3,5
30	3,8	3,9	3,9	3,9	3,8
40	4,0	4,2	4,2	4,1	4,1

de forma sustancial por la presencia del psicofármaco en el medio.

De acuerdo con todo lo que se acaba de exponer, parece afianzarse la sugerencia de una posible existencia de interacciones de tipo químico entre los iones Ca^{2+} y la imipramina o la maprotilina, interacciones cuya magnitud, parece venir condicionada por la temperatura del medio. Concretamente a temperatura inferior a 20°C , las interacciones de los iones Ca^{2+} parecen ser más intensas con la maprotilina; mientras que entre 20 y 40°C las uniones Ca^{2+} -psicofármaco resultan ser más intensas con la imipramina. En ambos casos, parece que tiene lugar, como se postulaba en un trabajo anterior (2), la formación de especies complejas entre el psicofármaco y los iones de Ca^{2+} del medio. Las diferencias encontradas en el estudio termodinámico del proceso de difusión permite la correlación de este estudio con experiencias realizadas sobre materiales biológicos. Los resultados encontrados en el presente trabajo podrían contribuir en parte a explicar las diferencias encontradas al estudiar los efectos cardiotóxicos de las moléculas IMI o MP en base a la magnitud de sus interacciones con los iones calcio presentes en los distintos medios de perfusión.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—PUCHE, E., GARCIA MORILLAS, M., MUNDO, A., BOLAÑOS, J.: Arch. Farmacol. Toxicol., 4, 50, 1973.
- 2.—VALENZUELA CALAHORRO, C., RUIZ DE ALMODOVAR, J. M., PUCHE, E.: Ars Pharmaceutica 20, 155 (1979).
- 3.—JOST, W.: "Diffusion in solids, liquids and gases". Academic Press, New York (1952).
- 4.—LOPEZ GONZALEZ, J. de D., PEINADO, J.: Anales de Química, 65, 93 (1969).
- 5.—LOPEZ GONZALEZ, J. de D., VALENZUELA CALAHORRO, C., DEL REY BUENO, F.: Anales de Química, 69, 1297 (1973).
- 6.—LOPEZ GONZALEZ, J. de D., VALENZUELA CALAHORRO, C., MARTINEZ BECERRA, M. A.: Anales de Química, 65, 327 (1969).
- 7.—GLASTONE, S.: Tratado de Química-Física. Ed. Añular. Madrid (1968).
- 8.—PREDALI, J.: Tesis Doctoral, Universidad de Nancy. Francia (1973).
- 9.—HERNANDEZ ALVARO, J.: "Estudio de los procesos de cambio de los iones alcalino-térreos en membranas ácidas "Permaplex C-20". Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada (1977).
- 10.—IBAÑEZ AFARICIO, A.: "Estudio de la autodifusión de iones fosfato en disolución acuosa". Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada (1973).
- 11.—TUWINER, S. B.: "Diffusion and membrane technology". Reinhold Publishing, New York (1962).
- 12.—VALENZUELA CALAHORRO, C., IBAÑEZ, A., LOPEZ GONZALEZ, J. de D.: Anales de Química (En prensa).