



# TRABAJO FINAL DE LICENCIATURA EN QUÍMICA

## “Estudio de la solubilidad de combinaciones de sulfonamidas y fluoroquinolonas antibacterianas”

Alumna: María Fernanda Ferrero

Directora: Dra. Graciela Pinto Vitorino

Departamento de Química

Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud

Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco

Comodoro Rivadavia, Chubut

Año 2024



## AGRADECIMIENTOS

En principio quiero agradecer a la directora del Trabajo Final, Dra. Graciela Pinto Vitorino, por hacer posible la realización del trabajo, por su acompañamiento, paciencia, comprensión y sobre todo su guía.

A mis padres, Hugo y Elena, por su esfuerzo, paciencia e incentivo para que siga adelante.

A Patricia y Andrés, también por su esfuerzo y apoyo a lo largo de estos años.

A mi familia, Camilo Becerra por su apoyo, aliento, paciencia y acompañamiento a lo largo de la carrera que transitamos juntos; y mi hijo Leonardo Becerra, por darme motivación y energía para culminar ésta etapa.

A los compañeros y amigos, que formaron parte del trayecto de la carrera, tanto de la misma como de otras, por dar aliento cuando quería bajar los brazos, como también los mates y juntadas de estudio compartidas.

También agradecer a las y los profesores de la carrera, que enseñan y ponen de su persona para que sus alumnos puedan avanzar y salir adelante.

A todos ellos, gracias por darme las herramientas para éste logro.



## INDICE

1. Resumen.....	6
2. Objetivos.....	7
3. Introducción.....	8
3.1. Fluoroquinolonas y Sulfonamidas antibacterianas.....	8
3.2. Solubilidad.....	10
3.3. Coeficiente de partición.....	14
3.4. Química computacional.....	15
4. Materiales y métodos.....	18
4.1. Materiales.....	18
4.1.1. Materiales de laboratorio.....	18
4.1.2. Ingredientes Farmacéuticos Activos (IFAs).....	18
4.1.3. Reactivos.....	19
4.1.4. Equipos.....	19
4.1.5. Programas computacionales.....	19
4.2. Métodos.....	20
4.2.1. Solubilidad.....	20
4.2.1.1. Curva de calibrado.....	20
4.2.1.2. Medición de solubilidad.....	21
4.2.1.3. Cálculo del perfil de solubilidad.....	21
4.2.2. Coeficiente de partición.....	22
4.2.2.1. Medición.....	22
4.2.3. Geometría molecular.....	23
4.2.3.1. Obtención del mínimo de energía.....	23
4.2.3.2. Optimización y solvatación.....	26
5. Resultados y discusión.....	29



5.1. Solubilidad.....	29
5.1.1. Espectros de absorción.....	29
5.1.2. Espectros de derivadas.....	29
5.1.3. Curvas de calibrado.....	32
5.1.3.1. Absorbancia vs. concentración.....	32
5.1.3.2. Altura vs. concentración.....	32
5.1.4. Gráficos de solubilidad.....	33
5.1.5. Perfiles de solubilidad.....	34
5.2. Coeficiente de partición (D).....	36
5.2.1. Concentraciones de los IFAs individuales y sus respectivos D.....	36
5.2.2. Concentraciones de los IFAs en las combinaciones y sus respectivos D.....	36
5.3. Geometría molecular.....	37
5.3.1. Gráficos de energía.....	37
5.3.2. Descriptores globales.....	38
6. Conclusiones.....	41
7. Bibliografía.....	42
8. ANEXO.....	44
8.1. Curvas de calibrado absorbancia vs. concentración.....	44
8.2. Curvas de calibrado altura vs. concentración.....	46



## ABREVIATURAS

CIP	Ciprofloxacina
CIP-SDZ	Ciprofloxacina en presencia de Sulfadiazina
CIP-STZ	Ciprofloxacina en presencia de Sulfatiazol
DFT	Teoría del Funcional de la Densidad
HOMO	Highest occupied molecular orbital (Orbital molecular ocupado más alto)
IFA	Ingrediente Farmacéutico Activo
P	Coefficiente de partición
D	Coefficiente de distribución
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital (Orbital molecular desocupado más bajo)
NOR	Norfloxacina
NOR-SDZ	Norfloxacina en presencia de Sulfadiazina
NOR-STZ	Norfloxacina en presencia de Sulfatiazol
SDZ	Sulfadiazina
SDZ-CIP	Sulfadiazina en presencia de Ciprofloxacina
SDZ-NOR	Sulfadiazina en presencia de Norfloxacina
STZ	Sulfatiazol
STZ-CIP	Sulfatiazol en presencia de Ciprofloxacina
STZ-NOR	Sulfatiazol en presencia de Norfloxacina
u.a.	unidades atómicas



## 1. RESUMEN

Las fluoroquinolonas y las sulfonamidas antibacterianas son fármacos ampliamente utilizados en el tratamiento de variadas patologías infecciosas. Presentan el inconveniente de su escasa hidrosolubilidad, propiedad indispensable para lograr una adecuada biodisponibilidad. Uno de los recursos empleados en la modificación de la solubilidad de los fármacos es la formación de cocrisales y para ello es necesario realizar previamente el estudio de solubilidad de los componentes individuales y en combinación.

El objetivo de este trabajo fue evaluar espectrofotométricamente la solubilidad de las fluoroquinolonas, ciprofloxacina (CIP) y norfloxacina (NOR), y las sulfonamidas antibacterianas, sulfadiazina (SDZ) y sulfatiazol (STZ), como sustancias individuales y en mezclas equimoleculares. A su vez también, determinar el coeficiente de partición de las mismas combinaciones, y realizar un estudio teórico de la geometría molecular de las moléculas objeto de estudio, mediante el análisis de orbitales moleculares de frontera y el cálculo de descriptores globales.

Se concluye que la solubilidad de Ciprofloxacina mejora con la presencia de las sulfonamidas, mientras que la solubilidad de Norfloxacina se encuentra perjudicada por las mismas. Por otro lado, la solubilidad de Sulfatiazol es perjudicada por la presencia de las fluoroquinolonas, mientras que Sulfadiazina es perjudicada solo por Ciprofloxacina y beneficiada por Norfloxacina. Respecto a la liposolubilidad, todos los pares fluoroquinolonas-sulfonamidas presentan mayor liposolubilidad en comparación con los fármacos individuales. Del análisis de la estructura molecular, se observa que las sulfonamidas poseen mayor estabilidad y menos reactividad que las fluoroquinolonas.



## 2. Objetivo general

- Evaluar la solubilidad de ciprofloxacina (CIP) norfloxacina (NOR), sulfadiazina (SDZ) y sulfatiazol (STZ) como sustancias individuales y en mezclas binarias.

### 2.1. Objetivos específicos

- Evaluar espectrofotométricamente la solubilidad de mezclas equimoleculares de CIP y NOR con SDZ y STZ a pH fisiológico y compararlas con la solubilidad de los componentes individuales.
- Determinar experimentalmente el valor del coeficiente de partición de las combinaciones mencionadas.
- Realizar el estudio teórico de la geometría molecular, estructura electrónica y solvatación de las moléculas objeto de estudio.



### 3. Introducción

#### 3.1. Fluoroquinolonas y Sulfonamidas antibacterianas

Las fluoroquinolonas son una clase importante de antibióticos sintéticos que ha demostrado ser eficaces como agentes antimicrobianos de amplio espectro. Inhiben selectivamente a la ADN girasa o Topoisomerasa IV, una de las principales enzimas de la célula microbiana, responsable de la síntesis normal del ADN, dando lugar a la muerte de las bacterias (Blokhina et al., 2016).

Las sulfonamidas tienen importancia farmacológica relevante en el tratamiento de algunas infecciones causadas por bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, algunos hongos y ciertos protozoarios debido a que son inhibidoras competitivas de la enzima dihidropteroato sintetasa bacteriana. Esta enzima es necesaria para la síntesis del ácido *p*-aminobenzoico, esencial en la síntesis posterior del ácido fólico (Delgado D. et al., 2013).

Dado que las fluoroquinolonas y las sulfonamidas de usos medicinales son anfóteras, se encuentran ionizadas en soluciones en mayor o menor medida dependiendo del pH. Esta característica influye en las propiedades físicas, químicas, térmicas y biológicas, que son importantes para su uso terapéutico. Entonces, dentro de las propiedades físicas afectadas por los procesos de ionización se encuentran la solubilidad y lipofiliidad de estos compuestos (Blokhina et al., 2016).

Las propiedades químicas, pueden ser afectadas debido a que un compuesto anfótero puede reaccionar con ácidos como con bases, donando o aceptando protones.

Cuando se habla de las propiedades térmicas, se considera la estabilidad térmica donde la estructura molecular y la capacidad de formar enlaces de hidrógeno, dependiendo del pH del entorno, pueden influir en el punto de fusión y la descomposición térmica de estos compuestos.

En el ámbito biológico, la influencia de la anfotericidad es crucial debido a que existen biomoléculas capaces de cambiar su estructura y función en respuesta al pH del entorno, como es el caso de aminoácidos de proteínas (McMurry, 2010).

En las figuras 1 y 2 se presentan las disociaciones iónicas de la norfloxacin, como ejemplo de las fluoroquinolonas, y las sulfonamidas respectivamente.

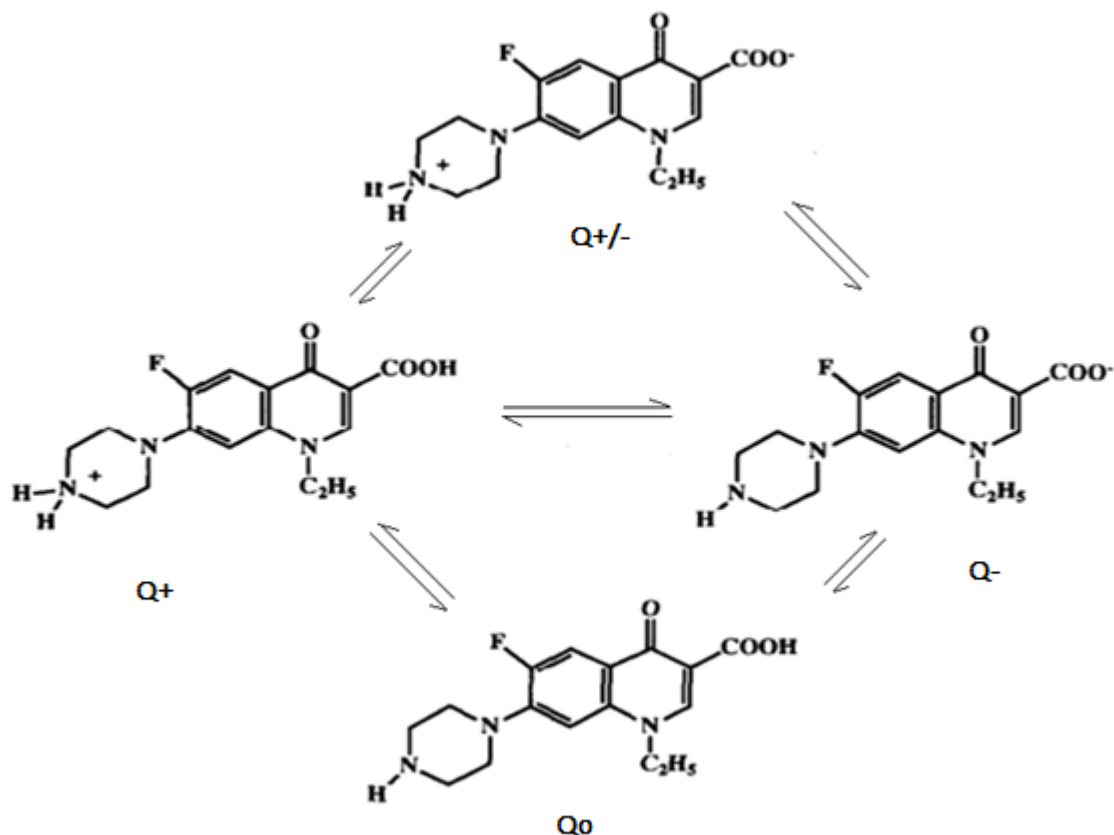


Fig. 1. Disociación iónica de norfloxacin (Ross et al., 1994).

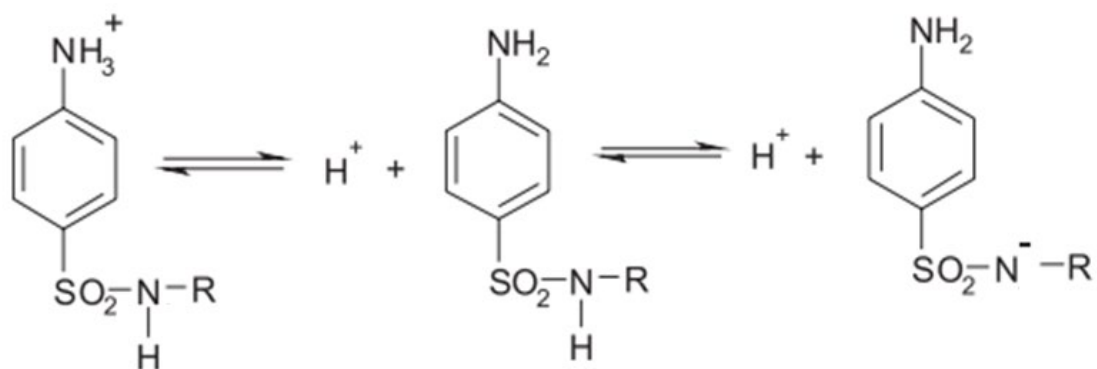
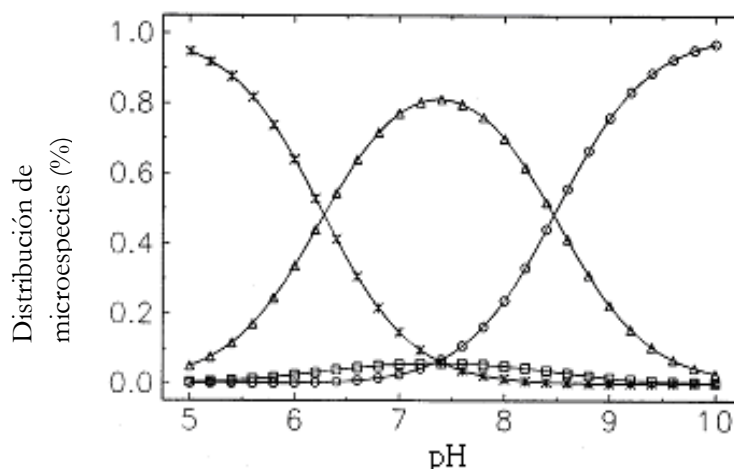
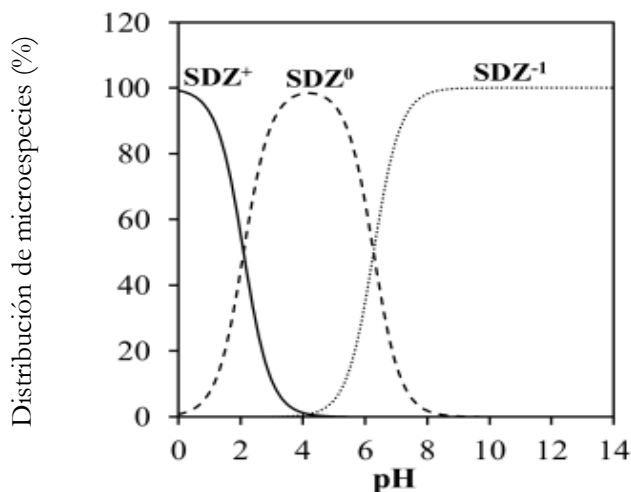


Fig. 2. Disociación iónica de sulfonamidas (Sanli et al., 2010).

En las figuras 3 y 4 se presentan las curvas de especiación de fluoroquinolonas y sulfonamidas respectivamente, evidenciando como varía la presencia de diferentes especies en función del pH.



**Fig. 3.** Curva de especiación de NOR (\*= $H_2Q^+$ ,  $\Delta$ =  $HQ^\pm$ ,  $\square$ =  $HQ^\circ$ ,  $o$ =  $Q^-$ ), (Takács-Novák K, 2000).



**Fig. 4.** Curva de especiación de sulfadiazina (Conde-Cid et al., 2020).

### 3.2. Solubilidad

Un ingrediente farmacéutico activo (IFA) es la sustancia química en un medicamento que es responsable del efecto terapéutico deseado. Esta sustancia puede ser una pequeña molécula, un péptido, una proteína, un anticuerpo, una vacuna o cualquier otra entidad que produzca una respuesta farmacológica o biológica en el organismo.

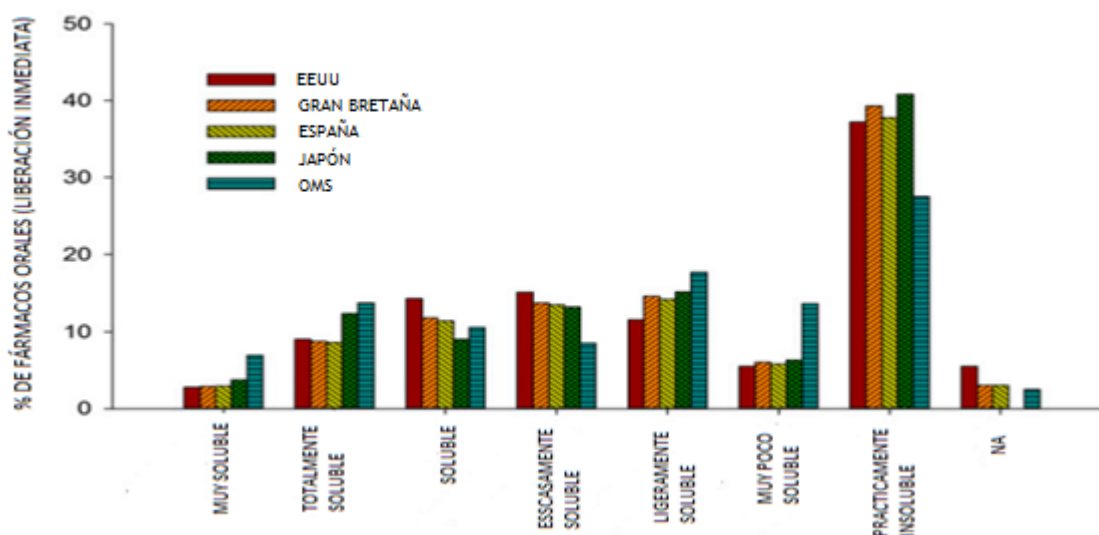
La identidad, pureza, potencia y estabilidad del IFA son cruciales para garantizar la eficacia y seguridad del medicamento. Además, la formulación del producto farmacéutico y el sistema de

liberación están diseñados para asegurar que el IFA se administre de manera adecuada y eficiente para alcanzar el efecto terapéutico deseado (Farmacopea Estados Unidos, 2023)

La solubilidad de un IFA en agua es un factor muy importante, tanto a nivel biológico como en las manipulaciones galénicas requeridas para su inclusión en la forma farmacéutica más adecuada para su uso terapéutico. La forma farmacéutica refiere a la presentación final, como por ejemplo jarabe, inyectable, comprimido, supositorio, etc.

Una de las propiedades estructurales que condiciona la solubilidad en agua de una molécula es la presencia de grupos funcionales capaces de dar lugar a la formación de enlaces puente hidrógeno. En el seno del agua, estas uniones pueden formarse entre enlaces de tipo dador (debido a heteroátomos con pares de electrones no compartidos), y enlaces de tipo aceptor (debido a la presencia de átomos de hidrógeno unidos por un enlace covalente a un heteroátomo electronegativo) (Delgado C. et al., 2004).

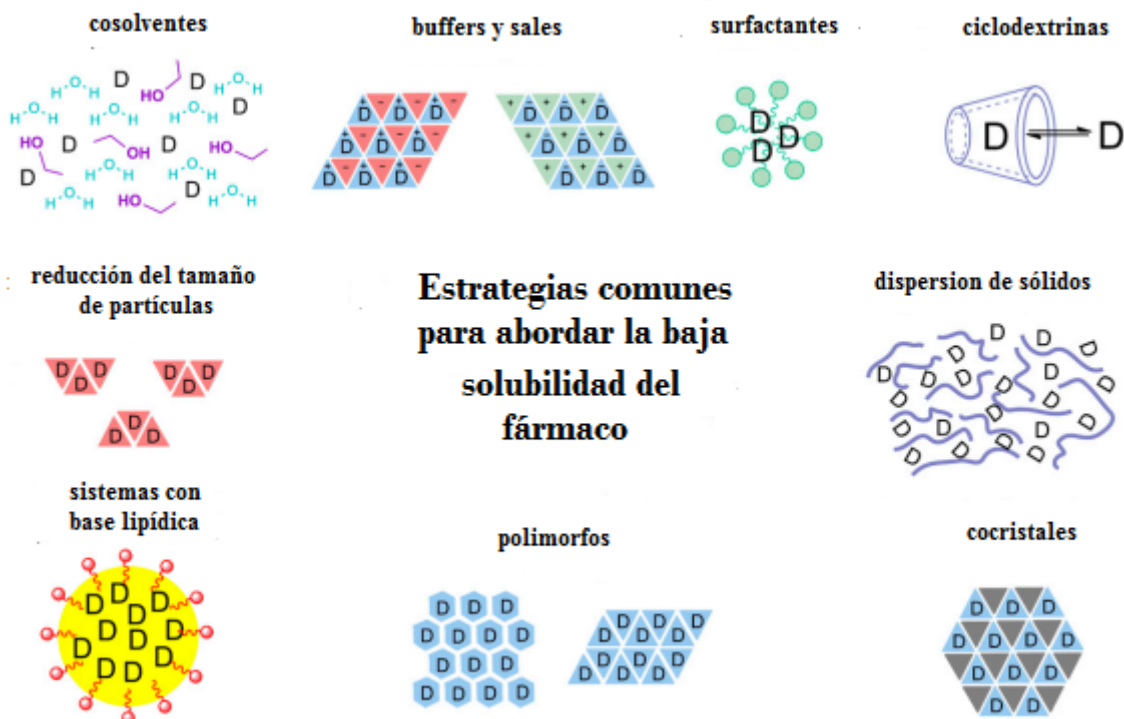
La escasa solubilidad en agua es un factor de riesgo importante que puede impactar en la absorción oral porque las moléculas del IFA deben, en la mayoría de los casos, estar en solución para ser absorbidas, y condiciona también su biodisponibilidad oral. En la figura 5 se observa la distribución de los rangos de solubilidad de los 200 IFAs más empleados a nivel mundial (Williams et al., 2013).



**Fig. 5.** Una comparación de la distribución de solubilidades de los 200 principales IFAs en los Estados Unidos, Gran Bretaña, España, Japón y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Fármacos muy solubles: más de 1000 mg/ml; fármacos totalmente solubles: 100-1000 mg/ml; fármacos solubles: 33 a 100 mg/ml; fármacos parcialmente solubles: 10 a 33 mg/ml; fármacos poco solubles: 1 a 10 mg/ml; fármacos muy poco solubles: 0,1 a 1 mg/ml; fármacos prácticamente insolubles: <0,1 mg/ml (Williams et al., 2013).

En situaciones donde los intentos de aumentar la polaridad y la solubilidad en agua conducen a disminuciones significativas en la potencia de los IFAs, y donde la solubilidad o disolución han sido identificadas como el proceso limitante de su velocidad de absorción, se puede tomar una decisión estratégica para mejorar la biodisponibilidad y la exposición.

En la Figura 6 se muestran las estrategias más comúnmente utilizadas para aumentar la solubilidad de un IFA en desarrollo.



**Fig. 6.** Diagrama ilustrativo de las estrategias comunes utilizadas para abordar la baja solubilidad de un IFA en desarrollo (Williams et al., 2013).

A continuación se describen brevemente las principales características de cada una:

### Cosolventes

Los cosolventes son disolventes orgánicos miscibles en agua y se utilizan ampliamente para aumentar la solubilidad de sustancias poco solubles en agua. Pueden ser utilizados tanto para compuestos neutros como ionizables y se han utilizado con éxito en combinación con otras estrategias de solubilización, incluyendo surfactantes, ciclodextrinas, manipulación del pH y lípidos.

### Buffers y formación de sales

En general, la forma ionizada tiene una mayor solubilidad acuosa que la especie no ionizada, por lo tanto, los métodos que promueven la ionización suelen mejorar la solubilidad acuosa. Esto se puede lograr en formas de dosificación en solución, modificando el pH de la solución, mediante el uso de



un buffer, aumenta la ionización, la polaridad y, por lo tanto, aumenta la solubilidad del IFA; y en el caso de formas de dosificación sólidas mediante el aislamiento de sales. El aislamiento de una sal y la posterior disolución de la sal in vivo proporcionan muchas de las ventajas del ajuste de pH pero también permiten el desarrollo de una forma de dosificación sólida, con las ventajas asociadas en la estabilidad del estado sólido. Las sales se forman a través de una interacción iónica entre IFAs ácidos o bases débiles y un contraión básico o ácido de carga opuesta.

### Surfactantes

Por encima de la concentración crítica de micelas, los surfactantes aumentan la solubilidad de los IFAs a través de la solubilización micelar. El núcleo lipofílico de la micela proporciona un reservorio no polar en el que los compuestos altamente lipofílicos pueden distribuirse, mejorando así la solubilidad aparente en agua. Sin embargo, al considerar el potencial de hipersensibilidad inducida por surfactantes después de la administración parenteral y la posibilidad de que los surfactantes afecten la concentración libre y la actividad de transportadores y/o enzimas metabólicas, es necesario tener cuidado al interpretar correctamente los datos farmacocinéticos y farmacodinámicos obtenidos en presencia de surfactantes.

### Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas son oligosacáridos macrocíclicos que constan de un exterior hidrófilo y una cavidad interior hidrófoba. Son capaces de formar complejos de inclusión anfitrión-huésped con IFAs poco solubles en agua, y esto va a depender de la solubilización del IFA en el núcleo hidrófobo de la ciclodextrina.

### Reducción del tamaño de partículas

La reducción del tamaño de partícula conduce a un aumento en el área de superficie disponible para la solvatación y un aumento en la velocidad de disolución de productos farmacéuticos sólidos. Por lo tanto, estas tecnologías se utilizan habitualmente para mejorar la biodisponibilidad oral de fármacos poco solubles en agua.

### Dispersión de sólidos

Las formulaciones de dispersión sólida comprenden un IFA físicamente disperso dentro de un transportador inerte y totalmente soluble en agua, a menudo un polímero de alto peso molecular. El IFA puede existir en el transportador en múltiples formas físicas y puede estar disuelto, parcialmente disuelto con un exceso de IFA suspendido en estado cristalino, parcialmente disuelto con un exceso de IFA en estado amorfo o parcialmente disuelto con un exceso de IFA presente como una mezcla de sustancias cristalinas y amorfas.

### Formulaciones con base lipídica

Los lípidos pueden formularse en una variedad de sistemas de administración oral o parenteral. Proporcionan un medio relativamente sencillo para generar formulaciones líquidas que pueden administrarse mediante sonda en dosis variables durante el desarrollo preclínico y que proporcionan aumentos significativos en la exposición a muchos IFAs poco solubles en agua. Tienen la ventaja de



que el mismo material de relleno se puede utilizar posteriormente en cápsulas de gelatina blanda o dura para facilitar el desarrollo clínico.

### Polimorfismo y formación de cocristales

En virtud de que las propiedades de un fármaco en estado sólido influyen en una serie de propiedades farmacológicas diferentes, incluida la solubilidad, el nivel de interés en las estrategias de ingeniería de cristales ha aumentado drásticamente en los últimos años, abarcando tanto el polimorfismo como la formación de cocristales.

La posibilidad de que un IFA forme uno o más sólidos cristalinos que difieren solo por la disposición molecular de las moléculas en la red cristalina se denomina *polimorfismo*. (Williams et al., 2013).

Un cocrystal puede ser definido como un complejo cristalino formado por dos o más especies neutras que se encuentran en la misma celda cristalina y que se mantienen unidas mediante interacciones no covalentes, principalmente por enlaces de hidrógeno (Saucedo-Balderas et al., 2014).

Los problemas con el uso de los materiales en estado cristalino son su poca solubilidad y la existencia de más de una forma cristalina de un IFA. Es aquí donde la ingeniería de cristales ofrece una forma alternativa de presentación de los IFAs en estado cristalino: los cocristales farmacéuticos. En este caso se evalúa, en diferentes medios, el perfil de disolución del IFA en forma libre con el perfil de disolución del IFA en el cocrystal.

Estos se forman por interacciones intermoleculares, o sintones, entre el IFA y un coformador de cocristales, lo que a su vez conduce a la creación de ensamblajes supramoleculares (Williams et al., 2013).

Los coformadores se eligen de manera que la solubilidad del cocrystal sea superior a la del IFA solo. En estos casos, las concentraciones del IFA en solución resultantes de la disolución del cocrystal excederán la solubilidad del cristal del IFA termodinámicamente estable.

Por este motivo, el objetivo principal de este trabajo es estudiar la solubilidad de los componentes individuales y las mezclas binarias en solución. Los resultados obtenidos podrán servir para fundamentar futuras formaciones de cocristales.

### **3.3. Coeficiente de partición (P)**

El plasma es la porción líquida de la sangre en la que están suspendidas las células sanguíneas. Representa aproximadamente el 55% del volumen total de sangre y está compuesto en su mayoría por agua (alrededor del 90-92%), junto con proteínas plasmáticas (como albúmina, globulinas y fibrinógeno), electrolitos, nutrientes, hormonas y productos de desecho del metabolismo celular (Hall, 2015).

El plasma cumple un papel crucial en la farmacocinética y farmacodinamia de los IFAs, distribuyendo los mismos hacia los órganos y tejidos, transportando enzimas que los metabolizan, y una vez metabolizados, también los transportan a los órganos excretores para su eliminación (Goodman L. S. et al., 2018).



Por ser el plasma una disolución acuosa, la primera exigencia para el transporte de un IFA hasta su lugar de acción es la solubilidad en agua. No obstante, el IFA debe ser también capaz de atravesar las barreras lipídicas de las membranas celulares para alcanzar el sitio de acción. El balance entre la hidrofilia y la lipofilia se expresa por medio de un parámetro fisicoquímico denominado coeficiente de partición o de reparto.

La solubilidad en cada una de estas dos fases se determina sobre la base de la concentración alcanzada después de someter el compuesto a un proceso de reparto entre ambos disolventes. El *n*-octanol se elige como modelo de disolvente con propiedades fisicoquímicas semejantes a las de una membrana biológica, ya que posee una cabeza hidrófila (el grupo hidroxilo) y una cola hidrófoba (la cadena de *n*-octano), análogamente a los fosfolípidos constituyentes de la membrana. El coeficiente de reparto (P) permite cuantificar el balance entre hidrofilia y lipofilia de una molécula.

$$P = \frac{C_o}{C_a} \quad \text{Ec.1}$$

Siendo  $C_o$  concentración del IFA en fase oleosa y  $C_a$  concentración en fase acuosa.

Así valores de  $P > 1$ , indican que el compuesto es más soluble en lípidos que en agua; y valores de  $P < 1$  indican que el compuesto es hidrófilo.

En los IFAs que se ionizan, el coeficiente de reparto determinado experimentalmente a  $\text{pH}=7,4$  debe corregirse teniendo en cuenta el  $\text{pK}_a$  y el  $\text{pH}$ . Dicho coeficiente se denomina coeficiente de distribución (D), y se expresa como (Delgado C. et al., 2004):

$$D = \frac{\text{solubilidad del IFA en } n\text{-octanol}}{\text{solubilidad del IFA en tampón fosfato pH } 7,4} \quad \text{Ec. 2}$$

Tal como se mencionó en el punto 3.1, la solubilidad y la lipofilicidad de los IFAs con grupos funcionales ácidos o básicos son afectadas por el  $\text{pH}$  del medio, por lo que este parámetro también variará en función del  $\text{pH}$  y el grado de ionización.

Tanto P como D suelen expresarse en sus formas logarítmicas Log P y Log D.

### 3.4. Química computacional

Se denomina química computacional al conjunto de métodos computacionales que permiten construir, visualizar y analizar sistemas moleculares. Se trata de un conjunto de técnicas que permiten calcular la energía de las moléculas, teniendo en cuenta las posiciones relativas de los átomos en el espacio. El tamaño y número de moléculas que pueden estudiarse es muy diverso y es parte determinante los recursos computacionales que se necesitarán para el análisis (Bultinck et al., 2004).

Las novedosas técnicas de modelización y las aproximaciones desarrolladas en el campo de la teoría de estructura electrónica molecular, están asumiendo un papel importante en las investigaciones de



química cuántica medicinal y en el diseño de nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de numerosas patologías (López et al., 2013).

El modelado molecular es una herramienta importante en la predicción de propiedades moleculares y fisicoquímicas de diferentes grupos de sustancias (Sánchez, R., 2000).

El método que usa la Teoría del Funcional de Densidad (DFT) se basa en la determinación de la energía de un estado electrónico a partir de la densidad electrónica del sistema (Choque et al., 2020).

Como complemento de cálculo, se utiliza el método funcional híbrido B3LYP, que es uno de los métodos más populares en la química computacional, particularmente en el ámbito de la DFT. Utilizado extensivamente en programas como Gaussian, B3LYP combina características de métodos basados en el funcional de la densidad y métodos de la teoría del funcional de Hartree-Fock para mejorar la precisión en el cálculo de propiedades moleculares (Becke, A. D., 1993).

En el ámbito de la reactividad química, la DFT ha introducido los índices descriptores de reactividad química global y local (Choque et al., 2020). Estos pueden describirse como una variable numérica que representa algún aspecto o característica de la estructura molecular como el tamaño, el volumen, la cantidad de enlaces de hidrógeno disponibles, la lipofiliidad, la forma, la distribución electrónica, etc. La interpretación de los descriptores hace posible la predicción de propiedades moleculares y fisicoquímicas de diferentes grupos de sustancias (Sánchez, R., 2000).

En el caso de los descriptores globales ellos brindan información relacionada al comportamiento reactivo de la molécula. Estas cantidades globales se calculan a partir de las energías de los orbitales moleculares de frontera HOMO (orbital molecular más alto ocupado) y LUMO (orbital molecular más bajo desocupado). Por otra parte, los descriptores locales nos permiten diferenciar regiones moleculares y están asociados con la selectividad con la que ocurren algunas reacciones (Choque et al., 2020).

La diferencia de energía entre estos dos orbitales se puede utilizar para explicar el comportamiento químico de la molécula. Cuanto más grande sea el rango HOMO-LUMO en una molécula, más estable será, mientras que cuanto más pequeño sea, la molécula será más inestable o reactiva (Erol et al., 2021). La energía calculada del orbital HOMO se relaciona con la energía de ionización (EI), mientras que la energía más baja LUMO refleja la afinidad electrónica (AE) (Ovung A. et al., 2021).

En este trabajo nos centraremos en calcular y describir los descriptores globales, que se detallan a continuación (Choque et al., 2020):

- Energía de ionización (EI): es la energía que mide la capacidad de una molécula para generar un ión positivo.
- Afinidad electrónica (AE): mide la capacidad de una molécula para generar un ión negativo.
- Potencial químico ( $\mu$ ): mide la resistencia a la pérdida de densidad electrónica.
- GAP ( $\Delta E$ ): es la diferencia de energías entre el orbital HOMO y el LUMO.
- Dureza: ( $\eta$ ): es la resistencia de una molécula para intercambiar densidad electrónica con el entorno.



- Suavidad ( $\sigma$ ): es la inversa de la dureza química y se describe como la capacidad de un átomo o grupo de átomos a recibir electrones.
- Índice de electrofilicidad ( $\omega$ ): brinda una medida de la estabilización de energía de una molécula cuando adquiere una cantidad de adicional de densidad electrónica del entorno.
- Índice de nucleofilidad ( $N$ ): es una medida de la nucleoflicidad de moléculas orgánicas complejas que presentan comportamientos electrofílicos y nucleófilos simultáneamente, se calcula a partir del potencial de ionización ( $I$ ) de la molécula.
- Poder de electro aceptación ( $\omega^+$ ): representa la tendencia de un sistema dado a aceptar densidad electrónica.
- Poder de electro donación ( $\omega^-$ ): representa la tendencia de un sistema dado a donar densidad electrónica.
- Electronegatividad ( $\chi$ ): mide la tendencia de un sistema (molécula o ión) para adquirir o ceder electrones (Sánchez-Márquez et al., 2020).

## 4. Materiales y Métodos

### 4.1. Materiales

#### 4.1.1. Materiales de laboratorio

Tabla 1. Materiales de laboratorio

Materiales de laboratorio	
Tubos de ensayo con y sin tapa	Pie universal
Gradilla metálica	Pinzas
jeringas de 5 ml	Pipeta Pasteur
Filtros para jeringa Millipore de 45 $\mu\text{m}$	Pipetas graduadas de 5 ml
Micropipeta 100-1000 $\mu\text{l}$	Matraces aforados de 50 ml
Tips para micropipeta	Matraces aforados de 10 ml
Ampolla de decantación de 250 ml	Termómetro
Vasos de precipitado de 5 ml	Espátulas

#### 4.1.2. Ingredientes Farmacéuticos Activos (IFAs)

Tabla 2. Ingredientes farmacéuticos activos

IFA	Fórmula	Laboratorio
Ciprofloxacina (CIP)	$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$	Parafarm
Norfloxacina (NOR)	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$	Parafarm
Sulfadiazina (SDZ)	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$	Parafarm
Sulfatiazol (STZ)	$\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$	Parafarm

En las figuras 7 y 8 se presentan las estructuras moleculares de los IFAs que se trabajaron.

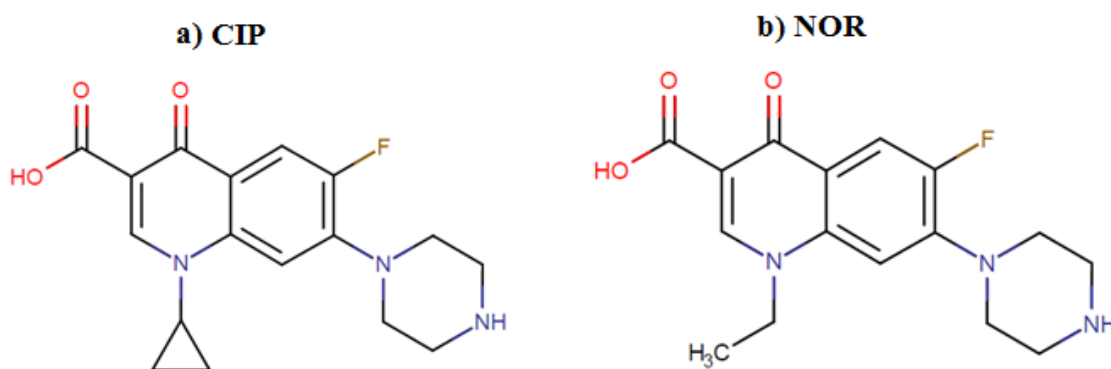


Fig. 7. Estructuras moleculares de a) Ciprofloxacina y b) Norfloxacina



## 4.2. Métodos

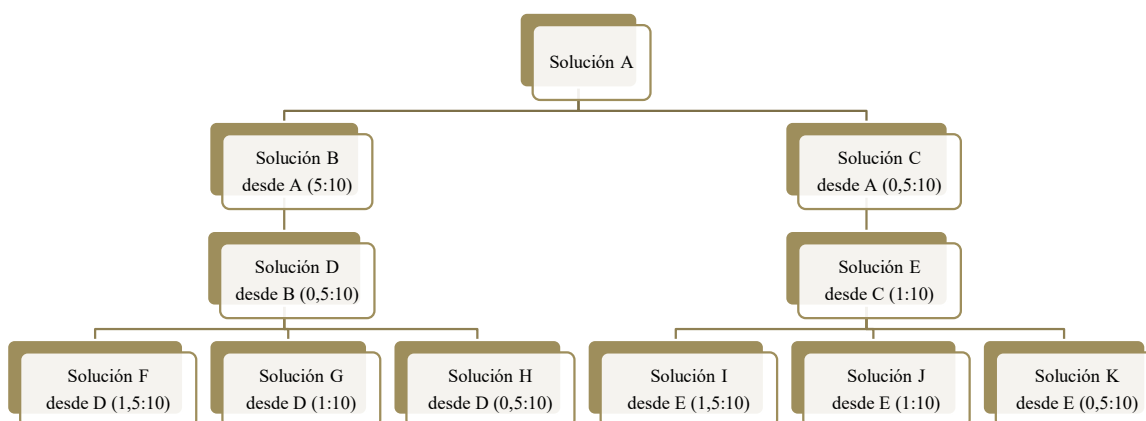
### 4.2.1. Solubilidad

#### 4.2.1.1. Curva de calibrado

Se preparó una solución reguladora a pH 6,8 como se indica en la Farmacopea Argentina (F. A., 2003), a partir de 6,8045 g de fosfato monopotásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) y 0,7120 g de hidróxido de sodio (NaOH), disueltos en 1 L de agua destilada hervida y enfriada.

Por otra parte se pesaron 25 mg de CIP, NOR, SDZ y STZ, individualmente. Se disolvió cada uno en 1 mL de NaOH 2 M y se completó volumen hasta 25 mL con la solución reguladora. Esta se llamó solución A.

En la Fig. 9 se presenta el esquema de dilución que se siguió para la realización de las curvas de calibrado:



**Fig. 9.** Esquema de diluciones para las curvas de calibrado. Todas las soluciones se llevaron a volumen con la solución reguladora de pH 6,8

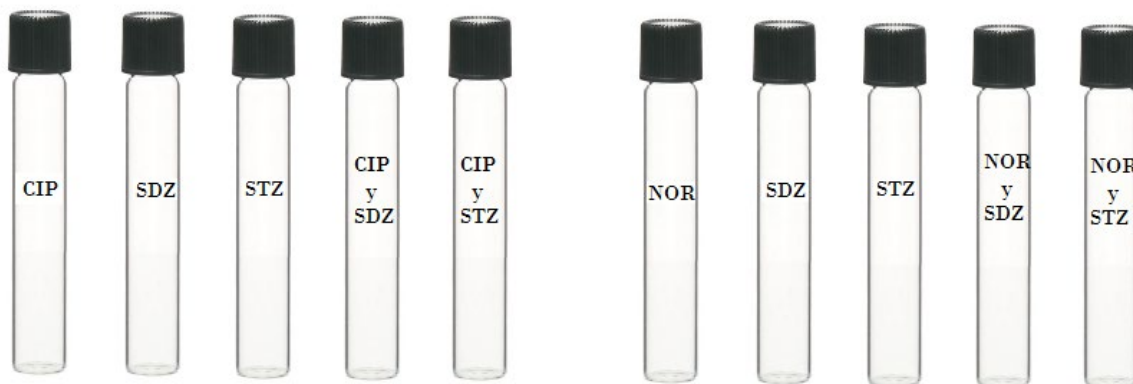
La curva de calibrado se realizó con las diluciones F, G, H, I, J y K de cada IFA, y las absorbancias fueron medidas con el espectrofotómetro UV-Vis, en un rango de 200 a 400 nm, por duplicado.

Una vez obtenidos los espectros de absorción, y en virtud de que los espectros se superponen en un amplio rango de longitudes de onda, se calculó la derivada primera de la absorbancia respecto de la longitud de onda en cada espectro. Esta metodología fue previamente validada en el grupo de trabajo (Ávila et al. 2023). Para la cuantificación de una de las IFAs, se seleccionó la longitud de onda donde la derivada primera del espectro de absorción de la otra IFA era igual a cero, y viceversa. Teniendo seleccionadas las longitudes de onda de cada IFA, se procedió a realizar dos gráficos. El primero fue absorbancia vs. concentración, con el cual se determinó la concentración de cada IFA individual. El

segundo gráfico fue altura vs. concentración, donde las alturas fueron las obtenidas en la derivada primera. Con este último se calculó la concentración de un IFA en presencia de otro.

#### 4.2.1.2. Medición de solubilidad

Se prepararon soluciones sobresaturadas pesando la masa equivalente a  $2,5 \cdot 10^{-4}$  moles de cada IFA y se mezclaron con 10,0 mL de solución reguladora de pH en tubos de ensayo con tapa a rosca siguiendo el esquema de la Figura 10:



**Fig. 10** Esquema de preparación de los IFAS y sus combinaciones para la medición de solubilidad.

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado. Para medir la absorbancia, se tomó una alícuota con una jeringa, a la cual estaba anexado un filtro Millipore de 45  $\mu\text{m}$ . Se midió la absorbancia de la alícuota de cada una de las soluciones filtradas, al UV-vis en el rango de 200 a 400 nm tomando muestras a las 24, 48 y 72 h. Los tubos de ensayo fueron incubados en un baño termostático a 37°C durante las horas de medición y luego de las extracciones de cada alícuota de solución, se repuso el mismo volumen de solución reguladora de pH.

#### 4.2.1.3. Cálculo del perfil de solubilidad

A partir de los datos experimentales de solubilidad determinados para cada IFA, se calcularon los perfiles de solubilidad aplicando la siguiente ecuación descrita por Ross (Ross et al., 1990) para solutos ionizables:

$$S = S_0 * \left( \frac{([H^+]^2 + pKa_1 * [H^+] + pKa_1 pKa_2)}{(pKa_1 * [H^+])} \right) \quad \text{Ec. 3}$$

Simplificada:

$$S = S_0 * \left( \frac{[H^+]}{pKa_1} + 1 + \frac{pKa_2}{[H^+]} \right) \quad \text{Ec. 4}$$

Donde:

S: Solubilidad

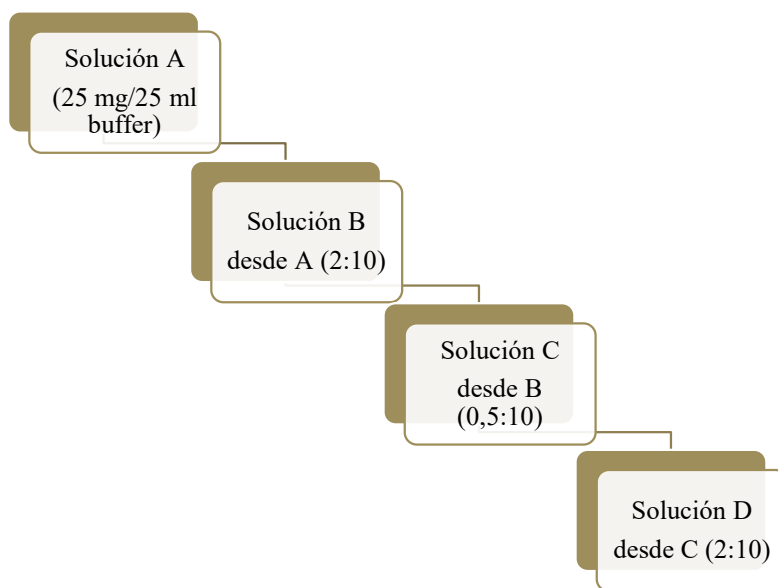
$S_0$ : Solubilidad intrínseca, la cual fue considerada como la obtenida a las 72 h en mg/L.

$pK_{a1}$  y  $pK_{a2}$ , constantes de acidez. Fueron consideradas las informadas en bibliografía.

#### 4.2.2. Coeficiente partición (P)

##### 4.2.2.1. Medición

Se realizaron las soluciones madre de cada IFA individualmente, pesando 25 mg, disolviendo en 1 ml de NaOH 2M y enrasando a 25 ml con solución reguladora de pH 6,55. Simultáneamente se saturó el buffer con el *n*-octanol, mezclando partes iguales con una agitación vigorosa, y luego se dejó reposar el sistema por 24 horas. Este procedimiento se realiza con el objetivo de evitar la desolvatación del fármaco durante el pasaje de la fase acuosa a la fase octanólica. Cumplido el tiempo de reposo, se separó la fase octanólica de la fase acuosa con ayuda de una ampolla de decantación. Luego, se realizaron las diluciones para cada IFA y sus combinaciones, en tubos de ensayo, como se detalla en la Figura 11:



**Fig. 11.** Esquema de dilución para la determinación de P. Las soluciones A, B y C se llevaron a volumen con buffer saturado, y la solución D con *n*-octanol saturado.

En el caso de las combinaciones, para preparar la solución D, se toma 1,0 ml de solución C de cada IFA a interactuar y se llevó a volumen con la fase octanólica saturada. En la tabla 6 se indican las combinaciones:

**Tabla 6.** Combinaciones preparadas

Combinación 1	Combinación 2	Combinación 3	Combinación 4
1,0 ml CIP	1,0 ml CIP	1,0 ml NOR	1,0 ml NOR
1,0 ml SDZ	1,0 ml STZ	1,0 ml SDZ	1,0 ml STZ



Una vez preparados todos los sistemas, se mezclaron en el vortex por 1 minuto, luego se mantuvieron en baño termostatzado a 37 °C durante 3 horas. Pasado el tiempo, se midió absorbancia de las fases acuosas en el rango de 200 a 400 nm. Se tomó como absorbancia inicial a las mediciones de las soluciones C, y como absorbancia final, las mediciones de la fase acuosa de los sistemas D. Se calcularon las concentraciones antes y después de particionar, utilizando las curvas de calibrado realizadas en el apartado de solubilidad 4.2.1.1.

Posteriormente se calcularon los coeficientes de partición (D) para cada IFA, de forma individual y en las respectivas combinaciones, con la siguiente ecuación (Avendaño et al., 2001):

$$D = \frac{V_a \cdot (A_a^0 - A_a^f)}{V_o \cdot A_a^f} \quad \text{Ec. 5}$$

Donde:

$A_a^0$ : absorbancia de la fase acuosa antes de la partición

$A_a^f$ : absorbancia de la fase acuosa después de la partición

$V_a$ : volumen de la fase acuosa

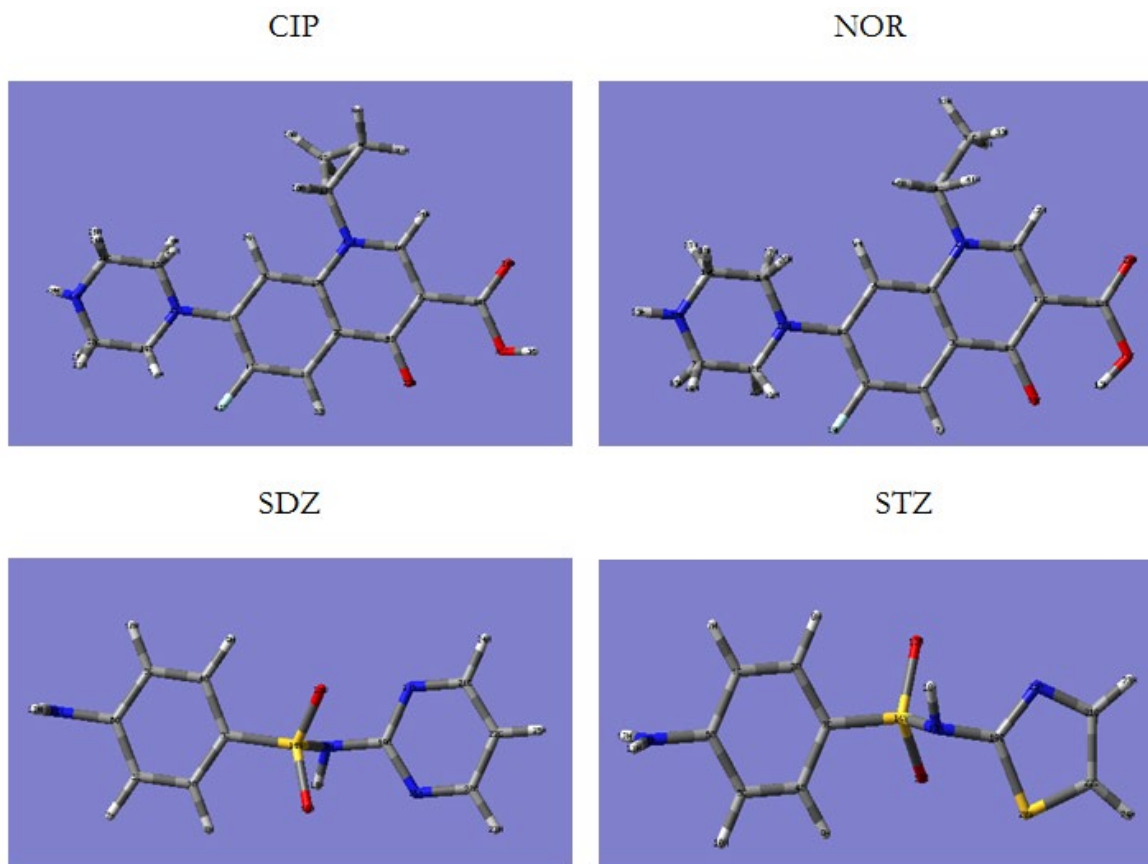
$V_o$ : volumen de la fase orgánica

### 4.2.3. Geometría molecular

#### 4.2.3.1. Obtención del mínimo de energía

La condición primordial para realizar cualquier estudio de química computacional es la definición de la estructura molecular. Las moléculas quedan descritas por la naturaleza de los átomos que la componen y la posición relativa de sus núcleos. Si no se dispone de modelos experimentales, la estructura molecular puede ser construida virtualmente. Luego, la estructura debe ser optimizada, en función de su energía potencial, es decir, obtener el mínimo de energía de dicha función, el cual corresponde a la estructura molecular más estable (Bultinck et al., 2004).

Primero se graficaron las estructuras moleculares de los IFAs en el programa GaussView® 5.0, como se presenta en la figura 12:



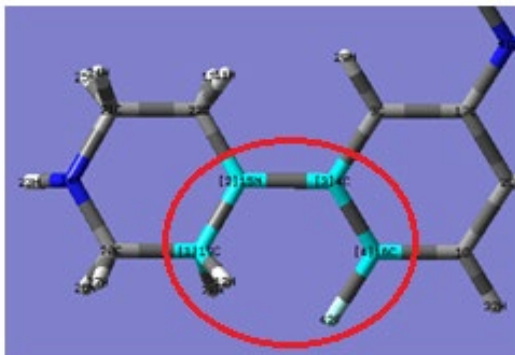
**Fig.12.** Estructuras conformacionales de los IFAs graficadas en el programa GaussView® 5.0

Como referencia, los átomos de Nitrógeno están diferenciados con el color azul, los átomos de Oxígeno con el color rojo, los átomos de Azufre con el color amarillo, los átomos de Fluor con el color blanco y alargados, y los átomos de Hidrógeno con el color blanco y cortos.

Una vez graficadas las estructuras, se movió el ángulo diedro seleccionado cada 30° en sentido positivo y negativo hasta 180° y -180°, respectivamente. Cada movimiento del ángulo diedro mencionado generó un nuevo conformero.

En el contexto del programa Gaussian y la química computacional, un ángulo diedro es el ángulo entre dos planos definidos por cuatro átomos conectados secuencialmente. Específicamente, se mide el ángulo entre el plano formado por los átomos A-B-C y el plano formado por los átomos B-C-D en una secuencia A-B-C-D (Frisch, M. J. et al., 2009).

Para las fluoroquinolonas, el ángulo a modificar fue el que se observa en la figura 13 (CNCC):



**Fig. 13.** Ángulo diedro que se modificó en las estructuras de las fluoroquinolonas.

Y, para las sulfonamidas, el que se observa en la figura 14 (SNCN):



**Fig. 14.** Ángulo diedro que se modificó en las estructuras de las sulfonamidas

Los cálculos de la teoría del funcional de la densidad (DFT) se realizaron utilizando Gaussian 09<sup>®</sup> y el programa de visualización molecular Gauss View<sup>®</sup> 5.0, donde se configuró el cálculo previamente. Para calcular los mínimos de energía de los IFAs se utilizó el método funcional híbrido (B3LYP) con un conjunto de bases 6-31G (Swisłocka et al., 2019), seleccionando “Energy” en la solapa “Job type” y luego en la solapa “Method” como se muestra en la figura 15.

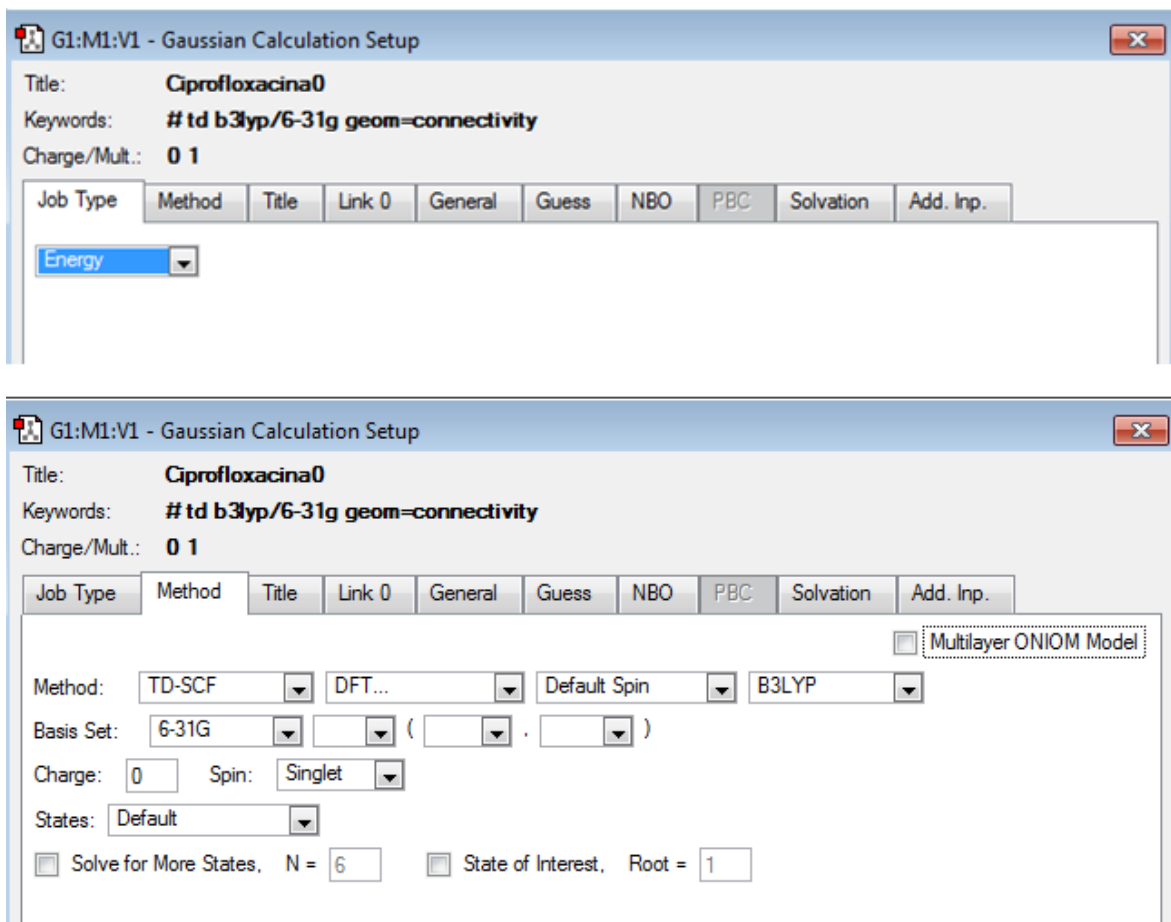


Fig. 15. Configuración en el programa *Gauss View*<sup>®</sup> 5.0 para obtener los mínimos de energía de los IFAs.

Con este tipo de cálculo se obtuvieron las energías de cada conformero, y posteriormente se graficaron los valores de energía vs. ángulo, ver gráficos en punto 5.3.1. A partir de los mismos se determinaron los mínimos de energía para cada IFA.

#### 4.2.3.2. Optimización y solvatación

Como se dejó establecido en el apartado anterior, para cada molécula se obtuvo un mínimo de energía, entonces con los cuatro outputs referentes a los mínimos, se configuró el cálculo en optimización en la solapa “Job type”, y en la solapa “Method” no se realizaron cambios, como se muestra en la figura 16. Este cálculo se realiza simulando la estructura en el vacío.

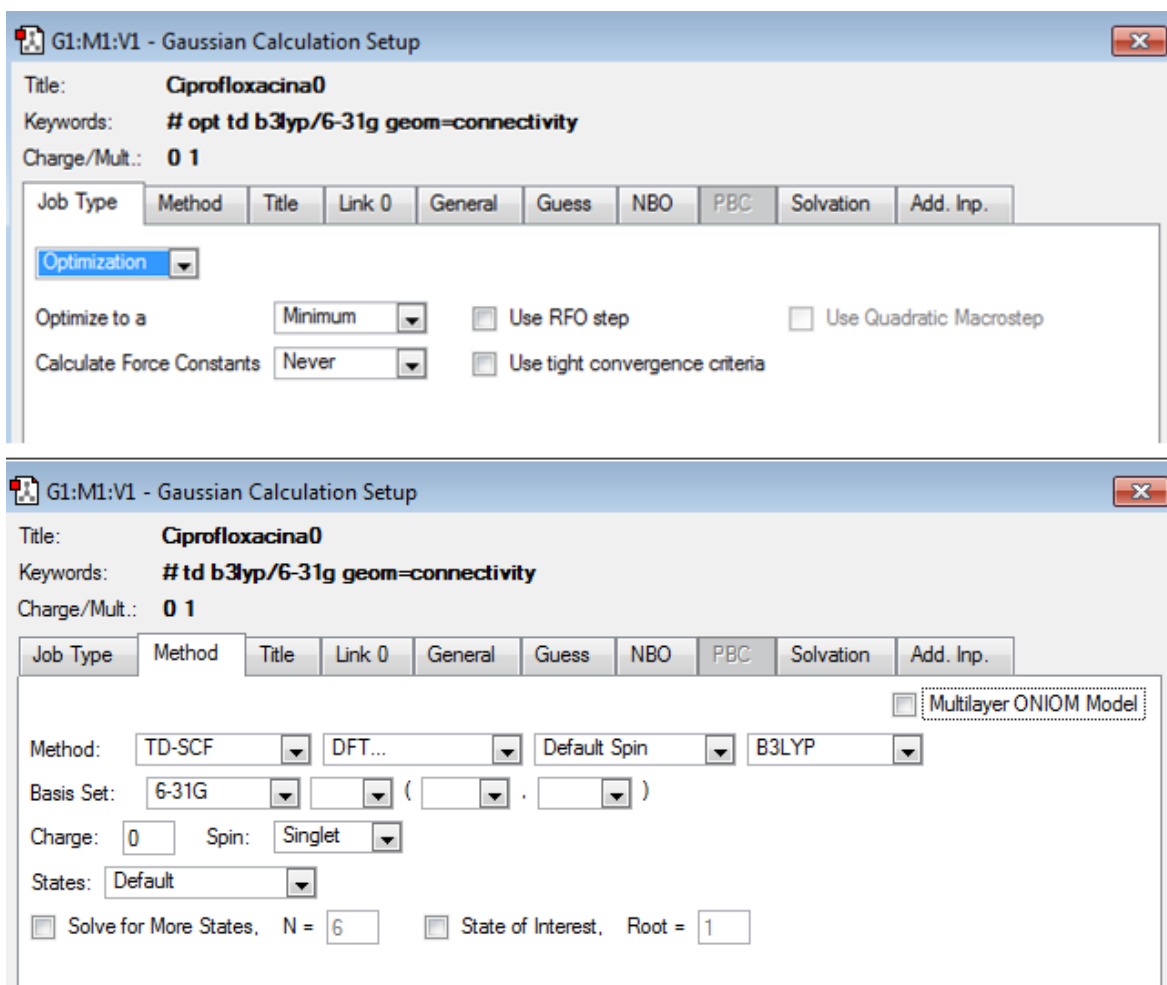


Fig. 16. Configuración en el programa *Gauss View*<sup>®</sup> 5.0 para optimizar la molécula correspondiente al mínimo de energía de cada IFA

Éstos fueron nuevos inputs con los que se realizaron los cálculos computacionales. Al finalizar, se obtuvieron cuatro nuevos outputs. Éstos últimos se volvieron a configurar como inputs, agregando a la configuración anterior el apartado de solvatación como se muestra en la figura 17. La solvatación realiza el cálculo de optimización simulando la estructura en un medio acuoso.

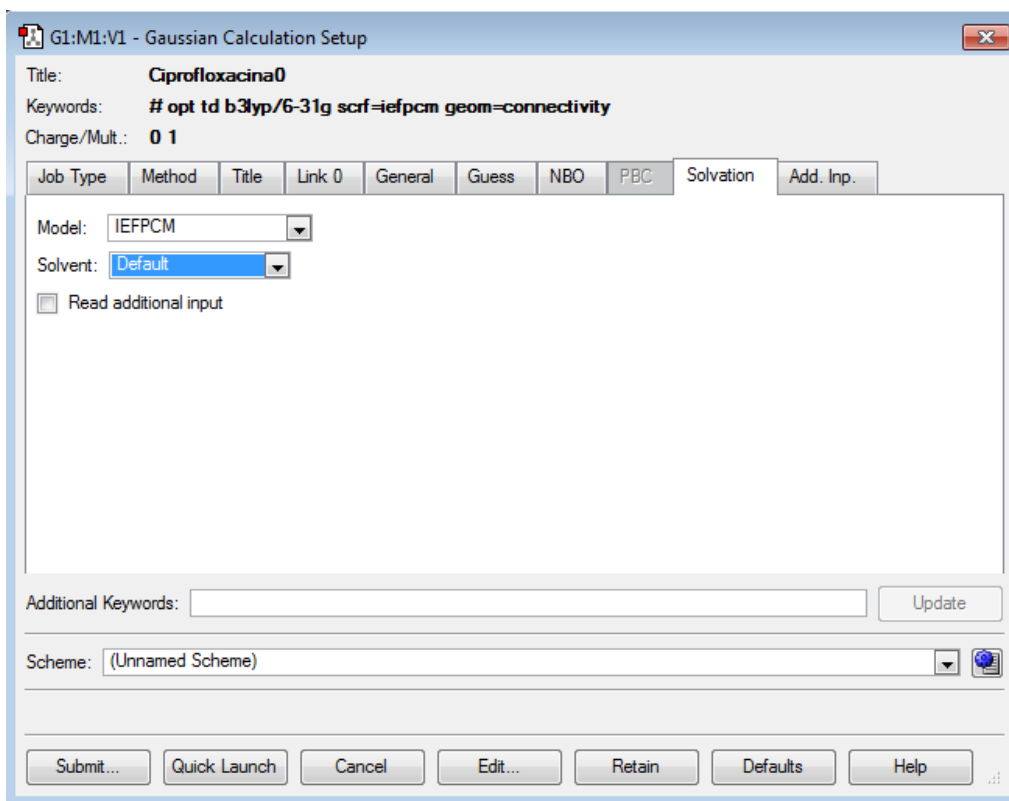


Fig. 17. Input para el cálculo del sistema solvatado.

Con los outputs que se obtuvieron, se extrajeron los valores de HOMO y LUMO y se calcularon los descriptores globales con las fórmulas presentadas en Tabla 7.

**Tabla 7.** Descriptores globales. El índice de nucleofilicidad, N, está referenciado a la energía HOMO del tetracianoetileno (TCE), (Sana et al., 2020).

Descriptor global	Ecuación
Energía de ionización	$I = -E_{HOMO}$
Afinidad electrónica	$A = -E_{LUMO}$
Electronegatividad	$\chi = \frac{(I+A)}{2}$
Potencial químico	$\mu = -\chi = -\frac{(I+A)}{2}$
GAP	$\Delta E = EI - AE$
Dureza	$\eta = \frac{(I-A)}{2}$
Suavidad	$\sigma = \frac{1}{2 * \eta}$
Índice de electrofilicidad	$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta}$
Índice de nucleofilicidad	$N = I - E_{HOMO \text{ TCE}}$
Poder de electro aceptación	$\omega^+ = \frac{A^2}{2(I-A)}$
Poder de electro donación	$\omega^- = \frac{I^2}{2(I-A)}$

## 5. Resultados y discusión

### 5.1. Solubilidad

#### 5.1.1. Espectros de absorción

En la figura 18 se muestran los espectros de absorción de NOR, CIP, SDZ y STZ en el rango de longitud de onda de 200 a 400 nm. Se observa que en la región comprendida entre 200 y 300 nm los cuatro IFAs presentan la mayor absorción, por lo tanto no es posible cuantificar las sulfonamidas en presencia de las fluoroquinolonas empleando los espectros convencionales.

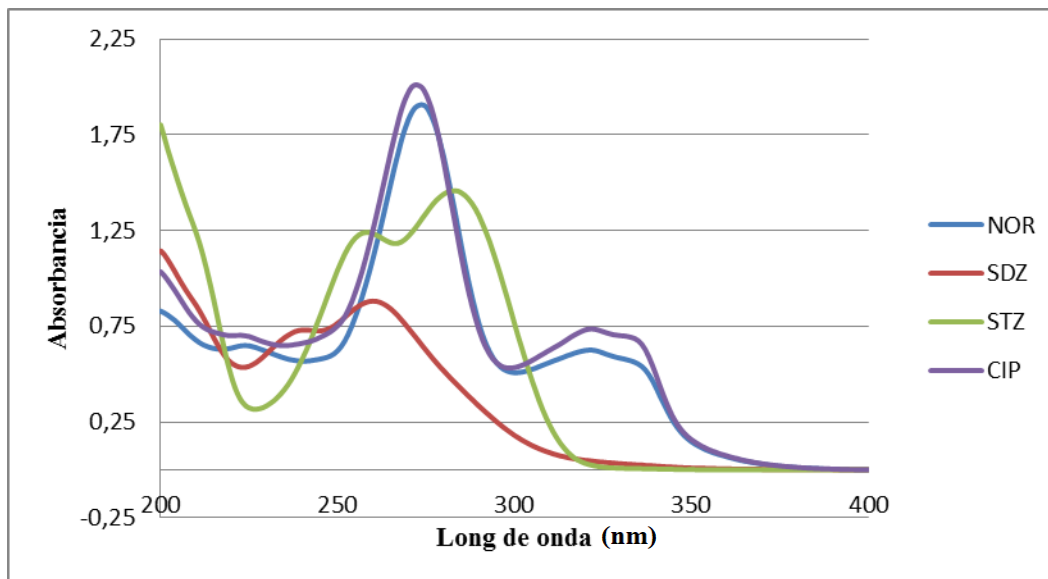


Fig. 18. Espectros de absorción superpuestos de CIP, NOR, SDZ y STZ.

#### 5.1.2. Espectros de derivadas

Debido al impedimento de cuantificar sulfonamidas en presencia de fluoroquinolonas empleando los espectros convencionales, se procede a calcular la derivada primera de cada uno y los resultados se muestran en las Figuras 19, 20, 21 y 22.

Las derivadas de los espectros de CIP y NOR se hacen cero en 272 y 299 respectivamente, por lo tanto estas son las longitudes de onda seleccionadas para cuantificar SDZ y STZ.

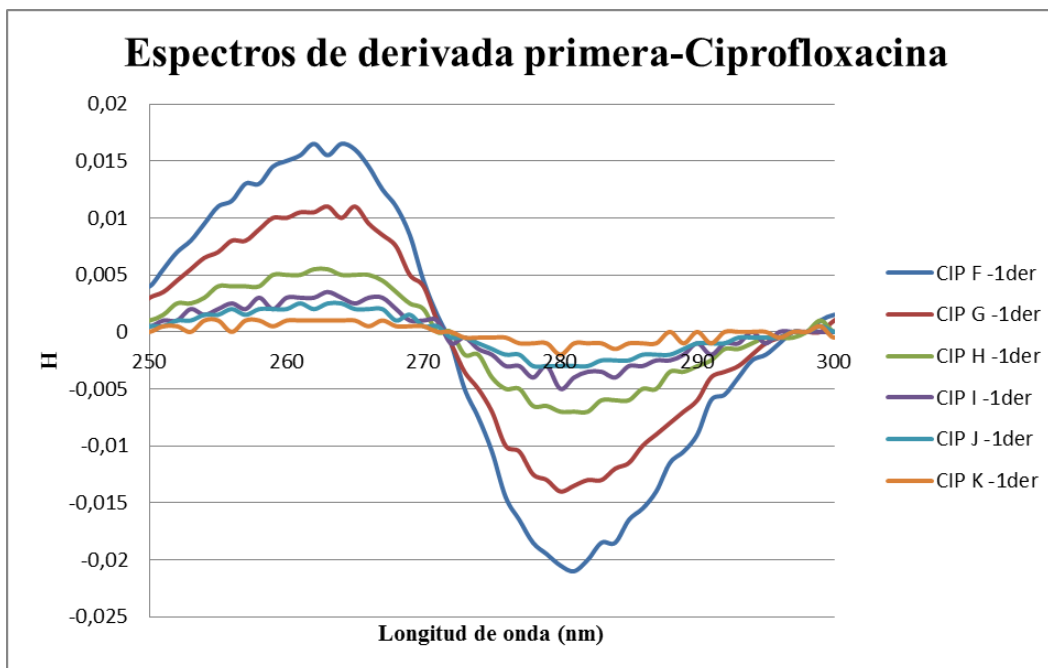


Fig. 19. Espectros de derivadas primera superpuestos de CIP.

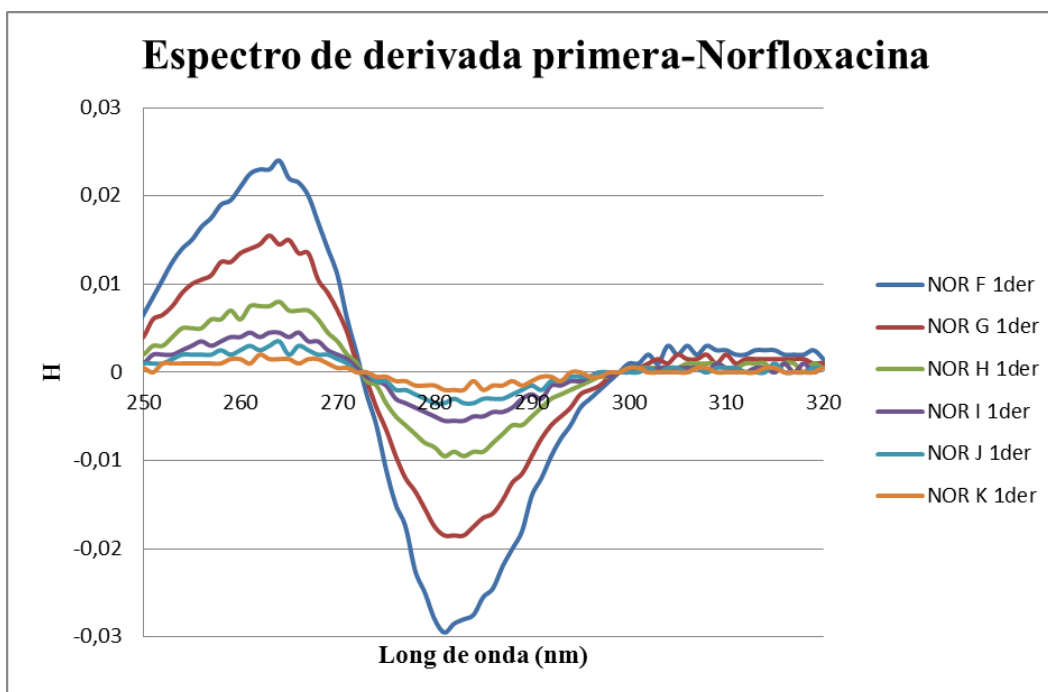


Fig. 20. Espectros de derivadas primera superpuestos de NOR.

Se observa que las derivadas de primer orden de los espectros de absorbancia de SDZ y STZ son iguales a cero en las longitudes de onda 257 y 255 respectivamente, por lo tanto, a estas longitudes de onda se cuantificaron NOR y CIP.

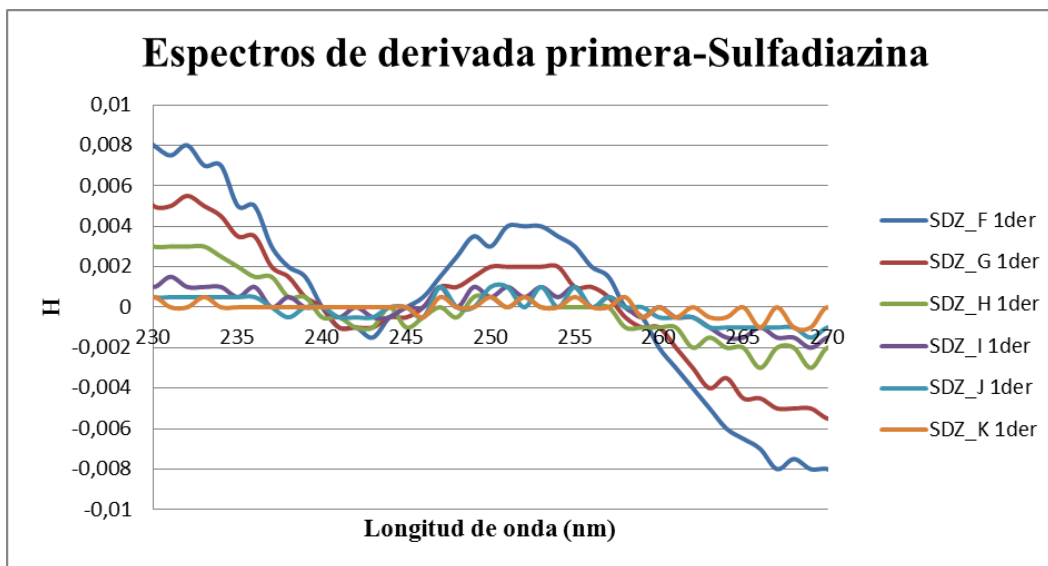


Fig. 21. Espectros de derivada primera superpuestos de SDZ.

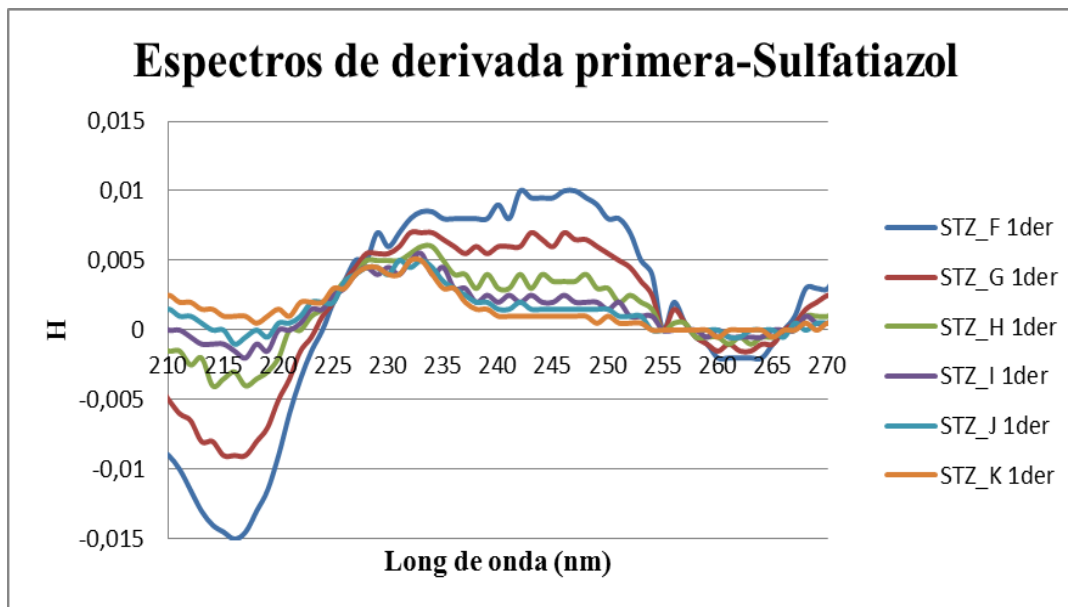


Fig. 22. Espectros de derivada primera superpuestos de STZ



### 5.1.3. Curvas de calibrado

#### 5.1.3.1. Absorbancia vs. concentración

Las curvas de calibrado con las cuales se calcularon las concentraciones de los IFAs, individualmente a 24, 48 y 72 h se muestra en el ANEXO 8.1.

#### 5.1.3.2. Altura vs. concentración

Las curvas de calibrado realizadas a partir de los espectros de derivadas, con las que se calcularon las concentraciones de los IFAs estando en presencia de la mezcla se muestran en el ANEXO 8.2.

En las tablas 8 y 9 se presentan las concentraciones calculadas de los IFAs individuales y en presencia de otro IFA a las 24, 48 y 72 h.

**Tabla 8.** Concentraciones en g/L calculadas de los IFAs a 24, 48 y 72 h de interacción.

	24 h	48 h	72 h
<b>CIP (g/L)</b>	0,1464	0,1782	0,1947
<b>SDZ (g/L)</b>	0,2187	0,3283	0,5260
<b>STZ (g/L)</b>	0,8839	1,6451	2,1086
<b>CIP-SDZ (g/L)</b>	0,2557	0,2341	0,2844
<b>CIP-STZ (g/L)</b>	0,6730	0,8118	1,1102
<b>SDZ-CIP (g/L)</b>	0,0044	0,0044	0,0044
<b>STZ-CIP (g/L)</b>	1,4349	1,7049	1,7743

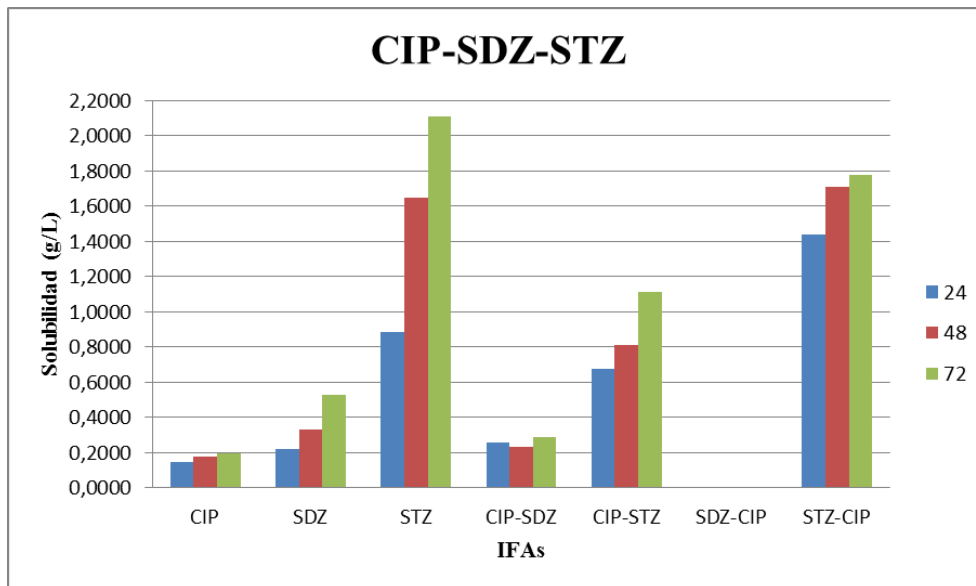
**Tabla 9.** Concentraciones en g/L calculadas de los IFAs a 24, 48 y 72 h de interacción.

	24 h	48 h	72 h
<b>NOR (g/L)</b>	1,0442	1,1712	1,3603
<b>SDZ (g/L)</b>	0,3364	0,3360	0,5589
<b>STZ (g/L)</b>	1,8441	1,4775	1,9811
<b>NOR-SDZ (g/L)</b>	0,7978	1,2368	1,3213
<b>NOR-STZ (g/L)</b>	0,1343	0,2192	0,2546
<b>SDZ-NOR (g/L)</b>	1,8721	2,2882	2,7042
<b>STZ-NOR (g/L)</b>	0,9273	1,1267	1,1900

Se observa un aumento en la solubilidad a través del tiempo en todos los IFAs y sus combinaciones. También se aprecia que aumenta la solubilidad de CIP en la presencia de SDZ y aún más con STZ, a diferencia de NOR que se observa que la solubilidad disminuye en presencia de las sulfonamidas. Sin embargo, SDZ presenta aumento de solubilidad en presencia de NOR y disminución en presencia de CIP. La solubilidad de STZ disminuye en ambos casos.

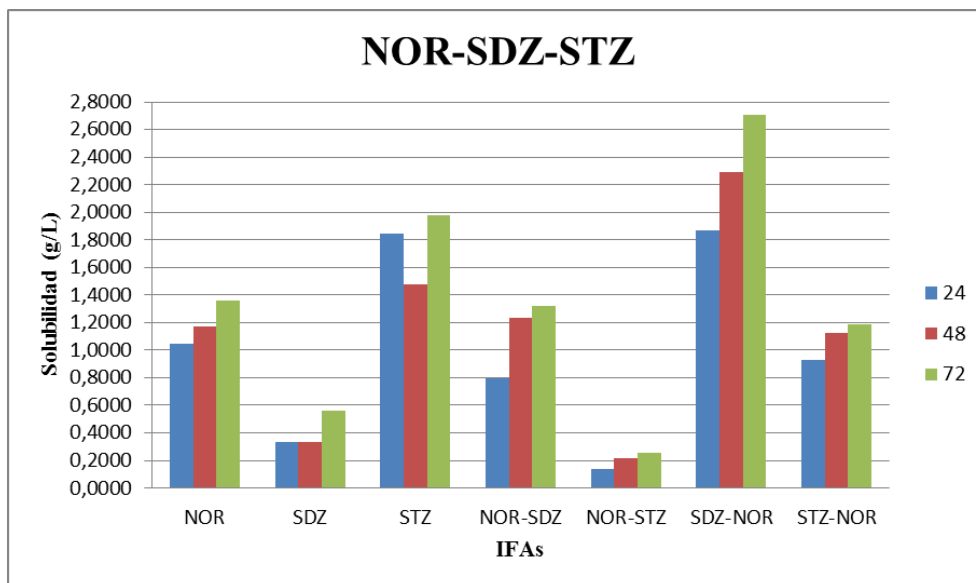
### 5.1.4. Gráficos de solubilidad

En la Figura 23 se observa con mayor claridad que CIP mejora su solubilidad en presencia de SDZ (incremento de 146 %), y mejora aún más con STZ (incremento de 570 %). Para el caso de las sulfonamidas, se ve que su solubilidad disminuye en presencia de CIP.



**Fig. 23.** Concentraciones de CIP, SDZ y STZ individuales y en presencia de sus combinaciones.

En la Figura 24 se observa que la solubilidad de NOR es perjudicada en presencia de SDZ y STZ como se mencionó en el punto 5.1.3.2. La solubilidad de STZ también es perjudicada por la presencia de NOR, pero no es el caso de SDZ, la cual es altamente beneficiada resultando en un incremento de 483 %.

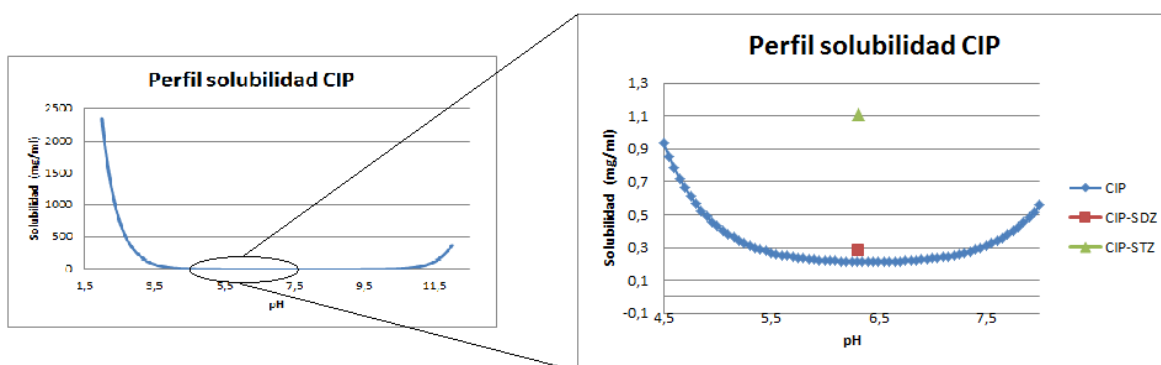


**Fig. 24.** Concentraciones de NOR, SDZ y STZ individuales y en presencia de sus combinaciones.

### 5.1.5. Perfiles de solubilidad

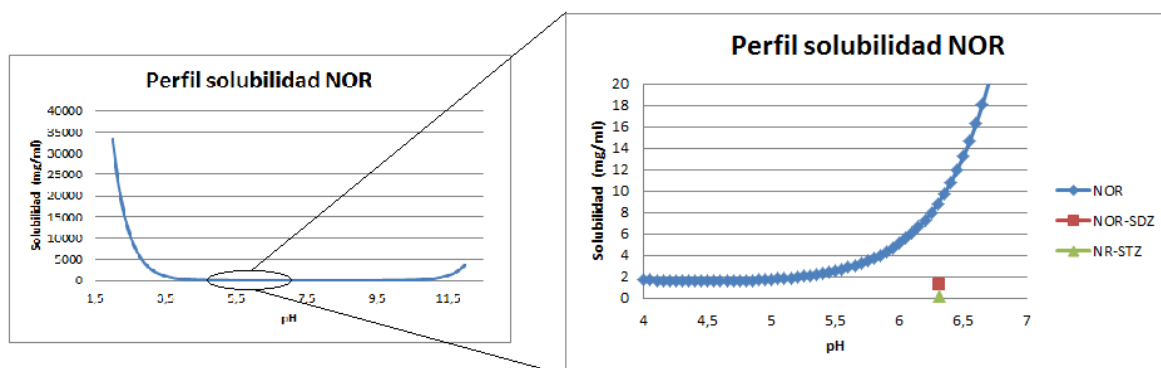
Los perfiles de solubilidad de los IFAs trabajados presentan una forma semejante a una parábola, debido a su carácter zwitteriónico. Para las fluoroquinolonas, CIP y NOR, el gráfico presenta mayor solubilidad a pH inferiores a 4 en su forma catiónica; a pH entre 5 y 7 son muy poco solubles debido a que predominan sus formas zwitteriónicas, y a pH superiores a 8 vuelve a aumentar la solubilidad, predominando la forma aniónica (ver Fig. 19 y 20). En el caso de las sulfonamidas, presentan mayor solubilidad en sus formas aniónicas, a pH superior a 7; entre 5 y 7 predominan las formas zwitteriónicas muy poco solubles, y a pH menor a 4 son solubles predominando la forma catiónica.

En la Figura 25 también se graficaron las concentraciones calculadas en el punto 5.1.3.2, observándose como la presencia de SDZ y aún más de STZ, mejoran la solubilidad de CIP.



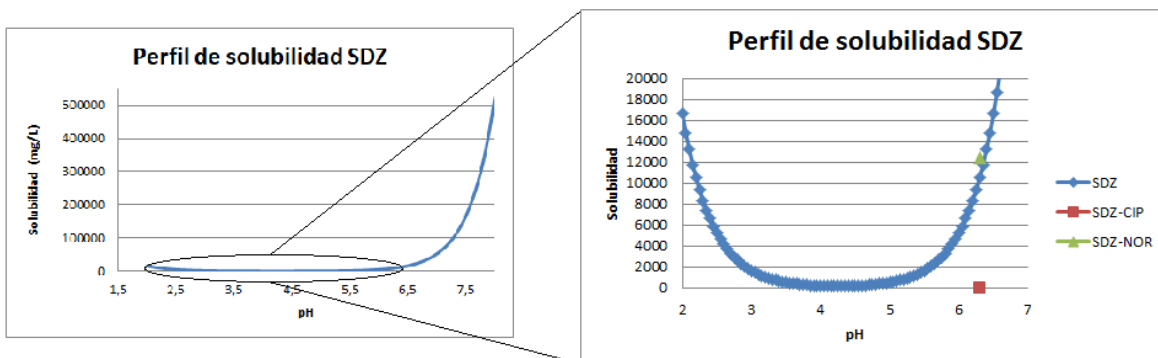
**Fig. 25.** Perfil de solubilidad de CIP en el rango de pH 2 a 12. En la ampliación se observa la solubilidad en el rango de pH 4,5 a 8,0.

En la Fig. 26 se presenta el perfil de solubilidad de NOR junto con las concentraciones calculadas en el punto 5.1.3.2 observándose claramente como la presencia de sulfonamidas afecta negativamente la solubilidad de NOR.



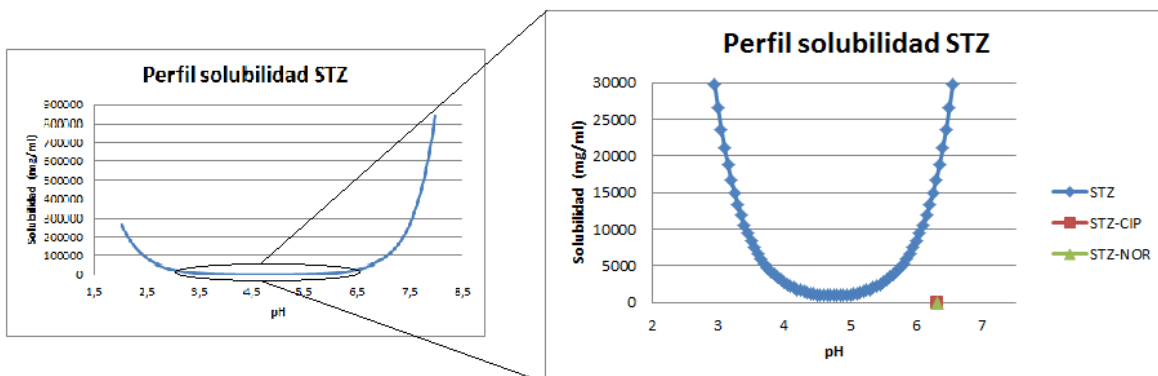
**Fig. 26.** Perfil de solubilidad de NOR en el rango de pH 2 a 12. En la ampliación se muestra la solubilidad en el rango 4 a 7.

En las Figuras 27 y 28 se presentan los perfiles de solubilidad de SDZ y STZ respectivamente. En el perfil de la primera se observa como la presencia de CIP perjudica la solubilidad, mientras que con la presencia de NOR, la solubilidad es beneficiada.



**Fig. 27.** Perfil de solubilidad de SDZ en el rango de pH 2 a 7,5. En la ampliación se muestra la solubilidad en el rango 2 a 7.

En el perfil de STZ se observa como la solubilidad es perjudicada por la presencia de las fluoroquinolonas.



**Fig. 28.** Perfil de solubilidad de STZ. En la ampliación se muestra la solubilidad en el rango 2 a 7.

## 5.2. Coeficiente de distribución (D)

### 5.2.1. Concentraciones de los IFAs individuales y sus respectivos D y log D

Concentraciones calculadas a partir de curvas de calibrado del Anexo 8.1

**Tabla 10.** Concentraciones de los IFAs antes y después de la distribución.

IFA	Antes de la partición (M)	Después de la partición (M)	D	log D	Dato de bibliografía*
<b>CIP</b>	3,91485E-05	3,7394E-05	0,0469	-1,3286	-1,20
<b>NOR</b>	3,48575E-05	3,34493E-05	0,0421	-1,3757	-1,03
<b>SDZ</b>	3,0736E-05	2,47401E-05	0,2423	-0,6155	-0,74
<b>STZ</b>	3,29491E-05	2,31616E-05	0,4226	-0,3741	-0,05**

\*(Beale et al., 2011);\*\*(Swissadme, 2024).

Los valores de log D obtenidos experimentalmente no se encuentran muy alejados de los teóricos, teniendo en cuenta que los datos bibliográficos fueron determinados a pH 7,4 y los datos experimentales fueron trabajados a pH 6,8. Se puede asumir que la diferencia entre ambos valores se debe a que, como se mencionó en puntos anteriores, el coeficiente de distribución varía con el pH.

### 5.2.2. Concentraciones de los IFAs en las combinaciones y sus respectivos D y log D

En la Tabla 11 se presentan las concentraciones calculadas a partir de curvas de calibrado H vs. C (Anexo 8.2), con las que se calcula el coeficiente de distribución D y log D.

**Tabla 11.** Concentraciones de los IFAs en las combinaciones, antes y después de la distribución.

Combinación de IFAs	Antes de la partición (M)	Después de la partición (M)	D	log D
<b>CIP-SDZ</b>	2,02046E-05	1,45682E-05	0,3869	-0,4124
<b>CIP-STZ</b>	2,08388E-05	1,71737E-05	0,2134	-0,6708
<b>NOR-SDZ</b>	1,07747E-05	9,12216E-06	0,1812	-0,7419
<b>NOR-STZ</b>	1,23998E-05	1,1625E-05	0,0667	-1,1761
<b>SDZ-CIP</b>	2,69332E-05	1,36438E-05	0,9740	-0,0114
<b>SDZ-NOR</b>	1,49591E-05	6,64849E-06	1,25	0,0969
<b>STZ-CIP</b>	1,68117E-05	5,27426E-06	2,1875	0,3399
<b>STZ-NOR</b>	1,4628E-05	4,71072E-06	2,1053	0,3233

Comparando los coeficientes de distribución de los fármacos individuales respecto a sus combinaciones, se observa que SDZ favorece la liposolubilidad de NOR en un 46% y en un 70 % la de CIP. El efecto de STZ sobre las fluoroquinolonas también favorece la liposolubilidad de CIP y NOR, sin embargo para NOR solo mejora un 15% mientras que CIP un 50%.

Además, la liposolubilidad de SDZ mejora en un 98% en presencia de CIP y un 115% en presencia de NOR, mientras que para STZ mejora en un 192 % con CIP y un 187% con NOR.

Este comportamiento puede deberse a la formación de complejos de tipo ion-dipolo y puentes de hidrógeno entre los grupos funcionales de la combinación fluoroquinolonas y sulfonamidas.

La interacción entre el anión carboxilato ( $-\text{COO}^-$ ) de la fluoroquinolona y el grupo sulfonamida ( $\text{SO}_2\text{NH}_2$ ) puede formar un complejo de tipo ion-dipolo, estabilizando la estructura y aumentando la liposolubilidad. Por otro lado, los grupos funcionales en los IFAs pueden participar en la formación de puentes de hidrógeno. Por ejemplo, el grupo hidroxilo ( $-\text{OH}$ ) en las fluoroquinolonas puede formar puentes de hidrógeno con los grupos amino ( $-\text{NH}_2$ ) o sulfonamida ( $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ) en las sulfonamidas.

Estas interacciones pueden reducir la energía libre del sistema y mejorar la solubilidad en medios lipídicos (Martin, A., 2011).

### 5.3. Geometría molecular

#### 5.3.1. Gráficos de energía

En la Figura 29 se presentan los gráficos de energía relativa en función del ángulo diedro, con los cuales se determinó la conformación de mayor estabilidad correspondiente al mínimo de energía de cada IFA. Estas conformaciones se sometieron a los cálculos de optimización de geometría y posterior solvatación en el programa Gaussian<sup>®</sup>.

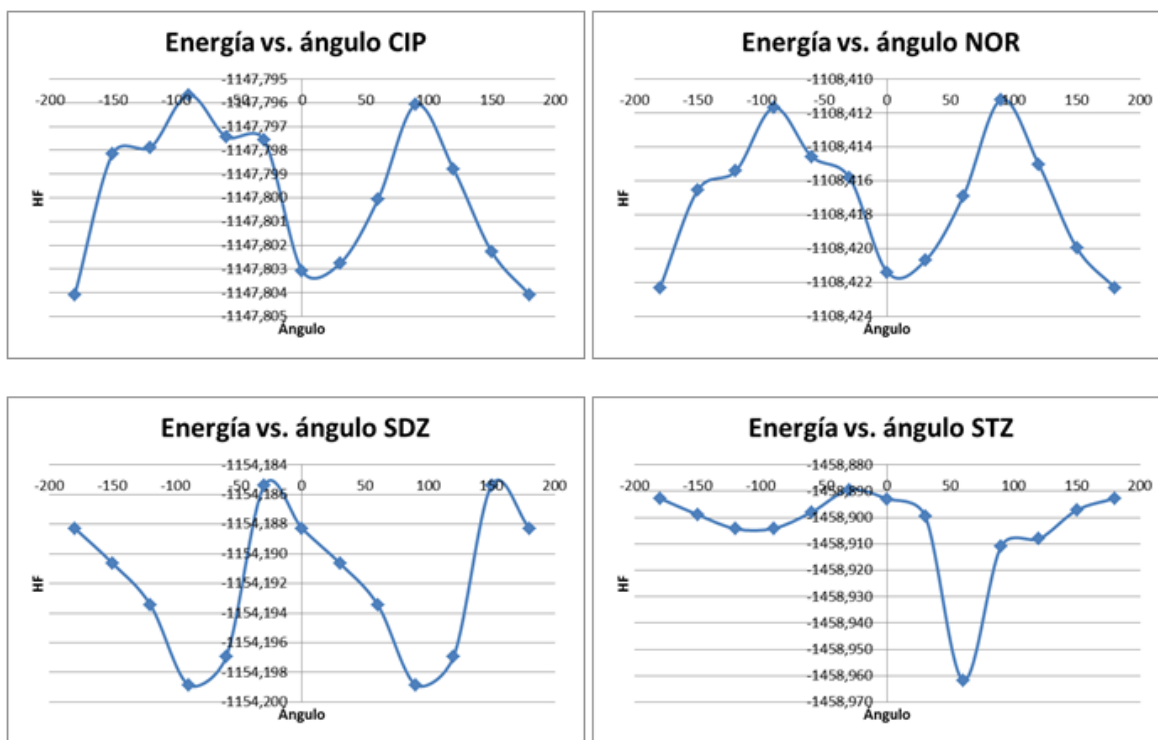


Fig. 29. Gráficos de energía versus ángulo diedro de torsión

### 5.3.2. Descriptores globales

El análisis de orbitales moleculares de frontera es una propiedad útil para determinar la reactividad molecular y la estructura electrónica, además de proporcionar información sobre las transiciones electrónicas dentro de las moléculas. La estabilidad química de las moléculas se puede explicar sobre la base de la brecha de energía entre las transiciones electrónicas de HOMO y LUMO (GAP).

Una mayor brecha energética HOMO-LUMO refleja una alta estabilidad cinética y una baja reactividad química (estable frente a reacciones de oxidación y reducción) (Ovung. et al., 2020).

Según se observa en la figura 30, en CIP y NOR, los orbitales HOMO presentan una alta densidad electrónica sobre el anillo de piperazina. En los orbitales LUMO la densidad electrónica se distribuye uniformemente sobre la quinolina (sistema bicíclico planar) en el caso de CIP y se concentra sobre el anillo heterocíclico de la quinolina en NOR.

En la figura 31 se observa que los orbitales HOMO de SDZ y STZ se concentran sobre los anillos heteroaromáticos de ambas moléculas y los orbitales LUMO se distribuyen de forma más homogénea sobre toda la molécula en ambos casos.

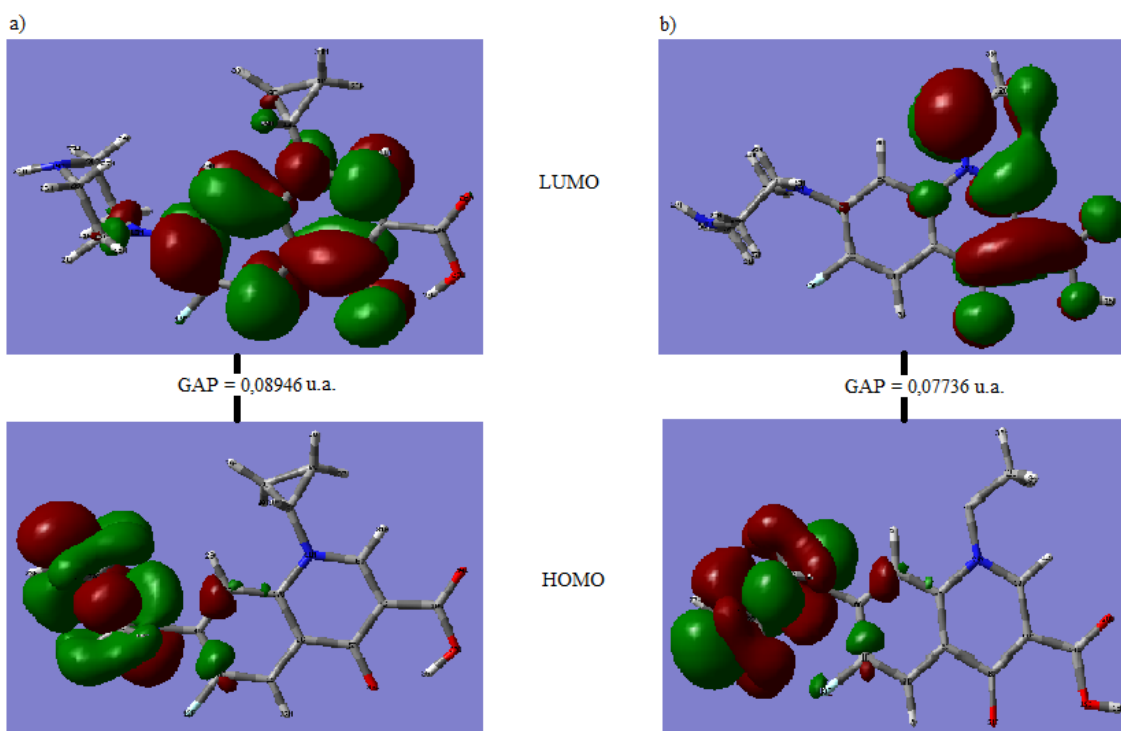


Fig. 30. GAP de a) CIP y b) NOR

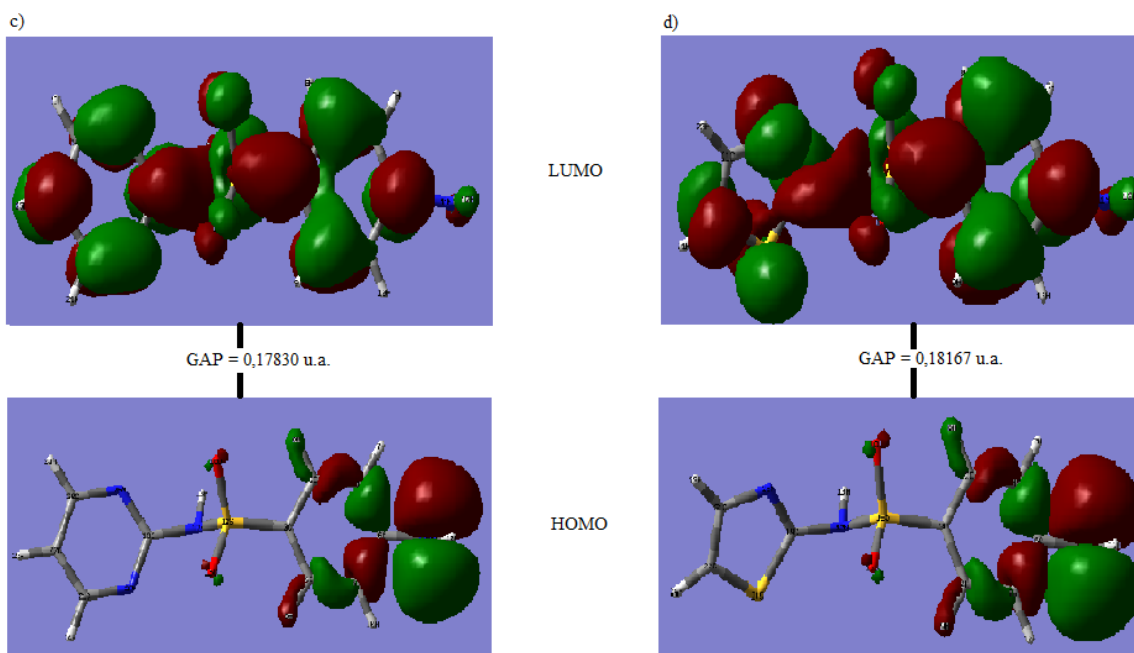


Fig. 31. GAP de c) SDZ y d) STZ

En las Tablas 12 y 13, se presentan los valores de descriptores de lo analizado en los párrafos anteriores, para las moléculas optimizadas y solvatadas respectivamente.

**Tabla 12.** Valores de descriptores globales con las moléculas optimizadas de los IFAs (valores expresados en unidades atómicas u.a.).

	CIP	NOR	SDZ	STZ
descriptores	optimización	optimización	optimización	optimización
I	0,18137	0,17151	0,24083	0,24201
A	0,09191	0,09415	0,06253	0,06034
$\mu$	-0,13664	-0,13283	-0,15168	-0,15118
$\chi$	0,13664	0,13283	0,15168	0,15118
GAP	0,08946	0,07736	0,17830	0,18167
$\eta$	0,04473	0,03868	0,08915	0,09084
$\sigma$	11,17818	12,92658	5,60852	5,50449
$\omega$	0,20870	0,22807	0,12903	0,12580
N	0,15453	0,16439	0,09507	0,09389
$\omega^+$	0,04721	0,05729	0,01096	0,01002
$\omega^-$	0,18385	0,19012	0,16264	0,16120

Comparando los GAP de las fluoroquinolonas y las sulfonamidas, las primeras poseen una brecha menor que las segundas, por lo tanto, son menos estables y más reactivas, y a su vez, NOR es menos estable y más reactiva que CIP. Para las sulfonamidas, SDZ es levemente menos estable y más



reactiva que STZ. Esta relación se mantiene en las moléculas solvatadas, y en todas disminuye el GAP, haciendo que sean levemente más reactivas.

La suavidad ( $\sigma$ ) constituye un concepto útil para la predicción de la reactividad química. Las moléculas blandas sufren cambios en su densidad electrónica más fácilmente que las moléculas duras y por ende son más reactivas. En general, se puede decir que el incremento en la suavidad se asocia con el incremento de la reactividad química mientras que la dureza está relacionada con la disminución de la reactividad química (López et al., 2013). Para los cuatro IFAs, la suavidad es mayor a la dureza, y también se observa que las fluoroquinolonas son más reactivas que las sulfonamidas, ya que poseen prácticamente el doble de suavidad. Por otro lado, cabe destacar que la solvatación de las moléculas, hace que la suavidad aumente.

Físicamente, el potencial químico electrónico, corresponde a la capacidad de un sistema para donar electrones, de tal modo que la transferencia de electrones, entre reactantes fluye desde el potencial más alto hacia el más bajo (López et al., 2013). Teniendo en cuenta esto último, las fluoroquinolonas donan electrones a las sulfonamidas.

**Tabla 13.** Valores de descriptores globales con las moléculas optimizadas y solvatadas de los IFAs (valores expresados en unidades atómicas u.a.).

	<b>CIP</b>	<b>NOR</b>	<b>SDZ</b>	<b>STZ</b>
<b>descriptores</b>	<b>solvatación</b>	<b>solvatación</b>	<b>solvatación</b>	<b>solvatación</b>
<b>I</b>	0,16850	0,16516	0,23363	0,23343
<b>A</b>	0,09126	0,09096	0,07055	0,06518
<b><math>\mu</math></b>	-0,12988	-0,12806	-0,15209	-0,14931
<b><math>\chi</math></b>	0,12988	0,12806	0,15209	0,14931
<b>GAP</b>	0,07724	0,07420	0,16308	0,16825
<b><math>\eta</math></b>	0,03862	0,03710	0,08154	0,08413
<b><math>\sigma</math></b>	12,94666	13,47709	6,13196	5,94354
<b><math>\omega</math></b>	0,21839	0,22102	0,14184	0,13249
<b>N</b>	0,16740	0,17074	0,10227	0,10247
<b><math>\omega^+</math></b>	0,05391	0,05575	0,01526	0,01263
<b><math>\omega^-</math></b>	0,18379	0,18381	0,16735	0,16193

En la tabla 13 se presentan valores de los descriptores globales para los moléculas de trabajo solvatadas. Comparando con la tabla 12, se observa una correlación respecto a lo descrito, indicando una mayor reactividad de las moléculas solvatadas respecto a las solo optimizadas.



## 6. Conclusiones

Se concluye que la solubilidad de ciprofloxacina y norfloxacina se afecta por la presencia de sulfatiazol y sulfadiazina. En particular, la solubilidad de ciprofloxacina aumenta en presencia de ambas sulfonamidas, pero aún más por sulfatiazol. Así mismo, la solubilidad de sulfatiazol está favorecida por la presencia de ciprofloxacina, no siendo igual para la solubilidad de sulfadiazina, la cual disminuye en presencia de ciprofloxacina.

La solubilidad de norfloxacina no mejora por la presencia de las sulfonamidas, e incluso se ve muy perjudicada en presencia de sulfatiazol, y viceversa. Sin embargo, la solubilidad de sulfadiazina se ve muy favorecida por la presencia de norfloxacina.

Por otra parte, en todos los pares fluoroquinolona-sulfonamida antibacteriana ensayados se observa que la liposolubilidad de ambos componentes aumenta de forma significativa respecto a la liposolubilidad de los fármacos individuales. El aumento de la lipofilidad en las combinaciones podría verse reflejado en una mayor absorción de ambos fármacos a través de la membrana celular de las bacterias.

Del análisis de la estructura molecular se deduce que las sulfonamidas presentan mayor estabilidad, menor suavidad y menor reactividad química que las fluoroquinolonas.



## 7. Bibliografía

Avendaño, C. et al. (2001). Introducción a la química farmacéutica. *McGraw Hill & Interamericana de España*, 2nd ed., 84-86.

Ávila, C. D., Ayala Gómez, R., Mazzieri, M. R., & Pinto Vitorino, G. (2023). Simultaneous determination of norfloxacin and sulfadiazine by first-derivative spectrophotometry. *Journal of Chemistry Letters*, 4, 130–135.

Beale John M. Jr., Block John H. (2011). *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry* (12th ed.).

Becke, A. D. (1993). Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *Journal of Chemical Physics*, 98(7), 5648-5652.

Blokhina S., Sharapova A., Ol'khovich M., Volkova T., Perlovich, G. (2016). Solubility, lipophilicity and membrane permeability of some fluoroquinolone antimicrobials. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93, 29–37.

Bultinck, P., De Winter, H., Langenaeker, W., & Tollenaere, J. (2004). *Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery* (1er ed.). New York: Marcel Dekker, Inc.

Choque A., Nogales, J., Apaza T. (2020). Estudio de las propiedades moleculares y reactivas del antibiótico Ciprofloxacina a nivel de Teoría de Funcional de Densidad DFT B3LYP/6- 31G\*. *Con-Ciencia*, 8, 21–28.

Conde-Cid M., Núñez-Delgado, A., Fernández-Sanjurjo M., Álvarez-Rodríguez E., Fernández-Calviño D., Arias-Estévez M. (2020). Tetracycline and Sulfonamide Antibiotics in Soils: Presence, Fate and Environmental Risks. *Processes*, 8, 1479–1519.

Delgado C.A., Minguillón L.C., & Joglar T.J. (2004). *Introducción a la química terapéutica*. Ediciones Diaz de Santos, Ed.; 2nd ed.

Delgado D., Rodríguez G., Martínez J., Rojas J., Martínez F. (2013). Validación de una metodología analítica empleando espectrofotometría ultravioleta para el estudio de la solubilidad de algunas sulfonamidas en mezclas cosolventes. *Revista Colombiana de Química*, 42.

Erol, M., Celik, I., Kuyucuklu, G. (2021). Synthesis, Molecular Docking, Molecular Dynamics, DFT and Antimicrobial Activity Studies of 5-substituted-2-(p-methylphenyl)benzoxazole Derivatives. *Journal of Molecular Structure*. [www.elsevier.com/locate/molstr](http://www.elsevier.com/locate/molstr)

Farmacopea Argentina. 8va Ed. Tomo 1. Buenos Aires: Anmat, 2003.

Farmacopea Estados Unidos (USP). (2023). General Chapter: Impurities in Drug Substances and Drug Products, p. 1086. United States Pharmacopeia Convention.

Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., ... & Pople, J. A. (2009). Gaussian 09, Revision A.02. Gaussian, Inc., Wallingford CT.

Goodman, L. S., Brunton, L., Knollmann, B. C., & Hilal-Dandan, R. (2018). *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics* (13th ed.). New York: McGraw-Hill Education. ISBN 978-1259584732.

Hall, J. E. (2015). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology* (13th ed.). Philadelphia: Elsevier. ISBN 978-1-4557-7005-2.



Martin, A. (2011). *Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences* (6th ed.). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. ISBN 978-0781779296.

McMurry, J. (2010). *Química Orgánica* (8va ed.). Brooks/Cole, Cengage Learning

López J., Ensuncho A., Robles J. (2013). Descriptores globales y locales de la reactividad para el diseño de nuevos fármacos anticancerosos basados en cis-platino(II). *Quim Nova*, 36. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000900006>

Ovung A., & Bhattacharyya J. (2021). Sulfonamide drugs: structure, antibacterial property, toxicity, and biophysical interactions. *Biophysical Review*, 13, 259–272.

Ross Danna L., Riley Christopher M. (1990). Aqueous solubilities of some variously substituted quinolone antimicrobials. *International Journal of Pharmaceutics*, 63, 237–250.

Ross Danna L., Riley Christopher M. (1994). Dissociation and complexation of the fluoroquinolone antimicrobials. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 12, 1325–1331.

Sana E., Wafaaa B., Redouan H., Mohamed. M., Asma B., M'hamed S., Ahmed C., Ahmed B., Nouredine B. and Mohamed A. (2020). A regio- and stereoselectivity and molecular mechanism study on the addition reactions of morpholine and m-CPBA to  $\alpha$ -hydroxyparthenolide using DFT calculations. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 10, 527–538. [www.medjchem.com](http://www.medjchem.com)

Sánchez, R. A. (2000). *Química Computacional*. Editorial Universidad de Málaga.

Sánchez-Márquez J., García V., Zorrilla D., and Fernández M. (2020). *The Journal of Physical Chemistry A*, 124 (23), 4700-4711.

Şanlı N., Sanli S., Özkan G., Denizli A. (2010). Determination of pKa Values of Some Sulfonamides by LC and LC-PDA Methods in Acetonitrile-Water Binary Mixtures. *Sociedad Brasileira de Química*, 21(10), 1952–1960.

Saucedo-Balderas M.M., Zúñiga-Lemus O., Ortégón Reyna D., González-González J.S. (2014). Los cocristales farmacéuticos: conceptos generales. *Anales de Real Academia Nacional de Farmacia*, 80(2), 265–273.

Swissadme: <http://www.swissadme.ch/index.php>

Swiśłocka R., Regulska E., Karpinska J., Swiderski G., & Lewandowski W. (2019). Molecular structure and antioxidant properties of alkali metal salts of rosmarinic acid. Experimental and DFT studies. *Molecules*, 24(14). <https://doi.org/10.3390/molecules24142645>

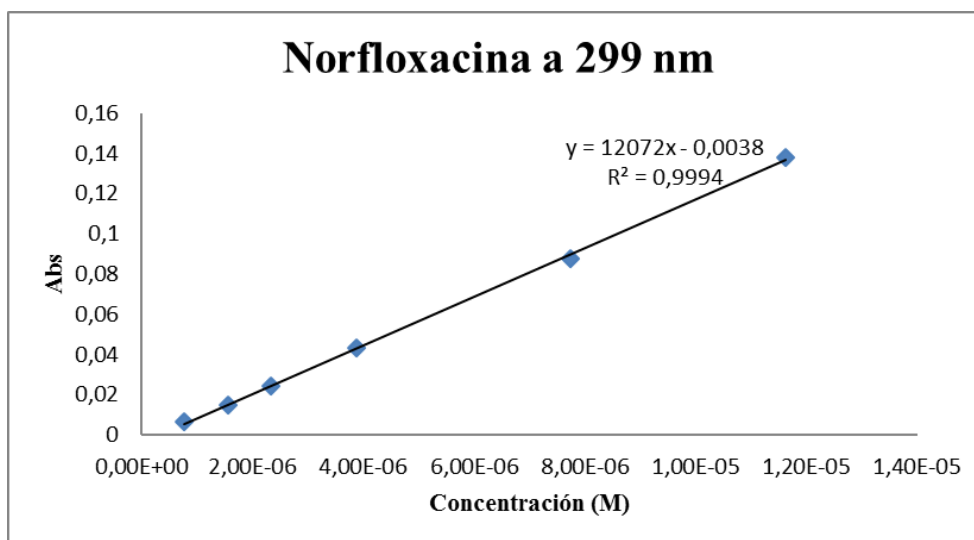
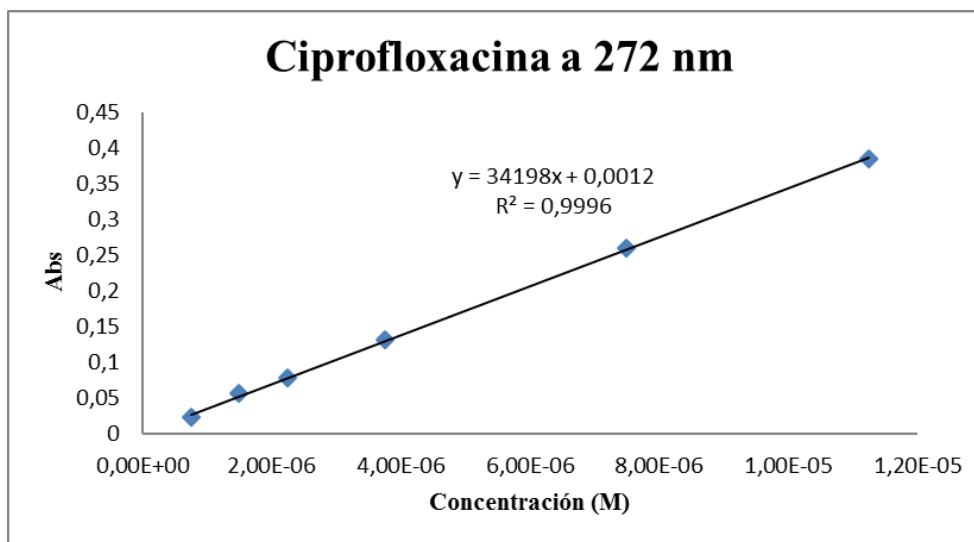
Takács-Nóvak K., Tam Y. (2000). Multiwavelength Spectrophotometric Determination of Acid Dissociation Constants. Part V: Microconstants and Tautomeric Ratios of Diprotic Amphoteric Drugs. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 21, 1171-82.

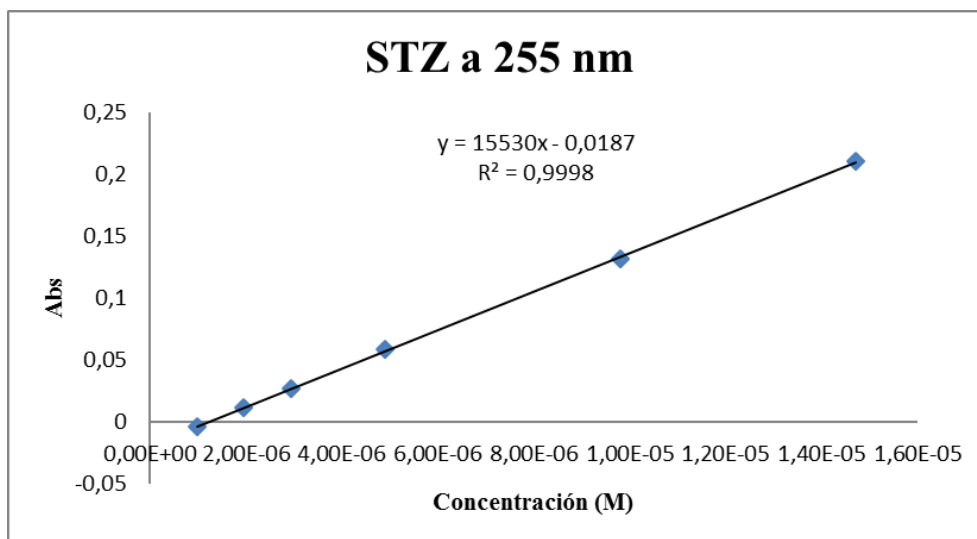
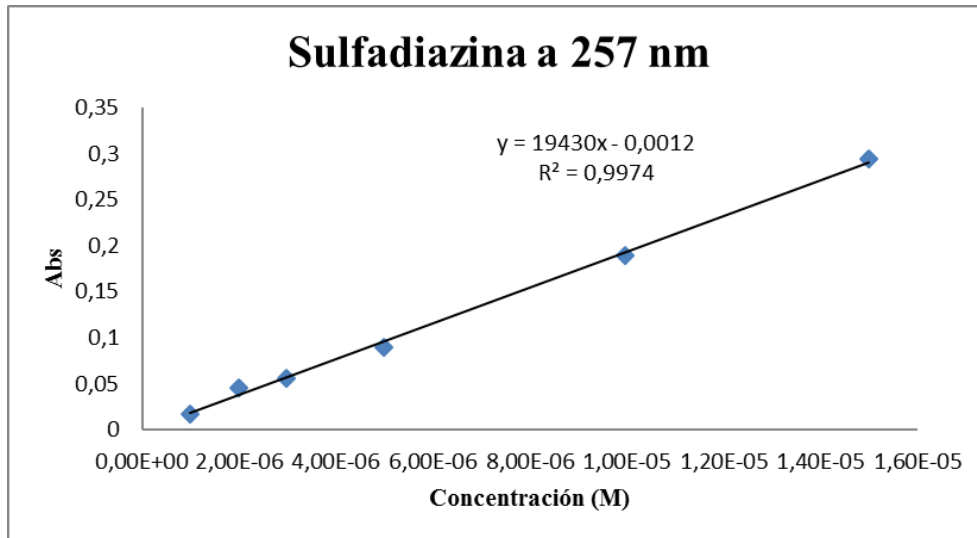
Williams H. D., Trevaskis N. L., Charman S. A., Shanker R. M., Charman W. N., Pouton C. W., Porter C. J. (2013). Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development. *Pharmacological Reviews*, 65, 315–499.



## 8. ANEXO

### 8.1. Curvas de calibrado Absorbancia vs. concentración





## 8.2. Curvas de calibrado altura vs. concentración

Curvas de calibrado, a partir de espectro de derivadas, con las que se calcularon las concentraciones de los reactivos estando en presencia de la mezcla. Las longitudes de onda fueron elegidas en función de que una de las drogas en la combinación se hace cero.

