

Caracterización por RMN de nuevos complejos de fluoroquinolonas con aluminio.

Ana K. Chattah, Yamila Garro Linck, Gustavo A. Monti, Patricia R. Levstein.
*Facultad de Matemática, Astronomía y Física, Universidad Nacional de Córdoba,
 Ciudad Universitaria, 5000, Córdoba, Argentina.*

Susana A Breda, Rubén H Manzo, María E Olivera
*Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas,
 Universidad Nacional de Córdoba, Ciudad Universitaria, 5000, Córdoba, Argentina.*

Resumen

Un conjunto de nuevos complejos de norfloxacin (NOR) y ciprofloxacino (CIP) con Aluminio, los cuales muestran propiedades farmacéuticas superadoras a sus precursores, se estudiaron usando técnicas de Resonancia Magnética Nuclear de estado sólido. Se compararon los compuestos elaborados a través de dos métodos; uno de ellos permitirá la formulación de los mismos a escala de producción. Los espectros de ^{13}C de alta resolución se obtuvieron a través del experimento de polarización cruzada con rotación al ángulo mágico (CP-MAS). Estos espectros se asignaron utilizando técnicas de edición de ^{13}C cuaternarios y comparando con los espectros en solución de las drogas puras. Se midió $T_{1\rho H}$, el tiempo de relajación espín-red de protones en el sistema rotante a través del espectro de ^{13}C , para todas las sustancias acomplejadas. Los valores de $T_{1\rho H}$ obtenidos, en el rango de 300-500 μs , y alrededor de 2-4 ms, dan indicios de que las muestras no son homogéneas, y poseen mezcla de fases amorfas y cristalinas.

A set of new aluminium complexes of norfloxacin (NOR) and ciprofloxacin (CIP), which show an improvement in their pharmaceutical properties, were studied using solid state Nuclear Magnetic Resonance. The compounds elaborated with two different methods were compared. One of these methods would allow to formulate the complexes at a production scale. High resolution ^{13}C spectra were obtained with the CP-MAS (cross polarization and magic angle spinning) experiment. The spectra were assigned using quaternary carbons edition and comparing with the solution spectra of the pure drugs. The proton relaxation times in the rotating frame, $T_{1\rho H}$, were measured through the ^{13}C spectra of all the complexes. The $T_{1\rho H}$ values, have two behaviors, one of them in the range 300-500 μs and the other in the range 2-4 ms, giving evidencing that the samples are non-homogeneous with amorphous and crystalline phases.

I. INTRODUCCIÓN

Las fluoroquinolonas (FQs) son una familia de agentes antibióticos usados ampliamente en terapia clínica. Norfloxacin (NOR) y Ciprofloxacino (CIP) son los miembros más representativos de esta familia (Figura 1). El diseño de formulaciones líquidas conteniendo estos compuestos encuentra su principal limitación en la baja solubilidad acuosa, en consecuencia son formuladas a pHs ácidos (3.5-4.5). El acomplejamiento de NOR y CIP con aluminio fue utilizado como una estrategia para mejorar la compatibilidad acuosa de estos compuestos, lo que dio origen a los nuevos derivados $(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ y $(\text{HCl.CIP})_3\text{Al}$ ^{1,2}. Estos compuestos son sólidos estables con estequiometría 3:1 y muestran alta solubilidad acuosa a pHs neutros^{3,4}. Las propiedades biológicas de esos compuestos (permeabilidad intestinal y potencia antimicrobiana) no presentaron variaciones significativas como consecuencia del acomplejamiento. Esta estrategia permitió el diseño de formulaciones líquidas superadoras para su utilización por vía oftálmica y ototópica y formulaciones sólidas con favorables propiedades de disolución⁵.

Para la preparación de estos nuevos derivados se utilizó una metodología basada en la precipitación del producto (Método I). Sin embargo es necesaria la adaptación de dicha metodología original (Método II) que permi-

ta la obtención en mayor escala (escalado). El producto obtenido por este último método requiere una exhaustiva caracterización en el estado sólido.

La Resonancia Magnética Nuclear en sólidos (RMN) es una técnica poderosa que permite caracterizar compuestos farmacéuticos⁶. En particular los espectros de alta resolución de ^{13}C obtenidos utilizando la secuencia de pulsos de Polarización cruzada con rotación al ángulo mágico (Cross polarization -magic angle spinning, CP-MAS) contienen valiosa información en las distintas formas sólidas en que se puede encontrar estos compuestos^{7,8}. El experimento de CP-MAS muestra los corrimientos químicos isotrópicos del sólido por lo que los espectros son comparables con los obtenidos en solución. Las diferencias entre espectros de RMN obtenidos para drogas en estado sólido y en solución, dan información acerca del entorno molecular, orden y composición en el sólido. En forma adicional, por ser una técnica no destructiva, la RMN de sólidos tiene la ventaja de brindar información sin modificaciones de la muestra^{9,10}.

En este trabajo, se utilizaron secuencias de pulsos de RMN de estado sólido para estudiar los complejos $(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ y $(\text{HCl.CIP})_3\text{Al}$ obtenidos por ambos métodos de elaboración (Método I y II)¹¹. La RMN ha sido aplicada al estudio de este tipo de compuestos únicamente en solución¹²⁻¹⁴. En nuestro trabajo, el experimento de CP-MAS, junto con secuencias relacionadas, nos

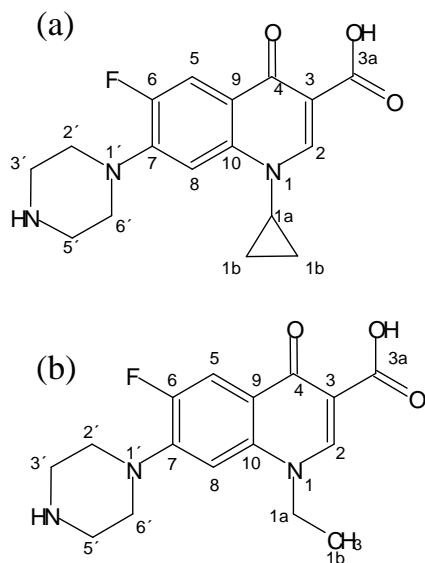


Figura 1: Estructura química de las fluoroquinolonas utilizadas en los complejos, mostrando la numeración usada en los espectros de ^{13}C . (a) Ciprofloxacino (CIP) y (b) Norfloxacino (NOR).

permitió asignar el espectro de ^{13}C y comparar los compuestos obtenidos con los dos métodos de elaboración. Además la RMN nos permitió estudiar la homogeneidad en los distintos compuestos, observando los valores de tiempos de relajación de espín-red de protones en el sistema rotante a través del espectro de ^{13}C .

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Materiales

Norfloxacino, NOR (Parafarm); Ciprofloxacino, CIP (Neutralizado a partir del Clorhidrato de CIP, Parafarm); Cloruro de aluminio hexahidratado, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Riedel de Haën); Alcohol etílico 96°, EtOH (Porta); Acetona (Cicarelli).

B. Métodos

Se obtuvieron los clorhidratos de complejos de CIP y NOR con aluminio ($(\text{CIP} \cdot \text{HCl})_3\text{Al}$ y $(\text{NOR} \cdot \text{HCl})_3\text{Al}$)², con estequiometría 3:1 a partir de dos métodos diferentes:

Método I: Precipitación con Acetona.

Una solución de CIP (o NOR) y $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ fue calentada suavemente bajo agitación. Posteriormente se deja enfriar hasta aproximadamente 50°C y se procede a agregar lentamente una mezcla de Acetona: agua (26:1),

continuando con la agitación y calentamiento a reflujo, hasta ebullición. El sólido obtenido es filtrado y secado (a 100°C) hasta peso constante.

Método II: Granulación con Alcohol etílico

CIP (ó NOR) y $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en forma sólida y manteniendo la relación 3:1, fueron mezclados hasta homogeneidad y se agrega EtOH mientras se malaxa suavemente. La pasta obtenida se deja a temperatura ambiente aproximadamente 15 horas. Transcurrido este período de tiempo se seca en estufa hasta peso constante.

Cuadro I: Corrimientos químicos de los espectros de ^{13}C de NOR y CIP en solución. El doblete mostrado para ciertos núcleos se origina en el acoplamiento con el núcleo de Flúor.

^{13}C	NOR [ppm]	CIP [ppm]
4	175.3	168.0
3a	168.8	167.2
6	155.7 - 150.7	155.2 - 150.1
2	147.7	147.5
7	145.2 - 145.0	145.4 - 145.1
9	137.2	138.8
10	119.1-119.0	119.0
5	111.3 - 110.8	113.2 - 113.0
3	106.0	109.5
8	105.7	104.5
2'6'-3'5'	46.8 - 43.6	44.6 - 41.6
1a	50.7	36.7
1b	14.17	6.7

III. EXPERIMENTOS DE RMN

Los espectros de RMN de ^{13}C en solución se obtuvieron en un espectrómetro Bruker AT200 FT operando a una frecuencia de 50 MHz. La solución de NOR se obtuvo haciendo una suspensión de NOR en D_2O y adicionando suficiente DCl para disolverlo. En la solución de CIP se usó como solvente agua deuterada (D_2O). Los espectros de ^{13}C se registraron usando la señal del Dioxano como referencia interna. El Cuadro I muestra los corrimientos químicos correspondientes a los espectros de ^{13}C en solución para las drogas puras NOR y CIP. Las asignaciones en estos casos fueron hechas comparando con trabajos previos de la literatura^{13,15}

Los espectros de ^{13}C en el estado sólido se registraron mediante la técnica de polarización cruzada con rotación al ángulo mágico (cross polarization - magic angle spinning, CP-MAS) y desacople de protones durante la adquisición. En esta técnica se transfiere polarización

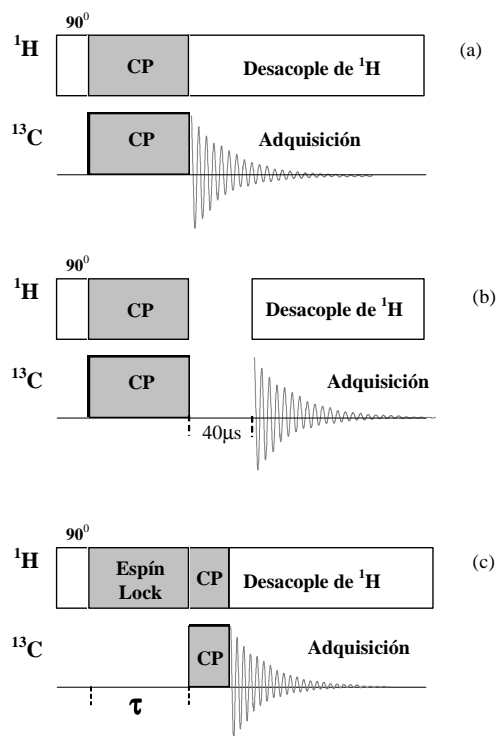


Figura 2: Secuencias de pulsos utilizadas en estado sólido. Durante el tiempo de contacto de CP, se aplican simultáneamente campos de rf a ambos núcleos. (a) Polarización cruzada con desacople de protones. (b) Supresión no cuaternaria. (c) Tiempo de relajación de protones en el sistema rotante, visto a través de ^{13}C .

de los núcleos abundantes (^1H) al sistema diluido (^{13}C) aplicando campos de radio frecuencia (rf) simultáneamente a ambos núcleos en la denominada condición de Hartman-Hahn durante un intervalo llamado *tiempo de contacto*¹⁶. Luego se adquiere la señal de ^{13}C desacoplando protones para eliminar la interacción dipolar heteronuclear, ver Figura 2. La rotación al ángulo mágico produce una promediación de la anisotropía de corrimiento químico. Esta secuencia permite obtener un espectro de alta resolución en ^{13}C en estado sólido^{9,17}. Se utilizó para los experimentos de estado sólido un espectrómetro Bruker Avance II -300 operando a una frecuencia de 75 MHz para ^{13}C . Las muestras se colocaron en rotores de 4 mm dentro de una sonda para MAS, y las mediciones se realizaron a temperatura ambiente. El ángulo mágico se ajustó utilizando la resonancia del ^{79}Br en KBr. El adamantano se utilizó para referenciar los espectros de ^{13}C . Los compuestos NOR y CIP se rotaron a 7 kHz y 8 kHz para reconocer en forma sencilla las bandas rotacionales. La velocidad de rotación para $(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ y $(\text{HCl.CIP})_3\text{Al}$ fue 10 kHz ya que a esa velocidad, desaparecen las bandas rotacionales de estos compuestos. Para cada compuesto se registraron diferentes números de FIDs (free induction decay), tomadas con una diferencia de tiempo de 4s,

a fin de obtener una adecuada razón señal ruido. El tiempo de contacto de la polarización cruzada fue 2 ms para todas las muestras. Se utilizó la secuencia TPPM (two pulse phase modulation) con un campo de radio frecuencia (H_{1H}) dado por $\omega_{1H}/2\pi = \gamma_H H_{1H}/2\pi = 60$ kHz para el desacople de protones durante la adquisición¹⁸.

En todos los compuestos se realizó la secuencia de supresión no cuaternaria (non-quaternary suppression, NQS). Esta es una modificación de la secuencia CP-MAS, en donde se remueven los campos de radio frecuencia de ^1H y ^{13}C , durante $40\mu\text{s}$ antes de la adquisición, lo que permite que la magnetización de algunos ^{13}C disminuya debido al acople dipolar con ^1H . Esto da como resultado una supresión de las señales de carbonos provenientes de grupos CH and CH_2 . Este experimento permite identificar señales provenientes de carbonos cuaternarios (y grupos metilos) y realizar una mejor asignación en el espectro de ^{13}C en estado sólido¹⁷. Los espectros de edición de carbonos cuaternarios de los compuestos CIP y NOR se observan en la Figura 3.

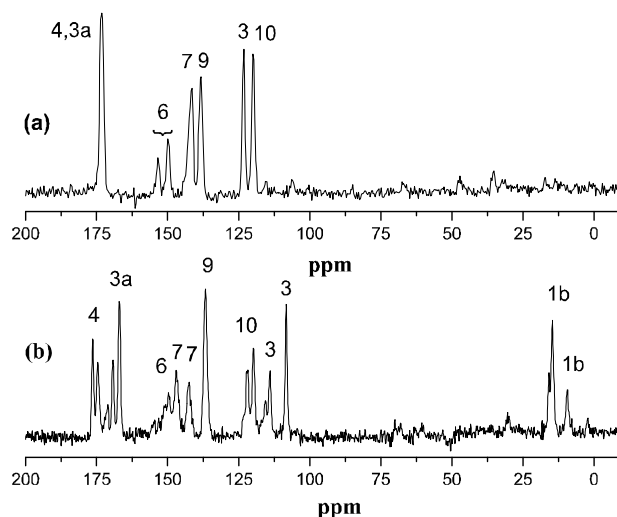


Figura 3: Espectro de edición de carbonos cuaternarios obtenidos con el experimento NQS. Tiempo de contacto de 2 ms, velocidad de rotación 8 kHz. (a) Espectro de CIP con 3000 fids. (b) Espectro de NOR con 2000 fids.

El tiempo de relajación espín-red de protones en el sistema rotante ($T_{1\rho H}$) para los compuestos a complejados, obtenidos con ambos métodos de elaboración fue medido a través de la señal de ^{13}C . En esta secuencia se aplica un campo de espín-lock durante un tiempo variable antes de transferir la magnetización a ^{13}C durante un tiempo de contacto de $80\mu\text{s}$. Este tiempo se eligió suficientemente corto, para que esté dominado por la polarización de los ^1H directamente ligados a cada ^{13}C . Luego se adquiere la señal de ^{13}C desacoplando protones, como se muestra en la figura 2. Los valores de $T_{1\rho H}$ son sensibles a los

movimientos en la escala de los kHz y son muy útiles para estudiar compuestos espacialmente inhomogéneos o con diferentes grados de cristalinidad^{8,9}. El campo de radio frecuencia aplicado a protones fue caracterizado por $\omega_{1H}/2\pi = 40$ kHz. Todos los espectros se obtuvieron a 10 kHz de velocidad de rotación al ángulo mágico. El tiempo de espín-lock, τ , fue incrementado de 20 μ s hasta 8 ms. Durante este tiempo la magnetización de protones en el sistema rotante (es decir con espín-lock aplicado) decae, por lo tanto observando la intensidad de la magnetización de ^{13}C en función de τ obtenemos una medida de $T_{1\rho H}$.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Análisis de los espectros CP-MAS de ^{13}C

1. Ciprofloxacino y complejos de CIP con aluminio

Con el objetivo de comparar los complejos obtenidos con los dos métodos de elaboración y relacionarlos con la droga pura, los espectros de CP-MAS de ^{13}C con sus asignaciones tentativas, se muestran en la Figura 5. El cuadro II muestra los corrimientos químicos de CIP y sus complejos. En el caso del espectro de CIP pura, las

Cuadro II: Corrimientos químicos de los espectros de CP-MAS de ^{13}C de CIP y sus complejos. Los valores corresponden a picos detectables. Algunos corrimientos químicos se tomaron directamente del espectro de edición de carbonos cuaternarios.

^{13}C	CIP [ppm]	(HCl.CIP) ₃ Al Método I [ppm]	(HCl.CIP) ₃ Al Método II [ppm]
4	173.2	172.3	173.2
3a	172.9	171.0-168.8	170.1-169.3
6	152.8-149.2	155.8-151.9	155.1-151.4
2	143.0	149.8	150.6
7	141.5	145.2	145.9
9	138.0	140.4-138.3	140.1
3	123.3	111.5	112.3-110.6
10	119.8	120.0-118.0	123.6-120.3
5	115.3	109.7	109.3
8	106.2	104.8-103.5	107.0
2'6'-3'5'	45.6-42.6	44.5	46.3-43.5
1a	35.4	37	37.7-35.8
1b	7.5	9.3	10.8-9.4-6.3

asignaciones fueron hechas comparando con el correspondiente espectro en solución (Cuadro I) y teniendo en cuenta el experimento de NQS (Figura 3). Los espectros en estado sólido son comparables con los de solución

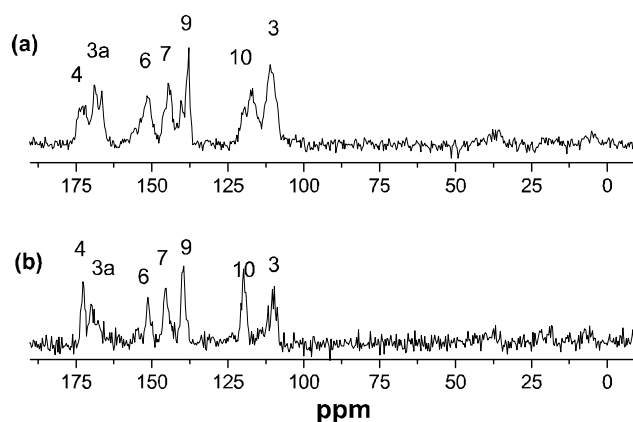


Figura 4: Espectros de edición de carbonos cuaternarios para los complejos de ciprofloxacina. El tiempo de contacto durante CP fue 2 ms y la velocidad de rotación 10 kHz. (a) (HCl.CIP)₃Al (I), (b) (HCl.CIP)₃Al (II)

ya que el experimento CP-MAS muestra los corrimientos químicos isotrópicos del sólido. En el espectro de CIP es claro observar el doblete correspondiente a C(6) originado en la interacción dipolar con su núcleo vecino de flúor. Las resonancias de C(9) y C(10) mantienen una posición similar a las correspondientes del espectro en solución, por lo cual fueron asignadas en forma directa. Por otra parte la línea espectral de C(3) está a ppm más altos que en solución y C(4) y C(3a) aparecen con una única línea en el espectro de estado sólido.

Las asignaciones para (HCl.CIP)₃Al (I y II) fueron hechas comparando con el espectro CP-MAS de ^{13}C para CIP y teniendo en cuenta el espectro de edición de carbonos cuaternarios de cada complejo (Figura 4). En general, podemos observar en los espectros de los complejos, que se forman tres grupos de señales por encima de los 100 ppm. En cada uno de estos grupos los núcleos de C(3a), C(9), C(10) se pueden asignar directamente, el resto de las resonancias en dichos grupos son identificadas usando NQS.

En estudios previos se caracterizaron los complejos en estado sólido mediante técnicas espectroscópicas, Difracción de Rayos X de polvos (DRXP) y calorimétricas¹. En las mismas pudo verse que la reacción entre el Al y la FQ ocurre en forma completa. Por otro lado, estudios previos informan las asignaciones por RMN de ^1H y ^{13}C en solución correspondientes a FQ y los complejos^{1,12,13}.

Los espectros de ^{13}C de los complejos muestran en general los mismos grupos que CIP, pero con mayor multiplicidad como consecuencia del acomplejamiento. Además se observa un ensanchamiento de las señales, lo cual es consistente con la naturaleza amorfa previamente

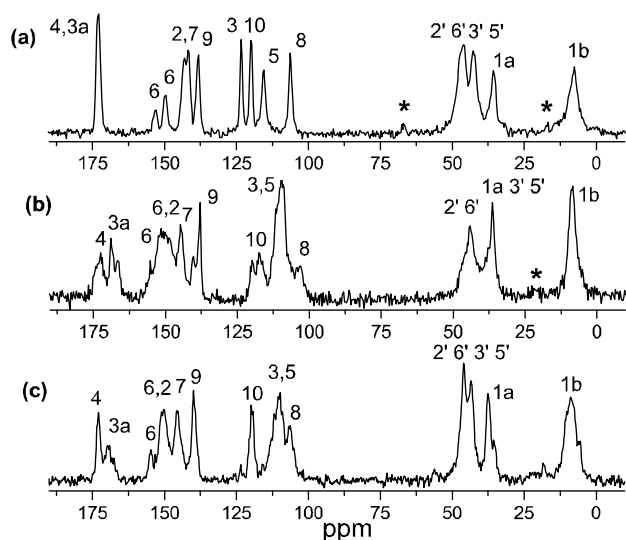


Figura 5: Espectros CP-MAS de ^{13}C de Ciprofloxacino pura y acomplejado con aluminio. Se muestran las asignaciones tentativas usando la numeración de la Fig 1. El tiempo de contacto durante CP fue 2 ms. (a) El espectro de CIP fue adquirido con 2000 fids. Los asteriscos señalan las bandas rotacionales. (b) Espectro de $(\text{HCl.CIP})_3\text{Al}$ obtenido por el método I, adquirido con 2000 fids. (c) Espectro de $(\text{HCl.CIP})_3\text{Al}$ obtenido por el método II, adquirido con 1500 fids.

evidenciada por DRXP. En los espectros de los complejos de la figura (5) vemos que la señal correspondiente a C(4) y C(3a) se separa y una de ellas se corre a ppm más bajos. Otra línea que sufre un corrimiento apreciable es la correspondiente a C(3), moviéndose desde 123.3 ppm en CIP a 111.5 o 112.5 al acomplejarse. Estos hechos dan indicios de que el oxígeno carboxílico ligado a C(3a) interviene en la coordinación con el aluminio. Este grupo es el principal grupo de reacción con el ion de aluminio. Trabajos previos realizados en complejos de drogas de la familia de las fluoroquinolonas, como la lomefloxacino, muestran que los núcleos de carbono asociados a los oxígenos coordinados con el aluminio se mueven a ppm más bajos, en espectros de ^{13}C en solución al acomplejarse con aluminio. En ese caso, los autores sugieren que 3 moléculas de lomefloxacino se coordinan con el aluminio a través del grupo carboxílico de C(3a) y el carbonilo de C(4)¹²⁻¹⁴. En nuestro espectro de ^{13}C en estado sólido, no observamos corrimiento de la línea de C(4) al acomplejarse, aunque estudios previos por espectros de IR muestran que el aluminio es coordinado tanto en los casos de CIP como de NOR a través de los oxígenos de C(4) y del grupo carboxílico de C(3a)^{1,11}.

Existen diferencias notables a partir de los datos de RMN entre los complejos de $(\text{HCl.CIP})_3\text{Al}$ elaborados con ambos métodos. Ambos espectros muestran líneas de un ancho superior a los 80 Hz. El espectro del complejo

de CIP del método II muestra un porcentaje de cristalinidad similar al correspondiente del complejo elaborado por el método I, tal como fuera observado por DRXP (ver Fig 5). Pequeñas señales que se observan en 56 ppm y 18 ppm en $(\text{HCl.CIP})_3\text{Al}$ (II) y que no están presentes en $(\text{HCl.CIP})_3\text{Al}$ (I) o en CIP pura, muestran evidencia sobre la presencia de moléculas de etanol incorporadas a la estructura del complejo, formando un solvato. La RMN es una técnica importante para reconocer solvatos, debido a las posiciones precisas de las resonancias de los mismos, no siendo observables en otro tipo de espectroscopía como por ejemplo, IR²⁰. En ambos complejos no hay señales correspondientes a droga pura. Llegamos a esta conclusión observando los corrimientos de C(3), que se corre notoriamente a bajos ppm, y C(7) que se encuentra a altos ppm al acomplejarse. Por esto podemos concluir que toda la droga pura ha reaccionado con el aluminio para formar el complejo.

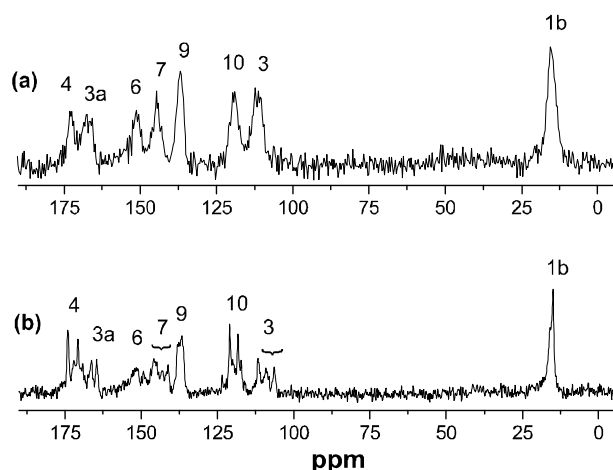


Figura 6: Espectros de edición de carbonos cuaternarios para los complejos de norfloxacino. El tiempo de contacto durante CP fue 2 ms y la velocidad de rotación 10 kHz. Se observan las señales del grupo metilo C(1b). (a) $(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ (I), (b) $(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ (II)

Los complejos de aluminio de NOR y CIP forman sólidos estables en donde las moléculas se coordinan al ion de aluminio con una proporción de 3:1. Por ello es esperable ver una gran cantidad de líneas de resonancia en los espectros de ^{13}C en estado sólido. Los espectros muestran señales anchas y un patrón no-uniforme en el número de líneas espectrales por cada núcleo de carbono. Por ello no podemos deducir una estructura específica únicamente de los datos de RMN.

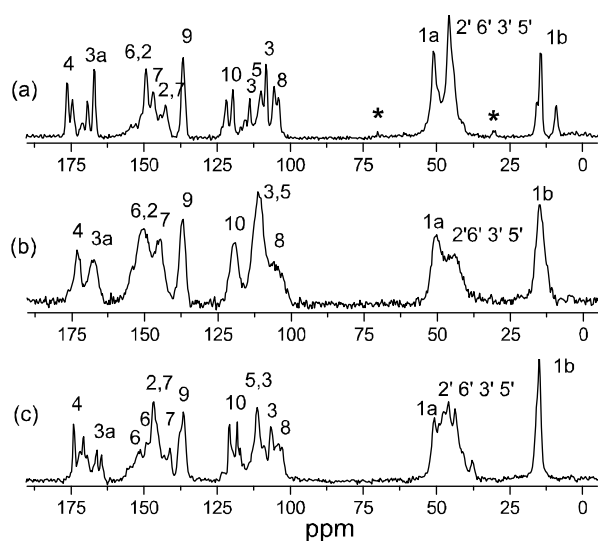


Figura 7: Espectros CP-MAS de ^{13}C de Norfloxacin y sus complejos. Asignaciones tentativas usando la misma numeración que en la figura 1. El tiempo de contacto durante CP fue 2 ms para todos los espectros. (a) Espectro de NOR adquirida con 2000 fids. Las bandas rotacionales están marcadas con asterisco. (b) Espectro de $(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ obtenido por el método I adquirida con 3000 fids. (c) Espectro de $(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ obtenido por el método II adquirida con 4000 fids.

2. Norfloxacin y complejos de NOR con aluminio

Los espectros CP-MAS de ^{13}C de NOR y sus complejos con aluminio elaborados con los métodos I y II se muestran en la Figura 7. Del análisis de dichos espectros, se observó el mismo patrón que CIP, con 5 grupos de señales bien diferenciadas (3 por encima de 100 ppm y 2 por debajo de 60 ppm). El espectro de estado sólido de NOR pura muestra varios picos por cada carbono, revelando información estructural que no es posible observar en el espectro en solución. El cuadro III muestra los corrimientos químicos del espectro de CP-MAS de ^{13}C para NOR y sus complejos.

En cada grupo de señales hay picos que pueden ser identificados fácilmente (C(4), C(9), C(10), C(1a)) comparando con el espectro en solución del mismo compuesto (ver Tabla 1). El resto de los picos en cada uno de esos grupos se asignaron teniendo en cuenta el espectro de edición de carbonos cuaternarios de NOR (Figura 3). Es posible notar, en comparación con el espectro en solución, que la resonancia de C(3) se encuentra en ppm más altos. Además vemos que en C(4), C(3a), C(8) y C(10) hay varios picos con diferentes intensidades indicando diferentes entornos moleculares y evidencia de más de una molécula magnéticamente inequivalente por celda unidad en NOR. Este hecho confirma las diferentes estructuras

Cuadro III: Corrimientos químicos de los espectros de CP-MAS de ^{13}C de NOR y sus complejos. Los valores corresponden a picos detectables. Algunos corrimientos químicos se tomaron directamente del espectro de edición de carbonos cuaternarios.

^{13}C	NOR [ppm]	$(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ Método I [ppm]	$(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ Método II [ppm]
4	176.6-174.9	173.1	174.0-172.1-171.1
3a	171.0-169.1-166.8	167.6	166.5-164.8
6	154.6-152.6-149.0	153.9-151.2	152.1-149.7
2	144.5-149.0	151.0	147.2
7	146.7-142.7	145.2	146.2-143.3-141.6
9	137.0	137.5	137.0
10	121.8-119.7	120.0	121.3-118.3-117.6
3	115.4-113.8-108.1	111.8	112.0-109.4-106
5	110.0	111.0	111.8
8	105.5-104.0	105.4	104.6-103.5
1a	51.4	51.2	51.3
2'6' 3'5'	46.1	46-44	48.1-46.5-44.1
1b	14.4-9.1	15.9	15.3

cristalinas y polimorfos encontradas para NOR¹⁹. Las asignaciones de los espectros de estado sólidos de los compuestos $(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ fueron hechos comparando con el espectro CP-MAS de NOR, y teniendo en cuenta el espectro de edición de carbonos cuaternarios de cada muestra, mostrados en la figura 6. A partir del análisis de los espectros de ^{13}C de los complejos de NOR pueden observarse los mismos grupos pero con anchos de línea mayores, comparados con el fármaco sin acomplejar. Los anchos de línea de $(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ (I) son mayores a 160 Hz indicando el predominio de un material amorfo, donde varias líneas se confunden en una única resonancia ancha. El complejo $(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ (II) muestra anchos de línea por encima de 40 Hz con varios picos correspondientes a cada carbono, indicando un material con mayor porcentaje de parte cristalina. Estos resultados concuerdan con los datos obtenidos por difracción de Rayos X de polvos.¹ La similitud de los espectros de estado sólido de la droga pura y $(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ (II) puede observarse en la Fig. 7. Este hecho hace difícil asociar ciertas características de $(\text{HCl.NOR})_3\text{Al}$ (II) con el proceso de acomplejamiento, ya que pueden ser inherentes a la estructura de NOR. Cambios significativos pueden observarse en las resonancias de C(4) y C(3a), las cuales se corren en conjunto a ppm más bajos. Este hecho es indicativo de coordinación entre el ion de aluminio y los oxygenos de C(4) y del grupo carboxílico de C(3a). En estos complejos C(3) no muestra un corrimiento notable en relación con la droga pura. Los complejos de aluminio de NOR no muestran

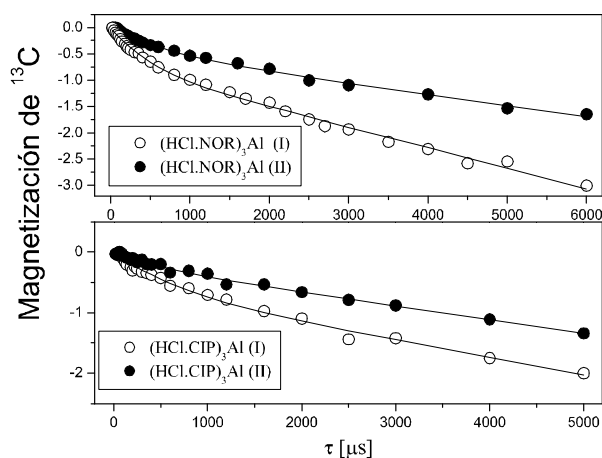


Figura 8: Magnetización de ^{13}C (en escala logarítmica) como función de τ . Se muestran los ajustes de los datos experimentales a la función de la ecuación (1). Gráfico superior: datos correspondientes a los complejos de NOR; en estos espectros se utilizó la señal ancha que se encuentra entre 45 y 50 ppm. Gráfico inferior: datos correspondientes a los complejos de CIP; en estos espectros se utilizó la señal que se encuentra alrededor de 9 ppm.

presencia de droga pura. Este hecho se apoya en la resonancia de C(1b) en 8 ppm de NOR que desaparece al complejarse.¹¹

B. Tiempo de relajación de protones en el sistema rotante $T_{1\rho H}$

La figura 8 muestra la magnetización de ^{13}C , $M_C(\tau)$, para ciertos núcleos, en función del tiempo de espín-lock, τ , para los complejos de CIP y NOR. El comportamiento de $M_C(\tau)$ está bien representado por dos exponenciales,

de la forma,

$$M_C(\tau) = I(A \exp(-\tau/\tau_1) + (1 - A) \exp(-\tau/\tau_2)) \quad (1)$$

indicando un sistema no-homogéneo. Para todas las muestras estudiadas obtuvimos un tiempo de decaimiento corto entre 300-500 μs y un tiempo de decaimiento largo en el rango 2-4 ms. Además los valores de $T_{1\rho H}$ observados para los complejos elaborados con el método I son en general menores que para el método II, indicando una mayor movilidad en el entorno molecular. Los dos regímenes observados para el comportamiento de $M_C(\tau)$ son evidencia de que los compuestos acomplejados tienen mezcla de dominios amorfos o de distintos tipos de amorfo, tal como es posible deducir de la observación de los espectros.

V. CONCLUSIONES

En este trabajo se estudiaron nuevos complejos de los compuestos Ciprofloxacino y Norfloxacino con Aluminio, utilizando técnicas de RMN. En particular se caracterizaron los complejos y se asignaron los distintos espectros de ^{13}C de estado sólido. Los corrimientos de ciertas líneas dieron indicios de la forma de coordinación entre el aluminio y las drogas puras. Las mediciones de $T_{1\rho H}$ mostraron que los sistemas están compuestos por dos fases, y que hay diferencias en la composición de dichas fases para los complejos obtenidos por los dos métodos. Nuevas secuencias se pondrán a punto a fin de completar la caracterización de estos compuestos como así también se complementarán con experimentos en Rx e IR.

VI. AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado con el apoyo las siguientes entidades: Fundación Antorchas, SECyT-UNC, ANPCyT, Agencia Córdoba Ciencia y CONICET.

¹ Tesis doctoral de María Eugenia Olivera, Facultad de Ciencias Químicas - Universidad Nacional de Córdoba (2000).

² Manzo R.H., Mazzieri M.R., Olivera M.E.. Preparación de complejos en estado sólido de clorhidratos de antimicrobianos fluoroquinolónicos (AMFQs) con aluminio. Patente Argentina de invención definitiva AR007762B1 (2005).

³ Olivera M.E., Mazzieri M.R. y Manzo R.H., S.T.P. Pharma Sciences, **10** (3) 251-256 (2000).

⁴ Olivera M.E., Allemandi D.A., Manzo R.H., Acta Farm. Bonaerense, **19** (3), 185-92 (2000).

⁵ Alovero F.L., Olivera M.E., Manzo R.H., Int. Journ. Antimicrobial Agents, **21**, 446-451 (2003).

⁶ Bugay D. E., Advanced Drug Delivery Reviews, **48**, 43-65 (2001).

⁷ M.E. Olivera, M. Rigo, A.K. Chattah, P.R. Levstein, M.

Baschini, R. Manzo, Europ. Journ. Pharm. Sciences, **18** No.5 pag. 337-348 (2003).

⁸ Byrn S.R., Pfeiffer R.R., Stowell J.G., Solid -State Chemistry of Drugs, SSCI, Inc., West-Lafayette, Indiana (1999).

⁹ Tishmack P.A., Bugay D.E., Byrn S.R., J. Pharm. Sci., **92**, 441-474 (2003).

¹⁰ Harris, R.K., Solid State Sciences, **6** 1025-1037 (2004).

¹¹ Chattah A. K., Garro Linck Y., Monti G.A., Levstein P.R., Breda S.A., Manzo R.H., Olivera M.E., enviado a Mag. Res. Chem., (2007).

¹² Turel I., Coord. Chem. Rev., **232**, 27-47 (2002).

¹³ Riley C. M., Ross D. L., Velde D. V., Takusagawa F., J. Pharmaceut. Biomed., **11**, 49-59 (1993).

¹⁴ Sakai M., Hara A., Anjo S., Nakamura M., J. Pharmaceut. Biomed., **18**, 1057-1067 (1999).

¹⁵ Mazuel C. en: K. Florey (Ed), Analytical Profiles of Drug

- Substances, volúmen **20**, Academic Press, San Diego, 557-600, (1991).
- ¹⁶ C.P. Slichter, *Principles of Magnetic Resonance* (Springer, New York, 1992).
- ¹⁷ Harris R.K., . *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. Longman Scientific and Technical, London (1994).
- ¹⁸ Bennet A.E., Rienstra C.M., Auger M., Lakshmi K.V., Griffin R.G., *J. Chem. Phys.*, **103**, 6951 (1995).
- ¹⁹ Turel I., Bukovec P., Quirós M., *Int. J. Pharm.*, **152**, 59-65 (1997).
- ²⁰ Yu, L., . Reutzel S. M, Stephenson G. A., *PSTT*, **1**, No. 3, 118-127 (1998).