

ALGUNOS ASPECTOS DE LAS ASOCIACIONES MOLECULARES  
BASE XANTICA-LIDOCAINA

Martínez, L; Gutiérrez, P.; Martínez, P.J.; Rodríguez, E. y Thomas J.

RESUMEN

Se evidencia la interacción de cafeína, teofilina y teobromina con lidocaína, para dar asociaciones de estequiometría 1:1. Además se determinan las solubilidades de las tres bases xánticas en mezclas dioxano-agua.

SUMMARY

The interaction and its stoichiometry between xanthines, caffeine, theophylline and theobromine, and lidocaine are discussed. Also, the solubility for the xanthines were determined in dioxane-water mixtures, and the solubility curves were determined.

INTRODUCCION.-

La capacidad de las metilxantinas, cafeína, teofilina y teobromina, para formar asociaciones moleculares, generalmente 1:1, con amidas, ácidos, ésteres, etc. se describe en numerosos trabajos. Muchas de las sustancias que forman dichos complejos moleculares tienen acción farmacológica, así se han estudiado asociaciones con ácido acetilsalicílico (1), ácido p-aminobenzóico, fenobarbital y barbital (2), ácido pícrico (3) y diversas sustancias de acción anestésica local (4)(5)(6)(7)(8). Además las moléculas de las metilxantinas, pueden asociarse entre sí. Así Paruta y col. (9), sugieren la formación de monómeros, dímeros, tetrámeros y Kikkert y col. obtienen los espectros de estas especies.

En el presente trabajo se pone de manifiesto la formación de complejos moleculares 1:1 entre las bases xánticas, cafeína, teofilina y teobromina con

lidocaína. Además se determina la solubilidad de las tres metilxantinas en mezclas dioxano-agua de diferentes composiciones, por medidas de absorbancia.

#### PARTE EXPERIMENTAL.-

*Reactivos.*- Acido clorhídrico y fosfato monopotásico, Probus; p-dioxano, Quimon; etanol, Panreac.

*Sustancias empleadas.*- 3,7 Dihidro-1,3,7-trimetil-1H purina-2,6 diona (cafeína) (I); dihidro-1,3-dimetil-1H purina 2,6 diona (teofilina) (II) suministradas por Boehringer Ingelheim; 3,7 dihidro-3,7-dimetil-1H purina-2,6 diona (teobromina) (III), Sigma y Bromhidrato de 2-(dietilamino)-N-(2,6-dimetilfenil) acetamina (lidocaína) (IV), Quimifar.

*Instrumentación.*- Espectrofotómetro UV-V, Perkin Elmer, Lambda 5; termostato P-Selecta, Unitronic 320. Aparato de medida de punto de fusión, electrotérmico. Centrífuga, Homef LC-30.

#### METODOLOGIA Y RESULTADOS.-

##### *Determinación de solubilidad y absortividades molares.*

La solubilidad se ha determinado a 25°C, y para lo cual se dispuso de una vasija termostatada, donde se colocaron aproximadamente 20 ml de disolvente, agua, dioxano o mezcla agua-dioxano, en presencia de base xántica al estado sólido. Se agitó mediante un agitador magnético, durante el tiempo necesario, en cada caso para alcanzar el equilibrio de saturación (previamente determinado). A continuación, el sistema se dejó en reposo durante 24 horas, para lograr la separación del sólido en exceso de la disolución saturada. Se tomó 1 ml del sobrenadante y se diluyó para que el valor de absorbancia de la disolución quedase dentro de los márgenes adecuados.

Para que las condiciones de medida fuesen idénticas en todas las determinaciones se adicionó ácido clorhídrico y dioxano en cantidad suficiente, de manera que la disolución final quedara con idénticas concentraciones de CIH y dioxano (0,1M en CIH y 1 por mil para (I) y (II) y 0,1M en CIH y 20 por mil en dioxano para (III)).

A la dilución resultante, 0,1M en CIH y 1 por mil en dioxano, se le midió la absorbancia a la longitud de onda del máximo de absorción para cada una de las bases xánticas (272nm para cafeína y teobromina y 270nm para teofilina). Como blanco se utilizó una disolución con concentraciones de CIH y dioxano iguales a la muestra.

En la tabla I se recogen los datos experimentales de las medidas de absorbancia. A partir de ellas se calcula la solubilidad para cada una de las bases xánticas, en cada mezcla disolvente, utilizando los valores de absortividad molar obtenidos previamente. Las solubilidades se han expresado en mg/ml y se han representado gráficamente, para cada xantina, frente a la composición del disolvente (% agua en la mezcla dioxano-agua). Las gráficas obtenidas se recogen en la Fig. 2.

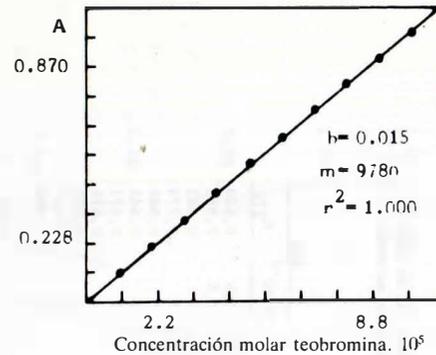
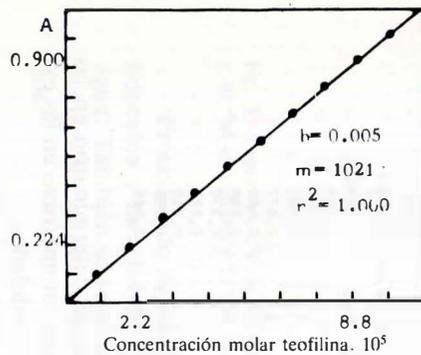
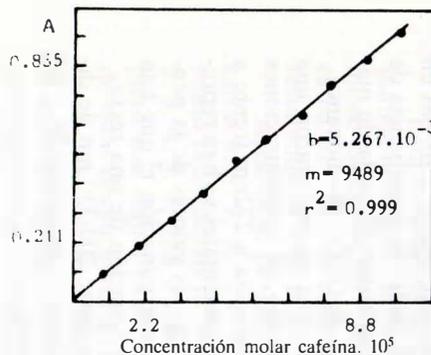


Fig. 1.- Determinación de los coeficientes de extinción molar en disolución acuosa 0,1 M en ClH y 0,1% v/v

en dioxano.

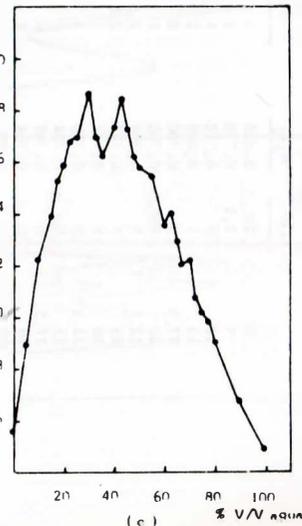
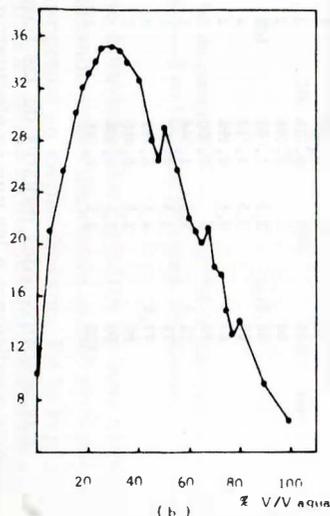
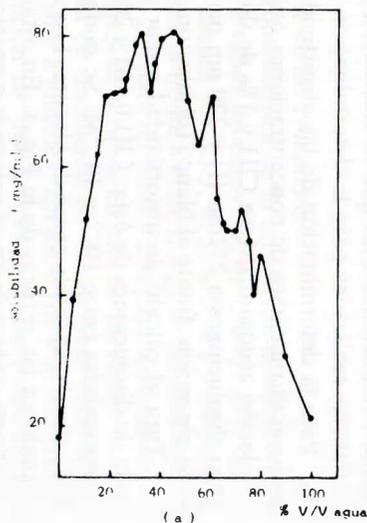


Fig. 2.- Curvas de solubilidad a 25°C en mezclas agua-dioxano de: (a) cafeína; (b) teofilina; (c) teobromina.

TABLA I

Valores de absorbancia, en el máximo de absorción, A, de disoluciones de base xántica y factor de dilución de la disolución saturada. T = 25°C.

% de agua en la mezcla	(I)		(II)		(III)	
	f.10 <sup>-3</sup>	A <sub>272</sub>	f.10 <sup>-3</sup>	A <sub>270</sub>	f.10 <sup>-2</sup>	A <sub>272</sub>
0	2	0,450	1	0,580	0,5	0,623
5	2,5	0,770	1	1,191	0,5	0,983
10	5	0,510	1	1,460	1	0,682
15	5	0,609	2	0,861	1	0,774
17,5	5	0,700	2	0,914	1	0,848
20	5	0,702	2	0,945	2	0,445
22,5	5	0,703	2,5	0,780	2	0,473
25	5	0,723	2,5	0,801	2	0,476
30	5	0,775	5	0,403	2	0,522
32,5	5	0,790	2	0,991	2	0,477
35	5	0,704	5	0,391	2	0,456
37,5	5	0,749	-	-	-	-
40	5	0,784	2	0,930	1	0,961
42,5	-	-	-	-	2	0,515
45	5	0,795	2	0,798	1	0,957
47,5	5	0,780	2	0,753	2	0,456
50	5	0,694	2	0,825	2	0,445
55	5	0,626	2	0,734	1	0,855
60	5	0,696	2	0,628	1	0,753
62,5	2,5	1,082	2	0,599	1	0,779
65	2,5	1,013	2	0,575	1	0,717
67,5	2,5	0,996	2	0,606	1	0,677
70	5	0,500	1	1,041	1	0,680
72,5	2,5	1,044	1	0,896	1	0,599
75	2,5	0,957	1	0,849	1	0,570
77,5	2,5	0,792	1	0,750	1	0,555
80	2,5	0,910	1	0,810	1	0,510
90	2,5	0,606	1	0,127	0,5	0,755
100	2,5	0,525	1	0,372	0,5	0,549

Las absorptividades molares de las bases xánticas se determinaron en las mismas condiciones a las que se efectuaron las medidas fotométricas en las experiencias realizadas para la determinación de las solubilidades.

Para la determinación de las absorptividades de cafeína y teofilina se prepararon disoluciones de concentraciones que oscilaron entre 10<sup>-5</sup> y 10<sup>-4</sup>M en disolución acuosa 0,1M en ClH y 1% de dioxano. Se midió la absorbancia de estas disoluciones a 272nm (I) y 270 nm para (II), longitudes de onda de máxima absorción, frente al blanco (disolución acuosa 0,1 de ClH y 1% dioxano).

Para el cálculo de absorptividad molar de teobromina se prepararon una serie de disoluciones de ésta: ClH 0,1M y 20% de dioxano, de concentraciones comprendidas entre 10<sup>-5</sup> y 10<sup>-4</sup>M. Se midió la absorbancia a 272nm frente a la disolución utilizada como disolvente. Los datos experimentales se han representado en las gráficas de la Fig. 1. En ésta se expresan los valores de la pendiente  $\bar{m}$ , ordenada en el origen  $\bar{b}$  y coeficiente de determinación r<sup>2</sup> que han resultado del ajuste de los datos experimentales a la ecuación de una recta.

Se han registrado los espectros en medio acuoso entre 200-330 nm de disolución 10<sup>-4</sup>M de base xántica, de lidocaína de la misma concentración y de una disolución 10<sup>-4</sup>M de xantina y 10<sup>-4</sup>M de lidocaína.

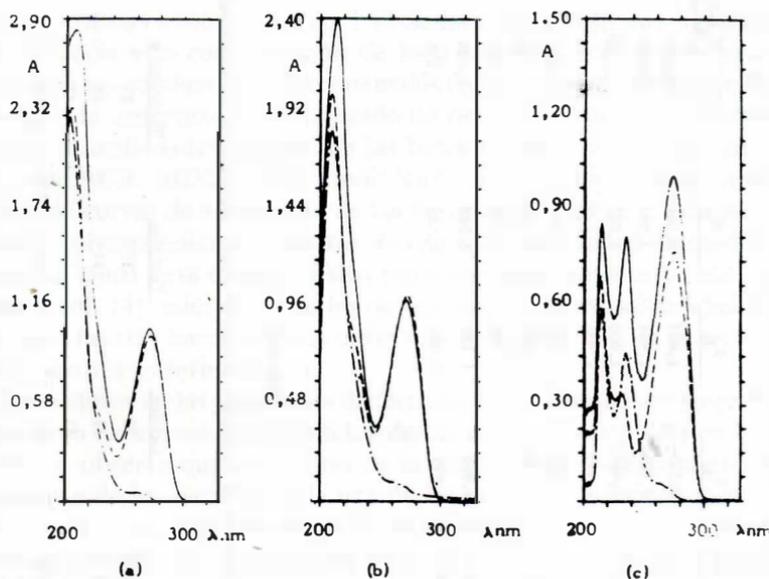


Fig. 3.- Espectros UV de disoluciones:  $10^{-4}$ M de cafeína (-----),  $10^{-4}$ M de lidocaína (- · - · -) y  $10^{-4}$ M en cafeína y  $10^{-4}$ M en lidocaína (—) en (a) agua; (b) etanol; (c) dioxano.

Procediendo de igual forma, se obtuvieron los espectros de base xántica, lidocaína y mezclas de ambas, utilizando como disolvente etanol en lugar de agua. También se registraron los espectros en medio dioxano. En la Fig. 3 se recogen los espectros correspondientes a cafeína en los tres disolventes ensayados.

#### *Determinación de la estequiometría de los complejos.*

Para determinar la razón estequiométrica de la asociación molecular base xántica-lidocaína, se pusieron en 9 tubos de ensayo 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, y 1 ml de disolución  $10^{-4}$  M de base xántica y 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 ml de lidocaína  $10^{-4}$  M y se midió la absorbancia frente a etanol,  $A_M$ , de las disoluciones resultantes, a 208 nm para cafeína, 205 para teofilina y 204 para teobromina.

Además se prepararon dos series de 9 tubos en una de las cuales se colocaron 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, y 1 ml de disolución  $10^{-4}$ M de base xántica y se midió la absorbancia,  $A_B$ , a la misma  $\lambda$  anterior. En los otros 9 se pusieron 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 ml de disolución  $10^{-4}$ M de lidocaína. En todos se completó con etanol hasta un volumen de 10 ml, y se tomó la absorbancia,  $A_L$ , de estas disoluciones a las mismas longitudes de onda anteriores. Los valores de absorbancia para cada tubo se muestran en las tablas II, III y IV; también se incluyen en dichas tablas la diferencia entre la suma de las absorbancias de los reactivos por separado,  $A_L + A_B$ , y la absorbancia de la mezcla  $A_M$ .

TABLA II

Valores de absorbancia a 208nm de disoluciones de lidocaína, -  
cafeína y mezcla cafeína-lidocaína.

Tubo	$A_L$	$A_B$	$A_M$	$(A_L + A_B) - A_M$
1	0,601	1,996	2,128	0,469
2	0,686	1,872	2,090	0,468
3	0,923	1,653	2,088	0,488
4	1,144	1,477	2,092	0,529
5	1,410	1,288	2,091	0,607
6	1,602	1,071	2,096	0,577
7	1,755	0,890	2,078	0,567
8	1,932	0,609	2,095	0,446
9	1,992	0,401	2,076	0,317

TABLA IV

Valores de absorbancia a 204nm de disoluciones de lidocaína, -  
teobromina y mezcla teobromina-lidocaína.

Tubo	$A_L$	$A_B$	$A_M$	$(A_L + A_B) - A_M$
1	0,185	0,732	1,090	-0,173
2	0,312	0,612	1,036	-112
3	0,430	0,528	1,069	-0,111
4	0,610	0,451	1,095	-0,034
5	0,780	0,366	1,165	-0,018
6	0,923	0,266	1,228	-0,039
7	1,032	0,166	1,245	-0,045
8	1,140	0,098	1,278	-0,040
9	1,245	0,010	1,312	-0,057

TABLA III

Valores de absorbancia a 205nm de disoluciones de lidocaína, -  
teofilina y mezcla teofilina-lidocaína.

Tubo	$A_L$	$A_B$	$A_M$	$(A_L + A_B) - A_M$
1	0,525	2,007	2,060	0,472
2	0,826	1,946	2,058	0,714
3	1,067	1,800	2,055	0,832
4	1,442	1,779	2,094	1,118
5	1,640	1,675	2,050	1,265
6	1,788	1,433	2,057	1,164
7	1,876	1,240	2,062	1,054
8	1,955	1,120	2,040	1,035
9	1,977	0,866	2,035	0,810

TABLA V

Valores de constantes dieléctricas para los máximos de solubilidad.

	<u>Cafeína</u>	<u>Teofilina</u>	<u>Teobromina</u>
Máximo	22	21	21
Pico 1	32	37	31
Pico 2	45	51	47
Pico 3	61	61	54

## DISCUSION.-

De la observación de la Fig. 1 se deduce que existe una linealidad entre la absorbancia y la concentración de base xántica y que por tanto las bases xánticas en las condiciones experimentales fijadas cumplen la ley de Beer y en el margen de concentraciones utilizado no ocurren asociaciones intermoleculares. Las absorptividades molares de las bases xánticas se incluyen en la Fig. 1 y han sido 9489, 10212 y 9780  $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$  para I, II y III respectivamente.

En las curvas de solubilidad de las bases xánticas, Fig. 2, se aprecian cuatro picos correspondientes a cuatro máximos de solubilidad en teofilina y teobromina y cinco para cafeína. Estos picos son semejantes a los obtenidos por Paruta y col. (9), además el hecho de que las curvas de solubilidad sean análogas para las tres bases xánticas ensayadas, confirma que los picos no son debidos a errores experimentales.

Los valores de las constantes dieléctricas (10) a las que aparecen los distintos picos en las curvas de solubilidad de las xantinas se recogen en la tabla V. En ésta se observa que los valores de la constante dieléctrica requeridos para la aparición de los picos en cada una de las metilxantinas están muy próximos unos a otros, siendo la diferencia de siete unidades. Este hecho indica que las curvas de solubilidad son paralelas entre sí y que existe una proporcionalidad entre las solubilidades de las tres bases xánticas.

La aparición de 4 ó 5 máximos en los perfiles de solubilidad de las xantinas, puede atribuirse a la existencia de  $n$  estados poliméricos que surgen con el cambio de polaridad del disolvente. Esto concuerda con lo sugerido por Higuchi (6), de que cafeína existe como monómero en disolventes apolares y como varios polímeros en agua. Dada la similitud estructural de las tres xantinas ensayadas, el comportamiento ha de ser análogo, lo cual queda confirmado por la semejanza de las curvas obtenidas. En cafeína aparece otro pico más, lo que significaría la aparición en este caso de polímeros de un grado superior.

La Fig. 3 muestra los espectros de disoluciones de cafeína, lidocaína y mezcla de cafeína y lidocaína en relación molar 1:1 en agua (a), en etanol (b) y en dioxano (c). En estas gráficas se observa que los espectros correspondientes a las disoluciones mezcla base xántica-lidocaína (1:1), Fig. 3 trazo continuo, presentan una banda de absorción hacia 200 nm, que también aparece en los espectros de los reactivos por separado. Sin embargo la absorbancia de la mezcla, en el caso de cafeína y teofilina a la longitud de onda del máximo de absorción no coincide con la suma de las absorbancias de los reactivos medidos por separado a la misma longitud de onda del máximo de la mezcla. En el caso de cafeína y teofilina (Fig. 1 y Tabla III) se ha observado una disminución en la absorbancia de la mezcla respecto a la de los reactivos, mientras que en teobromina se observa un incremento como se deduce de la tabla IV. Además, el máximo de absorción que presentan los reactivos hacia 290 nm, en el espectro de la mezcla aparece ligeramente desplazado, en unos 5 nm, hacia longitudes de onda mayores. Estos hechos sugieren una interacción débil entre la base xántica y lidocaína, que podría consistir en la formación de asociaciones

moleculares base xántica-lidocaína por puentes de hidrógeno u otras uniones débiles.

Por otra parte, las modificaciones observadas (Fig. 1) son menores a medida que disminuye la polaridad del disolvente, así éstas son mayores en medio acuoso, seguida del medio etanólico y de dioxano. De donde se puede deducir que la magnitud de la interacción base xántica-lidocaína aumenta con la polaridad de disolvente. Además, si se comparan las variaciones espectrales para las tres bases xánticas en el mismo disolvente (tablas II-IV) se deduce una mayor interacción para teofilina, seguida de cafeína y de teobromina.

Las experiencias realizadas para determinar la estequiometría de los complejos moleculares se resumen en las tablas II, III y IV. En éstas se observa que el efecto en la disminución o incremento de absorbancia, reflejado en los valores de  $(A_L + A_B) - A_M$ , es máximo en las tres bases xánticas, para una relación 1:1 de los reactivos, lo cual induce a establecer una relación estequiométrica 1:1 para las asociaciones moleculares estudiadas.

#### BIBLIOGRAFIA

- (1) Higuchi, T. and Lach, J. *Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 42 (3), 138-46 (1953).
- (2) Higuchi, T. and Lach, J.L., *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, 43, (6) 349-54 (1954).
- (3) Higuchi, T. and Lach, J.L., *J. Am. Phar, Assoc., Sci. Ed.*, 43 (9) 524-27 (1954).
- (4) Masanori, Y., *Yakugaku Zasshi*, 93 (6), 737-41 (1973).
- (5) Masanori, Y. and Masayoshi, S., *Yakugaku Zasshi*, 93, (2), 149-56, (1973).
- (6) Higuchi, T. and Lachman, L., *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 44 (9), 521-6, (1955).
- (7) Lachman, L., Ravin, L.J. and Higuchi, T., *J. Am. Phar, Assoc., Sci. Ed.*, 45, (5), 290-5, (1956).
- (8) Dong Kyu Chac, *Yakhak Hoeji*, 7, (1), 1-7, (1963).
- (9) Paruta, A.N., Sciarrone, B.J. and Lordi, N.G., *J. Pharm. Sci.*, 54 (6), 838-41, (1965).
- (10) Joris, S.J., Aspila, K.I. and Chakrabarti, J. *Phys. Chem.*, 74 (4) 860 (1970).