

Michele Di Foggia¹, Sergio Bonora¹,
Michele Iafisco^{2,3}, Enrico Benassi⁴
¹Dipartimento di Biochimica 'G. Moruzzi'
Università di Bologna
²Dipartimento di Chimica 'G. Ciamician'
Università di Bologna
³Dipartimento di Scienze Mediche
Università del Piemonte Orientale
⁴Centro S3, CNR, Istituto di Nanoscienze, Modena
micheled@chem.unibo.it

STUDIO SPETTROSCOPICO DELLA CIMETIDINA

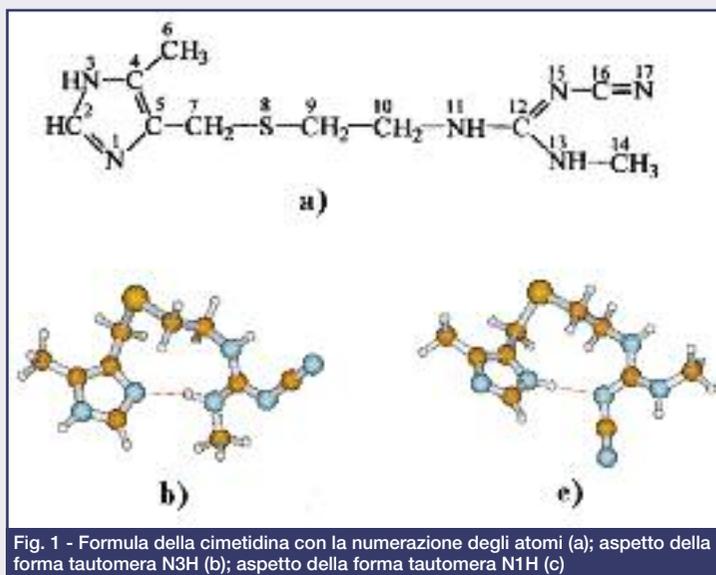
Sono stati studiati gli spettri elettronici e vibrazionali della cimetidina (cim) e dei suoi complessi con ioni metallici, sia allo stato solido, sia in soluzione acquosa diluita. Lo spettro UV del sistema cim-Cu²⁺ evidenzia un intenso doppietto a 320 e 370 nm che può essere utilizzato a scopo analitico.

La cimetidina (cim) è uno dei più potenti antagonisti del recettore H₂ dell'istamina ed è in grado di combattere sia i processi infiammatori, sia di inibire l'eccessiva secrezione acida; pertanto è comunemente utilizzata nel trattamento terapeutico dell'ulcera gastrica. Gli studi riportati in letteratura portano alla conclusione che gli effetti terapeutici della cimetidina (effetto anti-infiammatorio, effetto anti-ulcera, effetto anti-artrite reumatoide), come pure le complicazioni collaterali osservate, siano mediate dalle sue interazioni con ioni metallici bivalenti, in particolare con gli ioni Cu²⁺ e Zn²⁺ [1, 2].

La molecola di cimetidina, la cui formula è rappresentata in Fig. 1A, esiste in diverse differenti forme polimorfiche a seconda delle condizioni di cristallizzazione: in particolare i parametri che influenzano i diversi polimorfi sono la temperatura, il pH e la natura del solvente [3]. Inoltre, è noto che l'anello imidazolico può esistere in due forme tautomere; la prima (Fig. 1B), con l'atomo di idrogeno unito all'atomo di azoto N3 (tautomero N3H) e la seconda (Fig. 1C), con l'atomo di idrogeno unito all'atomo di azoto N1 (tautomero N1H). La cimetidina si comporta da energico agente chelante, potendo agire sia da legante bidentato, utilizzando come punti di coordinazione un atomo di azoto dell'anello imidazolico e l'atomo di zolfo, sia da legante tridentato, tramite i due punti precedenti e il gruppo C=N. Per queste sue caratteristiche, la preparazione di com-

posti di coordinazione cim-metallo è stata largamente studiata [2, 4]. La solubilità dei complessi cim-metallo risulta fortemente dipendente dalla natura del contro ione, risultando elevata se questo è un alogenuro (in particolare Cl⁻), mentre i complessi sono per lo più insolubili se il contro ione è lo ione perclorato (ClO₄⁻). La spettroscopia IR è stata largamente utilizzata per studiare la struttura dei complessi cim-metallo [4]. Al contrario, la spettroscopia Raman, nonostante i potenziali vantaggi che offre, quale ad esempio la possibilità di operare su sistemi acquosi, non lo è stata quasi mai e limitatamente allo studio della regione spettrale della vibrazione $\nu(\text{C}=\text{N})$, attorno a 2200 cm⁻¹ [5]. In ogni caso, al pari della spettroscopia IR, anche la spettroscopia Raman tradizionale ha una sensibilità intrinseca troppo bassa per operare alle basse concentrazioni a cui si esplica l'attività biologica dei farmaci. Tuttavia, dalla fine degli anni Settanta, questa situazione si è modificata notevolmente a seguito dell'introduzione della 'Surface Enhanced Raman Spectroscopy' (SERS) che, a seguito dell'adsorbimento dell'analita sulle particelle di un colloide metallico (più comunemente Ag, meno spesso Au e Cu), evidenzia un aumento dell'intensità dei picchi dello spettro Raman di un fattore sino a 10⁶-10⁷, aprendo così la possibilità allo studio vibrazionale di sostanze presenti in tracce in soluzione.

Anche la spettroscopia elettronica UV si presta allo studio della struttura



elettronica dei complessi metallici ed è particolarmente efficace nello studio delle soluzioni acquose diluite, a concentrazioni dello stesso ordine di grandezza di quelle studiate mediante la tecnica SERS.

Di recente, nei nostri laboratori è stata effettuata una completa caratterizzazione spettroscopica Raman e SERS di cimetidina pura e dei suoi complessi 2:1 con Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} e Ni^{2+} , sia solidi, sia in soluzioni acquose molto diluite, simulando in tal modo le concentrazioni fisiologicamente attive sia di cimetidina, sia dei suoi metallo complessi [6]. In questo lavoro viene presentato per la prima volta anche uno studio di spettroscopia elettronica UV-vis sugli stessi composti.

La Fig. 2 riporta gli spettri Raman di cim solida e quelli dei complessi solidi $\text{Cu}(\text{cim})_2(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Co}(\text{cim})_2(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Ni}(\text{cim})_2(\text{ClO}_4)_2$ e $\text{Zn}(\text{cim})_2(\text{ClO}_4)_2$ assieme alle attribuzioni delle zone spettrali. Si osservano parecchie differenze fra gli spettri della cimetidina e quelli dei suoi complessi, che fanno ipotizzare che questi ultimi siano presenti in due diverse strutture. In cim pura, il picco attribuito alla vibrazione $\nu(\text{C}2\text{-H})_{\text{imd}}$ si osserva a 3098 cm^{-1} , mentre nei complessi in presenza di Cu^{2+} , Co^{2+} e Ni^{2+} il picco è spostato a più alta frequenza, nell'intervallo $3145\text{-}3151 \text{ cm}^{-1}$ (Fig. 2), suggerendo una diminuzione della lunghezza del legame C2-H e una struttura ottaedrica per i tre complessi considerati. Invece, nello ione complesso $\text{Zn}(\text{cim})_2^{2+}$, il picco della vibrazione $\nu(\text{C}2\text{-H})_{\text{imd}}$ si riscontra a 3104 cm^{-1} , circa alla stessa frequenza della pura cimetidina, anche se alquanto allargato. La frequenza più bassa, che si riscontra in cim da sola e nei complessi con Zn^{2+} indica che l'atomo N1 è coinvolto in una struttura intermolecolare estesa, stabilizzata tramite la formazione di legami ad idrogeno e fa ipo-

tizzare l'esistenza di un complesso con una coordinazione tetraedrica. Inoltre, il comportamento dei complessi con Zn^{2+} è del tutto diverso nella zona delle vibrazioni di stiramento $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$, che appare in tal caso sdoppiata in due componenti, a 2207 e 2170 cm^{-1} . Questa osservazione porta a concludere che le due molecole di cim che coordinano lo ione centrale non siano equivalenti, a differenza di quanto osservato negli altri complessi e anche le bande nella regione a più bassa frequenza ($<1700 \text{ cm}^{-1}$) confermano il comportamento ipotizzato.

La Fig. 3 riporta gli spettri SERS degli stessi composti a concentrazione $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$. Si nota subito come tutti gli spettri siano molto simili, suggerendo che la natura del metallo ha un ruolo limitato nel determinare la struttura del complesso adsorbito sulla superficie d'argento. Inoltre, tutti gli spettri SERS sono notevolmente diversi da quelli dei corrispondenti composti solidi, evidenziando, ad esempio, una sola larga banda a 2925 cm^{-1} , attribuibile alla vibrazione di stiramento $\nu(\text{C-H})$ e la scomparsa della vibrazione $\nu(\text{C}2\text{-H})_{\text{imd}}$. La frequenza della vibrazione di stiramento $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$ (2165 cm^{-1}), uguale in tutti i composti, è più bassa se paragonata ai composti solidi ($>2175 \text{ cm}^{-1}$), confermando che l'adsorbimento superficiale avviene tramite il gruppo $\text{C}\equiv\text{N}$ della cimetidina. Il solo campione che mostra qualche differenza in questa regione è il complesso Cu^{2+} -cimetidina, in cui il picco della vibrazione $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$ è allargato e può essere risolto in due componenti, a 2165 e a 2195 cm^{-1} , dando luogo quindi ad un profilo di banda simile a quello osservato nel complesso solido con ioni Zn^{2+} . Ciò porta a supporre una maggiore affinità della cimetidina per lo ione rame rispetto agli altri ioni considerati. Inoltre, alcune differenze, più evidenti nella regione $1500\text{-}1200 \text{ cm}^{-1}$, emergono paragonando gli spettri SERS di cim e quelli dei suoi complessi metallici e suggeriscono comunque un ruolo per lo ione metallico, anche se non fondamentale, nel determinare la struttura del farmaco in acqua e, di conseguenza, la sua attività biologica. Infine, tutti gli spettri SERS dei complessi metallici mostrano, tra 600 e 800 cm^{-1} , la struttura a tre picchi che è stata riscontrata nei complessi solidi con Zn^{2+} , suggerendo che, in soluzione acquosa diluita, prevale in tutti i metallo complessi la forma tetraedrica. L'intenso picco a 240 cm^{-1} è caratteristico di tutti gli spettri SERS fatti su

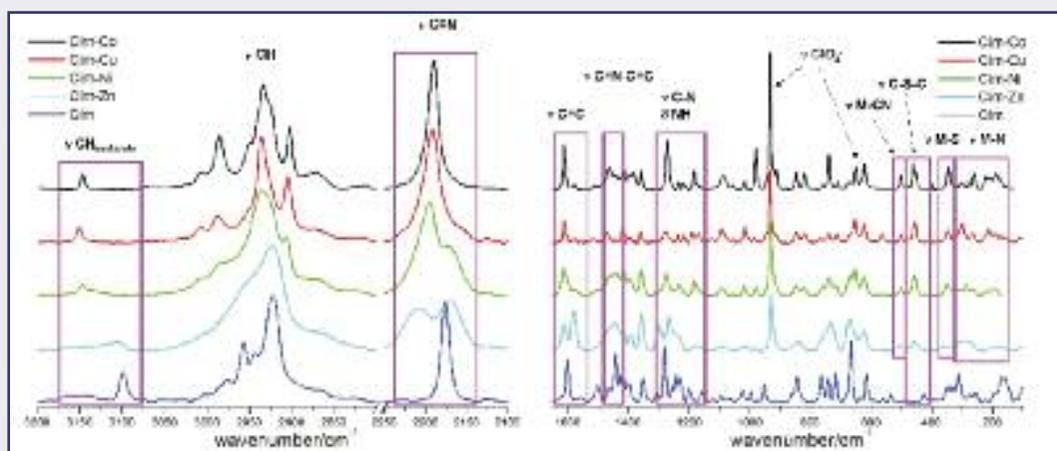


Fig. 2 - Raman della cimetidina da sola e dei complessi solidi cim:metallo 2:1

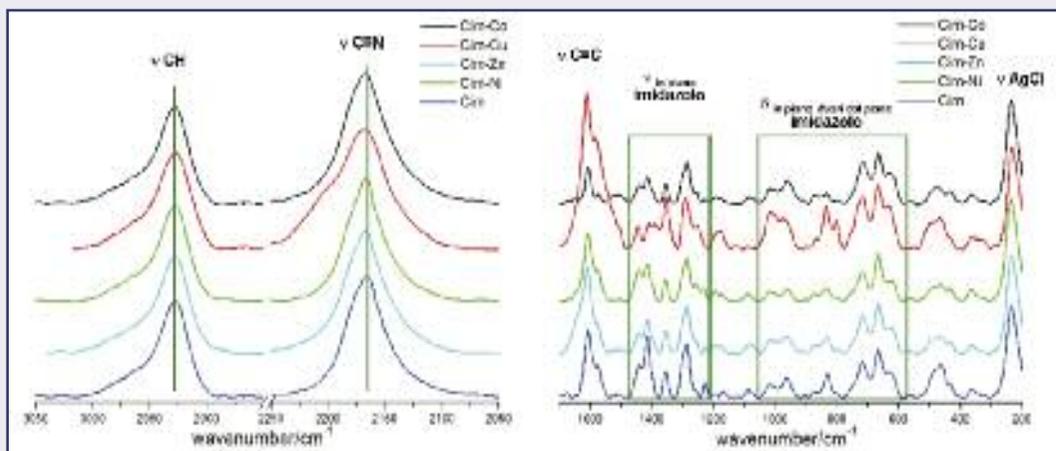


Fig. 3 - Spettri SERS della cimetidina da sola in soluzione diluita (10^{-4} M) e in presenza degli ioni metallici considerati ($5 \cdot 10^{-5}$ M)

argento ottenuto usando come riducente l'idrossilamina cloridato ed è stato attribuito alla vibrazione di stiramento $\nu(\text{Ag-Cl})$ [7]. Infine, gli spettri SERS non mostrano le bande attribuibili all'anione, confermando che esso non è coinvolto nel fenomeno di adsorbimento della cimetidina.

La Fig. 4 riporta lo spettro UV-vis sia della cimetidina da sola in soluzione acquosa diluita (50 ppm), sia in presenza di ioni Cu^{2+} a tre concentrazioni (12,5; 25 e 50 ppm). Lo spettro della cimetidina (Fig. 4 - traccia nera) è dominato dall'intenso doppietto a 205 e a 220 nm, dovuto alla transizione $\pi \rightarrow \pi^*$ degli elettroni del doppio legame C=N dell'anello imidazolico. A seguito della complessazione, la frequenza dei picchi risulta inalterata, mentre si nota un rovesciamento nell'intensità dei due compo-

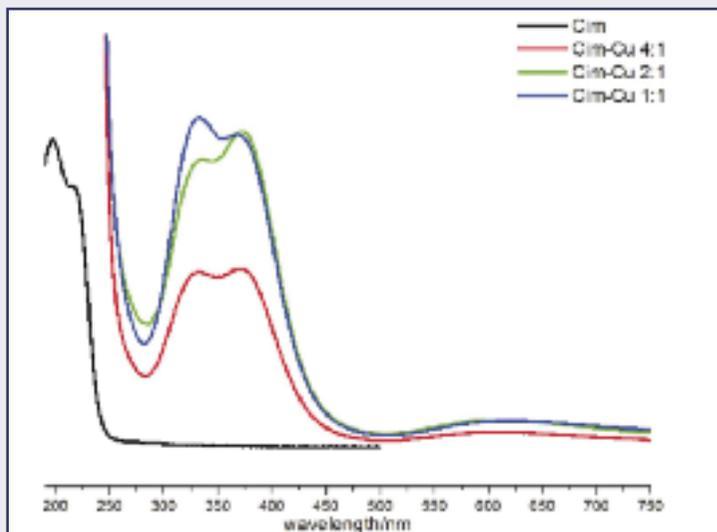


Fig. 4 - Spettri UV-vis di cimetidina da sola (50 ppm) e di complessi cimetidina- Cu^{2+} con varia stechiometria

a 620 nm è dovuta ad una transizione elettronica d-d sul metallo, mentre l'intenso doppietto a 370-320 nm è dovuto a trasferimento di carica dal metallo al legante e l'intensità dei picchi dipende dal rapporto cim: Cu^{2+} . Si è poi rilevato che questi ultimi assorbimenti seguono la legge di Lambert-Beer sino al raggiungimento del rapporto molare 2:1. La selettività di questo assorbimento, unitamente alla sua elevata assorbanza molare, consente di utilizzare la cimetidina come reagente idoneo alla determinazione del rame in soluzione acquosa, a concentrazioni dell'ordine del ppm.

Questo lavoro apre interessanti sviluppi allo studio di farmaci con la spettroscopia Raman, sia tradizionale, sia di tipo SERS in soluzione acquosa: in particolare è stata sottolineata la capacità di quest'ultima tecnica di rivelare gli analiti farmaceutici in concentrazioni fisiologiche e di studiare il comportamento di tali molecole in presenza di ioni metallici. Inoltre, poiché in SERS gli spettri vibrazionali risultano semplificati in quanto appaiono principalmente solo le vibrazioni dei gruppi funzionali adiacenti ai colloidali metallici, è possibile evidenziare e studiare più agevolmente le interazioni tra farmaci e metalli.

Bibliografia

- [1] Z. Lambat *et al.*, *J. Pharm. Pharmacol.*, 2002, **54**, 1681.
- [2] V. Nurchi *et al.* *Polyhedron*, 1992, **11**, 2723.
- [3] G. Jalsovszky *et al.* *Appl. Spectrosc.*, 1995, **49**, 1142.
- [4] A. Sancho *et al.*, *Transition Met. Chem.*, 1985, **10**, 214.
- [5] M. Barańska, L.M. Proniewicz, *J. Mol. Struct.*, 1999, **511**, 153.
- [6] S. Bonora *et al.*, *J. Raman Spectrosc.*, 2010, in press.
- [7] P.J. Hay, W.R. Wadt, *J. Chem. Phys.*, 1985, **82**, 270.

ABSTRACT

Spectroscopic Study on Cimetidine and its Metal Complexes

Raman spectra of the solid cim and its 2:1 metallo complexes show that they can adopt two different structures: one is octahedral and the other, with Zn(II), is tetrahedral. SERS spectra suggest the formation of 1:1 adducts in diluted aqueous solutions. UV spectrum of cim is characterized by the intense 220 nm band, due to $\pi \rightarrow \pi^*$ transition on the C=N bond, whose position does not change upon complexation. The intense doublet at 370 and 320 nm in the cim-Cu complex is attributed to a metal to ligand charge transfer.