



Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco

Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud

Departamento de Química

“Estudio de la interacción molecular en el estado sólido entre sulfonamidas antibacterianas y ácidos orgánicos”

Trabajo Final de la carrera de
Licenciatura en Química

Estudiante: Balverdi De Abreu, Fabio Enrique

Directora: Dra. Graciela Pinto Vitorino

Comodoro Rivadavia

2023

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia quiero agradecer a la Dra. Graciela Pinto Vitorino por aceptar dirigirme en el trabajo final, por la predisposición y paciencia que tuvo conmigo siempre, a la Bioq. Rosalía Ayala por acompañarme en las actividades de laboratorio y ayudarme siempre que surgía alguna duda o problema.

A la Dra. Griselda Narda y al Dr. Marcos Guillermo Russo investigadores de la Universidad Nacional de San Luis. INTEQUI- CONICET por realizar los espectros FT-IR y la difracción de rayos X de polvo a las muestras, por compartir sus conocimientos a la hora de la interpretación y análisis.

A la Dra. Marta Susana Díaz, por la ayuda al inicio, durante y final de la carrera, por ser una profesora atenta con los estudiantes y siempre velar por las carreras de química.

A mi familia, mis padres Mabel y Luis, que siempre me apoyaron a seguir en todo momento; a no bajar los brazos cuando los momentos se ponían difíciles; a mis hermanos Edgardo y Ariel por siempre estar para lo que necesitaba.

A mi abuela Aurea, que siempre nos cuidó a mi hermano y a mí cuando llegamos a Comodoro, un beso al cielo abuelita.

A mi novia, que siempre me alentó a seguir en todo momento, por la seguridad y contención, por ser mi cable a tierra cuando las cosas me sobrepasaban.

A todas las personas que formaron parte del cuerpo de cátedra de Prácticas del Laboratorio Químico todos estos años que fui auxiliar, donde me ayudaron a formarme y crecer como profesional en mi paso como auxiliar.

A mis amigos, tanto de la vida como los que me dio la Universidad, que siempre estuvieron presentes, para estudiar, llorar, escuchar, reír, aguantar, tomar un mate, simplemente gracias a todos ellos (Ceci, Romi, Adry, Seba, Guada, Ailén, Yenien, Gabi, Mariana, Jenny, Ana, Vero, Cyn, Fiamma, Ceci V., Fran, Raúl, Mica P., Mica M., Barbi, Sole, Diana, etc.).

A mis compañeros de cursada, especialmente a los que estuvieron en el tramo final de la carrera.

Al Centro de Estudiantes de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, el espacio donde pude compartir con un montón de personas y aprender que el camino en la Universidad es colectivo, donde el estar para el otro marca la diferencia en estudio y derechos.

Por último, a la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, mi segunda casa, el lugar que me permitió estudiar lo que me gusta, a todo el personal docente y no docente que me ayudaron en algún momento de mi vida universitaria y eso permitió que pueda culminar esta carrera.

INDICE

INDICE	1
ABREVIATURAS.....	3
1. INTRODUCCION	4
1.1. Estado sólido de fármacos	4
1.2. Los sólidos.....	4
1.2.1. Hábito cristalino	5
1.2.2. Estructura interna.....	6
1.3. Sintones.....	7
1.4. Técnicas de obtención.....	8
1.4.1. Método difusión de vapor (MDV).....	8
1.4.2. Método de enfriamiento de una solución saturada (MESS).....	8
1.4.3. Método de molienda (MM).....	8
1.5. Técnicas de caracterización.....	9
1.5.1. Técnicas físicas.....	10
1.5.2. Elucidación estructural.....	11
1.5.3. Propiedades farmacéuticas	12
1.6. Química Computacional (QC).....	12
1.6.1. Cálculo de energía	12
1.6.2. Descriptores moleculares.	12
1.7. Selección de los fármacos	13
2. OBJETIVO GENERAL	15
2.1. OBJETIVOS PARTICULARES.....	15
3. MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1. Preparación de los sólidos.....	16
3.1.1. Método de difusión de vapor.....	16
3.1.2. Método de enfriamiento de una solución saturada	17
3.1.3. Método de molienda	18
3.2. Caracterización de los sólidos obtenidos.....	18
3.2.1. Determinación del punto de fusión.....	18
3.2.2. Observación en Microscopio con platina de calentamiento.....	19

3.2.3. Análisis cromatográfico	20
3.2.4. Observación con microscopio de luz polarizada	20
3.2.5. Análisis de FT-IR	21
3.2.6. Análisis de difracción de Rayos X de polvo	21
3.2.7. Análisis de solubilidad	21
3.3. Análisis computacional de las sulfonamidas	23
4. RESULTADOS Y DISCUSION	24
4.1. Ensayos de cristalización	24
4.2. Caracterización de los sólidos obtenidos	24
4.2.1. Determinación del punto de fusión	24
4.2.2. Observación en Microscopio con platina de calentamiento	25
4.2.3. Análisis cromatográfico	27
4.2.4. Análisis de Microscopía con Luz polarizada	27
4.2.5. Análisis FT-IR	29
4.2.6. Análisis de difracción de Rayos X de Polvo	35
4.2.7. Análisis de solubilidad	36
4.3. Análisis computacional de las sulfonamidas	44
4.3.1. Cálculo de energía	44
4.3.2. Cálculos de descriptores moleculares	46
5. CONCLUSIONES	47
6. BIBLIOGRAFÍA	48
7. ANEXO	51

ABREVIATURAS

Ácido cítrico	CIT
Ácido málico	MAL
Ácido oxálico	OXA
Ácido succínico	SUCC
Cromatografía en capa delgada	CCD
Difracción de rayos X de polvo	DRXP
Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier	FT-IR
Estado Sólido	ES
Experimental	Exp.
Ingrediente Farmacéutico Activo	IFA
Método de Difusión de vapor	MDV
Método de Enfriamiento de una Solución Saturada	MESS
Método de Molienda	MM
Mezcla Física	MF
Microscopía con luz polarizada	MLP
Microscopía con platina calentable	MPC
Microscopía óptica	MO
Orbital molecular más alto ocupado (Highest Occupied Molecular Orbital)	HOMO
Orbital molecular más bajo desocupado (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)	LUMO
Sulfadiazina	SDZ
Sulfatiazol	STZ
Sulfonamidas	SA

1. INTRODUCCION

1.1. Estado sólido de fármacos

En la actualidad, se emplean en terapéutica un gran número de fármacos en estado sólido (ES). La prevalencia creciente del desarrollo de fármacos escasamente solubles en agua genera un riesgo notable de obtener una biodisponibilidad errática, con consecuencias en su seguridad y eficacia, particularmente cuando son administrados por vía oral. Este aspecto limitante es frecuentemente abordado mediante la formación de aductos moleculares o supramoléculas, cuyas propiedades son generalmente diferentes (muchas veces más favorables) a la suma de las propiedades de las moléculas que los constituyen.

Esta estrategia se enmarca en la química supramolecular, que se define como la disciplina dedicada al estudio, diseño y síntesis de entidades, en estado sólido o líquido, constituidas por varias moléculas asociadas entre sí por autoensamblaje o reconocimiento molecular, mediante interacciones no covalentes. Lehn (1988) definió a la química supramolecular como "la química de la unión de moléculas mediante enlaces intermoleculares", "la química más allá de las moléculas" o "la química de los enlaces no covalentes".

La ingeniería de cristales, como una subdisciplina de la química supramolecular, tiene como uno de sus principales objetivos la síntesis de materiales sólidos con propiedades específicas y fue definida por Desiraju (1989) como la interpretación de las interacciones intermoleculares dentro del contexto del empaquetamiento cristalino y la utilización de este entendimiento en el diseño de nuevos sólidos con propiedades físicas y químicas deseadas.

Los conocimientos aportados por la química supramolecular y la ingeniería de los cristales contribuyen de una forma muy significativa a la modificación del estado sólido de fármacos mediante la formación de nuevos sólidos cristalinos con importantes mejoras en atributos críticos tales como estabilidad química, morfología, propiedades farmacotécnicas, solubilidad, velocidad de disolución y, consecuentemente, la biodisponibilidad de fármacos escasamente hidrosolubles (Tiekink, et al., 2018) El aspecto más destacado del desarrollo de fármacos en nuevas formas sólidas es que no se modifican las propiedades terapéuticas.

1.2. Los sólidos

En general, un material sólido, ya sea que esté constituido por moléculas (sólidos moleculares), iones (sólidos iónicos) o átomos (sólidos atómicos) puede ser descripto por su estructura externa, es decir por su apariencia o morfología (hábito cristalino) o por su estructura interna (arreglo molecular), según se describe en la Figura 1 (Kassuha, 2011).

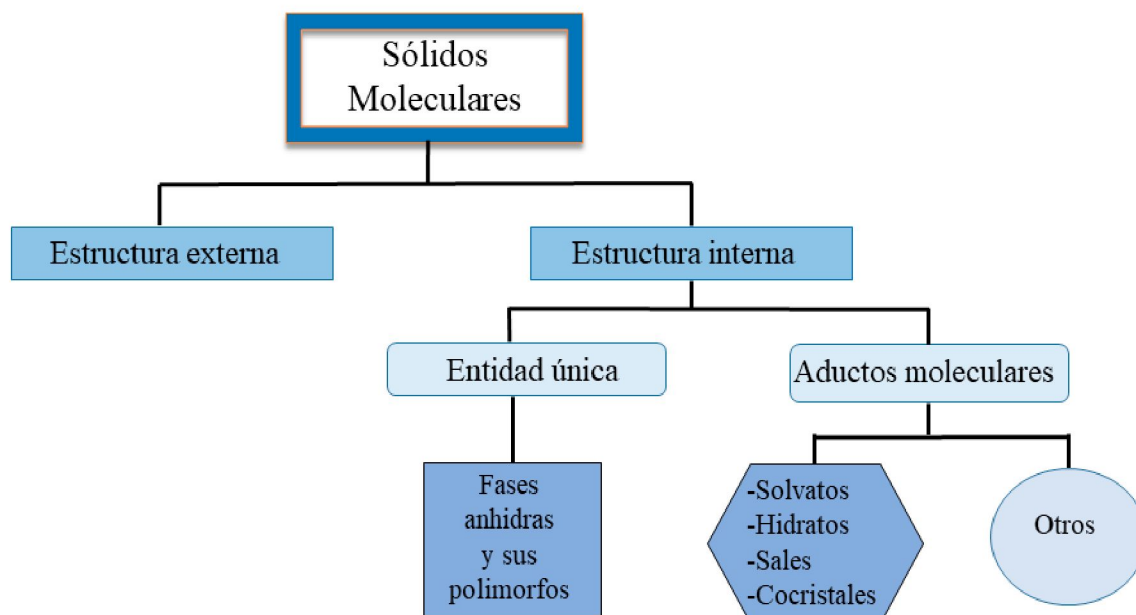


Figura 1: Clasificación de los sólidos.

1.2.1. Hábito cristalino

La existencia de diferentes hábitos cristalinos se atribuye a las interacciones soluto-solvente en las interfases cristal-solución. Cambios en la cinética de crecimiento (provocados por temperatura, agitación, presencia de impurezas, presencia de núcleos, etc.) estimulan o inhiben el desarrollo de ciertas caras del cristal y condicionan la forma que adquiere (Keraliya, et al., 2010).

Los cristales con formas irregulares son descriptos como anhedros o alotriomorfos (carecen de límites rectilíneos netos), mientras que aquellos con bordes y caras bien reconocibles, se denominan euhedros o idiomorfos.

Para describir la apariencia externa de algunos de los hábitos cristalinos frecuentemente hallados en cristales euhedros de sólidos farmacéuticos se utilizan algunos descriptores específicos, por ejemplo: tabular, laminar, acicular, prismático, hojas, cúbico, fibroso, etc. (Figura 2).

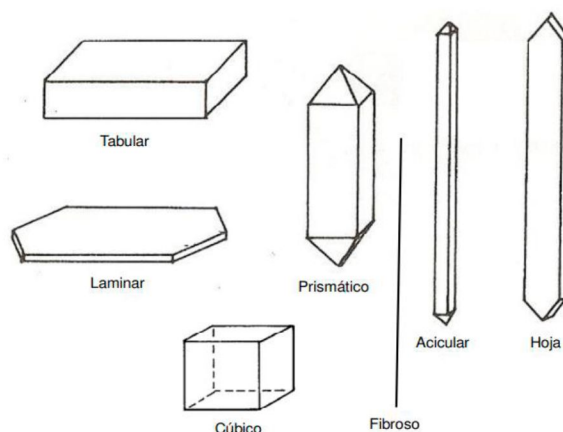


Figura 2: Tipos de hábitos cristalinos.

1.2.2. Estructura interna

De acuerdo con la estructura interna y el tipo de empaquetamiento molecular, los sólidos pueden clasificarse como amorfos o cristalinos según se muestra en la Figura 3.

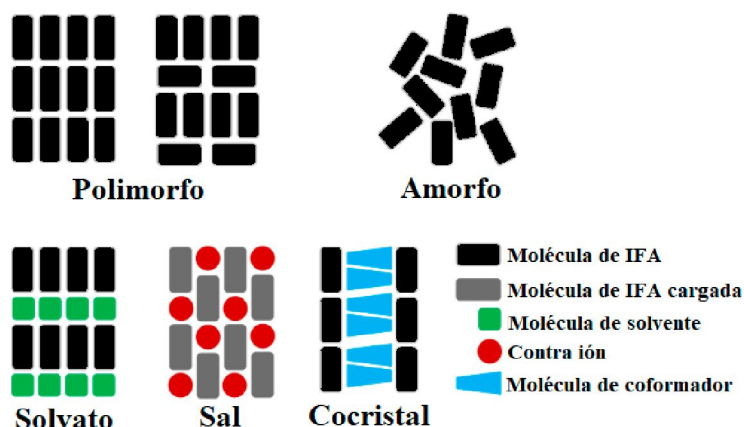


Figura 3: Representación esquemática de los diferentes sólidos.

1.2.2.1. Sólidos amorfos

Estos presentan empaquetamiento molecular semejante a un cristal, pero carecen del orden y la simetría. Presentan, muchas veces, mejores características de compresión que sus contrapartes cristalinas, aunque son menos estables física y químicamente.

1.2.2.2. Sólidos cristalinos

El término cristalino hace referencia a un cristal ideal en el cual la unidad estructural o celda unitaria se repite de forma regular e indefinida en las tres dimensiones del espacio (Brym et al., 1999). Cada celda unitaria posee una orientación, forma y volumen específico, que contiene los átomos y moléculas necesarios para generar el cristal.

Cuando el orden local, definido por la celda unitaria, es preservado a lo largo de la partícula, se denomina monocristal. Los sólidos moleculares cristalinos pueden estar constituidos por un único tipo de moléculas (sólidos de entidad única o monocomponentes) o por dos o más moléculas diferentes (aductos moleculares o sólidos multicomponentes). Estos a su vez pueden constituir polimorfos, en función de la posición relativa de las moléculas en la celda unitaria.

Entre los aductos moleculares, se pueden mencionar a:

- los solvatos, que contienen moléculas del compuesto y del solvente, en proporciones estequiométricas o no,
- las sales, que están formadas por moléculas ionizadas y sus contraiones,
- los cocrystal que están constituidos por moléculas de dos o más compuestos, asociadas molecularmente dentro de una misma red cristalina (Aitipamula et al., 2012).

1.2.2.3. Solvatos e hidratos

Son cristales que presentan moléculas de solvente en posiciones regulares de la estructura cristalina (Brym et al., 1999). La asociación de las moléculas de un solvente con las de un compuesto sólido puede ocurrir de diferentes maneras:

- empaquetamiento y cristalización junto con las moléculas del compuesto en una relación estequiométrica (solvato cristalino)
- absorción de solvente en regiones desordenadas o en defectos que pueden surgir por diferentes mecanismos de estrés (mortereado, granulación, etc.)
- adsorción en la superficie del sólido (a través de enlace puente hidrógeno, fuerzas van der Waals o dipolo-dipolo)
- inclusión física en un cristal en crecimiento (inclusiones líquidas).

1.2.2.4. Sales

Una sal es un sólido cristalino iónico o electrovalente formado a partir de ácidos y bases con grupos funcionales ionizables en las condiciones de obtención. La transformación de un ácido o base libre a su forma salina es un recurso ampliamente utilizado en el área farmacéutica. Esto queda evidenciado en el elevado número de medicamentos comercializados que poseen el fármaco en forma salina (Serajuddin, 2007; Stahl et al., 2002).

1.2.2.5. Cocristales

Un cocrystal es una forma cristalina que contiene más de un compuesto químico en su estructura. Se ha utilizado el término cocrystal para referirse a cristales multicomponentes que contienen especies neutras unidas por enlaces no covalentes, a diferencia de las sales. Una definición más restrictiva adoptada por varios grupos de investigación establece que un cocrystal es un cristal multicomponente en el que todos los componentes son sólidos en condiciones ambientales cuando están en su forma pura. Estos componentes coexisten en una proporción estequiométrica entre el fármaco y el coformador (agente de cocrystalización) (Prado et al., 2015).

La modificación del estado sólido ofrece la posibilidad de cambiar la composición de la materia y sus propiedades físicas y/o químicas sin alterar los enlaces covalentes ya existentes en las moléculas que los integran. Permite obtener sólidos con propiedades diferentes de solubilidad, velocidad de disolución, higroscopicidad, compactabilidad, fluidez, entre otras. Por otra parte, tanto los nuevos sólidos como las técnicas de obtención son pasibles de ser patentadas y su desarrollo ha presentado un gran auge en las dos últimas décadas (Schultheiss et al., 2009).

1.3. Sintones

Para el diseño de cocristales farmacéuticos deben considerarse los grupos funcionales del fármaco que permitan el reconocimiento molecular por parte del coformador. Para esto se utilizan diferentes sintones supramoleculares, que son moléculas que contienen grupos funcionales que se complementan con los grupos funcionales del fármaco, facilitando el reconocimiento molecular mediante la formación de enlaces, generalmente del tipo puente hidrógeno. Los agentes formadores de cocristales farmacéuticos más comunes son: ácidos, amidas, carbohidratos, alcoholes y aminoácidos. La Figura 4 muestra algunos de los principales sintones supramoleculares empleados en la formación de cocristales farmacéuticos (Saucedo-Balderas et al., 2014).

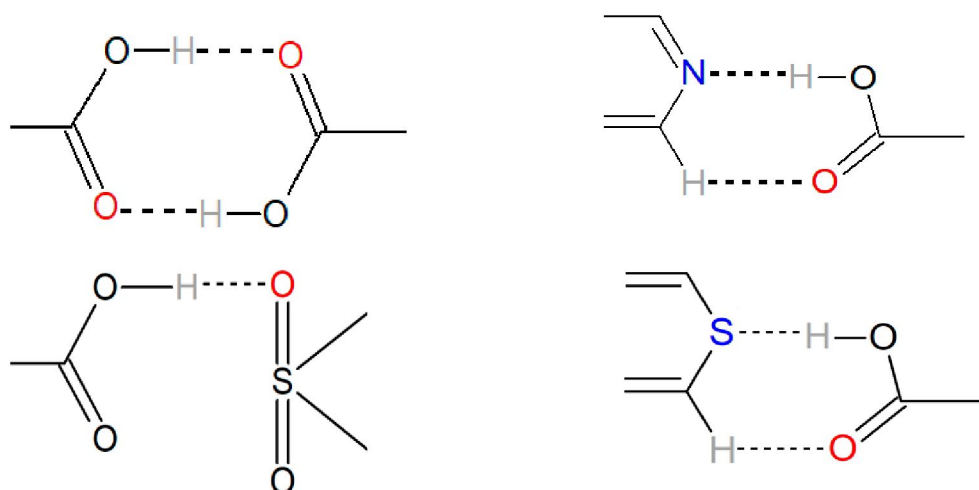


Figura 4: Posibles sintones formados entre el fármaco y los coformadores.

1.4. Técnicas de obtención

Existen diversas técnicas para la obtención de los sólidos en el laboratorio, ya sea desde una solución o en estado sólido. La selección criteriosa de las mejores técnicas para cada droga en estudio y el aumento de las probabilidades de obtener los mejores resultados, requiere del conocimiento de las propiedades fisicoquímicas.

1.4.1. Método difusión de vapor (MDV)

Es una técnica aplicable a sustancias que son muy solubles en un disolvente polar de baja presión de vapor e insolubles en un segundo solvente apolar que debe presentar alta presión de vapor (antisolvente). En un recipiente se disuelve la droga a utilizar en el solvente que es más soluble, ese se coloca dentro de una cuba donde se encuentra el antisolvente. Los vapores del antisolvente entran en contacto con el solvente que tiene diluida a la droga y difunden en el seno de la solución de manera que la solución se sature y posteriormente el sólido precipite.

De las técnicas aplicadas en este trabajo es la que conlleva más tiempo para producir un sólido, pero tiene la ventaja de poder utilizar pequeñas cantidades (mg) de muestra y de obtener cristales con mejores características.

1.4.2. Método de enfriamiento de una solución saturada (MESS)

Para este método se disuelve la droga o combinación de drogas en un solvente, el cuál fue calentado previamente hasta antes de su temperatura de ebullición. La disminución de la temperatura puede hacerse de forma gradual, manteniendo el sistema en un baño de agua termostatzado o dejando la solución a temperatura ambiente. Luego de que la solución alcanza la temperatura ambiente, se filtra para obtener los sólidos que se hayan formado.

El enfriamiento lento permite que las moléculas del fármaco se reconozcan, se autoensamblen y constituyan una estructura cristalina regular. Al reducir la temperatura gradualmente, la cinética del sistema favorece la formación de enlaces intermoleculares estables, lo que contribuye a la formación de cristales de mayor tamaño y pureza.

1.4.3. Método de molienda (MM)

Es un proceso mecánico que se realiza para reducir el tamaño de partícula de los componentes sólidos y lograr una mezcla homogénea. Este método es útil cuando los ingredientes sólidos tienen

diferentes tamaños de partícula. Al triturar los sólidos en el mortero, se aplican fuerzas de compresión que rompen las partículas grandes, las reducen a un tamaño más fino y favorecen la interacción entre las moléculas constituyentes. Mediante fricción se muelen en conjunto las drogas que se desean combinar. Este método puede ser realizado de forma manual empleando un mortero y un pilón o con un molino el cual está provisto de un motor que hace girar un tambor de acero, dentro de este tambor se colocan esferas metálicas que muelen las muestras. El proceso puede realizarse en seco o con el agregado de gotas de solvente. Dado que se requiere un escaso volumen de solvente, es considerado un procedimiento de bajo impacto ambiental.

En el caso de este trabajo el proceso de fricción fue realizado con un mortero y pilón sin el agregado de solvente, fue una “molienda en seco”. Mediante este método se obtienen sólidos que son amorfos al ser vistos en el microscopio óptico (MO).

1.5. Técnicas de caracterización

La caracterización del estado sólido de un compuesto, tanto de su estructura física, como química, requiere de una combinación de metodologías (Brym et al., 1999), entre las cuales se pueden citar las que se describen en la Figura 5:

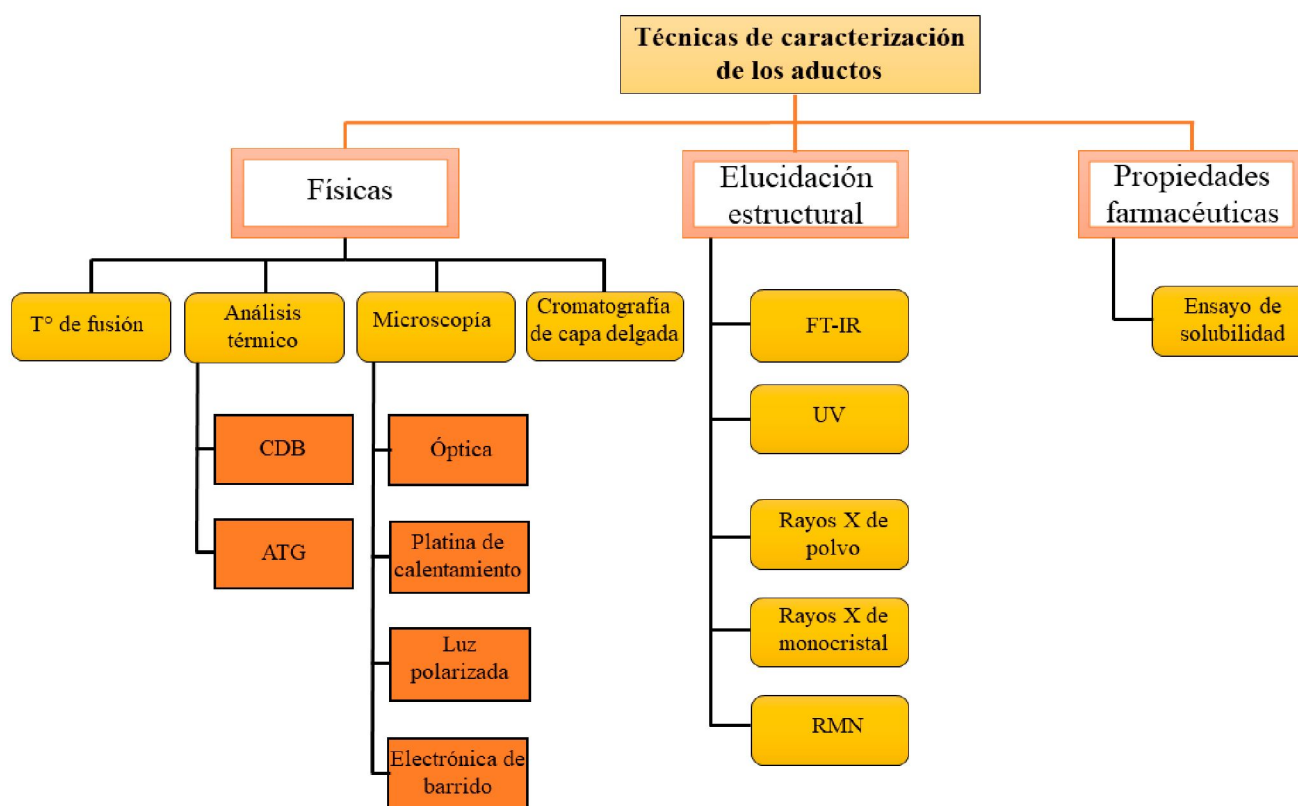


Figura 5: Clasificación de las técnicas de caracterización del estado sólido.

En el marco de este trabajo fue posible realizar las siguientes técnicas:

1.5.1. Técnicas físicas

1.5.1.1. Temperatura de fusión

Determinar el punto de fusión de los fármacos en estudio es útil como criterio de identificación y para confirmar su pureza. Además, puede proporcionar información con respecto a su estabilidad, si se descompone o se transforma a una temperatura cercana a su punto de fusión puede indicar una posible degradación o inestabilidad. Por otra parte, se ha observado que los puntos de fusión de un co cristal generalmente difieren de los puntos de fusión individuales del fármaco y del coformador, pudiendo quedar dentro del rango formado por las temperaturas de fusión de ambos, por encima o por debajo de dicho rango (Saucedo-Balderas, et al., 2014).

1.5.1.2. Microscopía

La caracterización morfológica de un sólido se puede realizar a partir de las técnicas microscópicas, las primeras tres técnicas que se mencionan en la Figura 5 fueron utilizadas en este trabajo y son detalladas a continuación

1.5.1.2.1. Microscopía óptica (MO)

La MO provee información significativa acerca de la morfología, el tamaño de las partículas y de su naturaleza cristalina o amorfa. Se basa en la incidencia de un haz de luz visible sobre una muestra (colocada en el portaobjeto del microscopio óptico) que puede reflejar o transmitir dicha luz para ser detectada, después de ampliificaciones, mediante sistemas ópticos, por el ojo humano o por cámaras fotográficas o de video.

1.5.1.2.2. Microscopía de platina calentable (MPC)

Es uno de los métodos más antiguos y simples para el estudio de transiciones de fase en cristales. La observación microscópica de una sustancia sometida a cambios de temperatura permite visualizar procesos de fusión, recristalización y transformaciones de fases, entre otros. Se considera complementaria de la calorimetría diferencial de barrido y de la termogravimetría, siendo particularmente útil para confirmar transiciones y eventos térmicos detectados con esas técnicas analíticas como por ejemplo determinar el punto de fusión, cristalización a partir de la fase fundida, detección de solvente (desolvatación).

Es importante destacar que, en la MPC, la precisión y exactitud de los valores de las temperaturas son dependientes de la platina de calentamiento y del sistema de medición.

1.5.1.2.3. Microscopía de luz polarizada (MLP)

Si al microscopio óptico se le adicionan filtros polarizadores, que dejan pasar luz que vibra en un único plano (luz polarizada), se obtiene un microscopio de luz polarizada. La MLP permite distinguir entre sustancias anisotrópicas e isotrópicas. Se denominan anisotrópicas a las sustancias cuyas propiedades dependen de la orientación del cristal, por ejemplo, la velocidad de transmisión de la luz. Muchas de las sustancias anisotrópicas de interés farmacéutico presentan doble refracción, la cual ocurre cuando un cristal provoca la separación de un rayo de luz en dos rayos desigualmente refractados y polarizados, dada la diferencia en la velocidad de la luz. Por este motivo, las partículas cristalinas cambian de color o se ven opacas, al rotar el filtro de luz polarizada. Las partículas amorfas y los cristales de simetría cúbica son isotrópicos (presentan independencia entre las propiedades y la dirección) y no se observan cambios al rotar la platina del microscopio (Brym et al., 1999).

1.5.2. Elucidación estructural

De las técnicas mencionadas en la Figura 5 fueron aplicadas en este trabajo, la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier y la difracción de rayos X de polvo para lo referente a la elucidación de la estructura molecular de los sólidos.

1.5.2.1. Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR).

La espectroscopía de IR o espectroscopía vibracional es una técnica muy utilizada para el estudio del estado sólido de compuestos orgánicos. Su principio básico es la medición de la cantidad de radiación IR absorbida o transmitida por una muestra, lo cual puede ser efectuado en el modo transmisión o reflectancia. La energía de esta radiación es baja, provocando sólo cambios vibracionales en los enlaces moleculares.

Las energías asociadas con los modos vibracionales de un compuesto químico están comprendidas en el rango de frecuencias de 400-4000 cm^{-1} . La posición de las bandas de absorción (cm^{-1} , en el eje x) como su intensidad (% de transmitancia, en el eje y) son características del movimiento molecular subyacente, y en consecuencia de los átomos participantes en el enlace, su conformación y el ambiente inmediato (Brym et al., 1999). Así, ciertos grupos funcionales producirán bandas en regiones espectrales características, las que constituyen la base empírica para la interpretación de los espectros FT-IR. En los sólidos formados por más de un componente, se pueden evidenciar interacciones moleculares al observar aparición, desaparición o desplazamientos en las señales características de los grupos funcionales.

1.5.2.2. Difracción de rayos X de polvo (DRXP)

La cristalografía de rayos X es una herramienta sumamente útil para la investigación de sólidos cristalinos, siendo la DRX el método experimental más habitual para comprender sus características estructurales, químicas y del material.

Los sólidos cristalinos se caracterizan por un orden interno, que puede ser representado por una serie de planos paralelos y equidistantes. En la información que proporciona la DRX, se distinguen dos aspectos diferenciados y complementarios. Por una parte, la celda unitaria que determina las reflexiones en el patrón de difracción y por otra, la naturaleza de los átomos y las posiciones que estos ocupan en la red cristalina que define las intensidades de las reflexiones. De esta forma, el análisis del patrón de difracción de un dado compuesto constituye el procedimiento para obtener información acerca de la estructura molecular y cristalina del cristal. Cada patrón de difracción es característico para una red cristalina de un compuesto determinado y cualquier variación en la estructura interna del cristal, se traduce en un patrón diferente. Diferencias significativas entre los patrones de difracción de los componentes individuales y de sólidos multicomponentes son indicios de interacción intermolecular.

Por otra parte, la DRXP es un método efectivo para distinguir fases sólidas con distinta estructura cristalina. Se trata de un método experimentalmente simple ya que se pueden utilizar muestras policristalinas. Los datos obtenidos se grafican en un difractograma o patrón, donde se representa la intensidad (en cuentas por segundo, cps) en función del ángulo 2θ ($^\circ$) (Brym et al., 1999). Cuando dos difractogramas colectados en las mismas condiciones (longitud de onda, tiempo por paso, intervalo de 2θ), presentan las posiciones de todas sus reflexiones coincidentes, esto indica que se trata de la misma fase. El procesamiento de los datos en la DRXP proporciona información de los planos cristalinos difractantes, pero la elucidación estructural resulta dificultosa debido a la presencia de cierto grado de desorden cristalino, las reflexiones presentan picos de ancho variable.

La proporción del componente amorfo de la sustancia provoca un halo que se observa en la línea de base del difractograma.

1.5.3. Propiedades farmacéuticas

1.5.3.1. Ensayo de solubilidad

La mayoría de los compuestos farmacéuticos son electrolitos y pueden existir en diferentes formas iónicas (ácidos o bases débiles o en combinaciones de dos tipos de ionización) dependientes del pH (Komrovsky, 2014).

Los ensayos de solubilidad son herramientas valiosas para evaluar y/o predecir la influencia de las propiedades del estado sólido en la biodisponibilidad. El ensayo de solubilidad es un método potente para evaluar las diferencias en la solubilidad entre las diversas formas sólidas de un producto farmacéutico. Es un método que proporciona información valiosa sobre el comportamiento físico-químico de un producto farmacéutico puro en un medio de disolución (Prado et al., 2015).

Frecuentemente el análisis estructural suele complementarse con estudios de química computacional a fin de recabar información que permita interpretar las interacciones intermoleculares y el comportamiento de los sólidos obtenidos.

1.6. Química Computacional (QC)

Se denomina QC al conjunto de métodos computacionales que permiten construir, visualizar y analizar sistemas moleculares (Bultinck et al., 2004). 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 de los recursos computacionales que se necesitarán para el análisis.

1.6.1. Cálculo de energía

La condición primordial para realizar cualquier estudio de QC es la definición de la estructura molecular. Las moléculas quedan inequívocamente 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, lo que significa encontrar el mínimo de dicha función. Como la energía potencial depende del ordenamiento espacial, su valor mínimo corresponde a la estructura molecular más estable.

1.6.2. Descriptores moleculares.

La modelación molecular es una herramienta importante que permite realizar cálculos de descriptores moleculares. 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 lipofilicidad, 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, 2000). Los descriptores globales nos brindan información relacionada al comportamiento reactivo de las moléculas que son objeto de estudio del presente trabajo.

1.7. Selección de los fármacos

En el ámbito farmacéutico, las sulfonamidas (SA) son compuestos químicos ampliamente utilizados debido a sus propiedades terapéuticas. Dentro de este grupo, el sulfatiazol (STZ) y la sulfadiazina (SDZ) destacan como dos fármacos de interés (Figura 6). Estos compuestos muestran características organolépticas distintivas y propiedades físicas que los hacen relevantes en la investigación y desarrollo de medicamentos.

El STZ se presenta como un polvo cristalino de color blanco a ligeramente amarillo. Es levemente soluble en agua y soluble en soluciones alcalinas. Posee dos grupos ionizables que permiten la formación de un zwitterión, el grupo sulfonamido (pKa 7,1) y la amina aromática (pKa 2,0). Presenta alta estabilidad química y una baja volatilidad.

Por otro lado, la SDZ se presenta como un sólido cristalino de color blanco. Es de baja solubilidad en agua, lo que influye en su formulación y administración. Sin embargo, esto se compensa con una buena capacidad de disolución en disolventes orgánicos, lo que permite su uso en diferentes sistemas de liberación de medicamentos. Presenta también dos grupos ionizables, el grupo sulfonamido (pKa 6,3) y la amina aromática (pKa 2,1).

Tanto el STZ, como la SDZ son SA antibacterianas utilizadas en medicina humana y veterinaria, aunque en algunos casos sean fármacos de segunda elección. Ambas son de bajo costo y su acción es eficiente frente a infecciones bacterianas comunes (respiratorias, urinarias y dérmicas) y también frente a las infecciones oportunistas en pacientes con SIDA (Ahmad Shah et al., 2013).

Dichas SA han demostrado capacidad de interacción molecular en el estado sólido, tanto con sus análogos estructurales como con otro tipo de sustancias. (Caira, 2007) Y, considerando que la evaluación de las formas sólidas de un fármaco se ha convertido en una etapa esencial de su desarrollo (Aaltoen, et al, 2008), en el presente trabajo se plantea estudiar la capacidad de formación de aductos moleculares entre SDZ y STZ con ácido cítrico (CIT), ácido málico (MAL), ácido succínico (SUC) y ácido oxálico (OXA) (Figura 7).

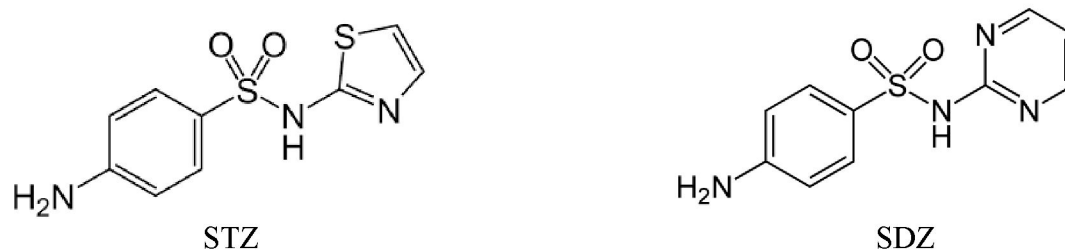


Figura 6: Fármacos seleccionados para el presente trabajo.

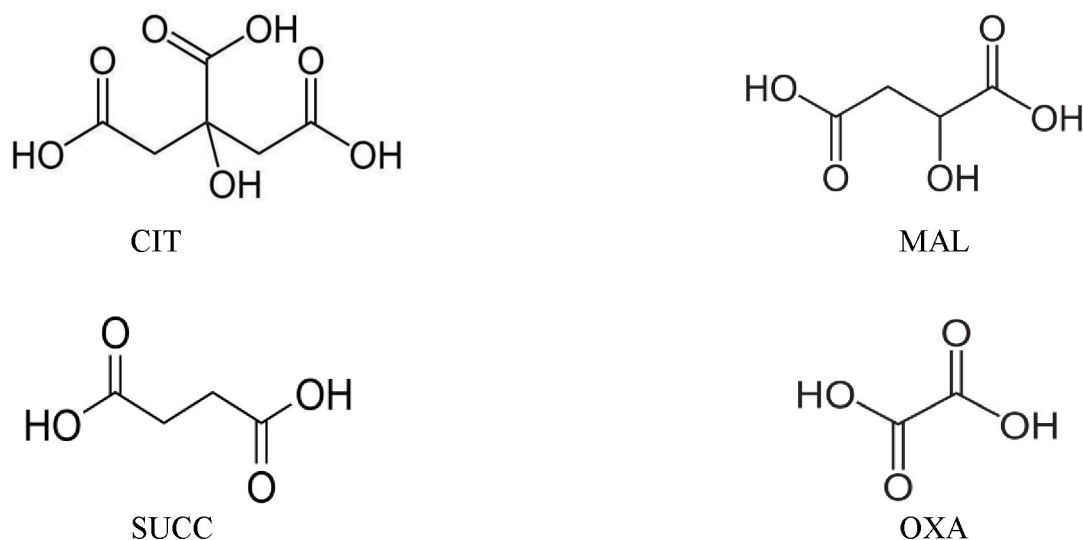


Figura 7: Ácidos orgánicos seleccionados como coformadores.

Desde 1972 existen informes en la literatura sobre la tendencia de las SA de formar cristales polimórficos. Además, en las tres últimas décadas diversos grupos de investigación han evaluado la formación de cocrystalos y sales, constituidos por SA y distintas moléculas.

Las SA presentan múltiples grupos funcionales con propiedades aceptoras y donoras de puente hidrógeno, que permiten la formación de complejos supramoleculares estables en solución y posibilitan la generación de cocrystalos en diferentes formas (Caira, 2007; Pinto Vitorino et al., 2013).

Es así que estos “antiguos” fármacos, formando asociaciones moleculares en el estado sólido, son potenciales candidatos para desarrollos farmacéuticos nuevos. Además, proporcionan herramientas para la interpretación de las relaciones entre la estructura cristalina y su comportamiento fisicoquímico.

2. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la capacidad de interacción molecular entre sulfadiazina (SDZ) y sulfatiazol (STZ) con ácidos orgánicos tales como ácido cítrico (CIT), ácido málico (MAL), ácido succínico (SUC) y ácido oxálico (OXA).

2.1. OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener aductos constituidos por sulfadiazina (SDZ) y sulfatiazol (STZ) con ácido cítrico (CIT), ácido málico (MAL), ácido succínico (SUC) y ácido oxálico (OXA) explorando diversas técnicas.
- Caracterizar los principales sólidos obtenidos.
- Evaluar el efecto de la formación de los aductos obtenidos, sobre solubilidad acuosa.
- Modelar las moléculas de SDZ y STZ y realizar los diagramas de energía correspondientes.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Preparación de los sólidos

Para la obtención de los aductos moleculares se utilizaron las técnicas que se detallan a continuación:

3.1.1. Método de difusión de vapor

Se busca la formación de un sólido por la interacción entre la SA y el ácido orgánico en una solución alcalina que contiene a ambos compuestos, dicha solución posteriormente será neutralizada lentamente mediante difusión para permitir la precipitación del sólido.

Se realizan los cálculos para obtener proporciones estequiométricas 1:1 de todas las combinaciones fármaco-coformador, teniendo en cuenta no superar una masa total de 0,5000 g en cada vial.

Se procede a pesar cada sustancia, previamente conservada en desecador, en viales de vidrio previamente rotulados. A cada vial se le agrega 5 ml de una solución de NaOH 1 M, hasta observar la disolución de las drogas. Cada sistema armado tiene un testigo al cual se le agregan dos gotas del indicador anaranjado de metilo, que se mantendrá de color naranja a pH alcalino y virará al rojo cuando el medio este neutralizado.

Los sistemas para STZ fueron identificados como A, B, C, D y STZ (Tabla 1), mientras que para la SDZ fueron identificados como S, O, M, C y SDZ (Tabla 2).

Tabla 1: Combinaciones de STZ para el método de difusión de vapor.

Sistema	Contenido	Proporción
Sistema A	STZ + OXA	1 : 1
	STZ + OXA + Indicador	1 : 1
	OXA	-
Sistema B	STZ + MAL	1 : 1
	STZ + MAL + Indicador	1 : 1
	MAL	-
Sistema C	STZ + CIT	1 : 1
	STZ + CIT + Indicador	1 : 1
	CIT	-
Sistema D	STZ + SUC	1 : 1
	STZ + SUC + Indicador	1 : 1
	SUC	-
Sistema STZ	STZ	-

Tabla 2: Combinaciones de SDZ para el método de difusión de vapor.

Sistema	Contenido	Proporción
Sistema S	SDZ + SUC	1 : 1
	SDZ + SUC + Indicador	1 : 1
	SUC	-
Sistema O	SDZ + OXA	1 : 1
	SDZ + OXA + Indicador	1 : 1
	OXA	-
Sistema M	SDZ + MAL	1 : 1
	SDZ + MAL + Indicador	1 : 1
	MAL	-
Sistema C	SDZ + CIT	1 : 1
	SDZ + CIT + Indicador	1 : 1
	CIT	-
Sistema SDZ	SDZ	-

Los viales son colocados en cubas a las que se les agrega 20 ml de ácido acético 1M, estas son cubiertas con parafilm y luego con su respectiva tapa. Se resguardan de la luz solar mientras transcurre el proceso de neutralización, que ocurre por difusión de los vapores de ácido acético en el seno de la solución alcalina del fármaco y coformador.

Son observados periódicamente para registrar los cambios de color en el indicador o cristalizaciones de los diferentes sólidos.

3.1.2. Método de enfriamiento de una solución saturada

Este método permite la disolución de las sustancias utilizando dos solventes distintos. Se emplea una mezcla etanol-agua. Uno de los compuestos se disuelve en agua aplicando calor para luego combinarlo con el segundo compuesto más el agregado de etanol a la mezcla. Posteriormente, una alícuota de la solución se deja reposar en presencia de calor y otra alícuota se deja enfriar a temperatura ambiente.

Se realizan los cálculos para pesar, en una relación estequiométrica, 1,5 mmol de STZ y 1,5 mmol de cada uno de los cuatro ácidos orgánicos, todos por separado. Los ácidos son disueltos en 10 ml de agua destilada en un vaso de precipitados de 50 ml, éste es llevado a un baño maría en plancha calefactora, con el termómetro se controla la temperatura hasta que llega a los 70°C. Una vez alcanzada esta temperatura se le agrega el STZ y 10 ml de etanol. Se agita con varilla de vidrio hasta que se disuelve completamente.

Posteriormente se procede a fraccionar la solución hidroalcohólica obtenida para obtener diferentes maneras de cristalización. La primera es por “*Enfriamiento lento*” (MESS-EL) donde se colocan 5 ml de la solución en un tubo con tapa a rosca. Todos los tubos son colocados en un recipiente hermético que mantiene la temperatura del agua, a este recipiente se le agregó agua a una temperatura de entre 80°-90°C, se cierra el recipiente y se dejan los viales hasta que el agua alcanza la temperatura ambiente.

La segunda técnica es por “*Enfriamiento rápido*” (MESS-TA) y consiste en colocar el resto de solución hidroalcohólica en viales grandes previamente rotulados, se cubren las bocas de los mismos con parafilm y se dejan resguardados de la luz a temperatura ambiente lejos de las perturbaciones. Luego de dos días, se observan los cristales obtenidos en las diferentes combinaciones en los distintos métodos.

Los cristales obtenidos de cada método son extraídos y colocados en viales de color caramelo y llevados al desecador para someterlos a las técnicas de caracterización una vez libres de humedad.

3.1.3. Método de molienda (MM)

Se busca combinar las sustancias por fuerza mecánica, mediante el uso del mortero y el pilón. Se pesan las cantidades estequiométricas necesarias para la combinación de la SA con los ácidos orgánicos. Las sustancias son colocadas dentro del mortero de cerámica, se muelen, durante un periodo de tiempo de 30 minutos. En el transcurso de la molienda, si se observa que el polvo obtenido se va pegando a las paredes del mortero, este es retirado y acomodado en el centro del mortero con la ayuda de una espátula metálica para continuar la molienda. Una vez concluido el tiempo, todo el polvo obtenido es trasvasado a frascos de color caramelo los cuales son tapados con parafilm con perforaciones y son llevados al desecador para remover la humedad. Posteriormente se realizan los ensayos de caracterización.

3.2. Caracterización de los sólidos obtenidos

3.2.1. Determinación del punto de fusión

Para la determinación de los puntos de fusión se utiliza el equipo MPA 100 OptiMelt Automated Melting Point System, a este se le colocan tubos capilares previamente cargados con aproximadamente 1 cm de alto de cada compuesto seco (Figura 8). Se selecciona un rango de temperatura cercano a cada punto de fusión de las drogas involucradas en los sólidos a estudiar y se comienza con el programa de temperatura seleccionado. Todos los programas armados comenzaron 10°C por debajo del punto de fusión de la droga que funde a menor temperatura y finalizaron a 10°C por encima del punto de fusión de la droga que tiene mayor temperatura de fusión. La velocidad de calentamiento fue de 1°C/min. El equipo registra la temperatura o el rango de fusión del sólido.



Figura 8: Equipo MPA 100 OptiMelt Automated Melting Point System.

3.2.2. Observación en Microscopio con platina de calentamiento

Para este análisis se utilizó un equipo de platina de calentamiento construido para las actividades del proyecto de investigación el cual consta de una placa de aluminio que es calentada por una resistencia para proveer temperatura a los cristales. Además cuenta con un visor digital que muestra la temperatura en tiempo real de la resistencia (Figuras 9 y 10). El análisis se realiza colocando una pequeña porción de los cristales en un portaobjetos, que se cubren con unas gotas de silicona líquida de alta temperatura para detectar, en el caso de que el sólido contuviera solvente adsorbido u ocluido, el desprendimiento de burbujas de solvente en temperaturas cercanas a la de su ebullición.

El portaobjetos se ubica en el centro de la placa metálica, se enciende el sistema eléctrico y se observan a través de la lupa los cambios que ocurren a medida que la temperatura aumenta. En el visor digital vemos la temperatura que alcanza la resistencia eléctrica y podemos asociarla a los cambios vistos a través de la lupa, ya sea desprendimiento de burbujas, fusión, cambio de fase, descomposición, cristalización posterior a la fusión, etc.



Figura 9: Lupa binocular con dispositivo de platina de calentamiento.

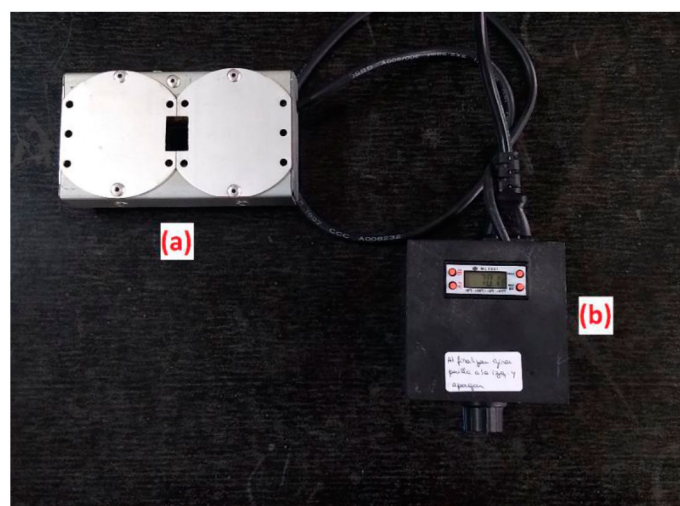


Figura 10: Dispositivo de platina de calentamiento. (a) Platina con resistencia donde se coloca el portaobjetos (b) Control y visor de temperatura.

3.2.3. Análisis cromatográfico

Se utiliza una placa de sílica gel activada en estufa a 110°C durante 10 minutos, sobre la que se siembran los compuestos y sus combinaciones a 1 cm de la base. La fase móvil seleccionada es n-butanol, cloroformo y éter etílico (1:1:1); se coloca dentro de la cuba y se espera a que la misma se sature. Cuando la cuba está saturada se coloca la placa de sílica gel sembrada y se deja eluir la fase móvil hasta que el frente de solvente se encuentre a 1 cm del borde superior del cromatofolio. Se retira la placa, se deja secar, una vez seca se revela con una lámpara UV de 254 nm y se calculan los Rf de cada droga o combinación (Klein et al., 1971).

3.2.4. Observación con microscopio de luz polarizada

Para este análisis se utiliza un microscopio óptico al cuál se le colocan dos filtros polarizadores que interceptan y orientan la dirección de propagación del haz de luz (Figuras 11 y 12). Con la ayuda de una espátula se toma una porción de los cristales obtenidos y se deposita sobre un portaobjetos, dichos cristales son observados en el microscopio. Rotando lentamente el filtro que se encuentra sobre la fuente de luz del microscopio se observa si la muestra es cristalina (traslúcida y cambia gradualmente de color) o amorfa (opaca y sin cambios al rotar el filtro de luz).



Figura 11: Microscopio óptico Olympus CX31 con filtros para polarizar la luz colocados.



Figura 12: Filtros para polarizar la luz del microscopio óptico.

3.2.5. Análisis de FT-IR

Las muestras de las drogas individuales y de los sólidos obtenidos combinando SA y ácidos orgánicos con las diferentes técnicas descriptas, fueron enviadas al Instituto de Investigación en Tecnología Química (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - Universidad Nacional de San Luis), para ser analizadas por Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) usando un espectrómetro Nicolet Protégé 460, en el rango de 4000 a 250 cm^{-1} y con gradiente de temperatura.

Cada muestra fue sometida a seis o siete cambios de temperatura (dependiendo de la muestra), comenzando a 25° C, aumentando la temperatura entre 30 y 40 °C y llegando a temperaturas superiores al punto de fusión de cada compuesto (200-250 °C).

3.2.6. Análisis de difracción de Rayos X de polvo

En virtud de los resultados obtenidos por espectrometría FT-IR se selecciona a la muestra STZ-OXA para caracterizarla mediante DRXP en un difractómetro Rigaku Ultima IV tipo II utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, en el Instituto de Investigación en Tecnología Química (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - Universidad Nacional de San Luis). También se realiza el análisis a los componentes individuales y a la mezcla física (MF) de STZ y OXA, para descartar que los cambios detectados no se deban a la combinación física de los compuestos de partida y atribuirlos a la interacción intermolecular.

3.2.7. Análisis de solubilidad

3.2.7.1. Preparación de las curvas de calibrado

Se preparan soluciones de STZ, SDZ, OXA, CIT, MAL y SUCC en buffer de pH 7,4 en distintas concentraciones (Figura 13). Se registran los espectros UV-Vis correspondientes en un espectrofotómetro UV-vis Agilent 8453E (Figura 14). Se determina la longitud de onda donde la absorbancia es máxima para cada compuesto. Luego se busca el rango de concentraciones en el cual se cumple la Ley de Lambert-Beer para cada uno de los compuestos y se confeccionan las curvas de calibrado correspondientes.



Figura 13: Serie de matraces de 10,00 ml con las diluciones de STZ para ser medidas en el espectro UV-Vis.



Figura 14: Espectrofotómetro UV-Vis Agilent.

3.2.7.2. Preparación de las soluciones a saturación

En tubos con tapa a rosca se colocan 10 ml de buffer de pH 7,4 y se agrega, hasta sobresaturación, cada sustancia individual y sus respectivas combinaciones por duplicado. Estos tubos son colocados en un baño María a 37 °C (Figura 15). A las 24 h se toma una alícuota de dicha solución y se diluye convenientemente hasta que la absorbancia se ajuste a las curvas de calibrado confeccionadas con anterioridad. Este paso se repite a las 48 h y luego a las 72 h.

Con los datos de absorbancia y considerando las respectivas diluciones realizadas, se confeccionan las curvas de solubilidad para las sustancias individuales y sus combinaciones.



Figura 15: Soluciones a 37 °C en baño termostático para ensayo de solubilidad.

3.3. Análisis computacional de las sulfonamidas

3.3.1. Cálculo de energía

Las moléculas de STZ y SDZ son modeladas en el programa GaussView versión 5.0.8, utilizando una computadora Toshiba modelo Qosmio X775 que cuenta con Windows 10 Pro, un procesador Intel® Core™ i7-2670QM CPU 2.20GHz, una memoria RAM de 8.00 GB, y una placa de video GeForce GTX 560M con una memoria dedicada de 1536 MB GDDR5.

Luego de armadas las estructuras, y utilizando el programa “Gaussian 09 Revision-A.02-SMP”, se le aplica un cálculo de optimización para llegar a un mínimo de energía de activación. El mínimo obtenido se somete a un cálculo de frecuencia para determinar cuál es el ángulo diedro que posee más movilidad dentro de cada molécula.

Posteriormente se selecciona el ángulo del diedro de 0°C y se realiza un cálculo de energía en base 6-31G obteniendo un archivo de salida con el valor de energía de esa configuración. Este paso se repite desde 0° a 180° y desde 0° a -180° con un salto de 5° entre cada cálculo. Posteriormente se grafica el valor de energía obtenido versus el ángulo de torsión del ángulo diedro analizado.

3.3.2. Descriptores moleculares

A partir de las configuraciones con la menor energía de activación, tanto para la SDZ como para el STZ, se obtienen los respectivos valores del HOMO y LUMO. Con estos valores se calculan los descriptores moleculares globales que se detallan en la Tabla 3, los cuales nos brindan información relacionada al comportamiento reactivo de las moléculas que son objeto de estudio en el presente trabajo (Choque Aspiazu et al., 2020).

Tabla 3: Descriptores moleculares calculados a partir de los valores de energía del orbital ocupado de mayor energía (HOMO) y del orbital desocupado de menor valor de energía (LUMO).

Nombre	Descripción	Fórmula
Energía de Ionización (EI)	Mide la capacidad de una molécula para generar un ion positivo.	$EI = -E_{homo}$
Afinidad Electrónica (AE)	Es una medida de la capacidad de una molécula para generar un ion negativo.	$AE = -E_{lumo}$
Potencial Químico (μ)	Es una medida de la resistencia a la pérdida de densidad electrónica.	$\mu = \frac{-(EI+AE)}{2}$
Gap (ΔE)	Se define como la separación de energías entre el orbital HOMO y LUMO.	$\Delta E = EI - AE$
Dureza (η)	Es considerada como la resistencia de una molécula para intercambiar densidad electrónica con el entorno.	$\eta = \frac{(AE-EI)}{2}$
Suavidad o blandura (σ)	Es la inversa de la dureza química, describe la capacidad de un átomo o grupo de átomos a recibir electrones.	$\sigma = 1/\eta$
Índice de electricidad (ω)	Brinda una medida de la estabilización de energía de una molécula cuando adquiere una cantidad adicional de densidad electrónica del entorno.	$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta}$

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Ensayos de cristalización

Los resultados obtenidos al aplicar los diferentes métodos de cristalización fueron los siguientes:

- Método de difusión de vapor: no se obtuvieron sólidos en el tiempo transcurrido de este trabajo final.
- Método de enfriamiento de una solución saturada: fue practicada en las combinaciones de STZ con los ácidos orgánicos OXA, MAL, CIT y SUC.
- Método de molienda: se obtuvieron sólidos de las ocho combinaciones planteadas.

Luego de separar y secar todos los sólidos obtenidos, se sometieron a las técnicas de caracterización, los resultados obtenidos se describen en la siguiente sección.

4.2. Caracterización de los sólidos obtenidos

4.2.1. Determinación del punto de fusión

Los puntos de fusión obtenidos para cada droga individual se muestran en la tabla 4.

Tabla 4: Comparación entre puntos de fusión bibliográficos y experimentales de las drogas individuales.

Sustancia	Pto. fusión según bibliografía ¹	Pto. fusión obtenido
STZ	202 – 202,5 °C	Rango 198,0-200,6 °C
SDZ	255 - 255,5 °C	Rango 250,9-251,8 °C
OXA	189,5 °C	180,0 °C
MAL	131 - 132 °C	131,0 °C
CIT	153 °C	152,3 °C
SUCC	185-187 °C	185,0 °C

¹ (O' Neil et al., 2006)

La determinación del punto de fusión de las drogas individuales se utiliza como parámetro de pureza de los reactivos de partida. Tal como se observa, los valores obtenidos con el fusiómetro se aproximan a los reportados en la bibliografía. SDZ, STZ y OXA dieron valores levemente inferiores a los reportado, presumiblemente debido a la presencia de agua en las muestras.

Analizando los valores de los rangos de fusión obtenidos (Tabla 5), observamos que para el MM todas las combinaciones, excepto STZ-OXA, comienzan a fundir a temperaturas inferiores al punto de fusión de la droga con menor punto de fusión, los ácidos en este caso, y no alcanzan la temperatura de la sustancia de mayor punto de fusión, las SA. Estos datos evidencian que, en siete de las ocho combinaciones, las SA están actuando como impurezas de los ácidos con los que fueron

combinados, sin generar un nuevo componente por interacción intermolecular. Por otra parte, en el sólido STZ-OXA se observa el comienzo de la fusión a temperatura cercana a la fusión de OXA y la finalización del rango a temperatura cercana a la fusión del STZ, indicando la posible formación de un nuevo componente.

Tabla 5: Rangos de fusión de los sólidos obtenidos con los diferentes métodos.

Combinación	MM	MESS-TA	MESS-EL
STZ -OXA	191,0 °C - 206,9 °C	196,3 °C - 201,3 °C	172,4 °C - 203,2 °C
STZ-MAL	110,0 °C - 129,0 °C	197,2 °C - 201,0 °C	156,3 °C - 197,5 °C
STZ-CIT	119,2 °C - 135,1 °C	194,8 °C - 200,1 °C	160,7 °C - 192,1 °C
STZ-SUCC	159,6 °C - 162,1 °C	192,2 °C - 199,9 °C	-
SDZ-OXA	166,0 °C - 188,8 °C	-	-
SDZ-MAL	122,4 °C - 145,9 °C	-	-
SDZ-CIT	139,0 °C - 145,9 °C	-	-
SDZ-SUCC	175,9 °C - 179,2 °C	-	-

Haciendo una comparación de métodos, el MESS-EL posee los rangos de fusión más amplios, evidenciando que la técnica genera sólidos con alta probabilidad de contener solvente ocluido. El método MESS-TA es la técnica que posee los rangos más acotados.

4.2.2. Observación en Microscopio con platina de calentamiento

Los rangos de fusión obtenidos en el microscopio con platina de calentamiento se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6: Rangos de fusión para los sólidos obtenidos por los diferentes métodos.

Combinación	MM	MESS-TA	MESS-EL
STZ-OXA	204,0 °C - 217,0 °C	164,0 °C - 225,0 °C	217,0 °C - 220,0 °C
STZ-MAL	125,0 °C - 135,0 °C	240,0 °C - 245,0 °C	185,0 °C - 218,0 °C
STZ-CIT	120,0 °C - 157,0 °C	231,0 °C - 238,0 °C	206,0 °C - 208,0 °C
STZ-SUCC	175,0 °C - 177,0 °C	223,0 °C - 240,0 °C	-
SDZ-OXA	158,0 °C - 225,0 °C	-	-
SDZ-MAL	201,0 °C - 215,0 °C	-	-
SDZ-CIT	200,0 °C - 209,0 °C	-	-
SDZ-SUCC	209,0 °C - 221,0 °C	-	-

Al obtener los puntos de fusión de las muestras con el MPC podemos observar que en los métodos MM y MESS-TA la mayoría de los rangos se ampliaron con respecto a los obtenidos en el fusiómetro, dando indicio del error que posee este método en comparación con el anterior. En el MESS-EL los rangos se acotaron considerablemente, y se obtuvieron valores muy cercanos a los de la droga con el mayor punto de fusión (en este caso el STZ), lo que indicaría que el sólido obtenido por medio de este método es STZ impuro y no una combinación estequiométrica del mismo con alguno de los ácidos.

Las observaciones en microscopio con platina de calentamiento fueron complementadas con el registro filmico de las muestras, de esta manera se pudo observar el cambio experimentado por los sólidos a medida que el aumento de temperatura tenía lugar. De todas las filmaciones realizadas se seleccionaron dos, y se realizaron imágenes, una perteneciente a la combinación STZ-OXA (Figura 16) y otra a la combinación SDZ-OXA (Figura 17).

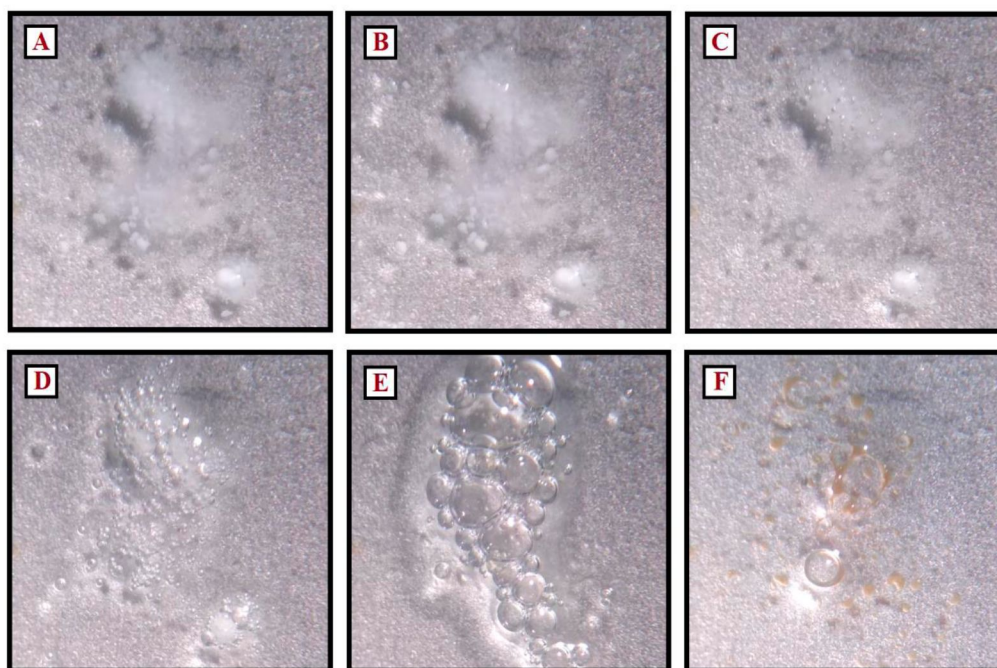


Figura 16: Combinación de STZ-OXA observada a 22X en lupa binocular a las siguientes temperaturas. A: 21°C, B: 105°C, C: 160°C, D: 208°C, E: 213°C, F: 225°C.

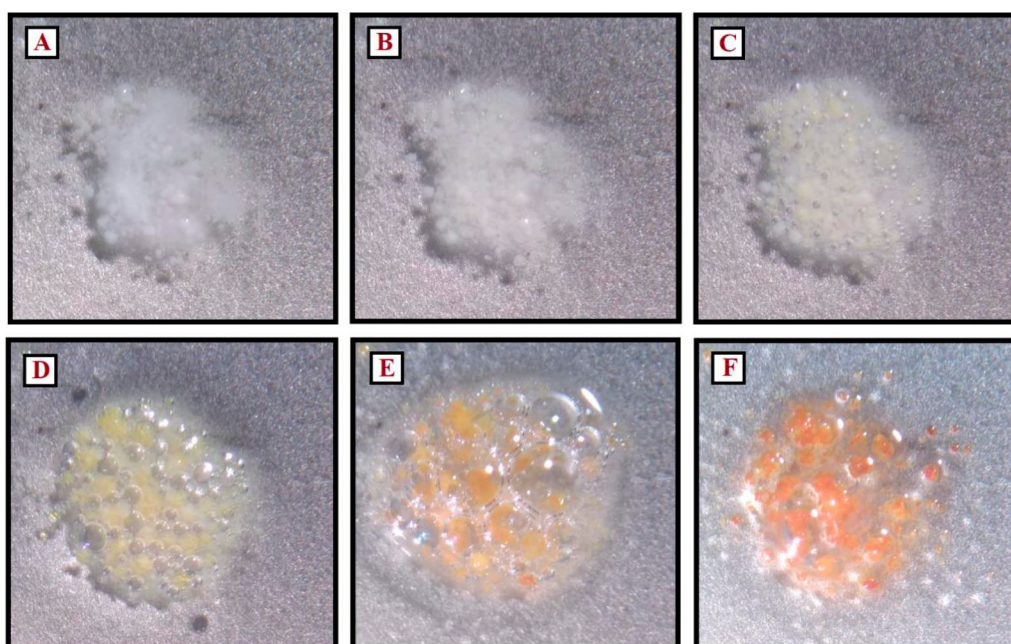


Figura 17: Combinación de SDZ-OXA observada a 22X en lupa binocular a las siguientes temperaturas. A: 21°C, B: 100°C, C: 158°C, D: 201°C, E: 212°C, F: 220°C.

El análisis de MPC nos permitió observar en la combinación SDZ-OXA un cambio de color en el sólido, el cual comenzó a temperaturas cercanas a los a 158 °C con un amarillo leve hasta llegar a un anaranjado fuerte a una temperatura de 220°C. En la combinación STZ-OXA, este cambio de color no se observó. Esta observación particular nos hizo pensar en la necesidad de realizar los espectros FT-IR con aumento de temperatura, desde los 25°C hasta el punto de fusión registrado de cada droga.

4.2.3. Análisis cromatográfico

Los valores calculados de Rf para las muestras obtenidas por el método de molienda se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7: Valores de Rf obtenidos del método de molienda.

Corridas cromatográficas para SDZ			
	Muestras	Distancia (cm)	Rf
	Frente del solvente	9,9	-
1	SDZ	7,4	0,75
2	SDZ + CIT	7,4	0,75
3	SDZ + MAL	7,4	0,75
4	SDZ + OXA	7,5	0,76
5	SDZ + SUCC	7,6	0,77
Corridas cromatográficas para STZ			
	Muestras	Distancia (cm)	Rf
	Frente del solvente	9,6	-
1	STZ	6,9	0,72
2	STZ + CIT	6,9	0,72
3	STZ + MAL	6,9	0,72
4	STZ + OXA	6,9	0,72
5	STZ + SUCC	7,1	0,74

El sistema cromatográfico empleado es apto para identificar SA. Los ácidos orgánicos, debido a su alta polaridad, quedan retenidos en el punto de siembra. En todos los casos se observa una única mancha indicando que la SA no se degrada durante el proceso aplicado para la obtención de sólidos multicomponentes.

4.2.4. Análisis de Microscopía con Luz polarizada

Las observaciones bajo luz polarizada de los sólidos obtenidos por las diferentes técnicas se encuentran detalladas en la Tabla 8.

Tabla 8: Observaciones de las muestras por microscopía bajo luz polarizada.

Combinación	MM	MESS-TA	MESS-EL
STZ-OXA	Porciones amorfas de cristales observados a 400X en el MO desvían la luz polarizada de manera uniforme.	Cristales laminares desvían la luz polarizada. Observación realizada a 40X en MO.	Cristales de forma acicular desvía la luz polarizada de manera uniforme.
STZ-MAL	Porciones pequeñas amorfas de cristales observados a más de 400X en el MO desvían la luz polarizada de manera uniforme.	Cristales laminares desvían la luz polarizada. El cambio de color es uniforme en todo el cristal. Observación realizada a 100X en microscopio óptico.	Cristales amorfos desvían la luz polarizada en degradé, no cambian de color uniformemente, dentro de cristales hay zonas de desvío y no en todo el cristal.
STZ-CIT	Porciones pequeñas amorfas de cristales observados a 400X en el microscopio desvían la luz polarizada de manera uniforme.	Cristales tabulares desvían la luz polarizada en degradé de colores, no lo hacen de manera uniforme. Observaciones realizadas a 100X en microscopio óptico.	Los cristales amorfos obtenidos presentan desvío de la luz polarizada en degradé, no cambian de color uniformemente.
STZ-SUCC	Porciones tabulares de cristales observados a 800X en el microscopio desvían la luz polarizada.	Cristales laminares desvían la luz polarizada de forma uniforme. Observaciones realizadas a 100X en microscopio óptico.	-
SDZ-OXA	Cristales amorfos, pequeños, observados a 800X en MO presentan desvío de la luz polarizada.	-	-
SDZ-MAL	Porciones amorfas de cristales observados a 400X en MO desvían la luz polarizada.	-	-
SDZ-CIT	Porciones amorfas de cristales observados a 400X en microscopio óptico desvían la luz polarizada.	-	-
SDZ-SUCC	Porciones pequeñas de forma tabular observados a 400X en MO desvían la luz polarizada.	-	-

Al igual que en el ensayo de platina de calentamiento, se hizo un registro filmico de las observaciones de los cristales cuando fueron analizados bajo el filtro de luz polarizada.

4.2.5. Análisis FT-IR

Los sólidos individuales y las combinaciones binarias obtenidas por la técnica de molienda fueron analizados por FT-IR a diferentes temperaturas. Los espectros obtenidos fueron los que se detallan en la Tabla 9.

Tabla 9: Temperaturas de ensayo en la obtención de los espectros FT-IR de los distintos sólidos.

Compuesto - Combinación		Temperatura en °C						
Técnica de obtención del sólido - Molienda durante 30 min	SDZ	25	70	100	140	170	200	250
	STZ	25	70	100	140	170	200	-
	CIT	25	70	100	140	170	200	-
	MAL	25	70	100	140	170	200	-
	OXA	25	70	100	140	170	200	-
	SUCC	25	70	100	140	170	200	-
	SDZ-CIT	25	70	100	140	170	200	-
	SDZ-MAL	25	70	100	140	170	200	-
	SDZ-OXA	25	70	100	140	170	200	-
	SDZ-SUCC	25	70	100	140	170	200	-
	STZ-CIT	25	70	100	140	170	200	-
	STZ-MAL	25	70	100	140	170	200	-
	STZ-OXA	25	70	100	140	170	200	-
STZ-SUCC	25	70	100	140	170	200	-	

El análisis de los espectros FT-IR se comparó con los registros bibliográficos y se asignaron a cada una de las sustancias, las señales más características encontradas en los resultados. Cabe aclarar que las Tablas 10 y 11 fueron realizadas con los espectros FT-IR a 25 °C.

Tabla 10: Asignaciones FT-IR de las SA ensayadas, comparadas con valores de bibliografía.

Asignación de grupos funcionales	Frecuencia en número de onda (cm ⁻¹)			
	STZ ¹	STZ Exp.	SDZ ²	SDZ Exp.
Estiramiento asimétrico de -NH ₂	3320	3321	3423	3423
Estiramiento simétrico de -NH ₂	3280	3278	3355	3356
Estiramiento -CH (anilina)	3116	-	3102	3101
Estiramiento -CH	3074	-	3075	3074
Estiramiento -CH (anilina)	3024	3020	3039	3037
Deformación en el plano -NH ₂ (anilina)	1628	-	1652	1653
Estiramiento C-C del anillo fenilico	1594	1595	1594	1593
Estiramiento asimétrico de -SO ₂	1323	1323	1326	1325
Deformación en el plano -CH (anilina)	1268	1269	1187	1187
Estiramiento simétrico del -SO ₂	1133	1138	1157	1157
Deformación fuera del plano -CH (anilina)	927	928	945	945

Señales Propias de STZ				
Estiramiento -C=N (tiazol)	1530	1531	-	-
Estiramiento -C-C (tiazol)	1495	1495	-	-
Señales propias de SDZ				
Estiramiento -C-N (pirimidina)	-	-	1262	1263
Deformación en el plano -CCH (pirimidina)	-	-	1093	1093
Deformación fuera del plano -CNCN (pirimidina)	-	-	825	825
Deformación en el plano -NCN (pirimidina)	-	-	683	683

¹(Hu et al., 2010); ²(Ogruc-Ildiz et al., 2009)

Como se puede observar en la Tabla 10 las señales registradas, tanto para STZ como para SDZ, se corresponden con las de la bibliografía consultada. Las señales características del estiramiento asimétrico del -NH₂ están presentes a 3321 cm⁻¹ para el STZ y 3423cm⁻¹ para la SDZ, mientras que el estiramiento simétrico del -NH₂ está presente a 3278 cm⁻¹ y 3356 cm⁻¹ respectivamente. Otra señal importante y presente en ambos compuestos es el desdoblamiento del -SO₂.

Con respecto a las señales propias de cada uno, en el caso del STZ aparecen las señales características a 1531 cm⁻¹ del estiramiento -C=N y la señal a 1495 cm⁻¹ del estiramiento -C-C, ambas correlacionadas con el anillo tiazol, mientras que para la SDZ a 1263 cm⁻¹ se observa el estiramiento -CN, en 1093 cm⁻¹ la deformación en el plano -CCH, en 825 cm⁻¹ la deformación fuera del plano -CNCN y en 683 cm⁻¹ la deformación en el plano -NCN. Todas ellas son señales correspondientes al anillo de pirimidina de la molécula.

Tabla 11: Asignaciones FT-IR de los ácidos orgánicos estudiados comparados con bibliografía.

Asignación de grupos funcionales	Frecuencia en número de onda (cm ⁻¹)							
	OXA ³	OXA Exp.	SUCC ⁴	SUCC Exp.	CIT ⁵	CIT Exp.	MAL ⁶	MAL Exp.
Estiramiento del enlace O-H (R-C(O)-OH)	-	-	-	-	3290,12	3292,44	3500	3477
Estiramiento del enlace -C-H	-	-	2932	2931,29	-	-	2840	2880
Estiramiento del enlace -O-H	-	-	2650	2629,46	-	-	-	-
Estiramiento del enlace -C=O de -COOH	1680	1682	1728	1728	1721,69	1751,32	1721	1738
Estiramiento asimétrico del enlace -COO ⁻	-	-	1570	1570,81	-	-	1440	1443
Estiramiento simétrico de COO ⁻	-	-	1396	1419,37	-	-	-	-
Flexión en el plano del -OH	1354	1344	-	-	-	-	-	-
Estiramiento del enlace -C-OH	1260	1254	-	-	1105,85	1140,37	1110	1103
Balaceo de -CH ₂	-	-	-	-	778,78	781,49	-	-

³(Muthuselvi et al., 2016); ⁴(Krishnan et al., 2007); ⁵(Pimpang et al., 2018); ⁶(Max et al., 2002)

La Tabla 11 nos muestra las señales obtenidas por el espectro FT-IR de los ácidos orgánicos y su comparación con la bibliografía. Podemos observar que la señal característica del estiramiento del enlace $-C=O$ está presente a los cuatro ácidos, luego individualmente aparecen señales características que, afectadas por los diferentes entornos en cada ácido, se presentan a valores distintos de frecuencia.

Espectros FT-IR con gradiente de temperatura:

El análisis comparativo de los espectros FT-IR de los ácidos orgánicos a medida que aumenta la temperatura demuestra que las bandas características de los principales grupos funcionales se conservan hasta temperaturas inferiores al respectivo punto de fusión, excepto en el caso de OXA, en el cual las principales señales sufren desplazamientos con el aumento de temperatura (Figuras 18 y 19).

Se puede observar el ensanchamiento progresivo de las principales bandas de los espectros FT-IR a medida que aumenta la temperatura y como se desdibuja el espectro a 200°C debido a la fusión del sólido (180°C).

Los espectros de los ácidos orgánicos registrados a temperaturas superiores al punto de fusión muestran desaparición o atenuación de sus señales características, principalmente en la región comprendida entre 2000 y 4000 cm^{-1} . Esto se condice con lo observado en el análisis por MPC donde se visualiza desprendimiento de burbujas y cambios de color por descomposición.

Los espectros FT-IR de CIT, MAL y SUCC se muestran en el anexo.

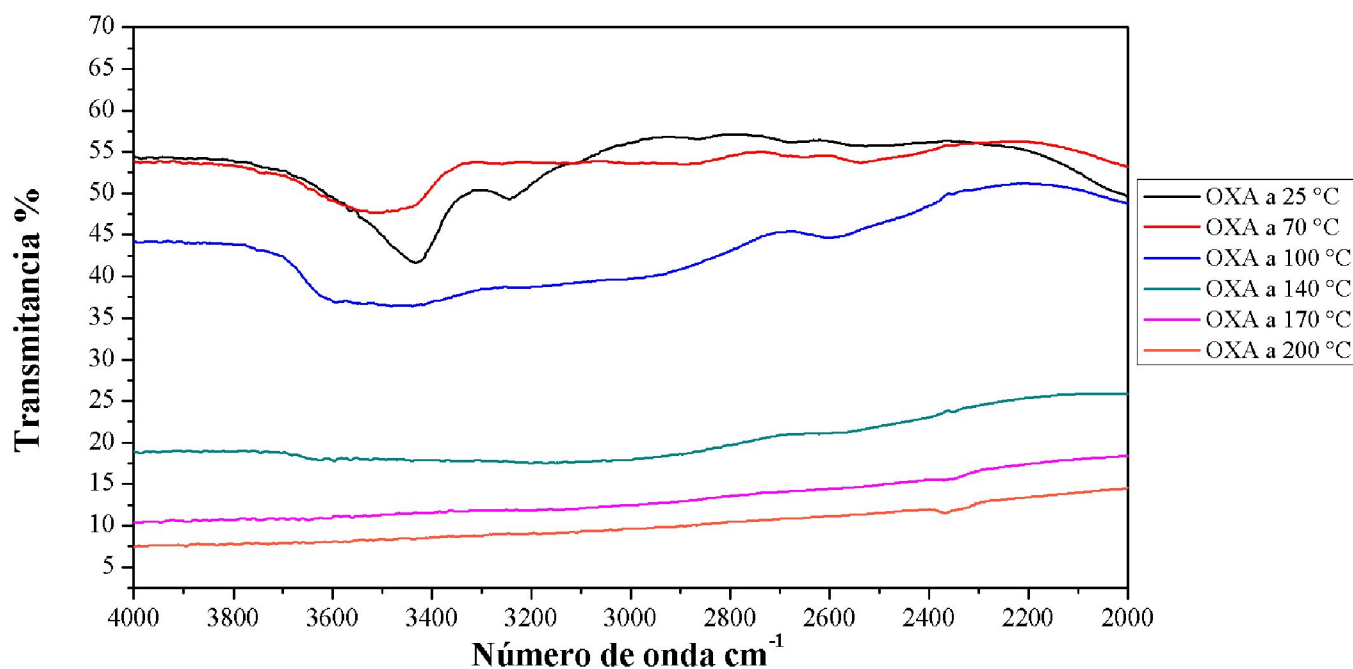


Figura 18: Superposición de espectros FT-IR de OXA a diferentes temperaturas 25 °C, 70 °C, 100 °C, 140 °C, 170 °C, 200 °C, observación de 4000 a 2000 cm^{-1} .

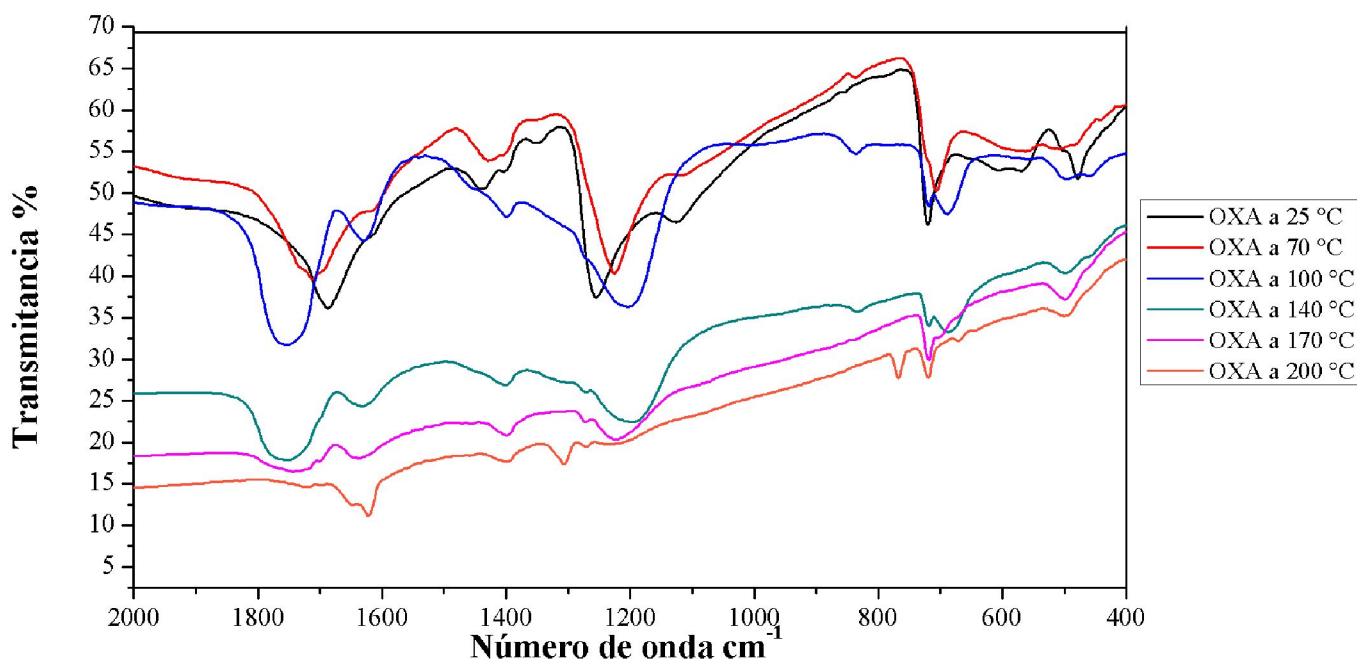


Figura 19: Superposición de espectros FT-IR de OXA a diferentes temperaturas 25 °C, 70 °C, 100 °C, 140 °C, 170 °C, 200 °C, observación de 2000 a 400 cm^{-1} .

Las sulfonamidas son estables hasta los 200 °C con leves estiramientos en sus bandas características, tal como se puede observar en los FT-IR de SDZ (Figuras 20 y 21).

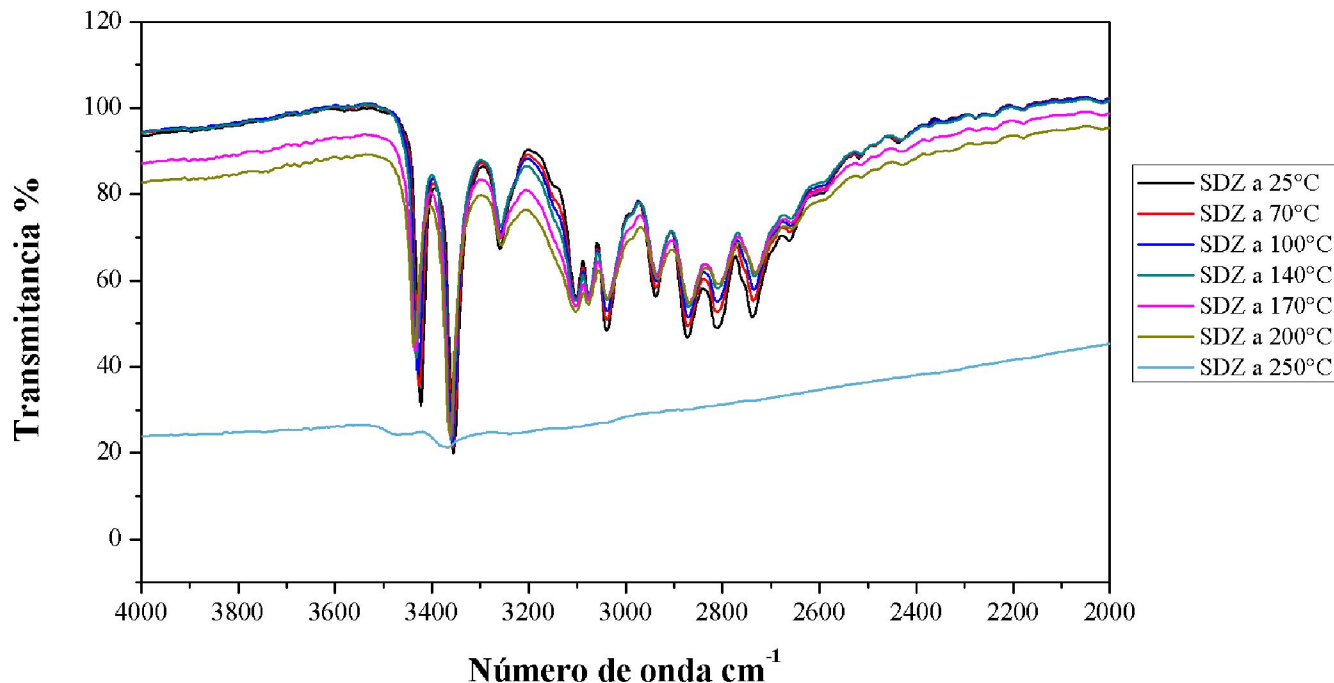


Figura 20: Superposición de espectros FT-IR de SDZ a diferentes temperaturas 25 °C, 70 °C, 100 °C, 140 °C, 170 °C, 200 °C y 250 °C observación de 4000 a 2000 cm^{-1} .

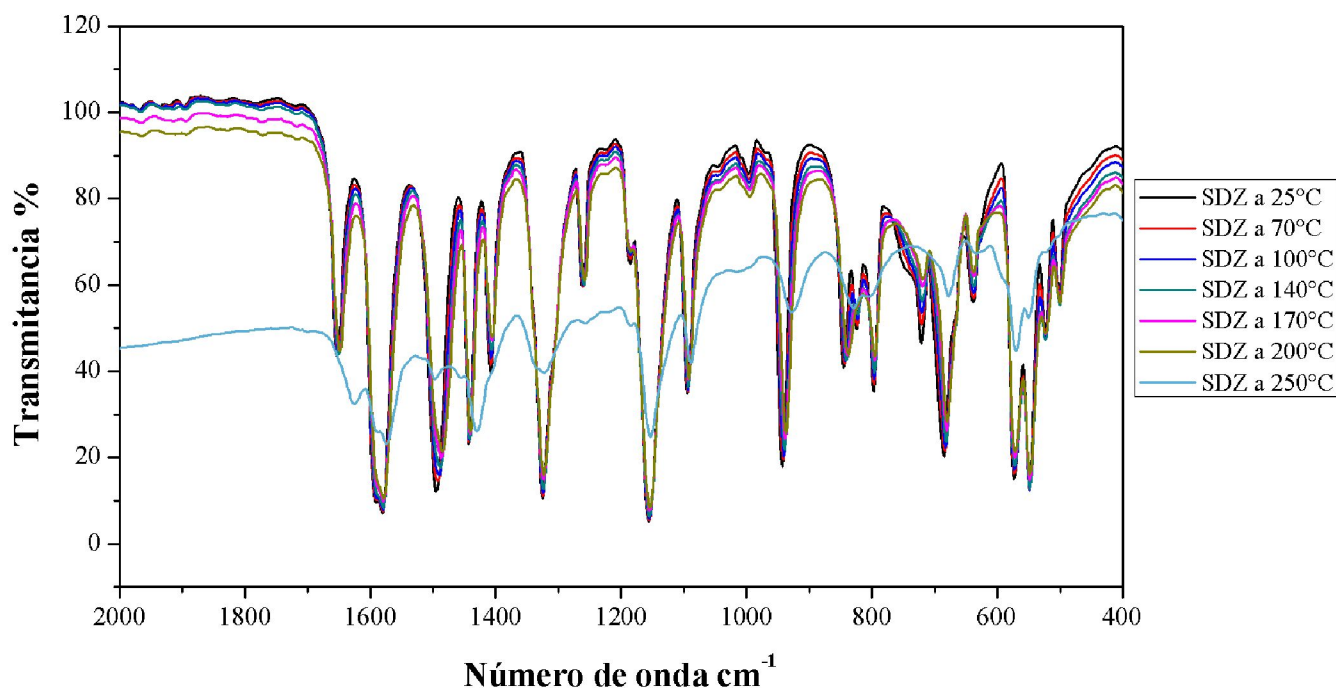


Figura 21: Superposición de espectros FT-IR de SDZ a diferentes temperaturas 25 °C, 70 °C, 100 °C, 140 °C, 170 °C, 200 °C y 250 °C observación de 2000 a 400 cm^{-1} .

El STZ se puede presentar en el estado sólido en tres formas diferentes según las posiciones relativas que adopten sus moléculas en la celda unitaria: polimorfo I, polimorfo II y polimorfo III. El espectro FT-IR de STZ nos indica que, en nuestro caso, se trabajó con el polimorfo III dado que las bandas características coinciden con las descritas en la bibliografía consultada (Hu et al., 2010).

Los espectros de los ocho sólidos obtenidos por combinación de SDZ y STZ con los ácidos orgánicos se compararon, en cada caso, con los espectros de los componentes individuales.

El espectro de la combinación STZ-OXA fue el único que mostró las diferencias significativas respecto a los espectros de sus precursores que se muestran en las Figuras 22 y 23.

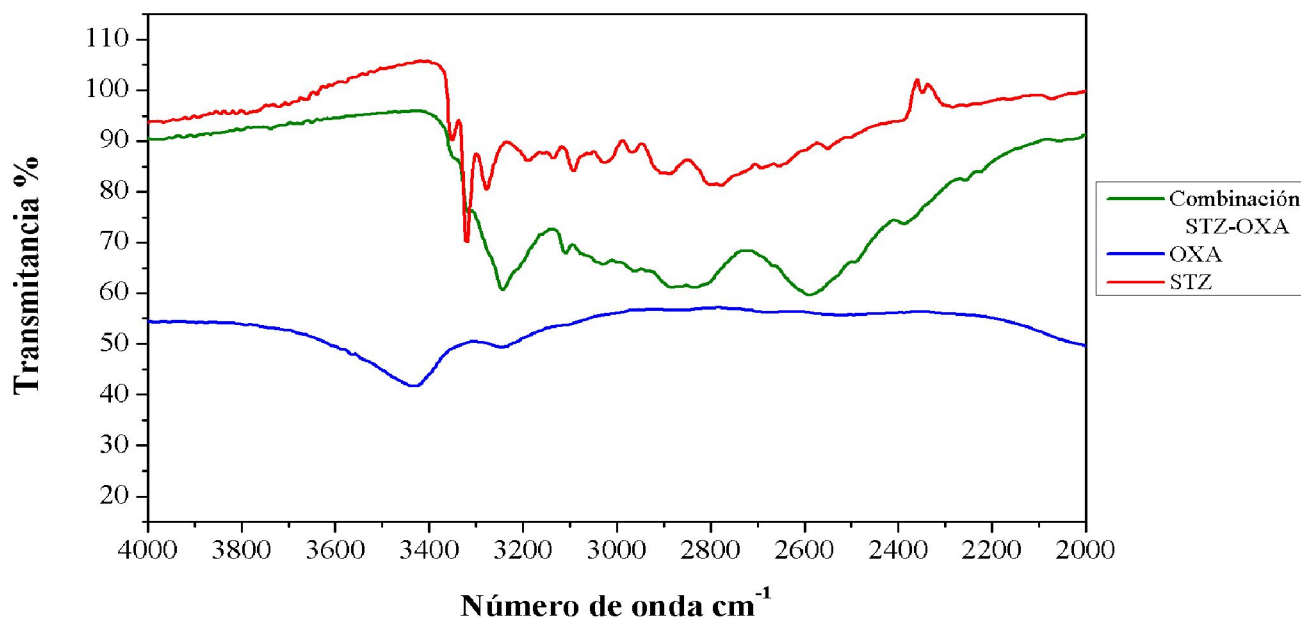


Figura 22: Superposición de espectros FT-IR de STZ, OXA y combinación de molienda STZ-OXA a 25 °C, observación de 4000 a 2000 cm^{-1} .

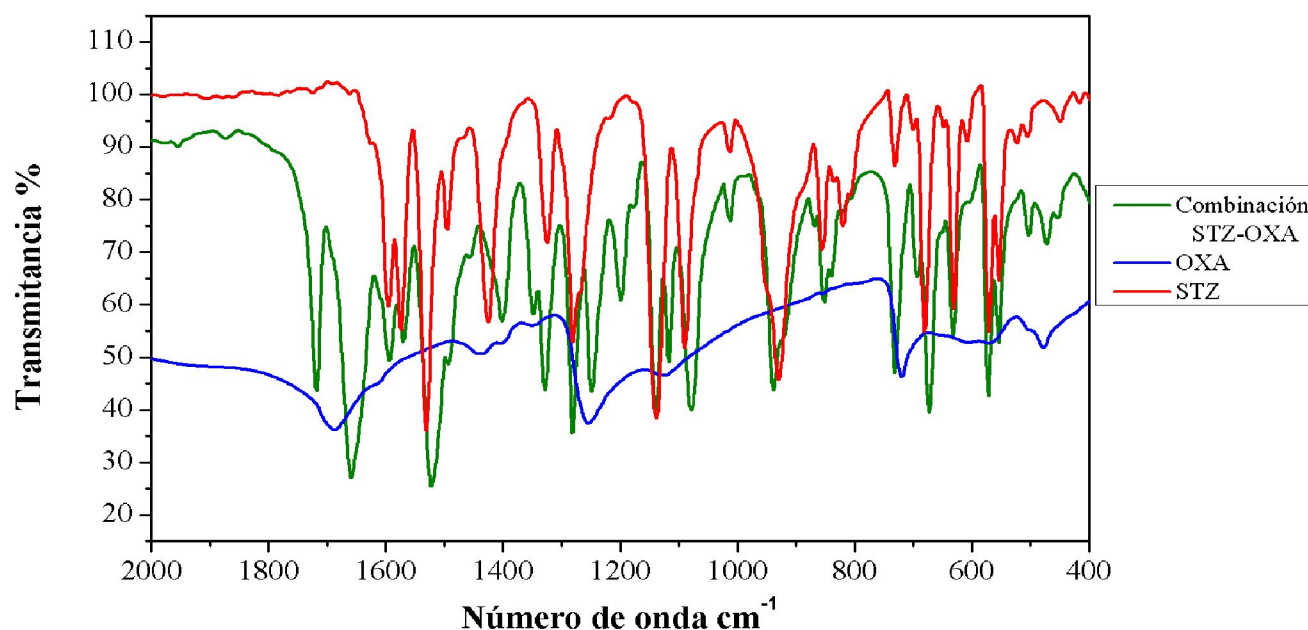


Figura 23: Superposición de espectros FT-IR de STZ, OXA y combinación de molienda STZ-OXA a 25 °C, observación de 2000 a 400 cm^{-1} .

Las principales modificaciones observadas en el espectro de STZ-OXA son las siguientes:

Una nueva señal en 1718 cm^{-1} ; desplazamiento de la señal a 1668 cm^{-1} del OXA hacia 1659 (indicando que OXA se encontraría parcialmente ionizado en el aducto); desplazamiento de la señal correspondiente al estiramiento del grupo NH_2 de STZ desde 3321 a 3244 cm^{-1} indicando la participación en interacciones tipo puente H; una nueva señal a 2580 cm^{-1} indicando la formación del grupo NH_3^+ ; desplazamiento de la señal correspondiente al grupo $\text{C}=\text{N}$ del anillo tiazol desde 1531 a 1522 cm^{-1} ; nuevas señales a 1402 y 1348 , 1248 y 1200 cm^{-1} .

Estas evidencias experimentales indican que se obtuvo una nueva fase STZ-OXA compatible con una sal. Las interacciones iónicas ocurrirían entre los grupos NH_3^+ de STZ y COO^- del OXA. Además, se formarían uniones puente H entre C=N de STZ y COOH del OXA (Figura 24).

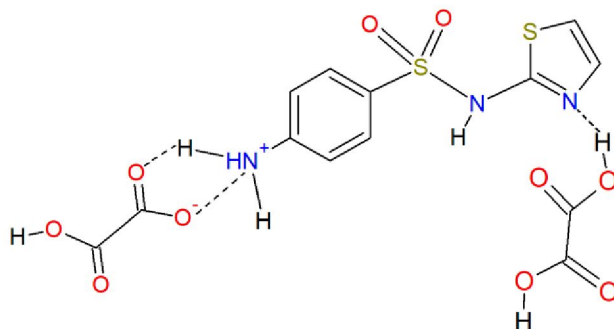


Figura 24: Estructura molecular de la sal STZ-OXA.

Los espectros de las siete combinaciones restantes resultaron iguales a la suma de los espectros de los componentes individuales indicando que, en las condiciones ensayadas, no se produjo interacción intermolecular. Tampoco fue posible detectar diferencias significativas al comparar los espectros registrados a temperatura creciente, que justifiquen el cambio de color observado durante el proceso de fusión de la combinación SDZ-OXA. Profundizar ese estudio escapa a los objetivos del presente trabajo. Los registros obtenidos se muestran en el Anexo.

4.2.6. Análisis de difracción de Rayos X de Polvo

Una vez identificada la combinación de mayor interés, STZ-OXA, se procede a realizar el análisis de difracción de rayos X de polvo con la finalidad de comparar los difractogramas de los componentes individuales y de STZ-OXA, según se muestra en la Figura 25.

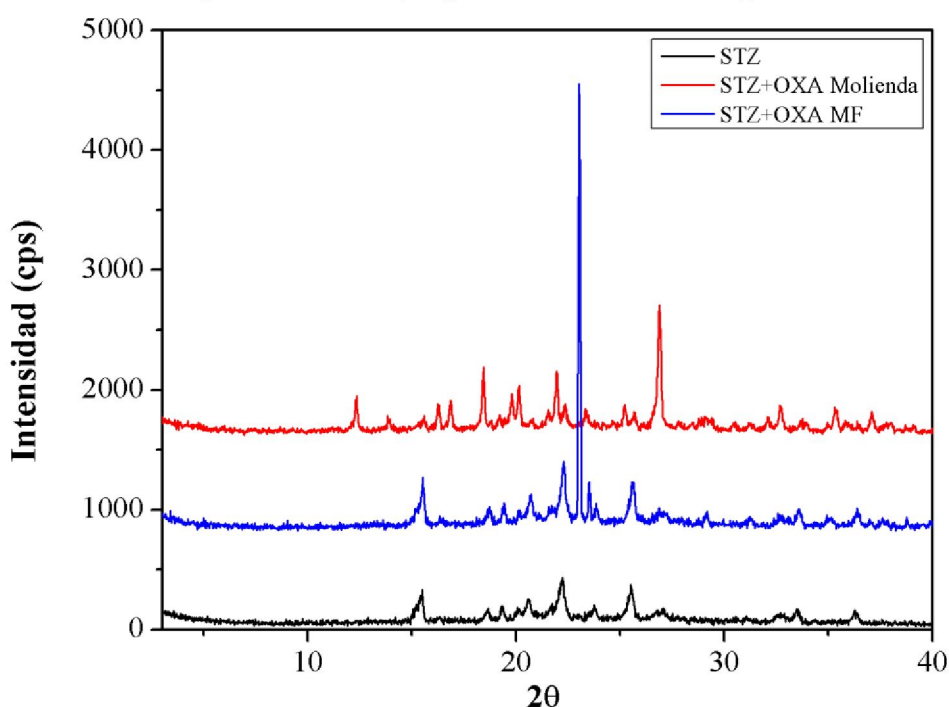


Figura 25: DRXP del sólido STZ-OXA, STZ y la mezcla física de STZ-OXA.

El difractograma del sólido STZ-OXA obtenido por molienda presenta nuevas señales a 13,84; 15,58; 16,24 y 26,88 2θ y la desaparición de una señal característica del OXA a 23,02. Además, se observa que el difractograma de la mezcla física es diferente al de STZ-OXA. Todas estas evidencias indican que la combinación STZ-OXA obtenida por el método de molienda constituye una nueva entidad química diferente además, de las reportadas en la bibliografía (Koike et al., 2014).

4.2.7. Análisis de solubilidad

4.2.7.1. Determinaciones espectrofotométricas

La cuantificación de la solubilidad de las drogas se realizó espectrofotométricamente. Para ello se registraron los espectros de absorción de una serie de diluciones de cada droga, en las cuales se cumple la Ley de Lambert y Beer, a fin de seleccionar las longitudes de onda de máxima absorción.

Sulfonamidas:

En la Figura 26 se muestran los espectros de absorción al UV-Vis de soluciones acuosas de SDZ en un rango de concentraciones comprendido entre $3,04 \times 10^{-5}$ M y $2,03 \times 10^{-6}$ M.

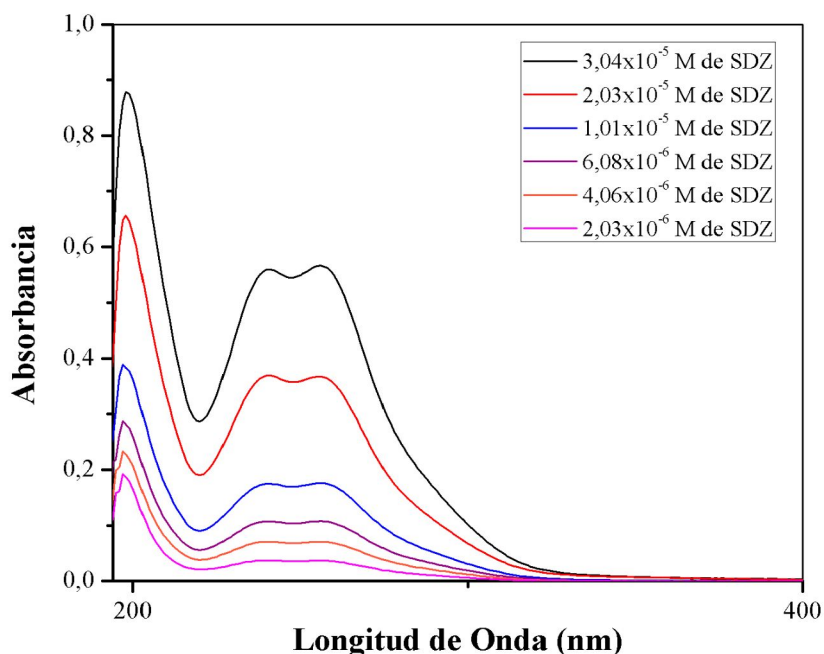


Figura 26: Curvas UV-Vis de SDZ a distintas concentraciones molares.

En la Figura 27 se presentan los espectros de absorción al UV-Vis de soluciones acuosas de STZ en un rango de concentraciones comprendido entre $3,15 \times 10^{-5}$ M y $2,10 \times 10^{-6}$ M.

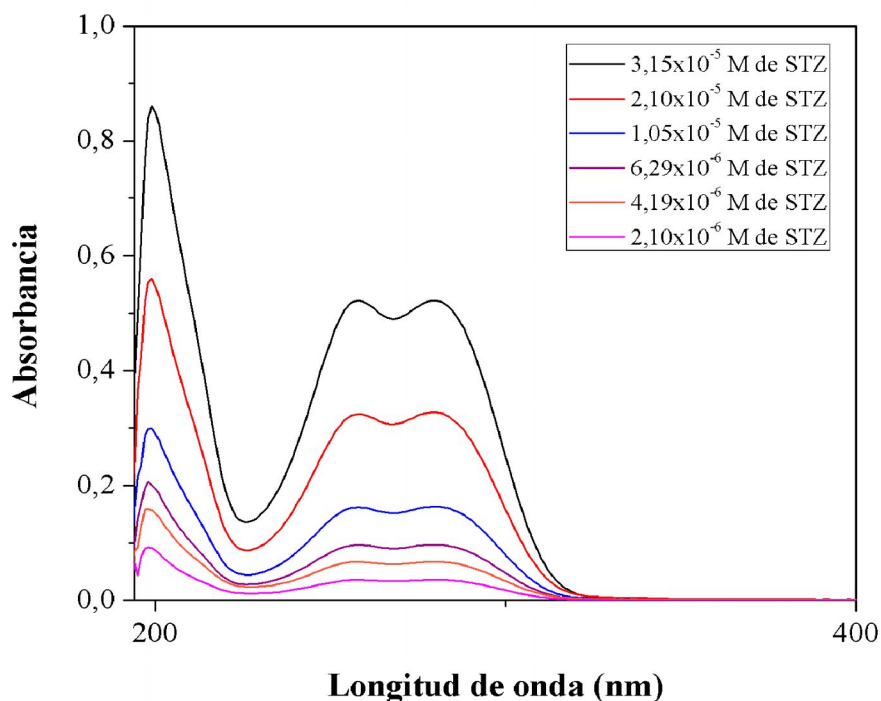


Figura 27: Curvas UV-Vis de STZ a distintas concentraciones molares.

Podemos observar que tanto la SDZ como el STZ poseen perfiles de absorción en el espectro UV-Vis similares, tienen un máximo entre 198-199 nm, también se distinguen dos máximos de menor intensidad a 241 nm y 256 nm para la SDZ, mientras que para el STZ están a 258 nm y 280 nm.

Ácidos orgánicos:

En la Figura 28 se muestran los espectros de absorción al UV-Vis de soluciones acuosas de OXA en un rango de concentraciones comprendido entre $1,11 \times 10^{-3}$ M y $1,11 \times 10^{-5}$ M.

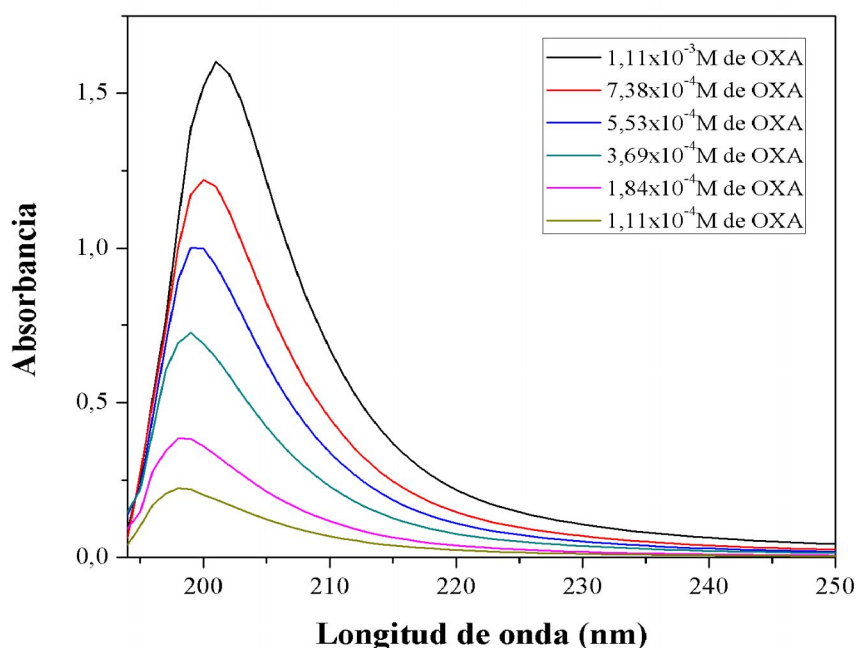


Figura 28: Curvas UV-Vis de OXA a distintas concentraciones molares.

En la Figura 29 se observan los espectros de absorción al UV-Vis de soluciones acuosas de CIT en un rango de concentraciones comprendido entre $1,13 \times 10^{-3}$ M y $1,13 \times 10^{-4}$ M.

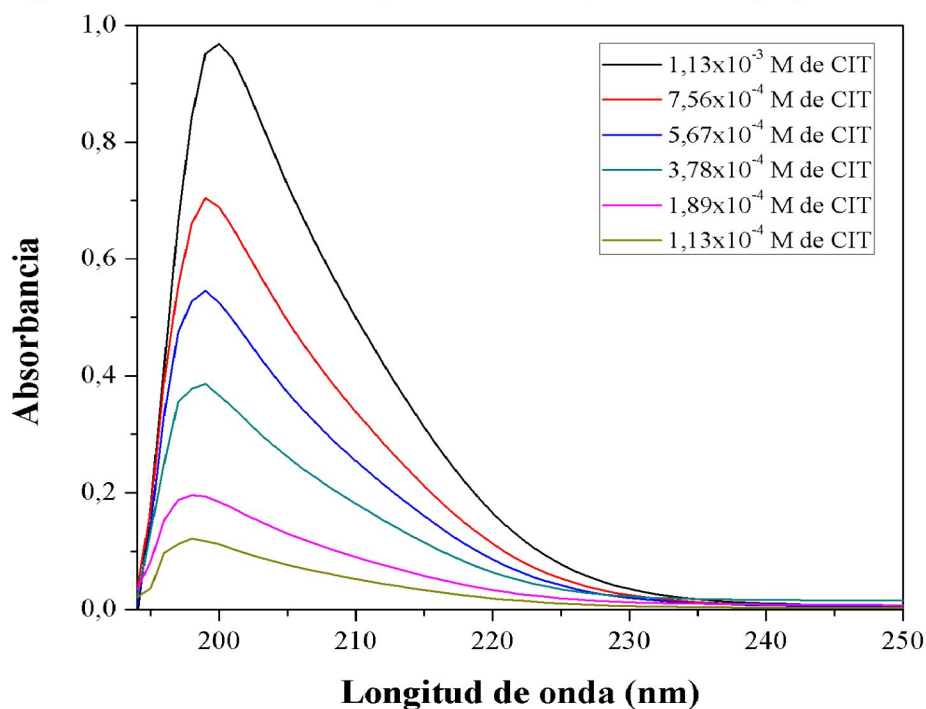


Figura 29: Curvas UV-Vis de CIT a distintas concentraciones molares.

Los espectros de absorción al UV-Vis de soluciones acuosas de MAL en un rango de concentraciones comprendido entre $1,13 \times 10^{-3}$ M y $1,13 \times 10^{-5}$ M se presentan en la Figura 30.

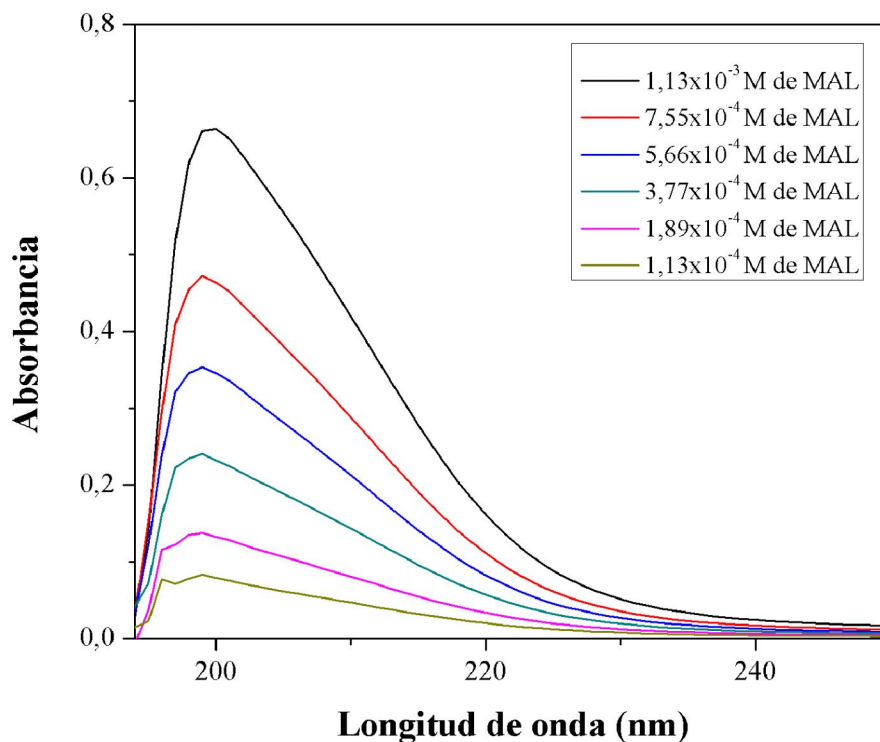


Figura 30: Curvas UV-Vis de MAL a distintas concentraciones molares.

En la Figura 31 se observan los espectros de absorción al UV-Vis de soluciones acuosas de SUCC en un rango de concentraciones comprendido entre $1,09 \times 10^{-3}$ M y $1,09 \times 10^{-5}$ M.

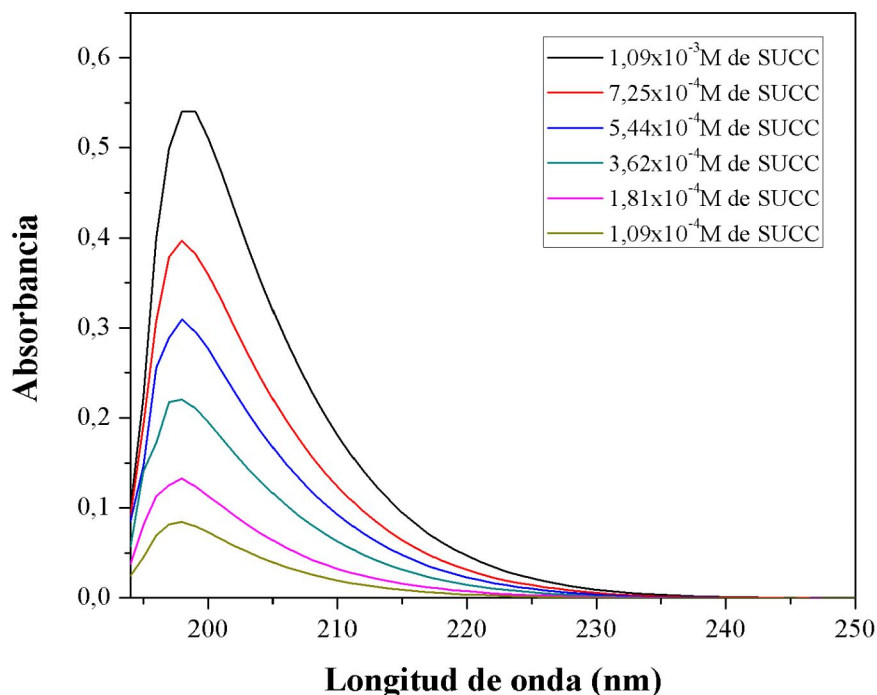


Figura 31: Curvas UV-Vis de SUCC a distintas concentraciones molares.

Los ácidos orgánicos ensayados, a diferencias de las SA, solo poseen un máximo de absorción en el espectro UV-Vis, teniendo la particularidad de ser valores muy cercanos entre sí, para el OXA es a 201 nm, SUCC a 198 nm y 200 nm tanto para el CIT como el MAL.

Luego de obtener todos los espectros UV-Vis y con los máximos de absorción identificados se realizaron las rectas de calibrado para cada compuesto. En la Figura 32 se presentan las curvas de calibrado obtenidas para SDZ a 258 nm y STZ a 256 nm. Seleccionamos estas longitudes de onda para evitar la superposición con los máximos de absorbancia en el UV de los respectivos ácidos orgánicos.

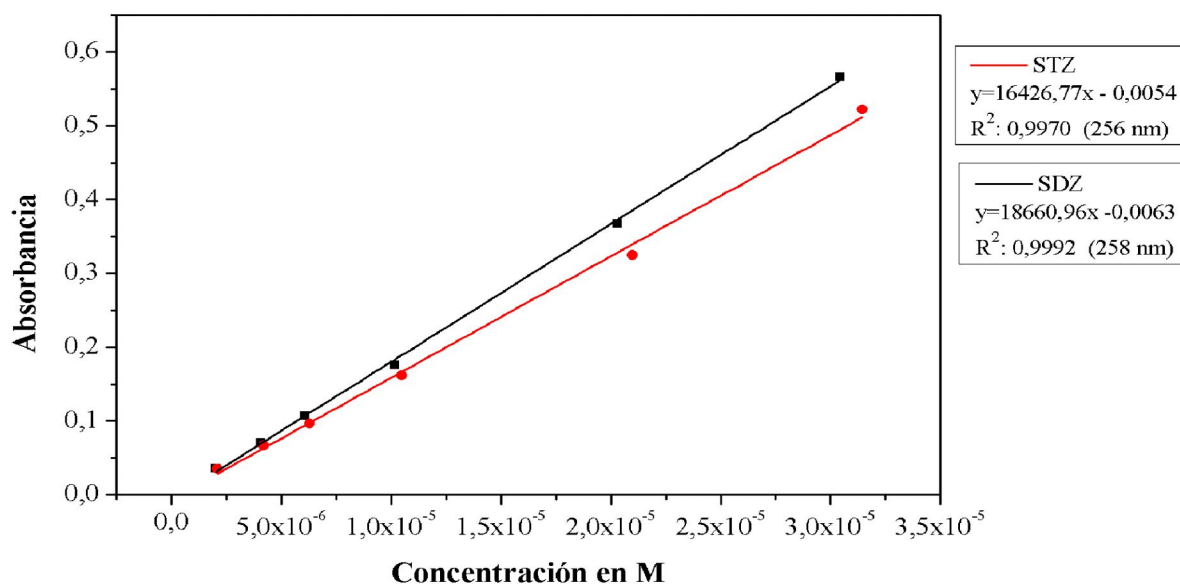


Figura 32: Curvas de calibrado de SDZ (a 258 nm) y de STZ (a 256 nm).

En la Figura 33 se muestran las rectas obtenidas para OXA, CIT, MAL y SUCC.

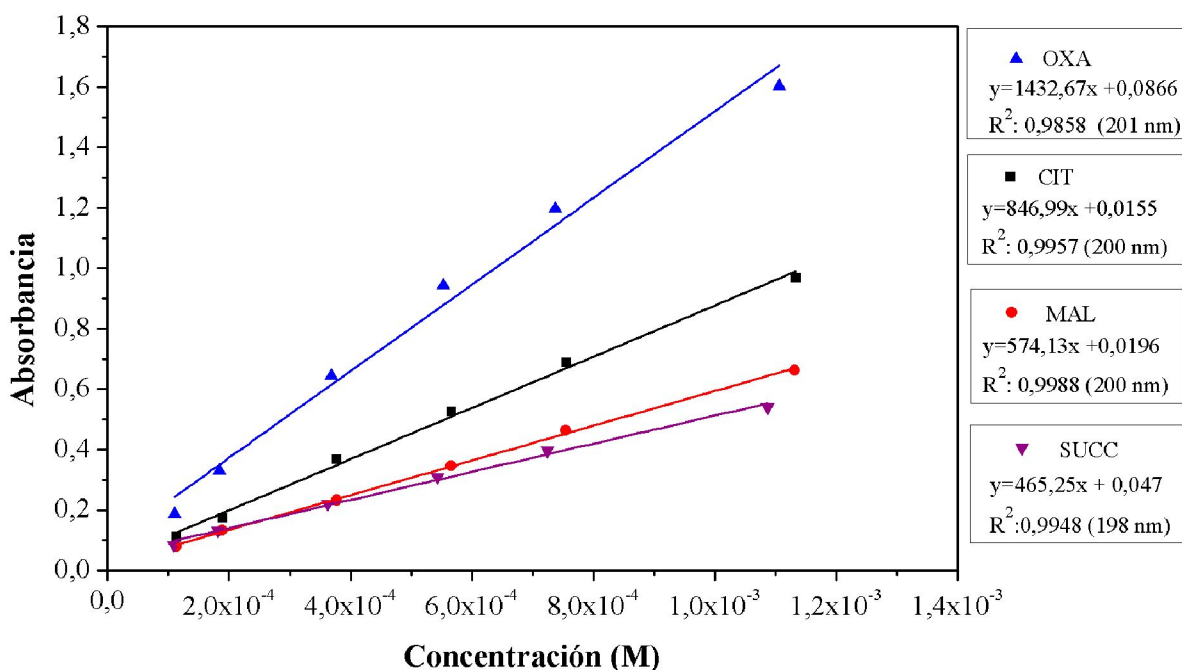


Figura 33: Curvas de calibrado de OXA (a 201 nm), CIT y MAL (a 200 nm) y SUCC (a 198 nm).

Luego de confeccionadas las curvas de calibrado se realizó el ensayo de solubilidad en solución reguladora de pH 7,4 y se calculó la concentración de cada compuesto individual y en las combinaciones binarias (SDZ-OXA, SDZ-CIT, SDZ-MAL, SDZ-SUCC, STZ-OXA, STZ-CIT, STZ-MAL y STZ-SUCC). Los datos obtenidos se muestran en las Figuras 34 a 39 de la próxima sección.

4.2.7.2. Perfiles de solubilidad

Con los datos de solubilidad obtenidos experimentalmente y los valores bibliográficos de pKa de las drogas en estudio que se muestran en la Tabla 12, se confeccionaron los perfiles de solubilidad teóricos de las dos SA y los cuatro ácidos aplicando la siguiente ecuación (Wermuth, 2015).

$$S = S_0 \cdot (1 + 10^{pH-pka_1}) \cdot (1 + 10^{pH-pka_2})$$

Tabla 12: Valores bibliográficos¹ de pKa y solubilidad experimental de los compuestos utilizados.

Compuesto	pKa	pKa ₂	pKa ₃	Solubilidad (M)
STZ	7,1	2,0	-	5,65E-03
SDZ	6,36	2,1	-	1,99E-03
OXA	1,27	4,28	-	1,00E+00
CIT	3,13	4,76	6,39	3,39E+00
MAL	3,4	5,5	-	4,74E+00
SUCC	4,21	5,6	-	1,13E+00

¹(O' Neil et al., 2006)

Sulfonamidas

En las Figuras 34 y 35 se presentan los perfiles de solubilidad de la SDZ y STZ respectivamente, en función del pH, calculados teóricamente en base a los datos experimentales registrados para la droga individual. Se muestran, además, los valores experimentales obtenidos para SDZ y STZ en presencia de los cuatro ácidos orgánicos.

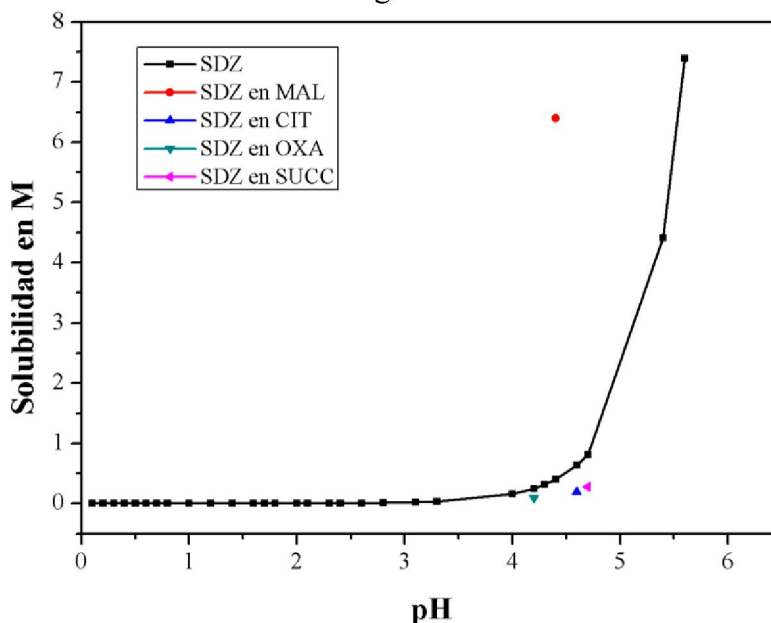


Figura 34: Perfil teórico de solubilidad de la SDZ, y solubilidad en pH 7,4 a 37°C en presencia de MAL, CIT, OXA y SUCC.

La solubilidad de SDZ se incrementa muy considerablemente en presencia de ácido málico y es desfavorecida en presencia de CIT, OXA y SUCC.

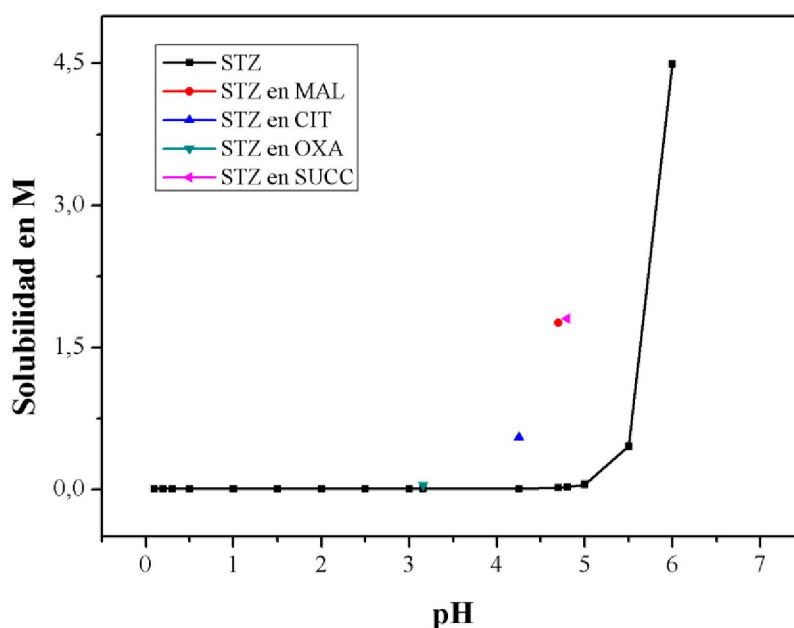


Figura 35: Perfil teórico de solubilidad de la STZ, y solubilidad en pH 7,4 a 37°C en presencia de MAL, CIT, OXA y SUCC.

La solubilidad del STZ aumenta en presencia de los cuatro ácidos, en la siguiente secuencia: SUCC>MAL>CIT>OXA.

Además, se observa que, en las condiciones ensayadas, la SDZ sola o en combinación con los ácidos orgánicos presenta mayor solubilidad que el STZ.

En las Figuras 36 a 39 se presentan los perfiles de solubilidad de los ácidos orgánicos en función del pH, calculados en base a los datos registrados para las drogas individuales.

En todos los casos, la hidrosolubilidad de las SA y de los ácidos orgánicos aumenta con el valor de pH dado que se incrementa la proporción de especie/s ionizada/s.

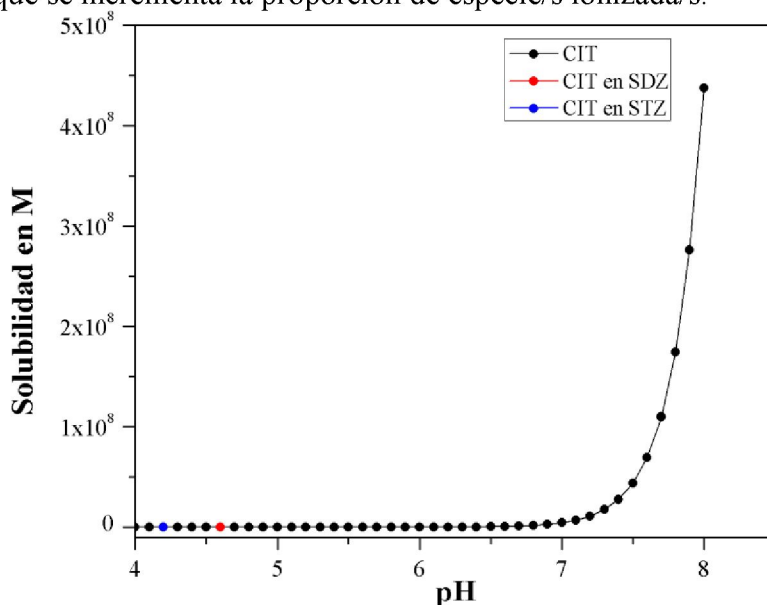


Figura 36: Perfil teórico de solubilidad del CIT y solubilidad en pH 7,4 a 37°C en presencia de SDZ y STZ.

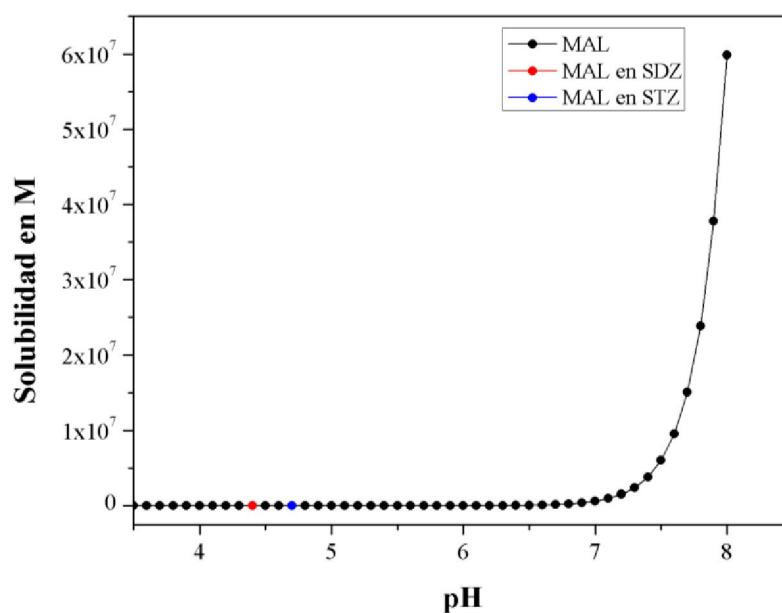


Figura 37: Perfil teórico de solubilidad del MAL y solubilidad en pH 7,4 a 37°C en presencia de SDZ y STZ.

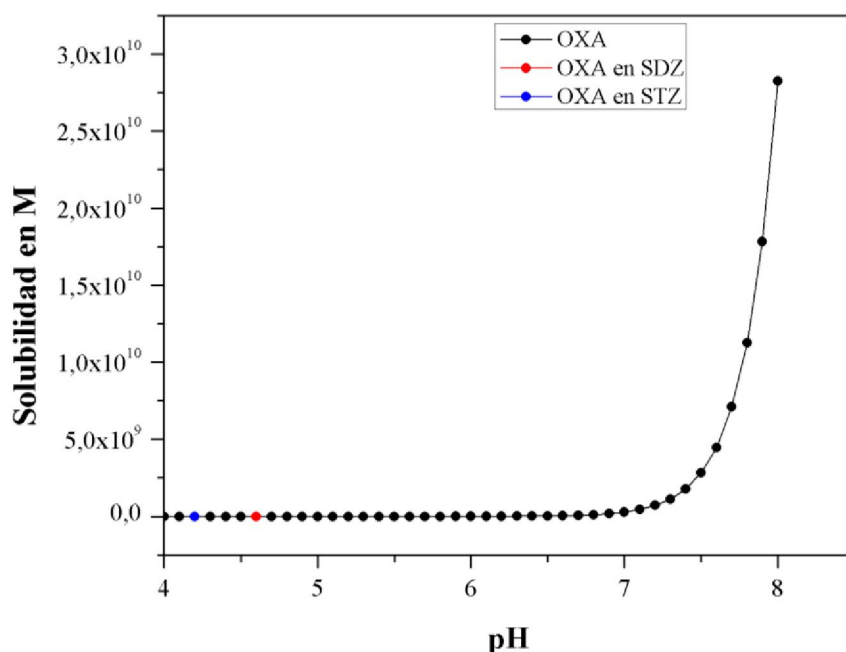


Figura 38: Perfil teórico de solubilidad del OXA y solubilidad en pH 7,4 a 37°C en presencia de SDZ y STZ.

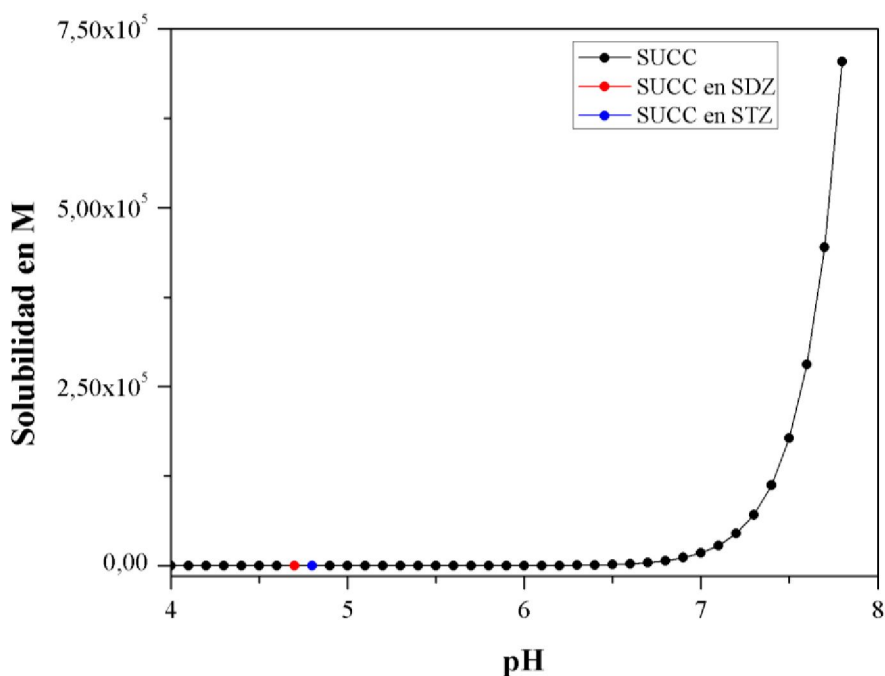


Figura 39: Perfil teórico de solubilidad del SUCC y solubilidad en pH 7,4 a 37°C en presencia de SDZ y STZ.

La solubilidad de los cuatro ácidos orgánicos en presencia de las SA disminuye, respecto a la solubilidad del cada ácido individual (Figuras 36 a 39).

4.3. Análisis computacional de las sulfonamidas

4.3.1. Cálculo de energía

Se realizó la construcción geométrica y posterior análisis de las moléculas de SDZ y STZ.

Para la confección de las moléculas se utilizó el programa GaussView® versión 5.0.8. Posteriormente se procedió a rotar el diedro -C-S-N-C- del puente entre los dos anillos presentes en ambas moléculas, ya que, al obtener un cálculo de vibración, se observó que era la zona que poseía movimiento. Este diedro seleccionado se rotó desde los 0° hasta los 360° en intervalos de 5°, por cada intervalo se obtuvo un valor de energía con el cual se confeccionaron los gráficos de energía de activación. Una vez encontrado el ángulo del diedro que generaba el conformero de mayor estabilidad, se aplicó un cálculo computacional con una base superior, para obtener un mejor valor de energía, dicho cálculo representó 36 horas continuas de cálculo computacional (Figuras 40 y 42).

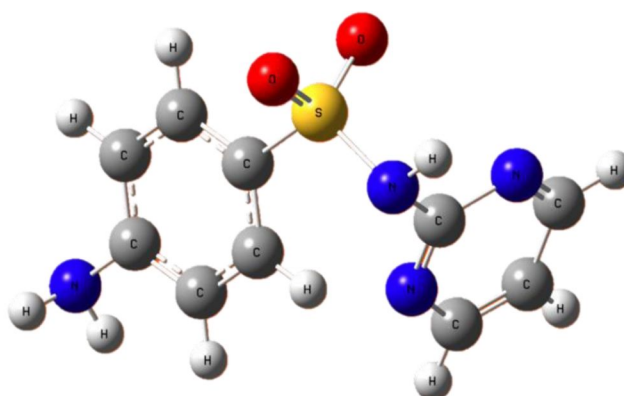


Figura 40: Conformero de SDZ de menor energía.

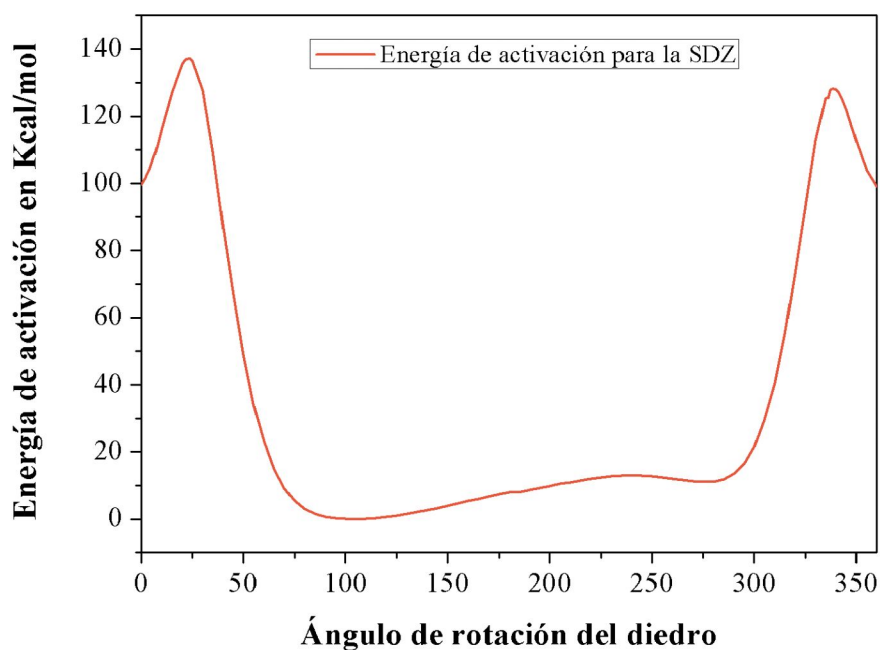


Figura 41: Energía de activación de la molécula SDZ.

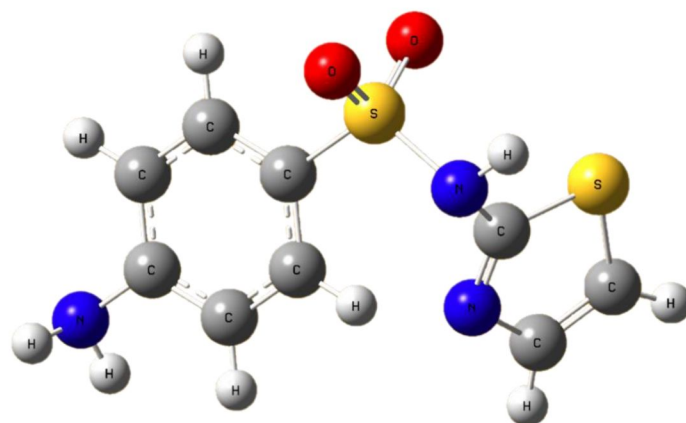


Figura 42: *Confórmero de STZ de menor energía.*

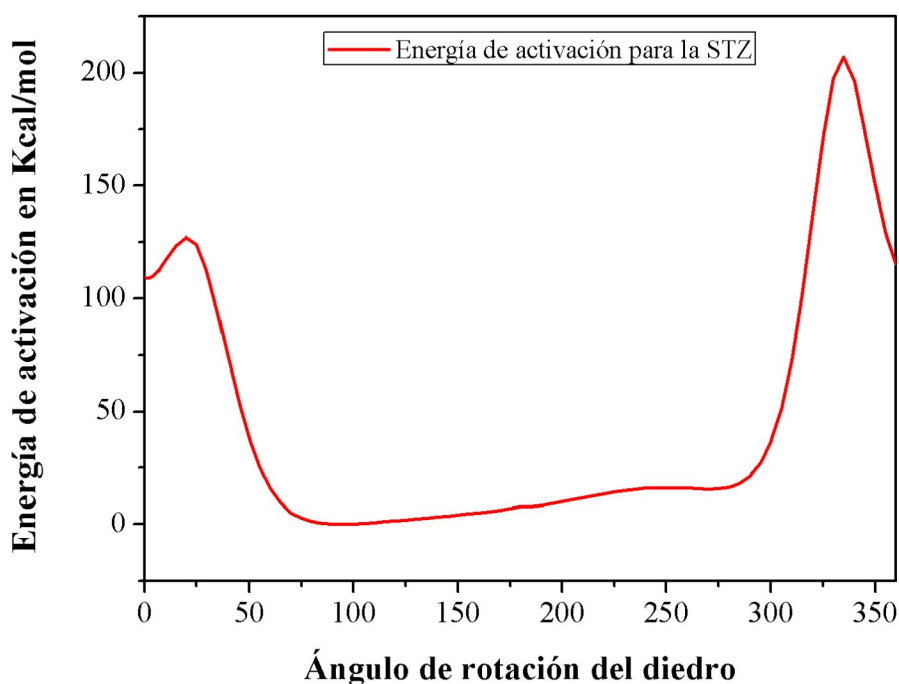


Figura 43: *Energía de activación de la molécula SDZ.*

Una vez obtenidos ambos gráficos, se observa que poseen un perfil similar de energía, con dos picos importantes de mayor energía, para la SDZ a 25° y 340° (Figura 41), mientras que para el STZ a 20° y 335° (Figura 43). Ambos gráficos poseen una zona de depresión importante entre los 70° a 280° en la cual se encuentra el mínimo de energía para cada una de las moléculas.

El mínimo para el STZ fue obtenido a los 95° y para la SDZ a los 105°. Del confórmero de menor energía se obtienen los valores de HOMO y LUMO para calcular los descriptores moleculares.

4.3.2. Cálculos de descriptores moleculares

A partir los valores de HOMO y LUMO obtenidos del mínimo de energía de STZ y la SDZ (Tabla 13), se calculan los descriptores moleculares que se muestran en la Tabla 14.

Tabla 13: Valores de HOMO y LUMO para SDZ y STZ.

Mínimo	HOMO (a.u.)	LUMO (a.u.)
SDZ	-0,30762	-0,17695
STZ	-0,26916	-0,1627

Tabla 14: Valores de los descriptores moleculares para cada SA.

Descriptor molecular	Valores obtenidos	
	SDZ	STZ
Energía de Ionización (EI)	0,30762	0,26916
Afinidad Electrónica (AE)	0,17695	0,1627
Potencial Químico (μ)	-0,242285	-0,21593
Gap (ΔE)	0,13067	0,10646
Dureza (η)	-0,065335	-0,05323
Suavidad o blandura (σ)	-15,30573	-18,7864
Índice de electrofilicidad (ω)	-0,449239	-0,437965

Si bien los descriptores moleculares fueron calculados en un sistema donde la molécula está en el vacío, sin interacción con algún solvente, nos brindan información respecto a la reactividad y a la capacidad de interacción intermolecular de cada una de ellas.

En cuanto a la energía de ionización, el STZ posee un valor más bajo que la SDZ, indicando que el STZ se ioniza más fácilmente que la SDZ. Este resultado se condice con los valores del potencial químico que indican que la SDZ es menos propensa a ionizarse que el STZ. Con respecto al Gap, se observa que la diferencia entre los orbitales HOMO y LUMO es más grande para la SDZ que para el STZ, sugiriendo que la SDZ tiene una mayor estabilidad, lo que se condice con los descriptores anteriores mencionados.

La afinidad electrónica es más alta para la SDZ, indicando que esta tiene una tendencia más alta a aceptar electrones cuando se la compara con el STZ. La dureza es más alta para el STZ, indicando que tendrá menor tendencia a dar o recibir electrones en comparación con la SDZ. En cuanto a la blandura, que mide el grado de reactividad química del compuesto, podemos decir que la de la SDZ es más alta.

Si bien estos dos últimos descriptores no se condicen con los resultados de los anteriores, se hace hincapié en que el estudio de las moléculas en el vacío es exploratorio y puede cambiar notablemente cuando se consideran las interacciones de la molécula con solventes y/o otras moléculas diferentes, pero en líneas generales, las obtenidas en este trabajo coinciden con lo obtenido prácticamente.

5. CONCLUSIONES

Durante este trabajo fue posible obtener y caracterizar un nuevo complejo molecular formado por sulfatiazol-ácido oxálico, mediante el método de molienda durante 30 minutos. Las evidencias experimentales indican que se obtuvo una nueva fase compatible con una sal, con solubilidad aumentada para el sulfatiazol. Las interacciones iónicas ocurrirían entre los grupos NH_3^+ del sulfatiazol y COO^- del ácido oxálico. Además, se formarían uniones puente hidrógeno entre $\text{C}=\text{N}$ del sulfatiazol y COOH del ácido oxálico.

Sin embargo, en las condiciones ensayadas no se evidencia interacción molecular en los otros siete pares de compuestos (sulfadiazina y sulfatiazol con ácido cítrico, ácido málico y ácido succínico, y sulfadiazina con ácido oxálico).

Con respecto a los métodos aplicados, el método de molienda fue el más eficiente para obtener sólidos. Con el método de enfriamiento de una solución saturada los resultados no fueron concluyentes y con el método de difusión de vapor no se obtuvieron resultados en el transcurso de este trabajo.

Los sólidos obtenidos pudieron ser caracterizados por las técnicas planteadas, adquiriendo manejo de equipos, desarrollo de técnicas nuevas e interpretación de resultados.

El sólido sulfadiazina-ácido málico favorece la solubilidad de la sulfadiazina. Los sólidos sulfatiazol-ácido succínico, sulfatiazol-ácido málico, sulfatiazol-ácido cítrico y sulfatiazol-ácido oxálico aumentan la solubilidad del sulfatiazol. Por otra parte, la solubilidad de los ácidos orgánicos se vio desfavorecida en presencia de las sulfonamidas.

Al optimizar las moléculas se obtuvieron descriptores moleculares que sirvieron para predecir, en forma preliminar, las características que poseen las sulfonamidas ensayadas y su reactividad.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Aaltoen, J., Gordon, K. C., Strachan, C. J., & Rades, T. (2008). Perspectives in the use of spectroscopy to characterise pharmaceutical solids. *International Journal of Pharmaceutics*, 159-169.
- Ahmad Shah, S. S., Rivera, G., & Ashfaq, M. (2013). Recent Advances in Medicinal Chemistry of Sulfonamides. Rational Design as Anti-Tumoral, AntiBacterial and Anti-Inflammatory Agents. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(1), 70-86.
- Aitipamula, S., Banerjee, R., Bansal, A., Biradha, K., Cheney, M., Choundhury, A., & et al. (2012). Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name? *Crystal Growth & Design*, 12, 2147-2152.
- Brym, S., Pfeifer, R., & Stowell, J. (1999). *Solid-State Chemistry of Drugs* (2da ed.). Indiana: SSCI, Inc.
- Bultinck, P., De Winter, H., Langenaeker, W., & Tollenaere, J. (2004). *Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery* (1er ed.). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Caira, M. (2007). Sulfa Drugs as Model Cocrystal Formers. *Molecular Pharmaceutics*, 4, 310-6.
- Choque Aspiazu, R., Nogales, J., & Apaza Torrez, N. (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, 35-59.
- Cunha, S., Ferreira, I., Fernandes, J., Faria, M., Beatriz, M., Oliveira, P., & Ferreira, M. (2014). Determination of lactic, acetic, succinic, and citric acids in table olives by HPLC/UV. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 1029-1038.
- Desiraju, G. R. (1989). *Crystal Engineering. The Design of Organic Solids*. Elsevier.
- Hu, Y., Erxleben, A., Ryder, A., & McArdle, P. (2010). Quantitative analysis of sulfathiazole polymorphs in ternary mixtures by attenuated total reflectance infrared, near-infrared and Raman spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53, 412-420.
- Kassuha, D. (2011). *Formas Amorfas y cristalinas de compuestos de interés farmacéutico: Caracterización del Estado Sólido y Relevancia biofarmacéutica. (Tesis Doctoral)*. Universidad Nacional de Cordoba, Córdoba.
- Keraliya, R., Soni, T., Thakkar, V., & Grandhi, T. (2010). Effect of Solvent on Crystal Habit and Dissolution Behavior of Tolbutamide by Initial Solvent Screening. *Dissolution Technologies*, 17, 16-21.
- Klein, H., & William, J. (1971). TLC identification of sulfonamides. *J Pharm Sci*, 60, 448-50.

- Koike, R., Higashi, R., Limwikrant, W., Yamamoto, K., Moribe, K., & Liu, N. (2014). Structural Determination of a Novel Polymorph of Sulfathiazole - Oxalic Acid Complex in Powder Form by Solid-State NMR Spectroscopy on the Basis of Crystallographic Structure of Another Polymorph. *Crystal Growth & Design*, *14*, 4510-4518.
- Komrovsky, F. (2014). Contribuciones de las propiedades del estado sólido al diseño y desarrollo de bencenosulfonil derivados de heterociclos. (*Tesis Doctoral*). Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba.
- Krishnan, S., Justin Raj, C., Robert, R., Ramanand, A., & Jerome Das, S. (2007). Growth and characterization of succinic acid single crystals. *Crystal Research and Technology*, *42*(11), 1087-1090.
- Lehn, J. M. (1988). Supramolecular Chemistry—Scope and Perspectives Molecules, Supermolecules, and Molecular Devices (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition*, *27*, 89-112.
- Max, J.-J., & Chapados, C. (2002). Infrared Spectroscopy of Aqueous Carboxylic Acids: Malic Acid. *Journal of Physical Chemistry A*, *106*, 6452-6461.
- Muthuselvi, C., Arunkumar, A., & Rajaperumal, G. (2016). Growth and Characterization of Oxalic Acid Doped with Tryptophan Crystal for Antimicrobial Activity. *Der Chemica Sinica*, *7*(4), 55-62.
- O' Neil, M., Heckelman, P., Koch, C., & Roman, K. (2006). *The Merck Index*. Whitehouse Station, NJ: Merck & Co., Inc.
- Ogruc-Ildiz, G., Akyuz, S., & Ozel, A. (2009). Experimental, ab initio and density functional theory studies on sulfadiazine. *Journal of Molecular Structure*, *924*, 514-522.
- Pimpang, P., Sumang, R., & Choopun, S. (2018). Effect of Concentration of Citric Acid on Size and Optical Properties of Fluorescence Graphene Quantum Dots Prepared by Tuning Carbonization Degree. *Chiang Mai Journal of Science*, *45*(5), 2005-2014.
- Pinto Vitorino, G., Sperandeo, N., Caira, M., & Mazzieri, M. (2013). Evidence of Hetero-association of Ciprofloxacin and Norfloxacin in the Solid State. *Crystal Growth & Design*, *13*, 1050-58.
- Prado, L., & Rocha, H. (2015). Estado Sólido na Indústria Farmaceutica: Uma Breve Revisao. *Revista Virtual de Química*, *7*(6), 2080-2112.
- Prado, L., & Rocha, H. (2015). Estado Sólido na Indústria Farmaceutica: Uma Breve Revisao. *Revista Virtual de Química*, *7*(6).
- Sánchez, R. A. (2000). *Química Computacional*. Editorial Universidad de Málaga.

- Saucedo-Balderas, M. M., Zúñiga-Lemus, O., Ortegón-Reyna, D., & González--González, J. S. (2014). Los cocristales farmacéuticos: conceptos generales. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 80(2).
- Schultheiss, N., & Newman, A. (2009). Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties. *Crystal Growth & Desing*, 9(6), 2950-2967.
- Serajuddin, A. (2007). Salt formation to improve drug solubility. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 603-616.
- Stahl, P., & Wermuth, C. (2002). *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use* (2da ed.). New York: WILEY-VCH.
- Tiekink, R. T., & Zukerman-Schpector, J. (2018). *Multi-Component Crystals. Synthesis, Concepts, Function*. Alemania: De Gruyter.
- Wermuth, C. G. (2015). *The Practice of Medicinal Chemistry* (4ta ed.). USA: Academic Press.

7. ANEXO

Análisis FT-IR

Se muestran los gráficos correspondientes a CIT, MAL y SUCC en el espectro FT-IR a diferentes temperaturas.

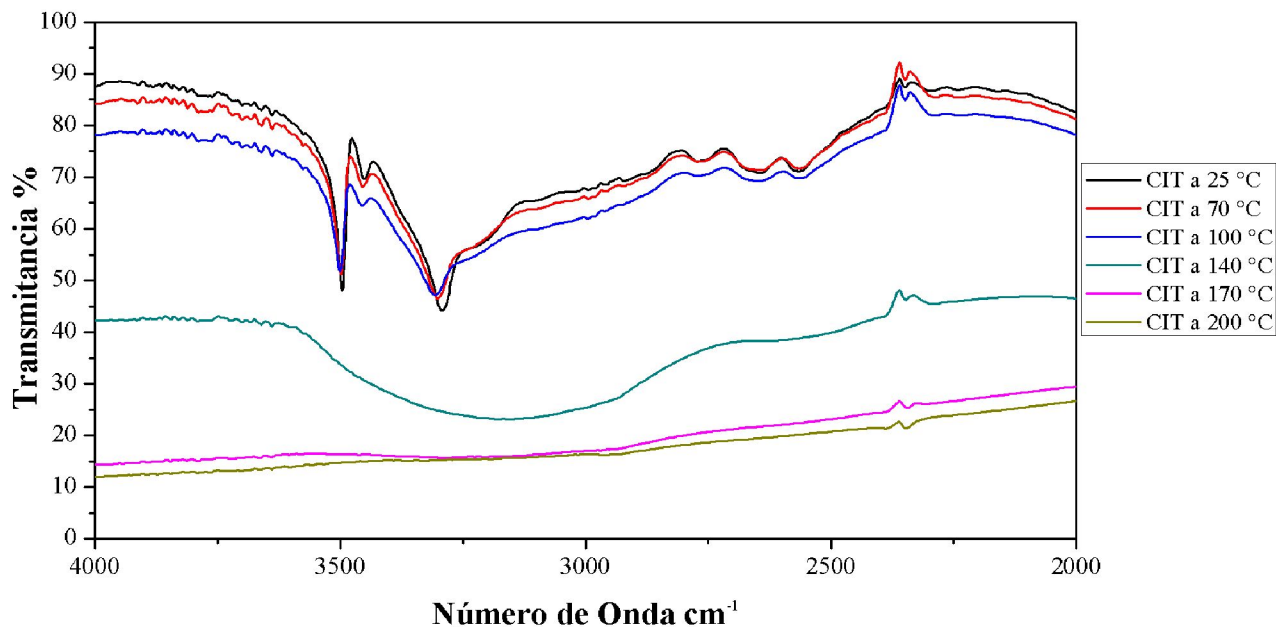


Figura A.1: Superposición de espectros FT-IR de CIT a diferentes temperaturas 25 °C, 70 °C, 100 °C, 140 °C, 170 °C y 200 °C observación de 4000 a 2000 cm^{-1} .

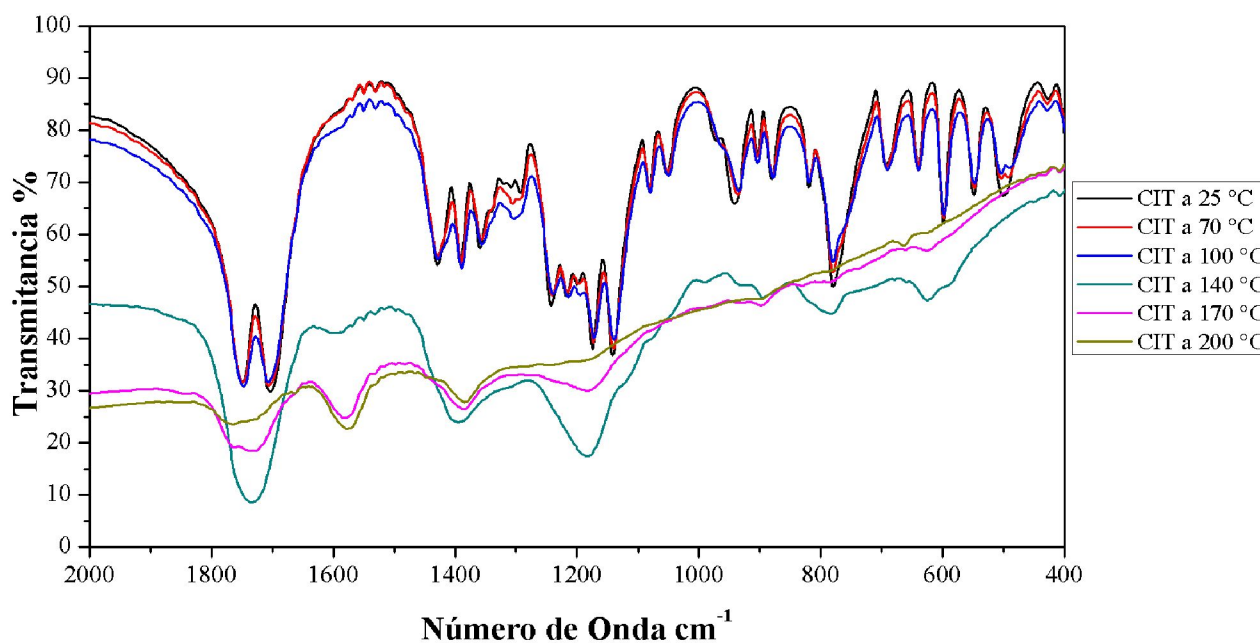


Figura A.2: Superposición de espectros FT-IR de CIT a diferentes temperaturas 25 °C, 70 °C, 100 °C, 140 °C, 170 °C y 200 °C observación de 4000 a 2000 cm^{-1} .

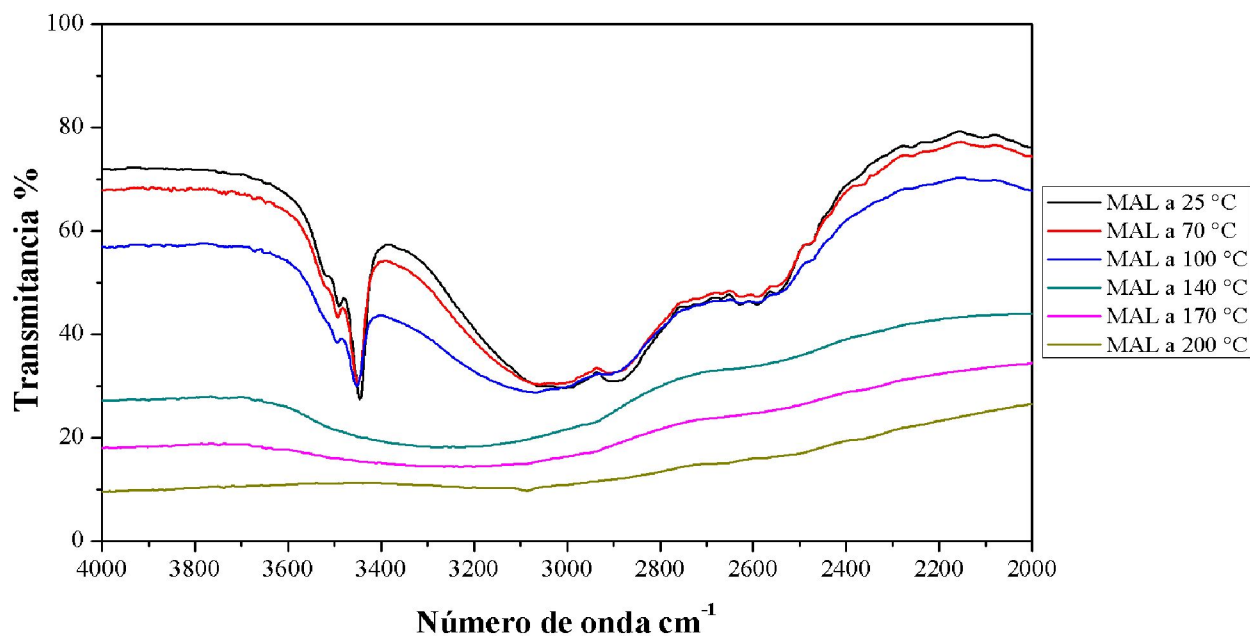


Figura A.3: Superposición de espectros FT-IR de MAL a diferentes temperaturas 25 °C, 70 °C, 100 °C, 140 °C, 170 °C y 200 °C observación de 4000 a 2000 cm⁻¹.

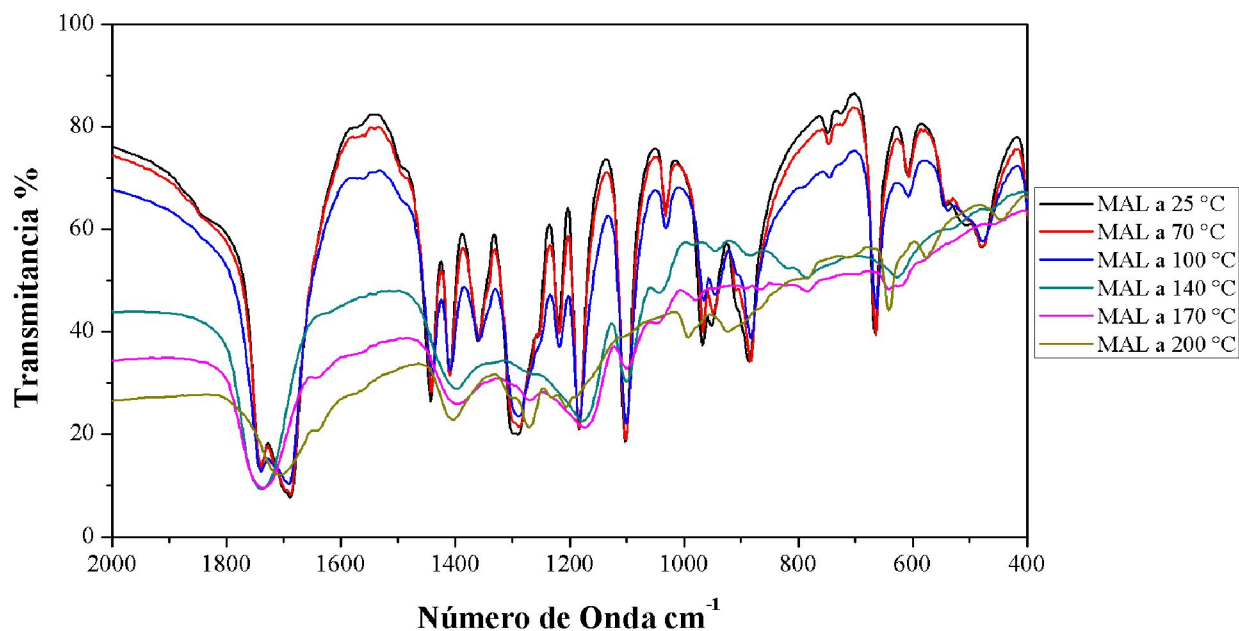


Figura A.4: Superposición de espectros FT-IR de MAL a diferentes temperaturas 25 °C, 70 °C, 100 °C, 140 °C, 170 °C y 200 °C observación de 2000 a 400 cm⁻¹.

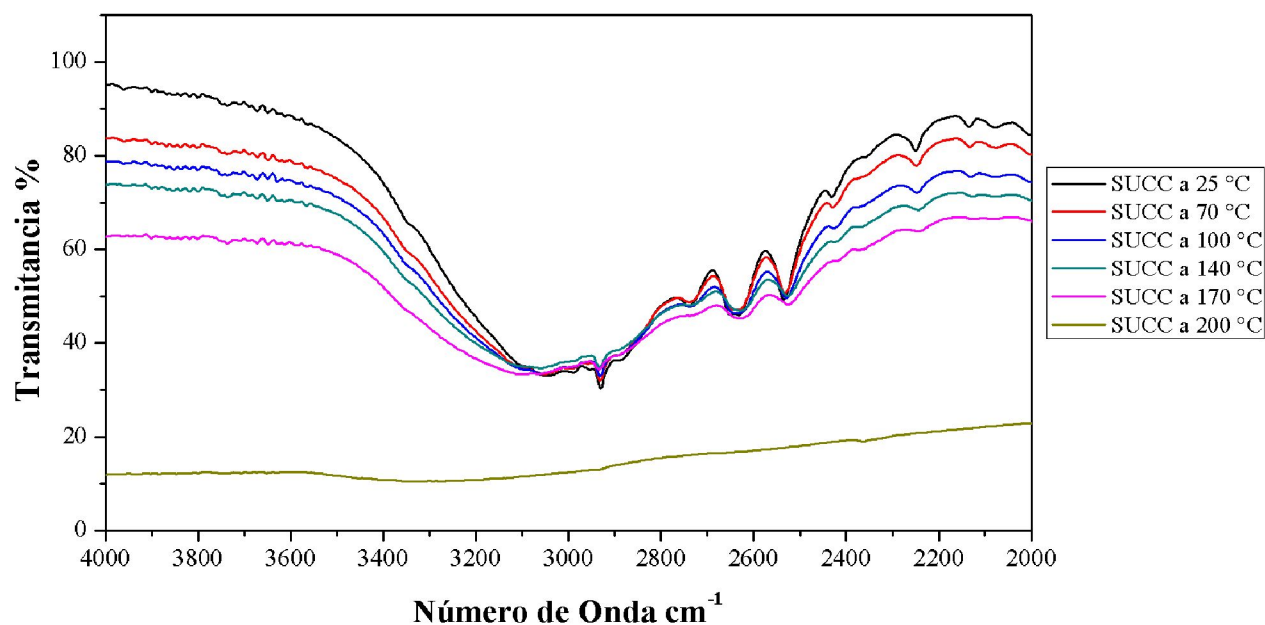


Figura A.5: Superposición de espectros FT-IR de SUCC a diferentes temperaturas 25 °C, 70 °C, 100 °C, 140 °C, 170 °C y 200 °C observación de 4000 a 2000 cm⁻¹.

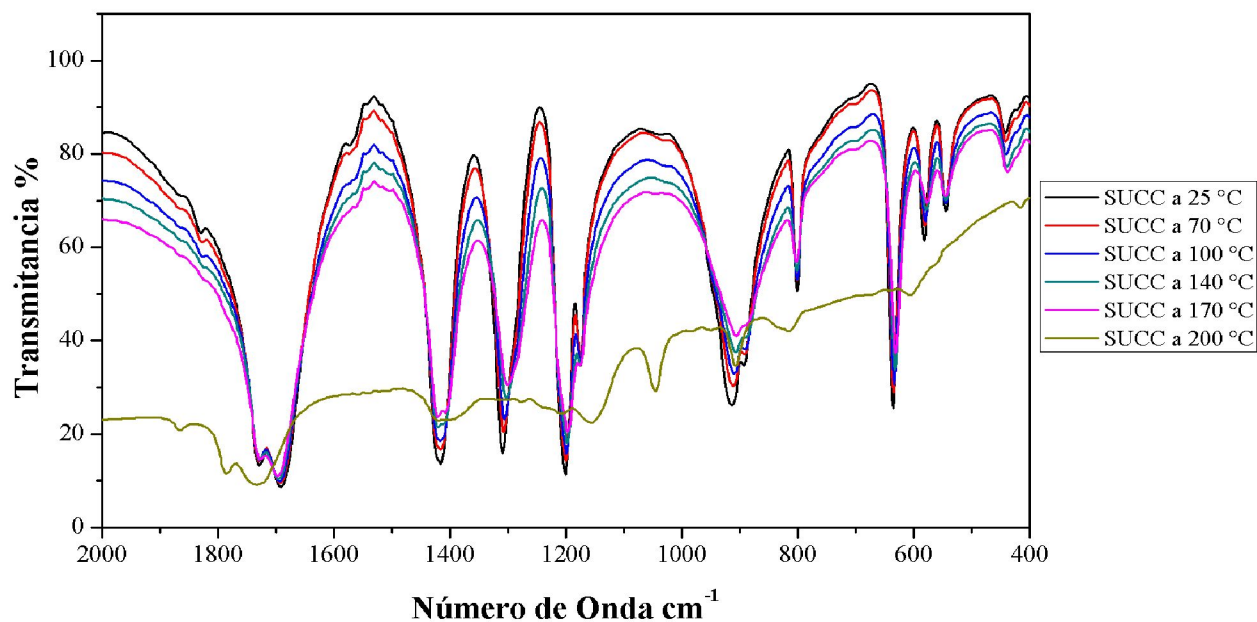


Figura A.6: Superposición de espectros FT-IR de SUCC a diferentes temperaturas 25 °C, 70 °C, 100 °C, 140 °C, 170 °C y 200 °C observación de 2000 a 400 cm⁻¹.

Se muestran los gráficos correspondientes al STZ en el espectro FT-IR a diferentes temperaturas.

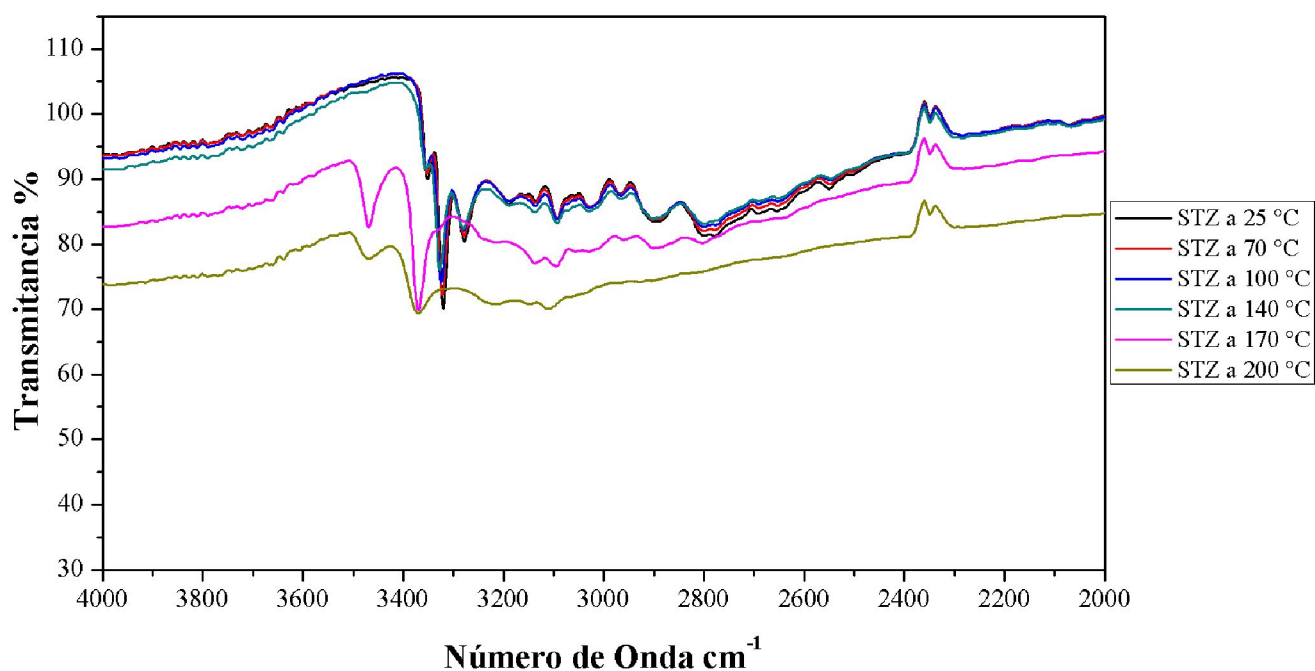


Figura A.7: Superposición de espectros FT-IR de STZ a diferentes temperaturas 25 °C, 70 °C, 100 °C, 140 °C, 170 °C y 200 °C observación de 4000 a 2000 cm^{-1} .

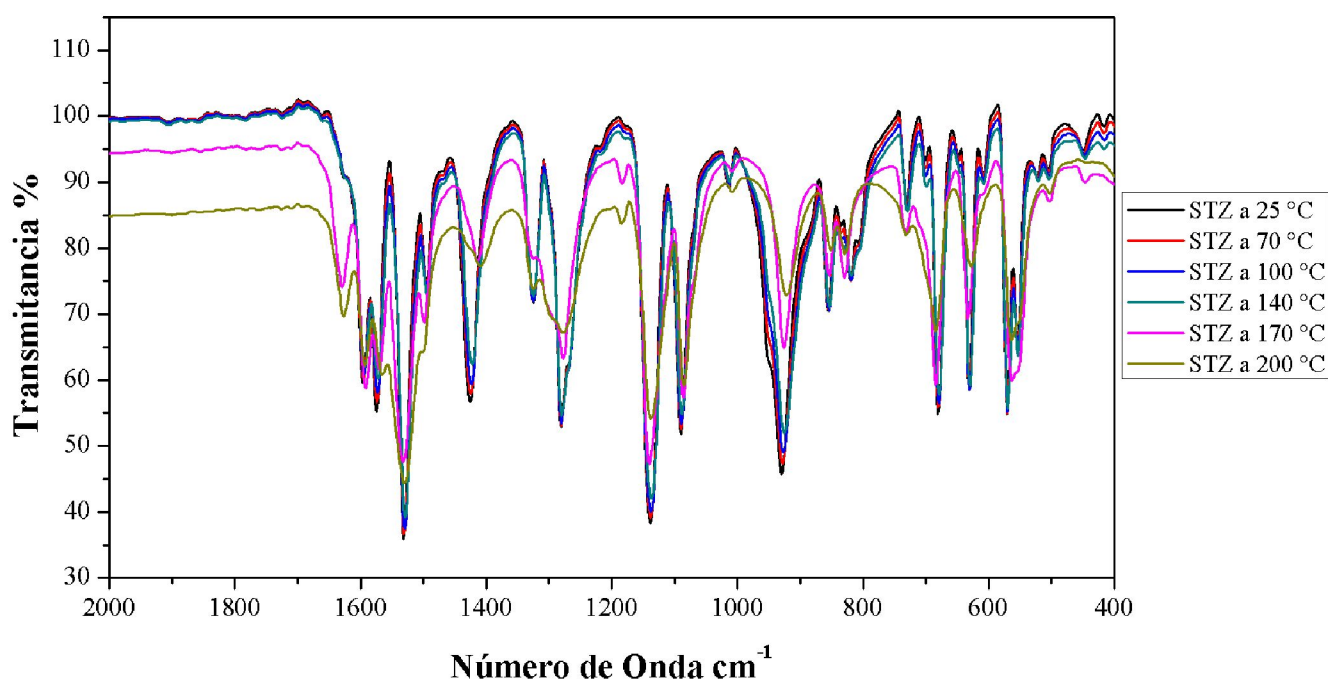


Figura A.8: Superposición de espectros FT-IR de STZ a diferentes temperaturas 25 °C, 70 °C, 100 °C, 140 °C, 170 °C y 200 °C observación de 2000 a 400 cm^{-1} .

Se muestran los gráficos correspondientes a las siete combinaciones restantes de SA con cada ácido orgánico a 25 °C.

Combinación STZ-MAL

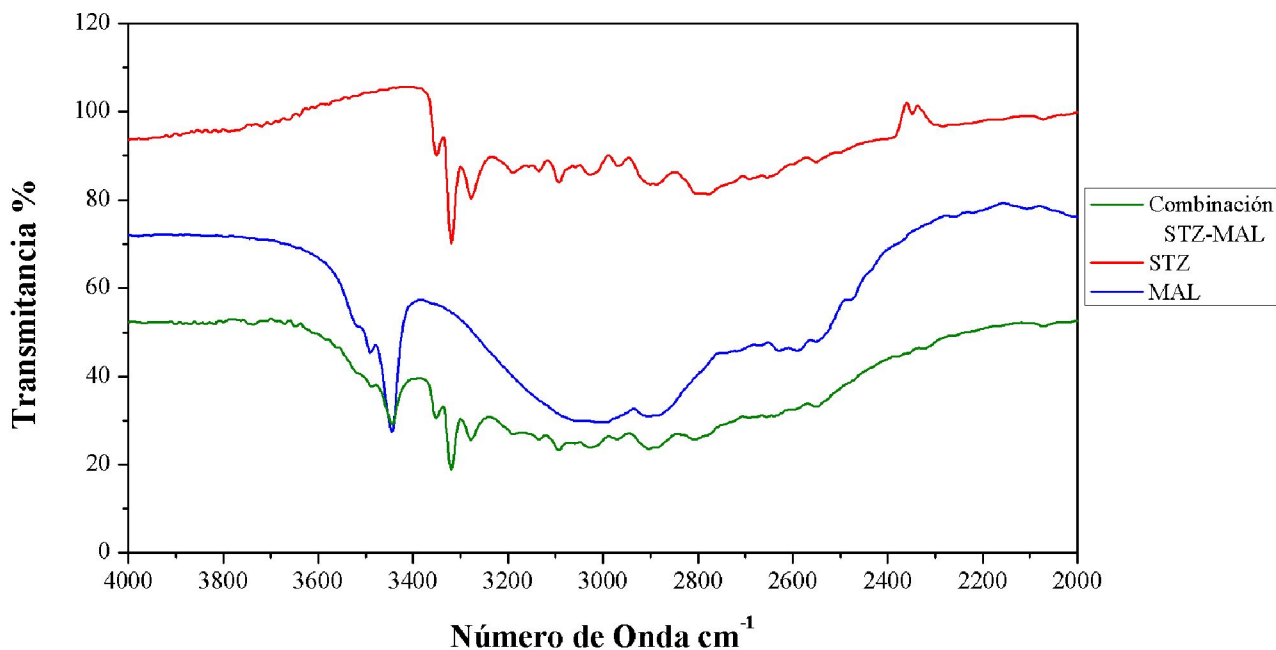


Figura A.9: Superposición de espectros FT-IR de STZ, MAL y combinación de molienda STZ-MAL a 25 °C, observación de 4000 a 2000 cm⁻¹.

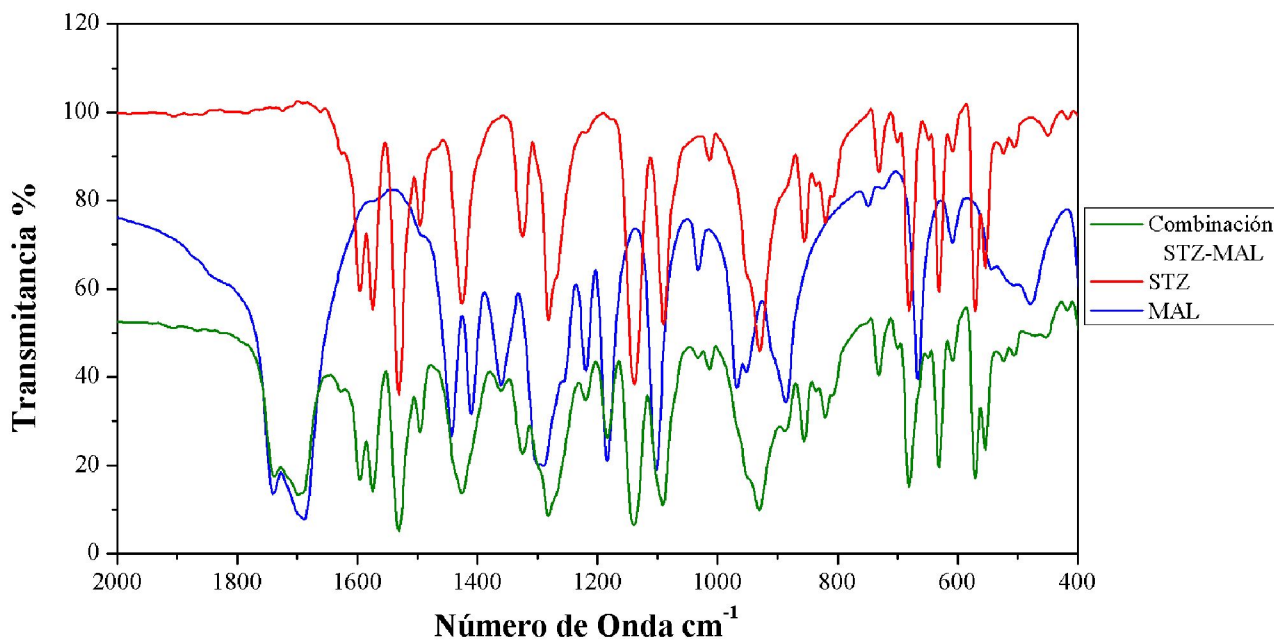


Figura A.10: Superposición de espectros FT-IR de STZ, MAL y combinación de molienda STZ-MAL a 25 °C, observación de 2000 a 400 cm⁻¹.

Combinación STZ-CIT

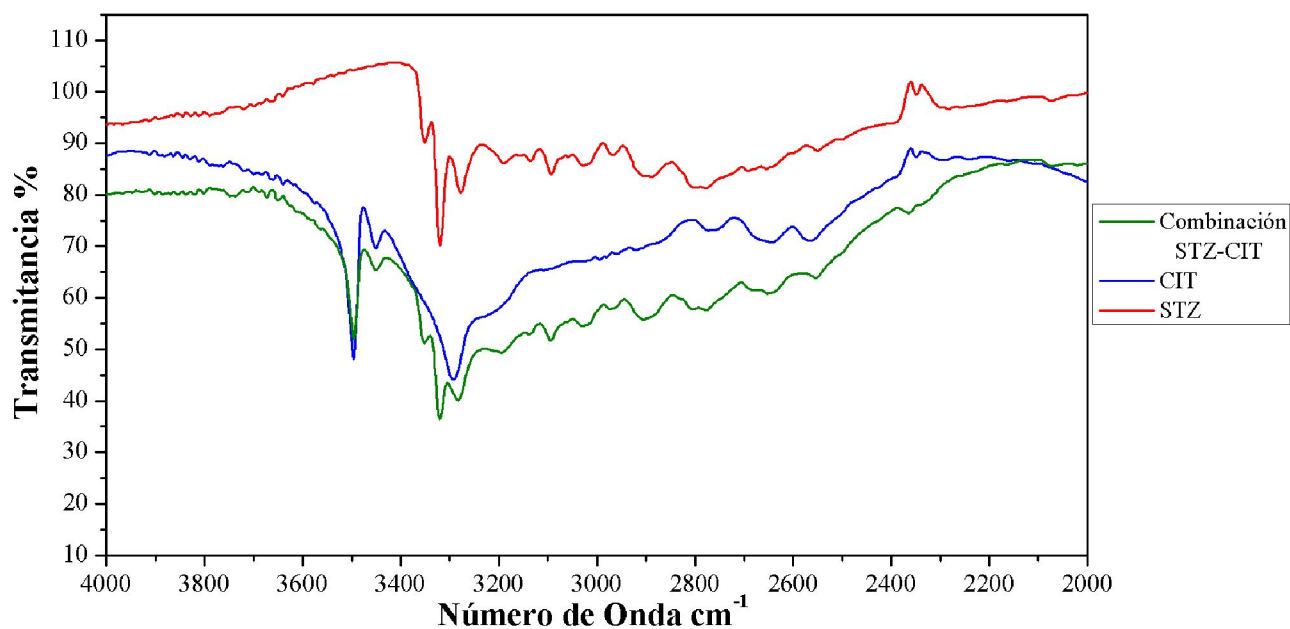


Figura A.11: Superposición de espectros FT-IR de STZ, CIT y combinación de molienda STZ-CIT a 25 °C, observación de 4000 a 2000 cm^{-1} .

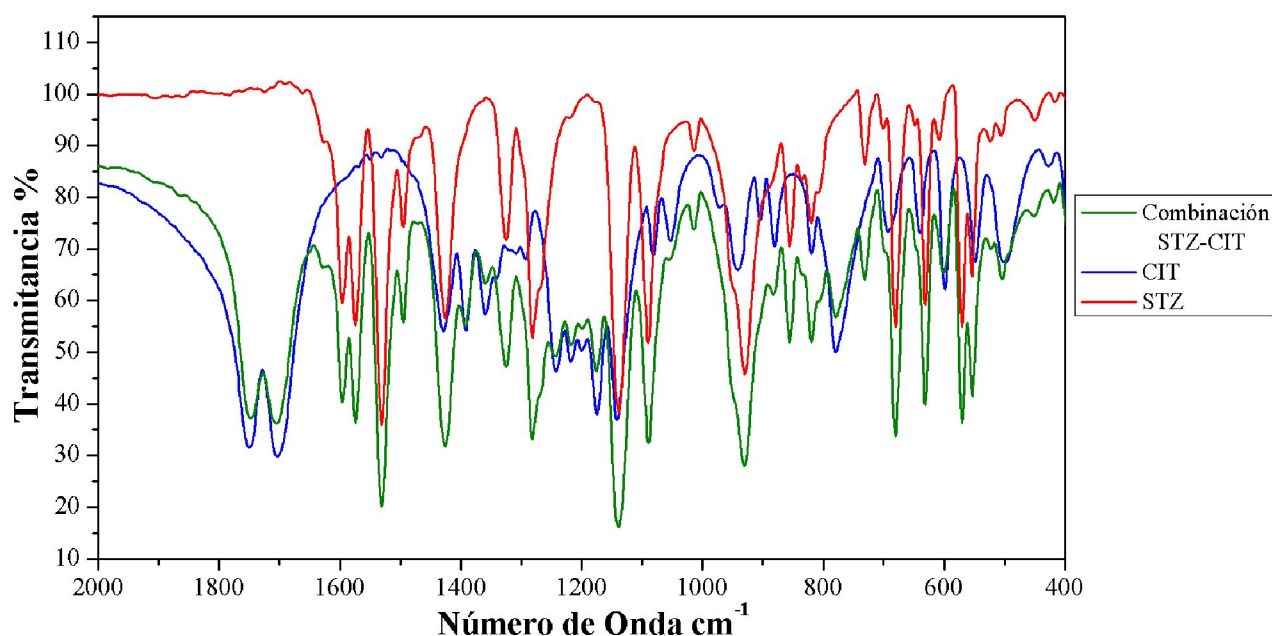


Figura A.12: Superposición de espectros FT-IR de STZ, CIT y combinación de molienda STZ-CIT a 25 °C, observación de 2000 a 400 cm^{-1} .

Combinación STZ-SUCC

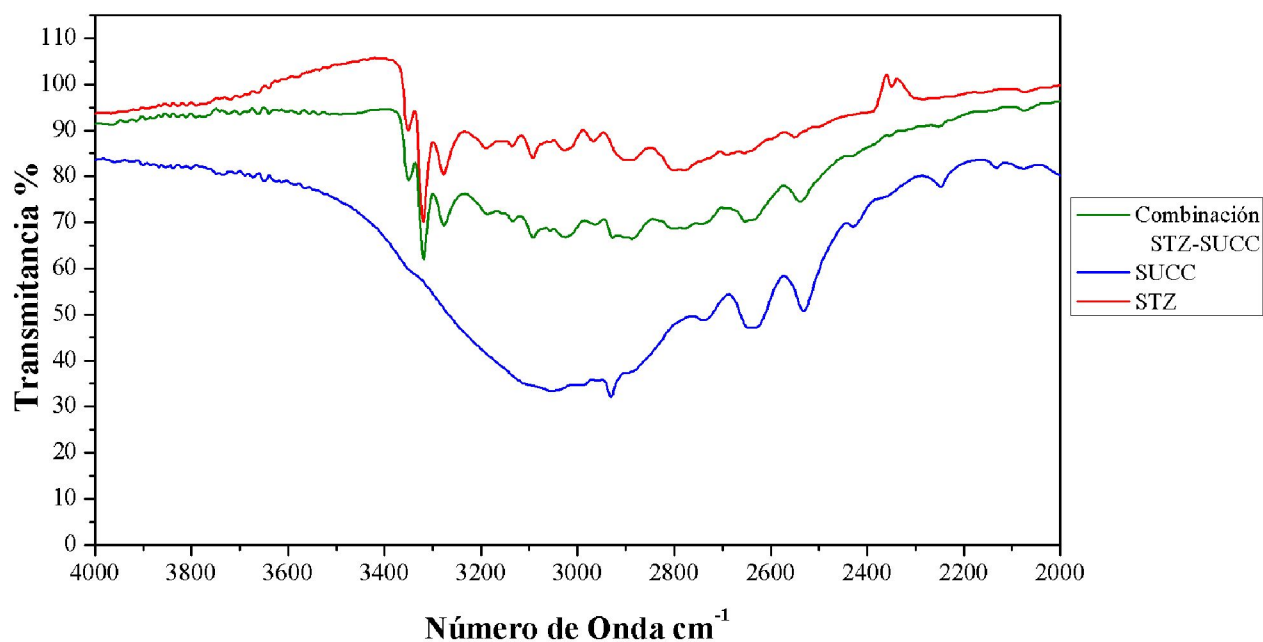


Figura A.13: Superposición de espectros FT-IR de STZ, SUCC y combinación de molienda STZ-SUCC a 25 °C, observación de 4000 a 2000 cm⁻¹.

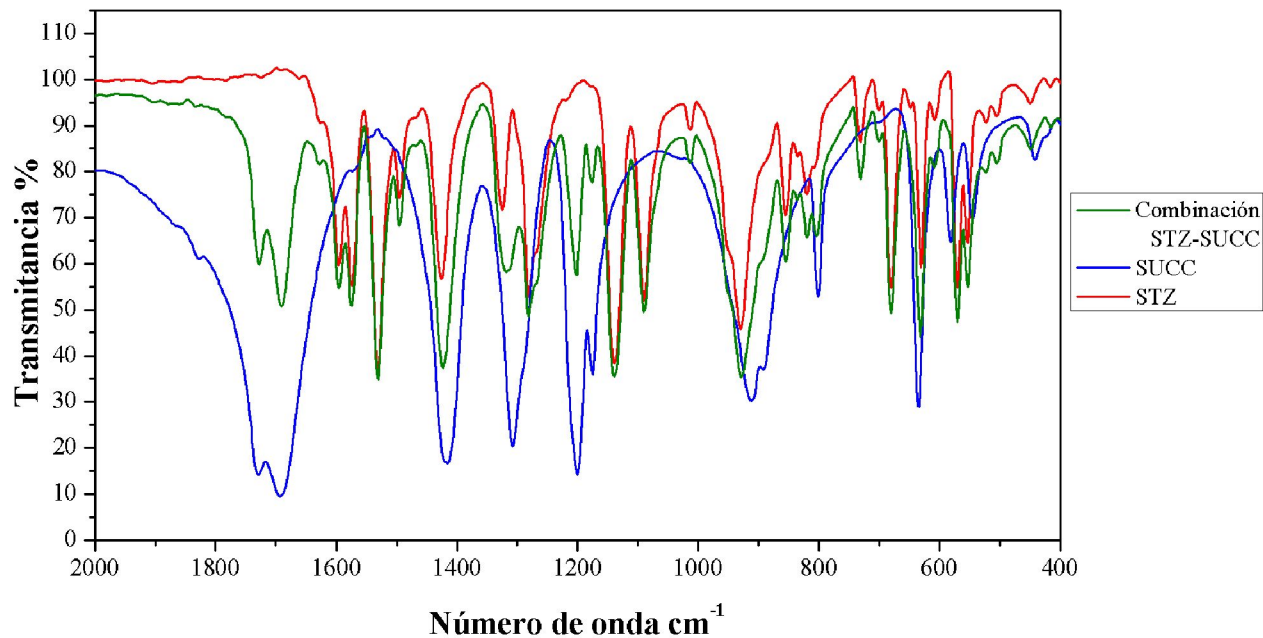


Figura A.14: Superposición de espectros FT-IR de STZ, SUCC y combinación de molienda STZ-SUCC a 25 °C, observación de 2000 a 400 cm⁻¹.

Combinación SDZ-OXA

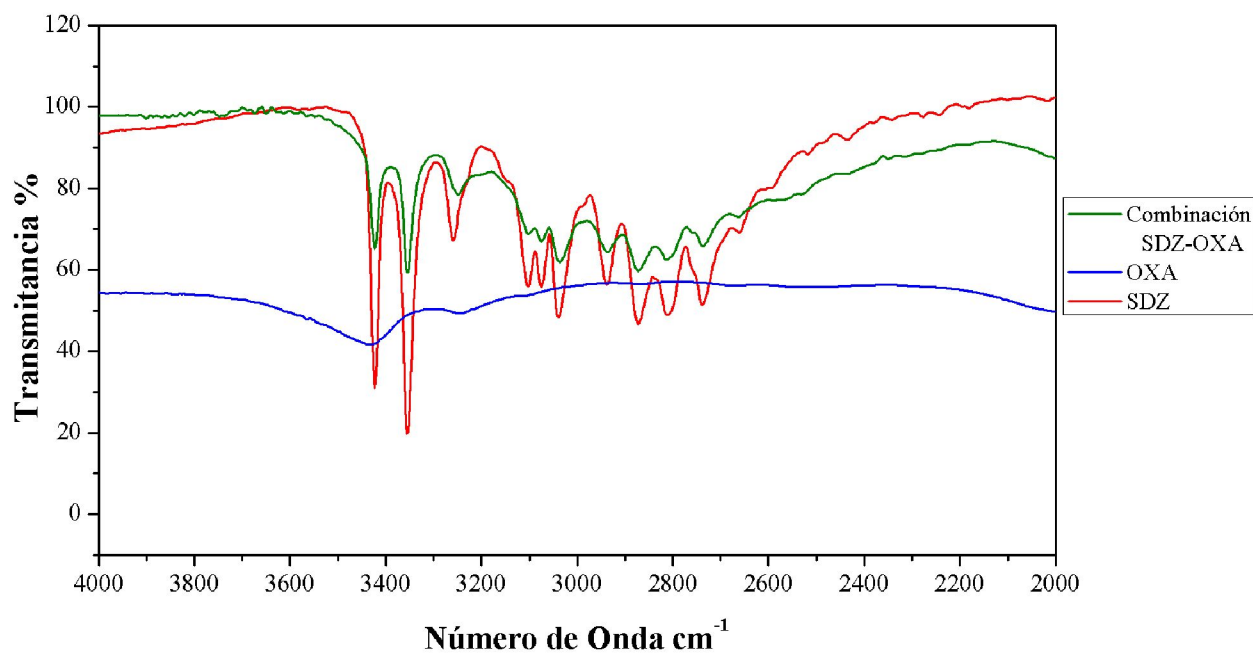


Figura A.15: Superposición de espectros FT-IR de SDZ, OXA y combinación de molienda STZ-OXA a 25 °C, observación de 4000 a 2000 cm⁻¹.

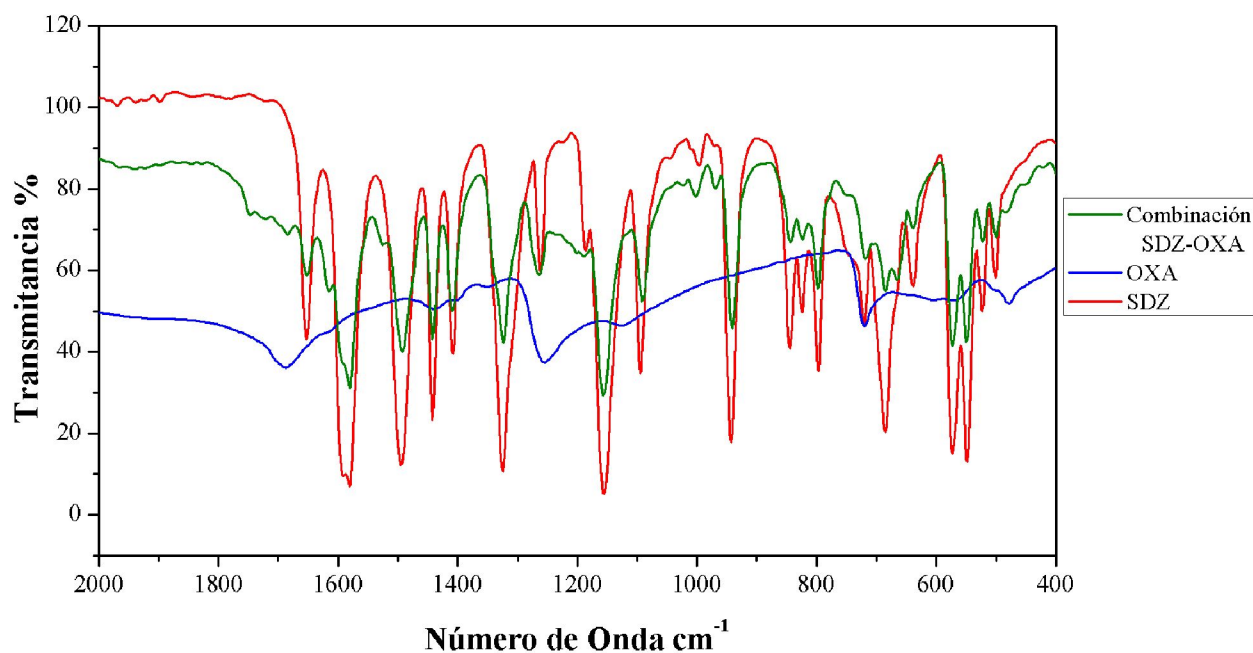


Figura A.16: Superposición de espectros FT-IR de SDZ, OXA y combinación de molienda STZ-OXA a 25 °C, observación de 2000 a 400 cm⁻¹.

Combinación SDZ-MAL

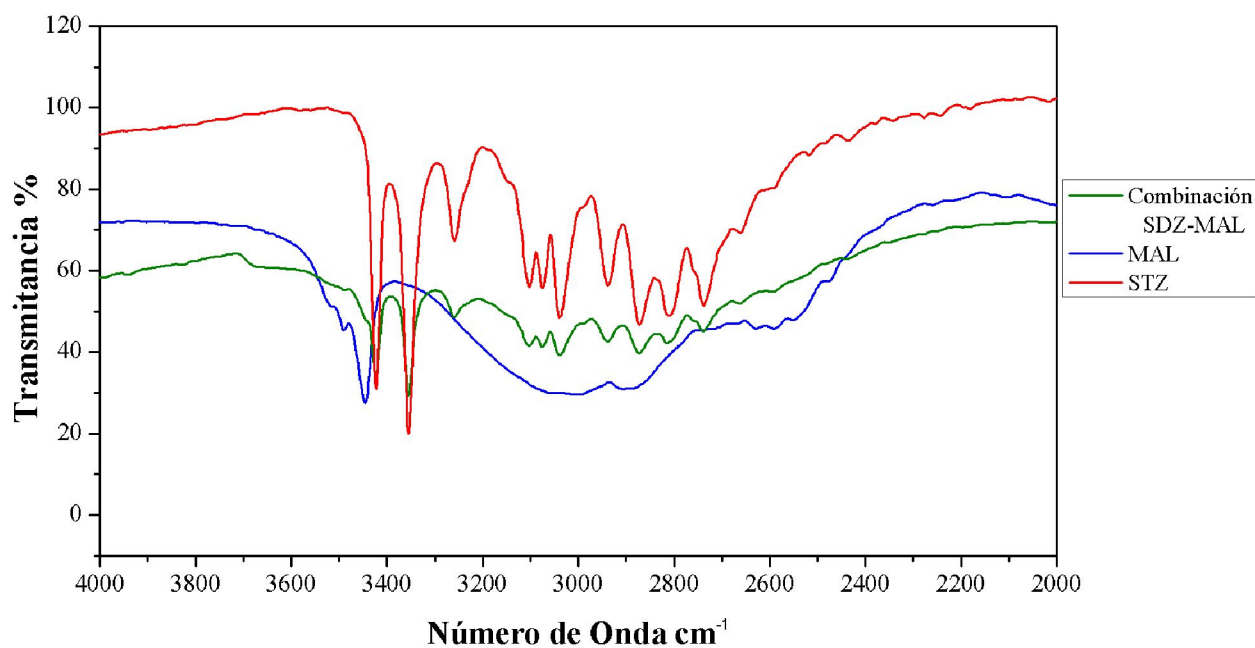


Figura A.17: Superposición de espectros FT-IR de SDZ, MAL y combinación de molienda STZ-MAL a 25 °C, observación de 4000 a 2000 cm^{-1} .

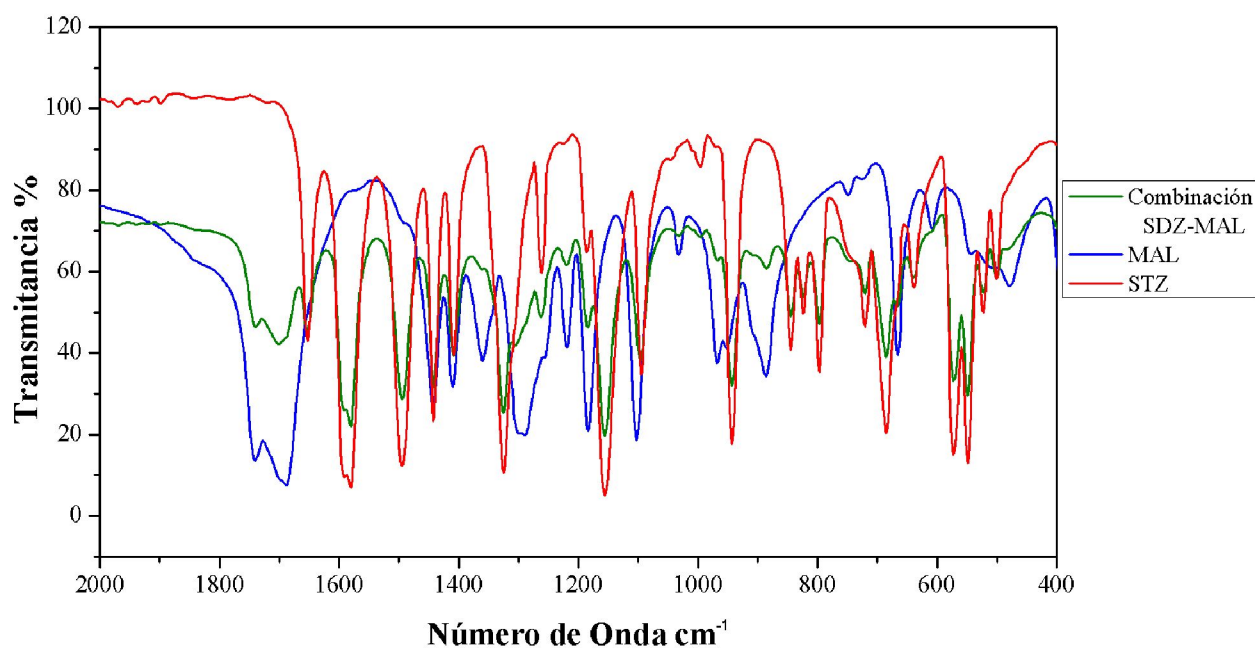


Figura A.18: Superposición de espectros FT-IR de SDZ, MAL y combinación de molienda STZ-MAL a 25 °C, observación de 2000 a 400 cm^{-1} .

Combinación SDZ-CIT

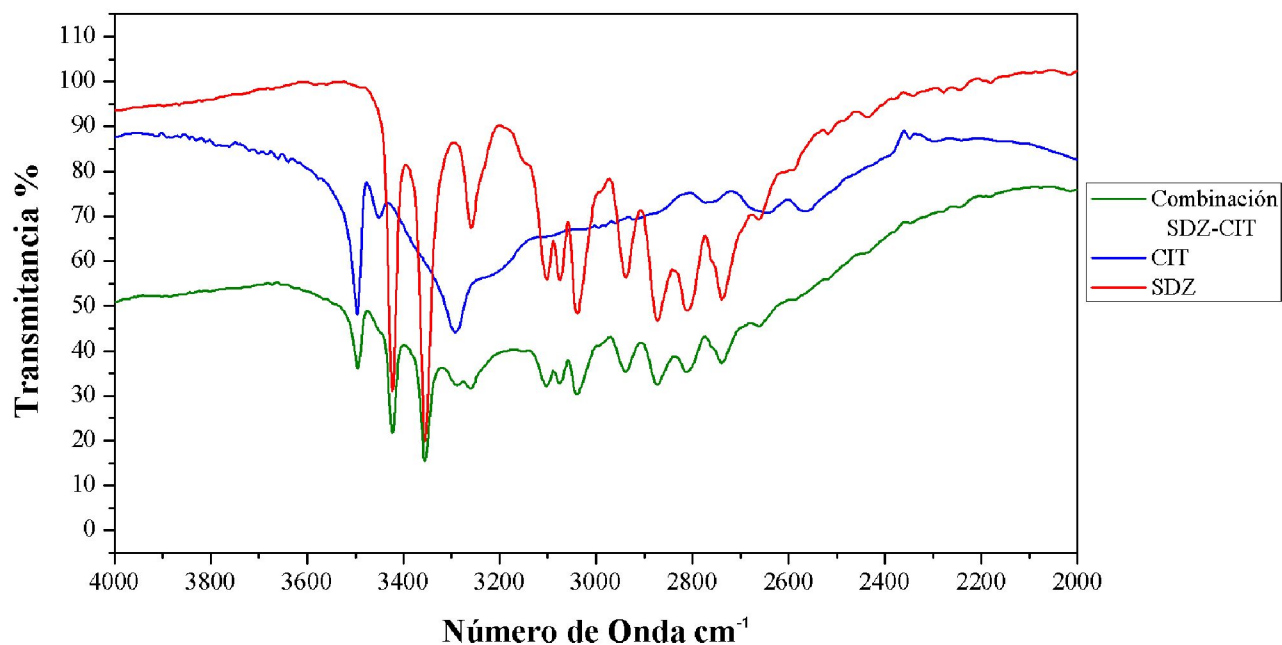


Figura A.19: Superposición de espectros FT-IR de SDZ, CIT y combinación de molienda STZ-CIT a 25 °C, observación de 4000 a 2000 cm^{-1} .

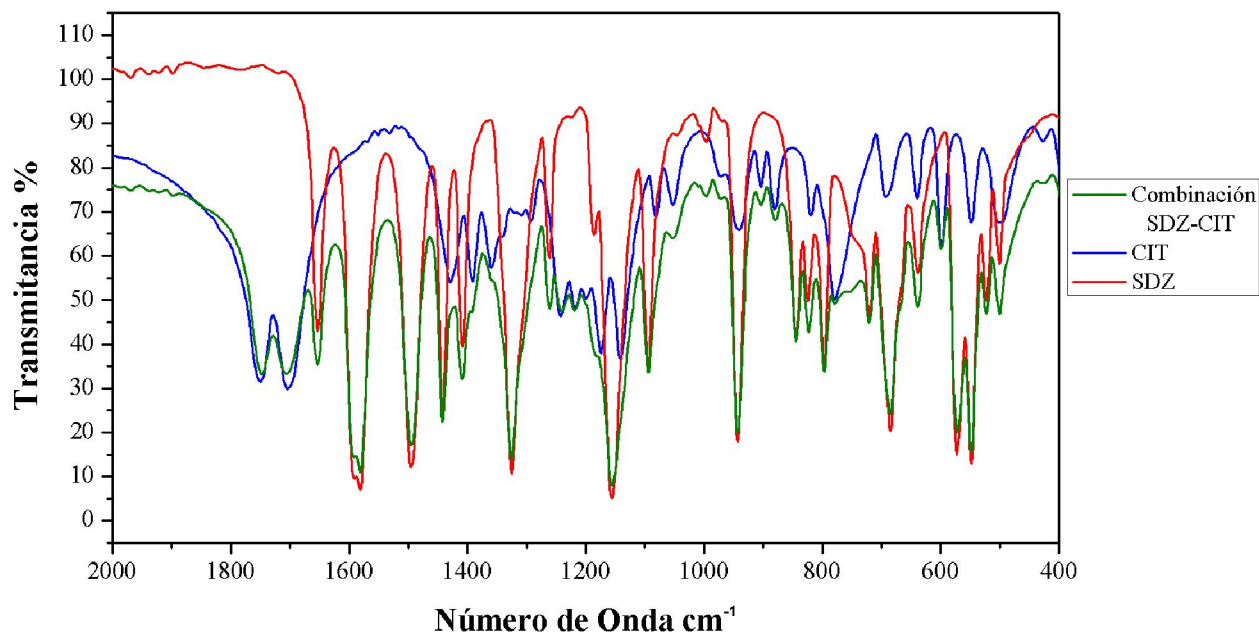


Figura A.20: Superposición de espectros FT-IR de SDZ, CIT y combinación de molienda STZ-CIT a 25 °C, observación de 2000 a 400 cm^{-1} .

Combinación SDZ-SUCC

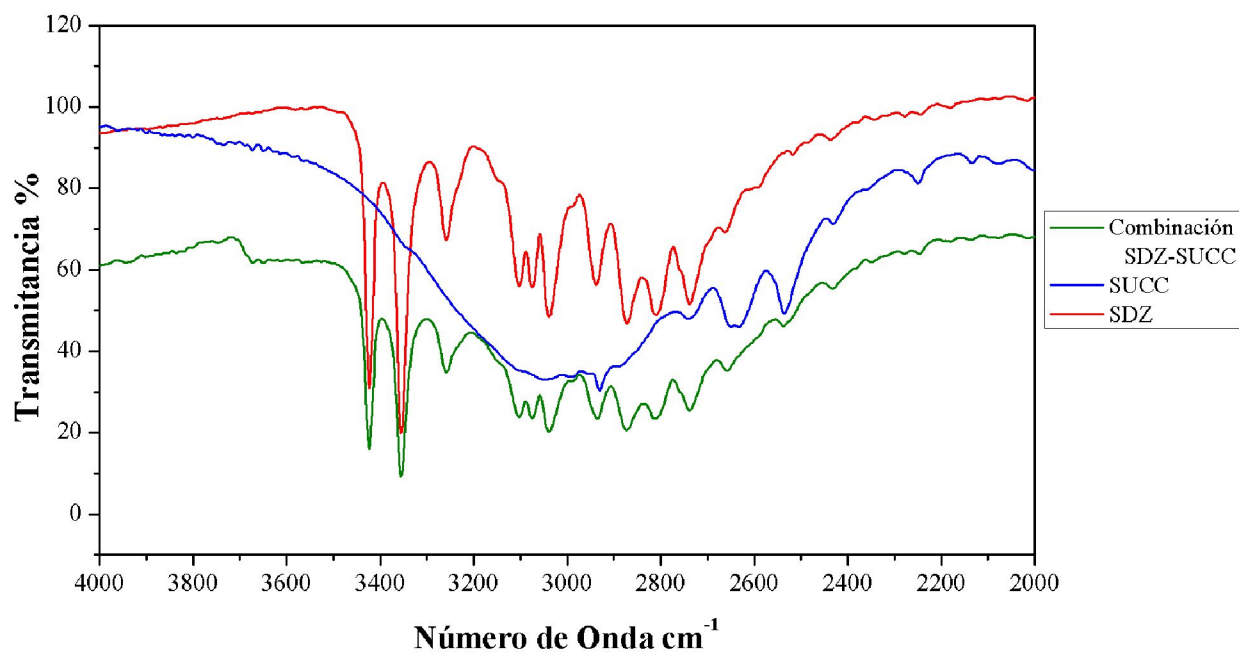


Figura A.21: Superposición de espectros FT-IR de SDZ, SUCC y combinación de molienda SDZ-SUCC a 25 °C, observación de 4000 a 2000 cm^{-1} .

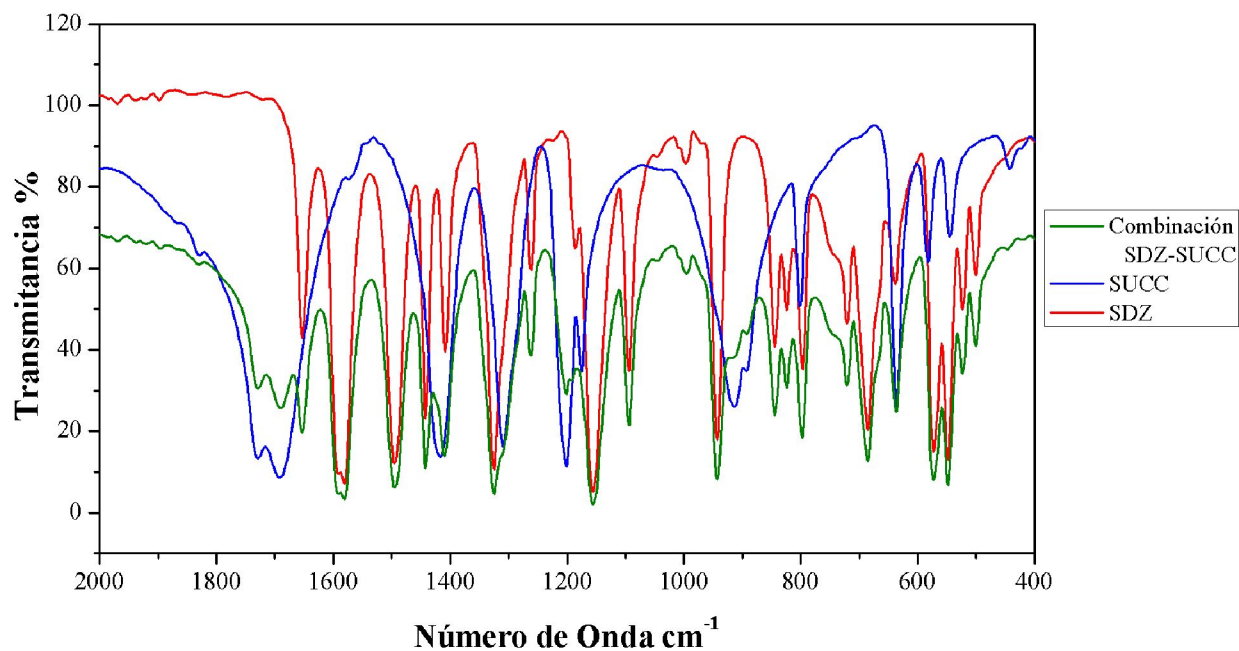


Figura A.22: Superposición de espectros FT-IR de SDZ, SUCC y combinación de molienda SDZ-SUCC a 25 °C, observación de 2000 a 400 cm^{-1} .