

**ESTUDIO TEÓRICO DE LAS PROPIEDADES MOLECULARES DEL ANTIBIÓTICO
CINOXACINA AL NIVEL DE TEORÍA B3LYP/6-311++G(d,p)****THEORETICAL STUDY OF THE MOLECULAR PROPERTIES OF CINOXACIN
ANTIBIOTIC AT THE B3LYP/6-311++G(d,p) LEVEL OF THEORY**DAVID A. BERNIS URBIETA^(1,2), NORMA B. CABALLERO⁽³⁾, MARÍA P. BADENES^(4,5), CARLOS J. COBOS⁽⁴⁾

¹Docente, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

²Jefe de División Medicamentos Veterinarios. Dirección General de Laboratorios (DIGELAB). Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal (SENACSA). San Lorenzo, Paraguay.

³Docente y Coordinadora de Postgrado e Investigación en Química, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

⁴Investigador del CONICET, Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata UNLP, Casilla de Correo 16, Sucursal 4, (1900) La Plata, Argentina.

⁵Docente, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata UNLP.

Email: davidber_10@hotmail.com; norbc37@gmail.com; mbadenes@inifta.unlp.edu.ar; cobos@inifta.unlp.edu.ar

Resumen: La cinoxacina es un antibiótico totalmente sintético de la familia de las quinolonas. Estas sustancias son un grupo de agentes antibacterianos de amplio espectro que tuvieron origen a partir del descubrimiento fortuito del ácido nalidíxico en 1962. Con dicho descubrimiento, comenzó una gran cantidad de investigaciones en torno a este tipo de antibióticos sintéticos. La modificación estructural de los mismos, permitía mejorar sus propiedades y ampliar así el arsenal de medicamentos antibacterianos conocidos. Como resultado de dichas investigaciones y en la búsqueda del antibiótico perfecto en 1971 fue diseñada la cinoxacina. Actualmente se emplean los métodos computacionales en conjunción con los experimentales para realizar investigaciones sobre estos compuestos. Este artículo está basado en un trabajo de tesis donde se realizó la comparación entre diferentes métodos disponibles en el programa GAUSSIAN 03 a fin de establecer cuál de todos los métodos empleados resulta más apropiado para el estudio de este tipo de sustancias. En ese marco, se presenta aquí la caracterización de la molécula de cinoxacina empleando el funcional híbrido B3LYP con el conjunto de bases 6-311++G(d,p).

Palabras clave: Cinoxacina; antibiótico; quinolona; métodos computacionales; DFT.

Abstract: Cinoxacin is a fully synthetic antibiotic of the quinolone's family. These substances are a group of broad-spectrum antibacterial agents originated from the fortuitous discovery of nalidixic acid in 1962. Since then, a great quantity of investigations on these synthetic antibiotics has started. Structural modification of these species allowed to improve their properties and, in this way, to extend the arsenal of known antibacterial drugs. In 1971, cinoxacin was designed as a result of the above investigations and in the search of the perfect antibiotic. Nowadays, computational together with experimental methods are employed to performed investigations about this family of compounds. This article is based on a thesis in which a comparison between the different methods available in the GAUSSIAN 03 program package was performed in order to establish which method result more suitable to study this type of molecules. In this context, the characterization of the cinoxacin molecule using the B3LYP hybrid functional with the 6-311++G(d,p) basis set is presented here.

Keywords: Cinoxacin; antibiotic; quinolone; computational methods; DFT.

INTRODUCCIÓN

Es innegable el gran aporte que ha dado al área de la salud la cinoxalina, un antibiótico de la familia de las quinolonas, de allí la importancia de

augmentar los conocimientos de sus propiedades moleculares.

La necesidad de conocer en profundidad estos compuestos, su conformación y sus propiedades

Primera generación	Segunda generación	Tercera generación	Cuarta generación
Ácido nalidíxico	Ciprofloxacina	Levofloxacina	Balofloxacina
Ácido oxolínico	Enoxacina	Esparfloxacina	Clinafloxacina
Ácido pipemídico	Fleroxacina	Tosufloxacina	Trovafloxacina
Ácido piromídico	Lomefloxacina	Gatifloxacina	Gemifloxacina
Cinoxacina	Norfloxacina	Grepafloracina	Moxifloxacina
Flumequina	Ofloxacina		Pazufloxacina
	Pefloxacina		Sitafloracina

Tabla I. Clasificación de las quinolonas por generaciones.

motivó el desarrollo del presente trabajo. Para ello, hemos estudiado esta quinolona relacionando valores moleculares teóricos con los experimentales disponibles en la bibliografía.

La familia de las quinolonas se clasifica en generaciones, que varían ligeramente de acuerdo a los autores. En 1997 se propuso una nueva clasificación de las quinolonas que más adelante se fue ampliando con la aparición de nuevos compuestos. La Tabla I muestra esta división que tiene que ver con las características estructurales, con la época de su desarrollo y con su espectro de actividad. (Campos Sepúlveda et al. 2010; Jiménez Pacheco 2011).

Descripción molecular de la cinoxacina

Es una de las primeras quinolonas junto al ácido nalidíxico. Se trata de una molécula tricíclica derivada de la 4-quinolona, que fue sintetizada y utilizada en Estados Unidos de Norteamérica. La

cinoxacina presenta una estructura molecular que tiene un átomo de nitrógeno en la posición 2 en lugar de un átomo de carbono, lo cual le confiere mejores propiedades farmacocinéticas (Bolton et al. 2008). Su nombre (IUPAC) sistemático es ácido 1-etil-4-oxo-[1,3]dioxolo[4,5-g]cinolina-3-carboxílico. En la Tabla II se resumen algunas de sus propiedades.

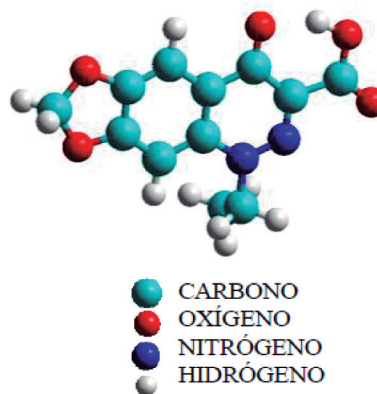
Mecanismo de acción de las quinolonas

Las quinolonas son agentes antibacterianos con actividad ante microorganismos Grampositivos y Gramnegativos. Se describe un mecanismo de acción prácticamente único en las quinolonas. Ellas actúan inhibiendo ciertas enzimas, es decir, bloquean la duplicación bacteriana del ADN al inhibir la topoisomerasa bacteriana II (ADN Girasa) y la topoisomerasa IV, indispensables en la síntesis del ADN. (Glówka et al. 2003)

La enzima topoisomerasa II o girasa del ADN

Peso Molecular	262.2182 [g/mol]
Formula Molecular	$C_{12}H_{10}N_2O_5$
Grupos dadores de enlace-H	1
Grupos aceptores de enlace-H	7
Cantidad de enlaces rotativos	2
Masa exacta	262.058971
Superficie topológica polar	88.4
Cantidad de átomos pesados	19
Carga Formal	0

Tabla II. Propiedades de la cinoxacina.



es responsable del enrollamiento del ADN, manteniendo los cromosomas en un estado de super-respiral y fijándolos a la superficie interna de la célula, además se encarga de pequeñas roturas de filamentos de ADN que ocurren durante el proceso de multiplicación de este. (Moisés Morejón García & Rosa Salup Díaz s.f.; Eduardo Rodríguez Noriega et al. s.f.)

La topoisomerasa IV se encarga de separar la parte replicada del ADN. (Brugueras et al. 2005).

Estructura de las quinolonas

Las quinolonas están formadas por una estructura básica denominada núcleo quinolónico, que es el ácido nalidíxico, la primera quinolona sintetizada. A partir de ella se han desarrollado por lo menos cuatro grandes grupos de compuestos según el número y posición de átomos de nitrógeno de la molécula. Estos grupos son: Las benzopiridonas, las naftiridinas, las cinolinas, y las piridopirimidinas.

La cinoxacina pertenece al grupo de compuestos derivados de la cinolina (Figura 1).

Relación estructura – actividad

Existen numerosos estudios que demuestran la relación que existe entre la estructura química y la actividad biológica de estos antibióticos. (Tillotson 1996; Emami et al. 2009; Chu & Fernandes 1989; Renau et al. 1996). En ellos se acepta que la estructura básica de la quinolona (unidad central molecular que transporta los rasgos esenciales responsables para la actividad biológica) requerida para la actividad antibacteriana se compone de la 4-piridona que es un anillo con un grupo 3-car-

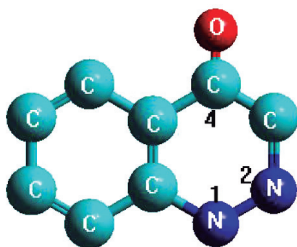


Figura 1. Una de las estructuras básicas de las quinolonas, 2-aza-4-quinolona ó cinolina.

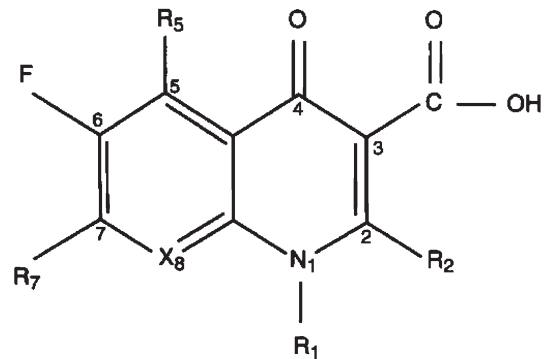


Figura 2. Estructura base de la quinolona

boxílico, también denominado 4-quinolín-3-carboxílico (Figura 2).

En el anillo, las posiciones 1, 5, 6, 7 y 8 son los objetivos principales de variación de estos productos químicos con el fin de obtener diferentes propiedades en los mismos.

Química Computacional

La química computacional, es una rama de la química teórica moderna. Se la puede considerar formada por dos grandes áreas, dedicadas a las estructuras de las moléculas y a su reactividad, basadas en principios físicos diferentes: mecánica molecular (MM) ó de campo de fuerza, y métodos de estructura electrónica (MEE). (Foresman et al. 1996)

Los métodos de mecánica molecular se caracterizan por su particular campo de fuerza, debido a esto también se los denomina de esa manera.

Entre los tipos de métodos de estructura electrónica (MEE) o mecano-cuánticos tenemos: los métodos semiempíricos, los *ab initio* y la teoría del funcional de la densidad (DFT). Los métodos DFT son interesantes porque incluyen los efectos de correlación electrónica sin elevar demasiado el costo computacional.

Métodos de Estructura electrónica (MEE)

Los métodos mecano-cuánticos para la resolución de la estructura electrónica se basan en los principios de la mecánica cuántica. La ecuación de Schrödinger en estado estacionario es el punto

Enlaces	Experimental	B3LYP/6-311++G(d,p)
C(6)-C(8)	1,397	1,406
O(5)-C(8)	1,357	1,359
C(8)-C(9)	1,371	1,369
C(5)-C(6)	1,341	1,363
O(4)-C(6)	1,358	1,368
O(5)-C(7)	1,429	1,441
C(9)-C(10)	1,417	1,420
C(4)-C(5)	1,422	1,418
C(4)-C(10)	1,414	1,413
N(1)-C(10)	1,391	1,388
O(4)-C(7)	1,422	1,430
C(3)-C(4)	1,434	1,453
N(1)-N(2)	1,313	1,320
N(1)-C(11)	1,463	1,478
C(2)-C(3)	1,451	1,459
O(3)-C(3)	1,248	1,246
N(2)-C(2)	1,318	1,309
C(11)-C(12)	1,510	1,528
C(1)-C(2)	1,503	1,522
O(1)-C(1)	1,316	1,337
O(2)-C(1)	1,211	1,202
Desviación Media	0,010	

Tabla III. Comparación entre las longitudes de enlace (en Å) de cinoxacina obtenidas por métodos teóricos con los valores experimentales disponibles. (Rosales et al. 1985)

partida para resolver este problema. Esta es una ecuación de autovalores que toma la forma:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi$$

En la cual, \hat{H} es el operador de Hamilton (suma de los operadores energía cinética y energía potencial), Ψ es la función de onda y E es el autovalor o energía total del sistema.

Esta ecuación sólo puede resolverse de forma exacta para el átomo de hidrógeno o para moléculas simples como H_2^+ . Para átomos plurieléctricos y moléculas desde la más sencilla hasta las más complejas, se hace necesario recurrir a distintas aproximaciones (método variacional y teoría

de perturbaciones) para su resolución.

El tipo de método conocido como la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) es uno de los métodos más utilizados en los cálculos cuánticos de la estructura electrónica de la materia. Su atractivo reside en que se incluyen efectos de correlación electrónica, es decir, se considera la interacción repulsiva entre los electrones de un sistema molecular sin aumentar excesivamente el costo computacional. Por tal motivo, para este trabajo se ha decidido escoger un método de DFT. En particular, se empleó el funcional híbrido B3LYP, basado en el funcional de intercambio de tres parámetros de Becke unido al funcional de correlación de Lee,

Ángulos	Experimental	B3LYP/6-311++G(d,p)
C(5)-C(6)-C(8)	110,4	109,6
C(6)-C(8)-C(9)	123,6	123,0
O(5)-C(8)-C(9)	126,0	127,4
C(5)-C(6)-C(8)	121,9	121,6
O(4)-C(6)-C(8)	108,6	109,2
O(4)-C(6)-C(5)	129,4	129,2
C(7)-O(5)-C(8)	106,0	106,1
C(8)-C(9)-C(10)	115,3	116,5
C(4)-C(5)-C(6)	117,7	117,3
C(4)-C(10)-C(9)	121,6	120,6
N(1)-C(10)-C(9)	119,9	121,2
N(1)-C(10)-C(4)	118,6	118,3
C(6)-O(4)-C(7)	107,2	106,2
O(4)-C(7)-O(5)	107,8	107,2
C(5)-C(4)-C(10)	119,9	121,0
C(3)-C(4)-C(10)	119,5	119,5
N(2)-N(1)-C(10)	123,4	123,4
O(3)-C(3)-C(4)	122,9	122,5
N(2)-C(2)-C(3)	124,0	123,1
C(1)-C(2)-C(3)	120,9	122,2
Desviación media	0,75	

Tabla IV. Comparación entre los ángulos de enlace (en grados) de cinoxacina con los valores experimentales disponibles. (Rosales et al. 1985)

Yang y Parr. (Foresman et al. 1996)

El método del funcional de la densidad no intenta calcular la función de onda molecular, sino que calcula la densidad de probabilidad electrónica molecular, ρ_0 , y estima la energía electrónica molecular a partir de ρ_0 . (Levine 2001)

La principal ventaja de trabajar con la densidad electrónica reside en que la misma depende únicamente de tres coordenadas espaciales, mientras que la función de onda electrónica de una molécula de n electrones depende de $3n$ coordenadas espaciales y n coordenadas de espín.

Es decir, mientras la complejidad de una función de onda aumenta al aumentar el número de electrones, la densidad electrónica tiene siempre

el mismo número de variables (independientemente del tamaño del sistema).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se comenzó por la recopilación de datos experimentales disponibles de la quinolona en estudio. En particular, se buscaron los datos de los parámetros moleculares de interés, es decir, de los ángulos y longitudes de enlace, así como información espectroscópica.

Luego se trabajó con los programas computacionales y un clúster de computadoras bajo plataforma Linux, utilizado para realizar la totalidad de los cálculos teóricos.

Los niveles de teoría se describen en la si-

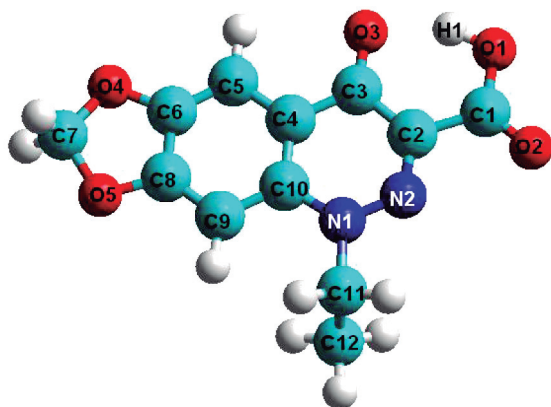
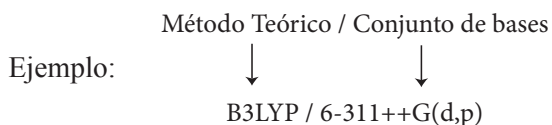


Figura 3. Geometría optimizada del antibiótico cinoxacina al nivel de teoría B3LYP/6-311++G(d,p).

guiente forma:



Como se mencionó, el funcional B3LYP es un funcional híbrido que emplea el funcional de intercambio de tres parámetros de Becke y el funcional de correlación de Lee, Yang y Parr. El mismo se utilizó acoplado al conjunto de bases 6-311++G(d,p).

Se procedió al estudio de la cinoxacina al nivel de teoría mencionado, corroborando los resultados obtenidos con datos experimentales disponibles. También se realizó la asignación de algunas de las frecuencias vibracionales calculadas por visualización de la animación de los modos normales.

Todos los cálculos mencionados se realizaron en un clúster instalado en el Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA) que posee doce computadoras Pentium D 945 de 3,4 GHz y doce Pentium Quad Core de 3,2 GHz bajo plataforma Linux (IA S.A., modelo IAP4-08/08). Se emplearon para ello los programas GAUSSIAN 03 e HYPERCHEM 7.01. Por otra parte, a través de la biblioteca electrónica de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la UNLP se tuvo acceso la literatura necesaria para afrontar el trabajo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados obtenidos junto con algunas discusiones y observaciones.

Los resultados obtenidos se presentan en las tablas siguientes, en las cuales se han incluido los datos experimentales para poder hacer comparaciones. Estos datos experimentales fueron tomados de la literatura disponible. (Rosales et al. 1985)

En la Tabla III se observan las longitudes de enlace, y en la Tabla IV los ángulos de enlace.

Los valores encontrados resultan muy satisfactorios ya que las desviaciones medias absolutas encontradas son pequeñas en los dos casos. En la Figura 3 se muestra la geometría molecular obtenida al nivel de teoría mencionado.

En el caso de las distancias de enlace se encontró una desviación media de 0,010 Å, mientras que para los ángulos de enlace la misma fue de 0,75 grados. Una manera de visualizar más fácilmente la excelente correlación obtenida se muestra en las Figuras 4 y 5, en las cuales se representan los resultados calculados versus los experimentales, con coeficientes r^2 de 0,98 y 0,99 para los ángulos y las distancias de enlace, respectivamente.

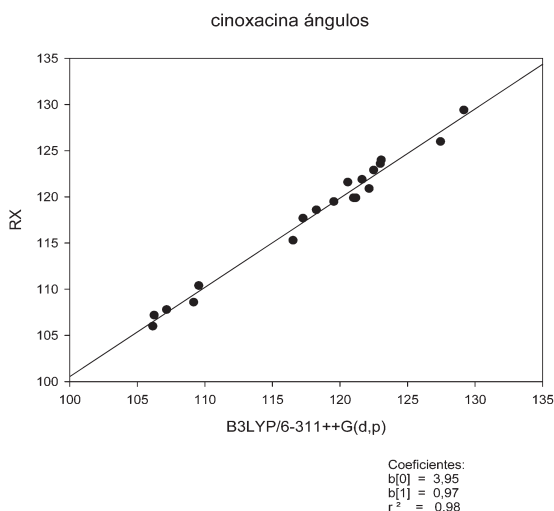


Figura 4. Gráfico que muestra la correlación existente entre los valores de los ángulos de enlace obtenidos computacionalmente al nivel de teoría B3LYP/6-311++G(d,p) con los valores experimentales de RX. (Rosales et al. 1985)

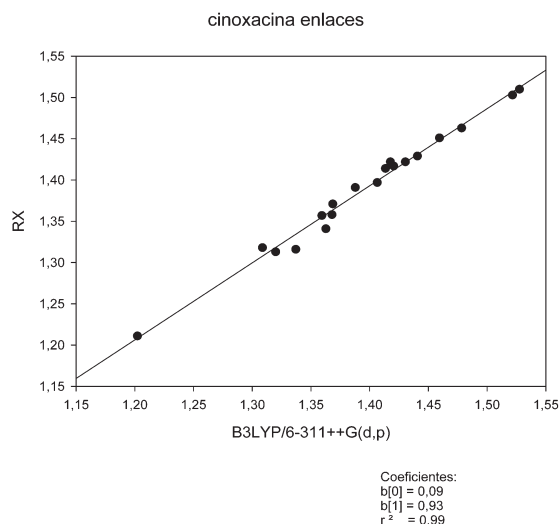


Figura 5. Gráfico que muestra la correlación entre las longitudes de enlace obtenidas computacionalmente al nivel de teoría B3LYP/6-311++G(d,p) y las experimentales de RX. (Rosales et al. 1985)

En la Tabla V se presentan algunas de las frecuencias vibracionales estimadas al nivel de teoría

preestablecido con sus respectivas asignaciones, comparándolas con los valores experimentales disponibles en la literatura especializada. Las asignaciones mencionadas se realizaron por observación de la animación de los modos normales importando las frecuencias calculadas con el programa GAUSSIAN 03 al programa HYPER-CHEM 7.01.

CONCLUSIONES

Se realizó un estudio de la cinoxacina observando detalladamente las propiedades moleculares de la misma.

Se logró a través de este trabajo, la caracterización del antibiótico cinoxacina, presentado valores de ángulos y longitudes de enlace, así como frecuencias vibracionales armónicas, todos obtenidos al nivel de teoría B3LYP/6-311++G(d,p).

Se analizaron los resultados obtenidos al comparar los datos experimentales de la cinoxacina con los obtenidos computacionalmente demos-

Frecuencia cm ⁻¹	IR int. Km.mol ⁻¹	Asignación Aproximada
3258	686	Est. C(9)-H
3035	107	Est. sim. C(7)-H ₂
1823	434	Est. C(1)=O(2)
1645	127	Def. en el plano del anillo arom.
1626	458	Est. C(3)=O(3)
1509	123	Tij. C(11)-H ₂ , C(12)-H ₂ ; Flex. en el plano O(1)-H
1504	285	Tij. C(12)-H ₂
1493	153	Tij. C(11)-H ₂ ; Flex. C(12)-H ₃
1479	584	Flex. en el plano O(1)-H
1300	202	Est. N(1)-C(11); Est. C-C del anillo arom.
1284	95	Tors. C(11)-H ₂ ; Est. N(1)-N(2)
1253	177	Flex. en el plano C(5)-H; C(9)-H
1056	134	Est. sim. O(4)-C(7)-O(5)
954	61	Est. asim. O(4)-C(7)-O(5)
853	77	Flex. fuera del plano O(1)-H

Tabla V. Asignación de algunas frecuencias vibracionales armónicas (en cm⁻¹) de cinoxacina por métodos teóricos al nivel de teoría B3LYP/6-311++G(d,p). **Obs.:** 1 Debye² Angstrom⁻²-amu⁻¹ (IR intensity unit) = 42,2561 km mol⁻¹. **Abreviaturas empleadas en la tabla:** *Est.*: estiramiento; *Est. sim.*: estiramiento simétrico; *Est. asim.*: estiramiento asimétrico; *Flex.*: flexión; *Tors.*: torsión; *Tij.*: tijereteo; *Def.*: deformación; *Arom.*: aromático.

trando una muy buena correlación. Por lo tanto, se concluye que el método teórico escogido resulta adecuado para el estudio de este tipo de sustancias y una vez más queda demostrada la potencialidad de las herramientas computacionales para este tipo de estudios.

AGRADECIMIENTOS

A la Red de Macrouiversidades de América Latina y el Caribe por la asignación de una beca de Movilidad de Postgrado que me permitió realizar gran parte del presente trabajo en Argentina. Al Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), por abrir sus puertas para realizar este trabajo en sus instalaciones. A la Universidad Nacional de Asunción (UNA). Al Estimado Decano de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FaCEN), Constantino Nicolás Guéfos, MAE, y a los miembros del Consejo Directivo de la Facultad por su apoyo para la realización de este proyecto. Al Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal (SENACSA).

BIBLIOGRAFÍA

- Bolton, E.E. et al., 2008. Chapter 12 PubChem: Integrated Platform of Small Molecules and Biological Activities. En Elsevier, págs. 217-241. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1574140008000121> [Accedido Agosto 17, 2011].
- Bruguera, M.C., García, M.M. & Díaz, R.S., 2005. Actualidad de las quinolonas. *Revista Cubana de Farmacia*, 39(1), pág.1.
- Campos Sepúlveda, A.E., Martínez Enríquez, M.E. & Mendoza Patiño, N., 2010. Quinolonas. *Revista de la Facultad de Medicina*, 51(004).
- Chu, D.T. & Fernandes, P.B., 1989. Structure-activity relationships of the fluoroquinolones. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 33(2), pág.131.
- Emami, S., Shafiee, A. & Foroumadi, A., 2009. Quinolones: recent structural and clinical developments. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(3), pág.123-136.
- Foresman, J.B., Frisch, Æ. & Gaussian, Inc. Pittsburgh, 1996. *Exploring chemistry with electronic structure methods* Segunda edición.
- Glówka, M.L. et al., 2003. Intramolecular hydrogen bond between 4-oxo and 3-carboxylic groups in quinolones and their analogs. Crystal structures of 7-methyl- and 6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxocinnoline-3-carboxylic acids. *Journal of Molecular Structure*, 658(1-2), pág.43-50.
- Jiménez Pacheco, A., 2011. Determinación de resistencias a quinolonas en aislados clínicos de *Escherichia coli* productores de betalactamasas de espectro extendido.
- Levine, I.N., 2001. *Química cuántica*, Pearson Educación.
- Moisés Morejón García & Rosa Salup Díaz. 2003;1(3):170-178. Morejón y col. Actualización en quinolonas. *Rev Electron Biomed / Electron J Biomed* 2003;1(3):170-178.
- Renau, T. et al., 1996. Structure-activity relationships of quinolone agents against mycobacteria: effect of structural modifications at the 8 position. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 40(10), pág.2363-2368.
- Rodríguez Noriega, E. et al. Programa de actualización continua parainfectología. terapia antiinfecciosa. Programa de actualización continua en infectología. Available at: <http://www.drscope.com/pac/infecto-1/c3/index.htm> [Accedido Septiembre 27, 2011].
- Rosales, M.J. et al., 1985. Structure of the antimicrobial agent cinoxacin. *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, 41(12), pág.1825-1826.
- Tillotson, G.S., 1996. Quinolones: structure-activity relationships and future predictions. *Journal of Medical Microbiology*, 44(5), pág.320 -324.