



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

SÍNTESIS DE COMPLEJOS METÁLICOS CON UN LIGANDO BASE DE
SCHIFF, QUE CONTIENE CEFALEXINA Y 1,6-HEXANODIAMINA PARA LA
DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA
(Modalidad: Tesis de Grado)

YARICRUZ CAROLINA DEL VALLE PINEDA ACHIQUES

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2011

SÍNTESIS DE COMPLEJOS METÁLICOS CON UN LIGANDO BASE DE
SCHIFF, QUE CONTIENE CEFALEXINA Y 1,6-HEXANODIAMINA PARA LA
DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

APROBADO POR:

Ph.D. Juan R. Anacona

Asesor

Profa. Anahys Maza

Jurado principal

Profa. Rosa Martínez Alcalá

Jurado principal

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	vii
INTRODUCCIÓN	8
METODOLOGÍA.....	19
Síntesis de la base de Schiff y de los complejos metálicos.....	19
Preparación de la base de Schiff (cefalexina y 1,6-hexanodiamina).....	19
Preparación de los complejos metálicos	20
Descripción y caracterización de la estructura química de los complejos metálicos sintetizados.....	21
Análisis elemental.....	22
Medidas de susceptibilidad magnética.....	22
Espectroscopía Ultravioleta - visible	22
Espectroscopía infrarroja	22
Conductividad molar.....	23
Ensayo microbiológico.....	23
Prueba de sensibilidad por difusión en disco	23
Prueba de sensibilidad por difusión en disco a diferentes concentraciones.....	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
Análisis elemental.....	26
Medidas de susceptibilidad magnética.....	27
Momentos magnéticos	28

Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-visible)	29
Espectroscopía infrarroja	34
Conductividad	39
Actividad biológica	40
CONCLUSIONES	54
BIBLIOGRAFÍA	56
HOJA DE METADATOS	62

DEDICATORIA

A

Dios quien ha sido mi protector y guía en todos los momentos difíciles que he tenido que enfrentar en la vida.

Mis padres Yajaira Achiques, Cruz Pineda y Celestino Flores, quienes en el trayecto de mi vida han formado a un ser intelectual, lleno de buenos valores y con una sed inmensa de triunfar.

Mi sobrina Isabel Alejandra por hacerme sentir viva y servirme de inspiración en cada meta que me propongo.

Mi hermana Ligia Pineda y su esposo Simón López por acogerme y apoyarme en todo momento.

Mi amiga Virginia Barrios quien me dió fortaleza, consuelo, compañía y perseverancia.

Mi novio Rafael González por brindarme su infinita paciencia y tolerancia en cada momento que lo necesité.

Betzy Ovalle mi segunda madre y amiga; a mis compañeros de tesis del laboratorio 306 del Departamento de Química Escuela de Ciencias, José Amenta, Kisbel Mago, Gregori Calvo y Javier Santaella.

Eduardo Higuerey, Sonsiret Malavé, Jaime Mora y Daniela Marpa, por estar dispuestos en todo momento a cooperar con mi tesis.

AGRADECIMIENTOS

A

El Ph D. Juan Anacona más que un asesor un amigo quien con su sabiduría, paciencia y orientación hizo posible este trabajo de investigación.

El Departamento de Bioanálisis y a cada uno de los profesores altamente preparados y capacitados que participaron en la formación académica de mi carrera universitaria y me brindaron la oportunidad de culminar mis estudios.

Mis profesores Alina Bravo, Erasto Bastardo y licenciados del laboratorio de bacteriología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”: José Antonio Barreto, Verónica Peinado, Maylim Mundaray y Diorelys González por la inmensa colaboración prestada.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis elemental de los complejos metálicos obtenidos de la cefalexina, (porcentajes).....	26
Tabla 2. Medidas de susceptibilidad magnética de los complejos metálicos de la cefalexina.	27
Tabla 3. Momentos magnéticos (μ_{ef}) de los complejos metálicos de la cefalexina.....	29
Tabla 4. Resumen de los espectros UV-visible de la cefalexina y algunos compuestos metálicos.	30
Tabla 5. Principales bandas IR de la cefalexina y sus complejos (cm^{-1}).	34
Tabla 6. Conductividad que presentan los compuestos metálicos sintetizados.	39
Tabla 7. Halos de inhibición en mm producidos por la cefalexina y los complejos sintetizados ante las especies bacterianas ensayadas.	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anillo betalactámico.	10
Figura 2. Núcleo de las cefalosporinas.	11
Figura 3. Estructura de la cefalexina.	14
Figura 4. Esquema de formación del ligando [(Hcefa-hexa)]	20
Figura 5. Esquema de formación de los complejos	21
Figura 6. Espectro UV-visible de la cefalexina	31
Figura 7. Espectro UV-visible de la base Schiff [(Hcefa-hexa)].....	31
Figura 8. Espectro UV-visible del [Mn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	32
Figura 9. Espectro UV-visible del [Co(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	32
Figura 10. Espectro UV-visible del [Ni(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	33
Figura 11. Espectro UV-visible del [Cu(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	33
Figura 12. Espectro UV-visible del [Zn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	34
Figura 13. Espectro IR de la cefalexina·H ₂ O	35
Figura 14. Espectro IR de la base Schiff [(Hcefa-hexa)].....	36
Figura 15. Espectro IR del [Mn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	36
Figura 16. Espectro IR del [Co(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	37
Figura 17. Espectro IR del [Ni(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	37
Figura 18. Espectro IR del [Cu(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	38
Figura 19. Espectro IR del [Zn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	38
Figura 20. Estructura sugerida para los complejos. [M= Mn ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺ y Zn ²⁺]....	39
Figura 21. Halos de inhibición de la cefalexina, [Ni(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆],[Co(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆], frente a la cepa <i>S. aureus</i> (ATCC 25923).	41
Figura 22. Halos de inhibición de, [Mn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆], [Cu(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆], [Zn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆] frente a la cepa <i>S. aureus</i> (ATCC 25923).	42
Figura 23. Halos de inhibición de la cefalexina, [Ni(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆], [Co(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆], frente a la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922).	42

Figura 24. Halos de inhibición de $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ frente a la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922).	43
Figura 25. Halos de inhibición de la cefalexina, $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, frente a la cepa <i>S. epidermidis</i> . (ATCC 14990).	43
Figura 26. Halos de inhibición de la cefalexina, $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, frente a la cepa <i>K. pneumoniae</i> (ATCC 700603).	44
Figura 27. Halos de inhibición de $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ frente a la cepa <i>K. pneumoniae</i> (ATCC 700603).	44
Figura 28. Halos de inhibición de la cefalexina, $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, frente a la cepa <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853).	45
Figura 29. Halos de inhibición de $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ frente a la cepa <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853).	46
Figura 30. Halos de inhibición de la cefalexina ante la cepa <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.	49
Figura 31. Halos de inhibición del $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.	49
Figura 32. Halos de inhibición del $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ frente a la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.	50
Figura 33. Halos de inhibición del $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.	50
Figura 34. Halos de inhibición del $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.	50
Figura 35. Halos de inhibición del $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.	51
Figura 36. Halos de inhibición del $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.	51

Figura 37. Halos de inhibición del $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa <i>K. pneumoniae</i> (ATCC 700603) a diferentes concentraciones.	51
Figura 38. Halos de inhibición del $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa <i>K. pneumoniae</i> (ATCC 700603) a diferentes concentraciones.	52
Figura 39. Halos de inhibición en mm producidos por la cefalexina comercial y los complejos sintetizados utilizando el método de difusión en agar.	52

RESUMEN

Se Comparó la acción antibacteriana de complejos metálicos unidos a un ligando base Schiff que contenga cefalexina y 1,6 hexanodiamina, sobre bacterias utilizando cepas *E. coli* (ATCC 25922), *K. pneumoniae* (ATCC 700603), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. aureus* (ATCC 25923) y *S. epidermidis*. (ATCC 14990), certificadas por la Colección Americana de Cultivos y Tipos (ATCC) utilizando la técnicas de difusión en discos; para la síntesis de complejos se formo una base de Schiff [(Hcefa-hexa)] mediante la reacción entre la cefalexina comercial y la 1,6 hexanodiamina, la cual se hizo reaccionar con metales de la primera serie de transición para obtener los complejos $[M(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, donde $M = \text{Mn}^{2+}$, Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} . La base de Schiff y los complejos fueron caracterizados mediante análisis elemental, conductancia molar, susceptibilidad magnética, espectroscopía infrarroja y espectroscopía UV-Visible. La base Schiff se comportó como un ligando tridentado monoaniónico y los complejos muestran ser de alto espín, probablemente octaédricos. La actividad antibacteriana de los compuestos sintetizados fue ensayada frente a las la cual evidenció que todos los complejos metálicos sintetizados mostraron una actividad antibacteriana mayor que la manifestada por la cefalexina libre, a excepción del $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ sobre la cepa *S. epidermidis* (ATCC 14990) y $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ y $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante *K. pneumoniae* (ATCC 700603). A través de la prueba de sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones se determinó que la mayoría de los complejos sintetizados alcanzaron una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 100 $\mu\text{g}/\text{disco}$ mientras que la cefalexina comercial mostró una CMI de 400 $\mu\text{g}/\text{disco}$ frente a las cepas ensayadas y nula actividad antibacteriana contra *P. aeruginosa* (ATCC 27853). El complejo [(Hcefa-hexa)] no mostró actividad frente a las cepas utilizadas en las dos técnicas aplicadas.

Palabra y/o Frases Claves: Cefalexina, complejos metálicos, ligando base de Schiff, dimetilsulfoxido

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales triunfos de la ciencia médica en el siglo XX fue la casi total erradicación de muchas enfermedades infecciosas, gracias al descubrimiento de sustancias con efectos selectivos en contra de microorganismos, sin que se lesionaran los tejidos orgánicos (Gómez *et al.*, 1997).

La quimioterapia como ciencia se inicia con Paul Erlich al experimentar con compuestos orgánicos que poseían la capacidad para atacar de forma selectiva a los microorganismos infecciosos sin afectar negativamente al organismo de las personas; es así, como formula los principios de toxicidad selectiva y es reconocido como el pionero en demostrar las relaciones químicas específicas entre parásitos y los antimicrobianos, el desarrollo de resistencia a los medicamentos y el papel de la terapéutica combinada para combatir su desarrollo. Estos experimentos condujeron al primer triunfo importante en la quimioterapia (Jawest *et al.*, 1981).

Otro gran avance fue el realizado por Alexander Fleming en 1928, cuando anunció el descubrimiento de un hongo que formaba un anillo verde en los cultivos de *Staphylococcus aureus* que detenía el desarrollo de bacterias patógenas; la sustancia bactericida era un derivado del hongo *Penicilium notatum*, de allí su nombre, penicilina. Este hecho dió lugar, posteriormente, al descubrimiento de la tiritricina en 1939, por Dubos y la estreptomycinina, en 1943 por Waksman (Goddman *et al.*, 1991). En 1940, Chain y Florey demostraron que la penicilina descubierta por Fleming podía convertirse en una sustancia quimioterapéutica efectiva, al producir este compuesto en masa y utilizarlo para ensayos clínicos limitados (Jawes *et al.*, 1981; Pumarola *et al.*, 1991).

En 1947, Waksman definió los antibióticos como sustancias antimicrobianas

producidas por microorganismos originados en seres animales o vegetales (Joklik *et al.*, 1995). En la práctica el término se designa para aquellas sustancias de baja masa molecular, producidas como metabolitos secundarios por ciertos grupos de microorganismos, utilizados en el tratamiento de las infecciones y que pueden tener efecto bacteriostático o bactericida frente a otros microorganismos (Davis *et al.*, 1984).

El antibacteriano empleado con fines quimioterapéuticos debe poseer ciertas propiedades: a) La toxicidad selectiva es esencial, ya que el antibacteriano debe inhibir o destruir el patógeno sin dañar al huésped, b) Debe tener una acción bactericida más que bacteriostática. Los agentes bactericidas matan a los microorganismos, en tanto que los bacteriostáticos solo actúan como inhibidores de su desarrollo y se basan en los mecanismos del huésped para la erradicación final de la infección. Esta diferencia entre los agentes bactericidas y bacteriostáticos es particularmente importante cuando las defensas del huésped están comprometidas, c) El agente quimioterapéutico ideal es aquel para el cual los microorganismos susceptibles no se vuelven genética o fenotípicamente resistentes, d) Es deseable que sea efectivo contra un amplio espectro de los microorganismos que se encuentren con mayor frecuencia en la práctica clínica, e) No debe ser alergénico ni tampoco causar efectos colaterales adversos por la administración continua de grandes dosis, f) Debe permanecer activo en presencia de plasma, líquidos corporales o exudados, g) Ser hidrosoluble, estable y los niveles bactericidas en el organismo deben alcanzarse con rapidez y mantenerse por períodos prolongados (Joklik *et al.*, 1995).

Existe una abundante clasificación de los antibióticos, la más común está basada sobre la estructura química y los mecanismos de acción propuestos. Tenemos así: a) Los agentes que activan la síntesis de enzimas que interrumpen la biosíntesis de las paredes de la célula bacteriana, b) Agentes que actúan en forma directa sobre la membrana celular de los microorganismos, c) Los agentes que afectan la función de

los ribosomas para causar una inhibición reversible de la síntesis proteica, d) Agentes que se unen a las subunidades ribosomales 30S y alteran la síntesis de proteínas, e) Agentes que afectan la síntesis de los ácidos nucleicos, f) Los antimetabolitos que bloquean pasos metabólicos importantes y específicos que son esenciales para los microorganismos y g) Análogos de los ácidos nucleicos que se unen a las proteínas que son esenciales para la síntesis del ácido desoxirribonucleico, deteniendo así su replicación (Mandell *et al.*, 1985).

Entre los antibióticos cuya acción primaria se efectúa sobre la biosíntesis de la pared celular, se encuentran los β -lactámicos. En esta categoría se incluyen: penicilinas, cefalosporinas, clavamas (ácido clavulánico), monobactamas y carbapenemas. Todos los antibióticos de este grupo contienen un anillo β -lactámico (figura 1) que está constituido por tres átomos de carbono y un átomo de nitrógeno (Mandell *et al.*, 1985).

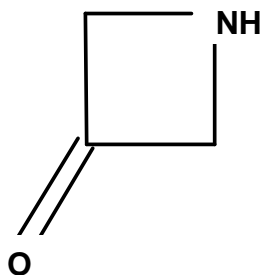


Figura 1. Anillo betalactámico.

En el campo de la medicina las cefalosporinas son los fármacos de primera elección para un gran número de enfermedades infecciosas (Goddman *et al.*, 1991).

Las cefalosporinas son agentes antibacterianos que poseen un anillo betalactámico fusionado con un anillo dihidrotiazínico, constituyendo el núcleo cefem (figura 2), del cual derivan todas las cefalosporinas al poseer distintos grupos químicos en las posiciones R_1 y R_2 (Neu, 1986).

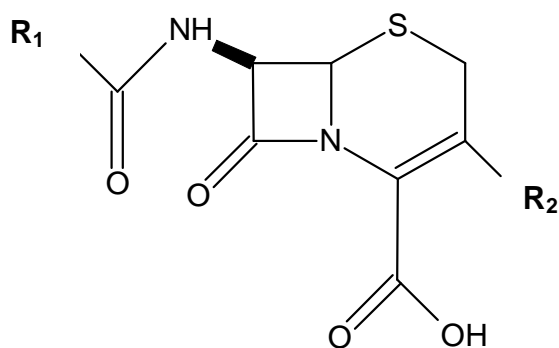


Figura 2. Núcleo de las cefalosporinas.

En términos microbiológicos, estos compuestos se caracterizan por su actividad bactericida, la cual es máxima cuando la concentración plasmática del antibacteriano es mayor que la concentración mínima inhibitoria del inóculo bacteriano (Zelmelman *et al.*, 1987; Turnidge, 1998). Poseen amplio espectro de actividad que incluye bacterias aerobias Gram positivas, Gram negativas y anaerobios (Neu, 1983; Zemelman *et al.*, 1987; Turnidge, 1998). Por otra parte, dada sus características: actividad bactericida, parámetros farmacocinéticos y parámetros antibacterianos son utilizadas como agentes de primera elección en el tratamiento de una serie de infecciones comunitarias y hospitalarias (Neu, 1983; Adu y Armour 1995). Fueron descubiertas en 1945 por el profesor Giuseppe Brotzu, al aislar un hongo del agua salada denominado *Cephalosporium acremonium* (Busch, 1993).

Las cefalosporinas, al igual que el resto de los antibióticos betalactámicos, ejercen su actividad antibacteriana inhibiendo las síntesis de peptidoglicano, principal constituyente de la pared celular, produciendo finalmente la lisis bacteriana (Turnidge, 1998). El mecanismo de acción deriva de la unión covalente del betalactámico al sitio activo de las enzimas denominadas proteínas de unión a la penicilina (PBP) del inglés *Penicillin binding proteins*. Esta reacción se explica porque los betalactámicos poseen una estructura química similar a los últimos aminoácidos del pentapéptido (D-alanina-D-alanina) que une las moléculas de

peptidoglicano; además, este grupo de antimicrobianos produce una activación de autolisinas bacterianas que destruyen el peptidoglicano (Neu, 1983; Neu, 1986; Tomasz, 1986; Zemelman *et al.*, 1987; Adu y Armour 1995; Turnidge, 1998).

Las cefalosporinas pueden ser clasificadas por su estructura química, por la resistencia a las β -lactamasas o por sus espectros antibacteriales. De manera tradicional se han dividido en grupos o generaciones, basándose en las características generales de la actividad antimicrobiana (Klein y Cunha, 1995).

Las cefalosporinas de primera generación presentan mejor actividad sobre cocos Gram positivos y su actividad sobre bacilos Gram negativos es limitada (Neu, 1983); son de administración oral y parenteral. Este grupo de antibacterianos incluye sustitutos de la benzoacetil penicilina, que son resistentes a las penicilinasas de los estafilococos, por tanto tienen una buena actividad contra bacterias aerobias Gram positivas (con excepción de enterococos, *Staphylococcus* resistentes a la meticilina, *Staphylococcus epidermidis* y neumococos resistentes a penicilina), y algunos organismos Gram negativos adquiridos en la comunidad (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Moraxella catarrhalis*) (Ianes, 1996).

Las cefalosporinas de segunda generación tienen actividad contra la mayoría de los microorganismos destruidos por agentes de la primera generación, pero su cobertura es más extensa, ya que incrementan su actividad contra microorganismos Gram negativos (Martin *et al.*, 2002). La característica microbiológica definitiva de las cefalosporinas de segunda generación es su actividad sobre *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae* (Zemelman *et al.*, 1993).

Las cefalosporinas de tercera generación surgieron como una necesidad ante la presencia de bacilos Gram negativos productores de β -lactamasas, tanto

cromosómicos como plasmídicos (Martin *et al.*, 2002), capaces de inactivar los β -lactámicos en uso. Estas cefalosporinas constituyen uno de los grupos de antimicrobianos de mayor uso en la actualidad. Los compuestos de esta generación se caracterizan por presentar las siguientes características: en el carbono 7 del núcleo cefem la presencia de un anillo 2-aminotiazolil como cadena lateral, lo que eleva su actividad sobre miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria* spp., *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (López y Garrido, 1989). Todo este grupo de tercera generación es extremadamente activo contra la mayoría de las bacterias Gram negativas (excepto *Enterobacter* spp. y *Citrobacter* spp.) (Rivas *et al.*, 2002).

En las cefalosporinas de cuarta generación se presenta un balance entre sus cargas positivas y negativas en los rangos de pH encontrados *in vivo* (Barradell y Bryson, 1994). Esta característica química estructural explica por qué estas cefalosporinas presentan una penetración a través de las porinas que le permiten alcanzar altas concentraciones en el espacio periplásmico de bacilos Gram negativos (Pitout *et al.*, 1997). Las cefalosporinas de esta generación suelen resultar más eficaces *in vitro* frente a los bacilos Gram negativos y frente a los cocos Gram positivos, (excepto *Staphylococcus aureus*) que los fármacos de primer y segunda generación (Rivas *et al.*, 2002).

La cefalexina (figura 3), es una cefalosporina que posee buena actividad contra bacterias Gram positiva y baja actividad contra bacilos Gram negativos (Busch, 1993). El mecanismo de acción es, como para todas las lactamasas, de tipo bactericida. El antibiótico interfiere en la síntesis de la pared celular, dando lugar a la aparición de formas osmóticamente sensibles que sufren lisis inmediatamente (Sanders, 1992).

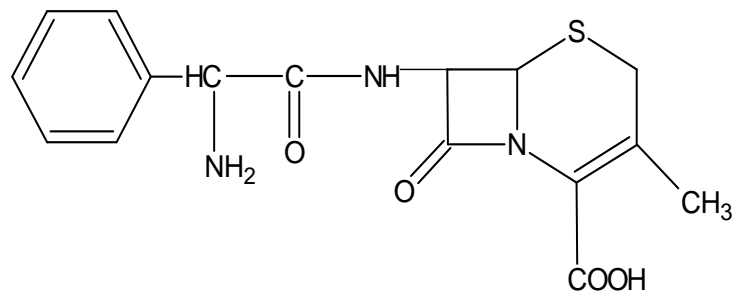


Figura 3. Estructura de la cefalexina.

La cefalexina ha mostrado ser activa contra la mayoría de las cepas de los siguientes microorganismos tanto *in vitro* como en infecciones clínicas: a) cocos Gram positivos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*. b) bacterias Gram negativas: *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* y *Proteus mirabilis* (Goddman *et al.*, 1991).

Los seres vivos habitan en un espacio esencialmente inorgánico y por lo tanto resulta lógico suponer que, a través de las distintas etapas de su evolución, se han debido adaptar y han conseguido las maneras de aprender a utilizar para su mejor desarrollo las variadas posibilidades que ese entorno les ofrece. Es así como durante su larga evolución han logrado no sólo aprovechar aquellos sistemas inorgánicos más abundantes, desechando en forma gradual a los mecanismos que los hacían dependientes de elementos difícilmente accesibles; sino que también, lograron seleccionar, dentro de los más abundantes, a los más efectivos y adecuados para sus fines. Es decir, la selección de los elementos químicos llevó finalmente a sistemas de alta especificidad y eficiencia, con los cuales los organismos pueden obtener el máximo provecho y rendimiento (Anacona y Osorio, 2008).

La eficiencia y especificidad de los sistemas bioinorgánicos parece estar controlada también en gran medida por las porciones de proteína o moléculas que

coordinan a un sitio metálico determinado. Vale decir, no sólo son importantes las características del metal en sí, sino también el tipo, la geometría de la coordinación y todo el entorno en el cual el complejo metálico está sumergido (Sorenson, 1982).

Se debe también, llamar la atención al hecho de que debido a la creciente industrialización de nuestro mundo moderno, se viene produciendo un aumento alarmante de contaminación metálica, de manera tal que muchos elementos pesados empiezan a adquirir, artificialmente, una concentración elevada y, por ende, pueden llegar a competir con los elementos esenciales. No es descabellado suponer que a través de este camino de adaptación otros nuevos elementos lleguen a convertirse en esenciales. Es probable que en los casos del vanadio, el cromo y el níquel (y tal vez también para el cadmio y el estaño) estemos realmente ya en presencia de ejemplos de este tipo (Prestayko *et al.*, 1980).

Varios metales que forman complejos (o compuestos de coordinación) son relevantes tanto toxicológica como farmacológicamente. El metal más investigado en este aspecto ha sido el cobre que es usado en el tratamiento de enfermedades tales como la tuberculosis, úlceras gástricas, artritis reumatoide y cáncer (Sorenson, 1982). El cisplatino es ampliamente usado en la terapia del cáncer (Prestayko *et al.*, 1980). El éxito en la administración de este complejo de platino (II) ha estimulado el interés por la preparación de nuevos complejos metálicos para usarlos como terapéuticos modernos, de diagnóstico o como agentes radiofarmacéuticos. Por ejemplo, complejos de plata (I) son comúnmente usados como antimicrobianos, complejos de bismuto (III) en el tratamiento de las úlceras, complejos de oro (I) como agentes antiartríticos, complejos de Gadolinio(III), manganeso(II) y hierro(III) como agentes contrastantes de imagen en resonancia magnética y los isótopos de tecnecio (^{99}Tc) y escandio (^{47}Sc) se utilizan como agentes radiofarmacéuticos. Definitivamente, el efecto de los iones metálicos sobre la actividad de las drogas y biomoléculas ha sido confirmado por variados estudios (Sorenson, 1976).

La adriamicina, nombre comercial de la doxorubicina, es un antibiótico de la familia de las antraciclinas ampliamente utilizado en la quimioterapia del cáncer, su mecanismo de acción es complejo y aún no está plenamente esclarecido, aunque se piensa que actúa mediante intercalación en el ácido desoxirribonucleico. Se ha observado que el complejo de adriamicina con platino (II) es más activo contra ciertos tumores que el fármaco libre, mientras que, el complejo con paladio (II) reduce la actividad antitumoral. Similares comportamientos de modificación de la actividad, han sido observados en complejos metálicos que contienen antibióticos. Los complejos metálicos de cefalexina, cefazolina, cefepime, entre otros, han mostrado mayor actividad antibacteriana que los mismos antibióticos libres (Anacona y Álvarez, 2002; Anacona y Serrano, 2003; Anacona y Rodríguez, 2004; Anacona y Gil, 2005; Anacona y Rodríguez, 2005; Anacona y Estacio, 2006). Aunque la influencia de los iones metálicos sobre la farmacocinética y la biodisponibilidad de diferentes antibióticos, especialmente las tetraciclinas son muy bien conocidas en general, hay poca información relacionada con la influencia de los iones metálicos sobre la farmacocinética de las cefalosporinas, de manera que existe la necesidad de su estudio en el futuro.

Dentro del proceso de adaptación y sobrevivencia, las bacterias pueden experimentar mutaciones para evitar ser destruidas por los agentes bactericidas que son capaces de penetrar su barrera superficial y fijarse sobre un receptor (Comegna *et al.*, 2000). Como producto de las mutaciones son capaces de producir nuevas enzimas aptas para paralizar la acción de los antimicrobianos, también pueden cambiar la estructura de las porinas de sus paredes para impedir la entrada de ciertos antimicrobianos, son capaces de modificar sus sistemas de transporte y, además, pueden alterar drásticamente sus núcleos para bloquear la acción de un medicamento (Conde, 2008).

La interacción entre bacterias, metales y cefalosporinas ha sido poco estudiada

y la búsqueda de nuevas cefalosporinas es constante, debido a que ciertos microorganismos poseen la capacidad de producir enzimas como las β -lactamasas que inactivan las cefalosporinas desarrollando así, resistencia a los antimicrobianos (Martin *et al.*, 2003). La búsqueda de nuevos antibióticos se orienta actualmente al hallazgo de antimicrobianos sintetizados por microorganismos productores y a la obtención de preparados semi-sintéticos, introduciendo o modificando radicales químicos en moléculas conocidas. Esta última vía permite aumentar el espectro de acción y la actividad del compuesto, así como mejorar la farmacocinética y disminuir su toxicidad (Jones, 1998).

Las bases de Schiff son compuestos que contienen en su estructura un grupo azometino o imino ($R_1R_2C=NR_3$) y son formados por la condensación entre una amina primaria y un grupo carbonilo activo. Son llamadas de esta manera en honor a Hugo Schiff, quien fue el primero en reportar este tipo de compuestos en el año 1864.

La reacción de formación de la base Schiff es reversible, procediendo a través de la formación de una carbolamina intermediaria (Collinson y Fenton, 1996).

La formación de complejos metálicos utilizando bases de Schiff que contienen cefalosporinas podría constituir un interesante campo de estudio. Para tal efecto, la reacción entre la cefalexina con la 1,6-hexanodiamina formó una base Schiff que fue estudiada con diferentes iones metálicos, donde se caracterizó la estructura química de los compuestos sintetizados y se determinó la actividad de ambos frente a cepas bacterianas certificadas por la Colección Americana de Cultivos y Tipos (ATCC), Gram positivas como *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990), y aerobios Gram negativos entre los cuales se mencionan *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), estas dos últimas son productoras de

betalactamasas utilizadas con la finalidad de evaluar si la presencia del metal en los complejos hace menos efectivo el ataque de las enzimas al anillo betalactámico.

El presente estudio constituye una continuación de los proyectos de investigación que se vienen realizando en el Departamento de Química de la Universidad de Oriente, específicamente en la síntesis, caracterización y actividad antimicrobiana de complejos metálicos con cefalosporinas y sus derivados.

METODOLOGÍA

Síntesis de la base de Schiff y de los complejos metálicos

Para la síntesis de la base de Schiff y de los complejos metálicos se empleó una cefalosporina de primera generación como lo es la cefalexina y la 1,6 hexanodiamina. En la síntesis se utilizaron sales metálicas en forma de acetatos hidratados: acetato de níquel tetrahidratado $(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Ni}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, acetato de cobre tetrahidratado $(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Cu}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, acetato de cobalto tetrahidratado $(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Co}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, acetato de zinc tetrahidratado $(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Zn}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y acetato de manganeso tetrahidratado $(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Mn}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$. La reacción de la cefalexina con el 1,6-hexanodiamina y los acetatos se realizó a diferentes relaciones estequiométricas, temperatura, pH, tiempo adecuado y necesario, hasta lograr las condiciones óptimas para la síntesis de los complejos. Para la síntesis de los compuestos de coordinación se llevaron a cabo una serie de pasos que se muestran a continuación.

Preparación de la base de Schiff (cefalexina y 1,6-hexanodiamina)

El antibiótico cefalexina se puso en agitación con una mezcla 1:1 de agua y éter durante media hora, para extraer todos los excipientes que contiene la muestra comercial. Seguidamente, se filtró la solución resultante y se colocó en un desecador. Se disolvió en agua destilada 1 mmol del producto sólido obtenido, con una solución de hidróxido de sodio $(\text{NaOH}) 0,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Posteriormente, se disolvió 1 mmol de la 1,6-hexanodiamina en 5 ml de agua destilada. Se mezclaron ambas soluciones y se acidificó con ácido clorhídrico $(\text{HCl}) 0,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ hasta alcanzar un pH entre 7,5-8,0, luego se sometió a agitación constante durante un período de tiempo aproximado de 4 horas a temperatura ambiente, tiempo necesario para que se observara la aparición de un precipitado de color amarillo. La base Schiff obtenida (figura 4), se filtró al vacío,

se lavó con agua y éter y luego se secó en un desecador (Anacona y Osorio, 2008).

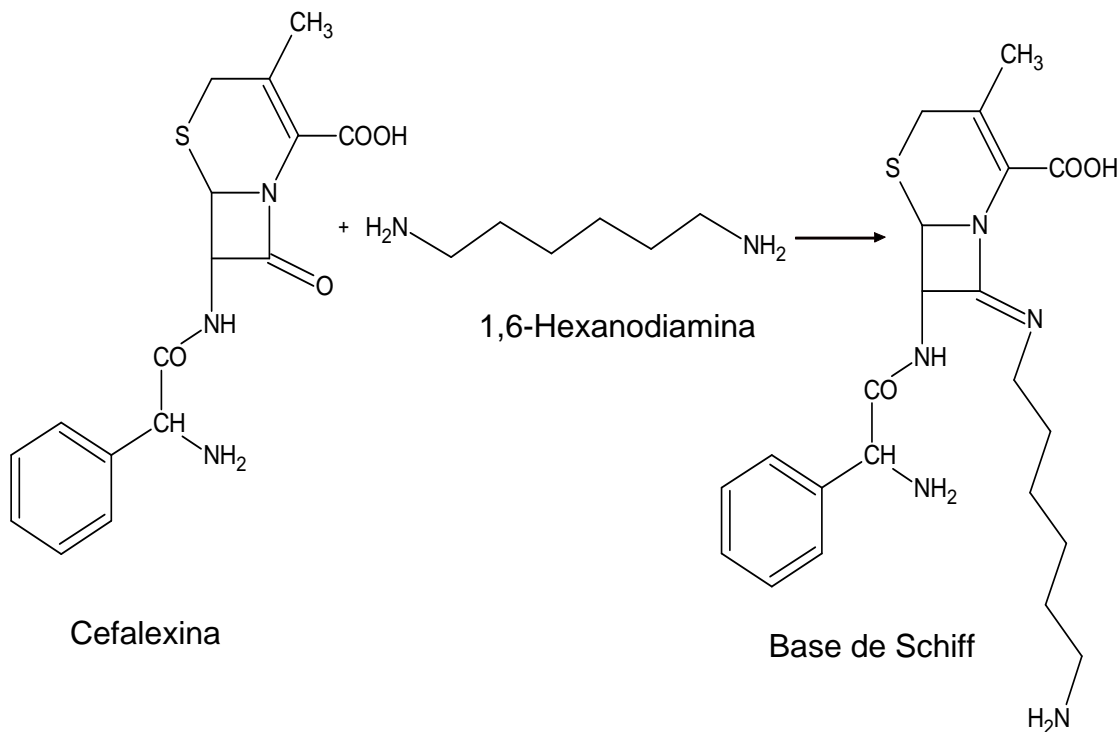


Figura 4. Esquema de formación del ligando [(Hcefa-hexa)]

Preparación de los complejos metálicos

Se prepararon compuestos de manganeso, cobalto, níquel, cobre y zinc, utilizando la base de Schiff que contiene 1,6-hexanodiamina y cefalexina comercial, para ello se pesaron 1 mmol de cada una de las sales $\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, y se disolvieron en 5 ml de agua destilada. Cada una de las soluciones se mezcló por separado con 1 mmol de la base Schiff, y se le adicionó hexafluoruro de fosfato de sodio (PF_6^-) para facilitar la precipitación del complejo metálico (figura 5), con agitación en un vaso de precipitado de 50 ml por un tiempo de 20 minutos, necesario para observar la aparición de un precipitado. Los precipitados se filtraron y se lavaron sucesivamente con agua y éter etílico.

Finalmente, se secaron a temperatura ambiente y se depositaron en viales estériles pequeños.

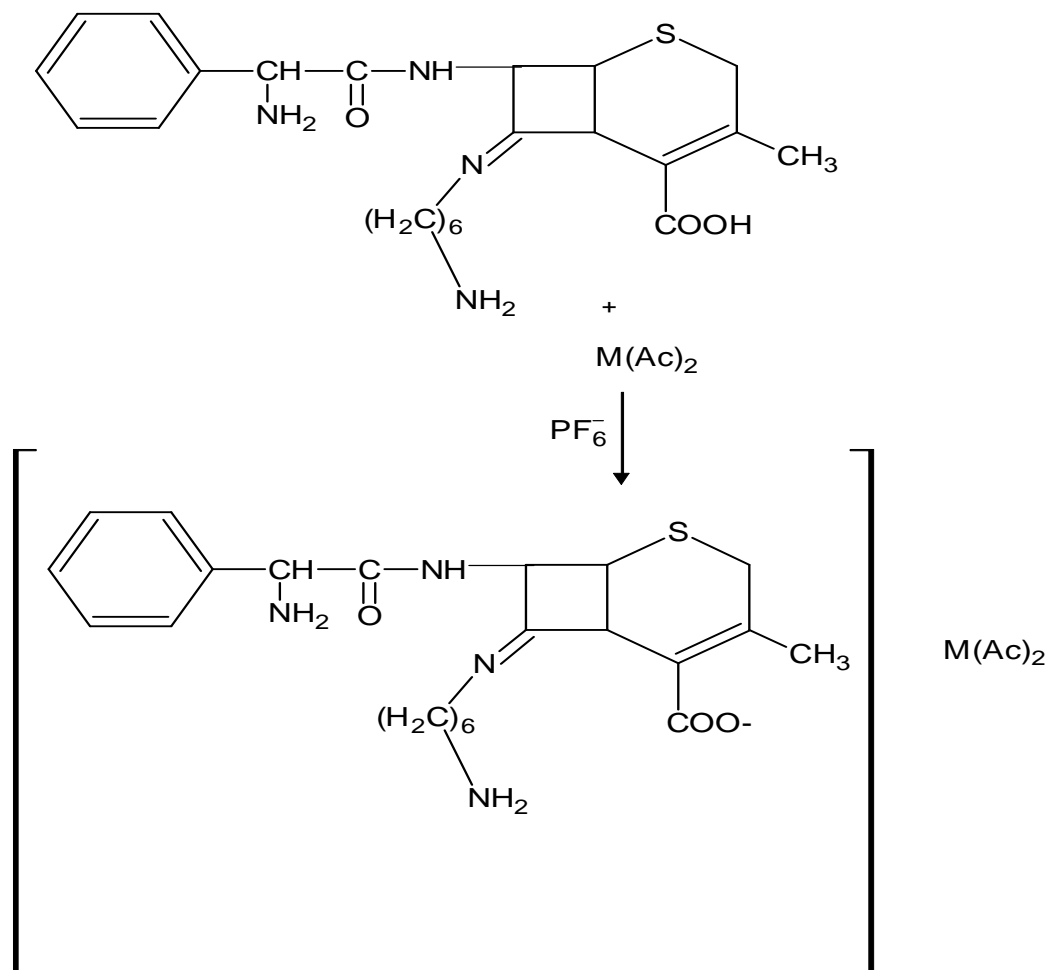


Figura 5. Esquema de formación de los complejos

Descripción y caracterización de la estructura química de los complejos metálicos sintetizados

Empleando técnicas específicas se caracterizaron las posibles estructuras de los diferentes complejos metálicos:

Análisis elemental

Se realizaron los análisis de los compuestos sintetizados para determinar los porcentajes de carbono (C), nitrógeno (N), azufre (S) e hidrógeno (H) utilizando un analizador elemental marca LECO, modelo CHNS 932 (Skoog *et al.*, 2001).

Medidas de susceptibilidad magnética

Para calcular el momento magnético de los compuestos sintetizados se realizaron medidas a temperatura ambiente empleando una balanza de susceptibilidad magnética marca Johnson Matthey, modelo 436, perteneciente al Laboratorio 306 del Departamento de Química de la Universidad de Oriente. La balanza se calibró utilizando muestras pulverizadas de susceptibilidad conocida de sulfato de cobre (CuSO_4). A partir de las medidas reportadas en el equipo se calculó el momento magnético de los complejos sintetizados para determinar el número de electrones desapareados presentes en el compuesto (Skoog *et al.*, 2001).

Espectroscopía Ultravioleta - visible

Esta técnica mide por absorción, a que frecuencias se producen las transiciones electrónicas entre niveles de energía de la molécula. Se midió las absorbancias en un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Lambda 11 que se encuentra en el Laboratorio 331 del Departamento de Química de la Universidad de Oriente (Mechan *et al.*, 1981).

Espectroscopía infrarroja

Se evaluó la presencia de grupos funcionales y se determinaron los sitios de unión del antibiótico al metal, empleando la técnica de espectroscopía infrarroja,

la cual se realizó en pastillas de bromuro de potasio (KBr) en un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Spectrum 2000 con transformada de Fourier (Colthup *et al.*, 1990).

Conductividad molar

Se prepararon soluciones de los complejos sintetizados a concentraciones de $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ en dimetilsulfóxido y las mediciones se hicieron en un conductímetro Orion 5 Star, perteneciente al Departamento de Oceanografía del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente. La naturaleza de estas medidas permite determinar la presencia de iones dissociables en el compuesto sintetizado considerando la capacidad del electrolito para transportar corriente eléctrica (Russell, 1965).

Ensayo microbiológico

Una vez caracterizada la base de Schiff y los complejos metálicos, se evaluó la acción antibacteriana de estos a través de las técnicas de sensibilidad por difusión en agar y sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones con cepas bacterianas certificadas por la Colección Americana de Especies y Tipos (ATCC), nombradas a continuación: *E. coli* (ATCC 25922), *K. pneumoniae* (ATCC 700603), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. aureus* (ATCC 25923), *S. epidermidis*. (ATCC 14990).

Prueba de sensibilidad por difusión en disco

A partir de los cultivos de 24 horas de crecimiento de cada cepa bacteriana, se preparó un inóculo en 5 ml de solución salina fisiológica (SSF) estéril, hasta que se alcanzó la turbidez correspondiente al patrón de Mc Farland 0,5 ($1,5 \times 10^8$

microorganismos viables por ml). Posteriormente se procedió a impregnar un hisopo estéril en cada suspensión y se rotó varias veces, ejerciendo una ligera presión sobre las paredes internas del tubo, eliminando el exceso de líquido. Se sembró sobre la superficie del agar Mueller Hinton, contenido en una placa de Petri, pasando el hisopo sobre toda la superficie del medio en tres direcciones perpendiculares. Cada placa se colocó en una estufa a 37°C, durante 10 minutos, para que se secase antes de colocar los discos. Se seleccionó al azar del lote preparado de placas, 10 de ellas y se incubaron a 37°C por un lapso de 24 horas, descartando así cualquier posible contaminante de los medios utilizados.

Se prepararon taxos a una concentración 400 µg/disco. Para obtener esta concentración se preparó una solución de 40 mg/ml de cada complejo y de la cefalexina, para lo cual se pesaron 20 mg de los sólidos y se disolvieron en 0,5 ml de dimetilsulfóxido. Se impregnaron los discos de papel Whatman n°3 de 5 mm de diámetro, estériles, con 10 µl de las suspensiones los cuales con ayuda de una pinza estéril se colocaron en la superficie del agar de cada cultivo de las diferentes cepas. Las placas se incubaron a 37°C, por 24 horas, en ambiente de aerobiosis, al transcurrir este período de tiempo, se evaluó la actividad antibacteriana con la aparición de halos de inhibición alrededor del disco (Lynch *et al.*, 1980; Koneman *et al.*, 2004).

Para la lectura de los halos de inhibición se utilizó una regla graduada y los valores se expresaron en milímetros.

Prueba de sensibilidad por difusión en disco a diferentes concentraciones

A partir de los cultivos puros de 24 horas de crecimiento se tomó un inóculo y se suspendió en SSF estéril hasta alcanzar la turbidez correspondiente a un patrón Mac Farland 0,5. Cada cepa se sembró sobre agar Mueller Hinton utilizando un hisopo estéril impregnado de la suspensión respectiva.

Se impregnaron discos de papel Whatman N° 3 de 5 mm de diámetro con 10 μ l de cefalexina y cada uno de los complejos sintetizados en suspensiones de concentración 40, 20, 10, 5, y 2,25 mg/ml para así obtener una proporción de 400, 200, 100, 50, y 25 μ g/disco, respectivamente. Para obtener estas concentraciones se procedió de la siguiente manera, se preparó una solución madre de 40 mg/ml de cefalexina y cada uno de los complejos, para lo cual se pesaron 20 mg de los sólidos y se disolvieron en 0,5 ml de dimetilsulfóxido (DMSO). A partir de esta solución madre se tomaron 250 μ l que se mezclaron con 250 μ l de DMSO para tener una solución 2 de concentración 20 mg/ml. A partir de esta solución se tomaron 250 μ l que se mezclaron con 250 μ l de DMSO para obtener una solución 3 de concentración 10 mg/ml, y así sucesivamente.

Finalmente se colocaron discos sobre la superficie del agar Mueller Hinton con ayuda de una pinza estéril. Posteriormente, se incubaron las placas por 24 horas en la estufa a 37°C.

La presencia de actividad antibacteriana de los compuestos sintetizados se detectó por la aparición de halos de inhibición alrededor del disco. Estos ensayos se realizaron por triplicados y las lecturas del halo de inhibición se realizaron con una regla graduada y se reportaron los valores en milímetros (Lynch *et al.*, 1980; Koneman *et al.*, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis elemental

Los resultados obtenidos en el análisis elemental que se muestran en la tabla 1, permiten inferir que la base de Schiff y los complejos sintetizados muestran una buena correspondencia entre los valores calculados (entre paréntesis) y los experimentales para cada uno de los complejos sintetizados, asegurando la confiabilidad de los mismos.

Tabla 1. Análisis elemental de los complejos metálicos obtenidos de la cefalexina, (porcentajes).

Complejos	% C	% H	% N	% S	% M
[(Hcefa-hexa)]	60,18 (59,32)	--- (6,96)	15,23 (15,73)	--- (7,19)	--- ---
[Mn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	36,07 (37,77)	5,33 (5,58)	9,22 (10,01)	4,58 (5,78)	7,85 (8,29)
[Co(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	35,22 (34,18)	5,30 (5,55)	10,25 (10,49)	4,79 (4,56)	8,84 (8,38)
[Ni(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	37,55 (37,57)	5,30 (5,55)	9,95 (9,96)	4,79 (4,56)	8,35 (8,84)
[Cu(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	34,92 (33,93)	5,30 (5,50)	9,52 (9,89)	4,76 (4,53)	9,52 (8,97)
[Zn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	37,31 (37,22)	5,27 (5,25)	10,05 (9,86)	4,53 (4,51)	9,65 (9,21)

%C: porcentaje de Carbono; %H: porcentaje de Hidrógeno; %N: porcentaje de Nitrógeno; %S: porcentaje de Azufre; %M: porcentaje del Metal

Esto confirma que en la base de Schiff, la relación molar de la cefalexina con

1,6 hexanodiamina es 1:1; de igual manera, sucede en la formación de los complejos en donde la proporción molar metal-ligando es 1:1.

Estudios realizados por Anacona y Rodríguez sobre complejos metálicos con cefalexina, corroboran los resultados obtenidos donde el ligando presente guarda similar relación estequiométrica en los complejos sintetizados (Anacona y Rodríguez, 2004).

Medidas de susceptibilidad magnética

En la tabla 2 se muestran los valores de susceptibilidad magnética del capilar con la muestra (R), la susceptibilidad magnética del capilar sin la muestra (R₀), la longitud del capilar (l), la susceptibilidad específica medida por gramos (X_g), la susceptibilidad molar calculada (X_m), tomando en cuenta las correcciones diamagnéticas del ligando utilizando las constantes de Pascal, y la diferencia entre el peso del capilar vacío con el capilar con muestra (Δm).

$$X = \frac{C \cdot l (R - R_0)}{\Delta m \times 10^9}$$

Tabla 2. Medidas de susceptibilidad magnética de los complejos metálicos de la cefalexina.

Complejos	(mg)	XR ₀	XR	l(cm)	X _g	X _m
[Mn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃] .PF ₆	36,0	-59	405	1,6	20,6x10 ⁻⁶	1 3672,5x10 ⁻⁶
[Co(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃] .PF ₆	58,8	-59	501	1,7	16,2x10 ⁻⁶	8 786,1x10 ⁻⁶
[Ni(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃] .PF ₆	49,4	-57	183	1,7	8,25x10 ⁻⁶	5 502,7x10 ⁻⁶
[Cu(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃] .PF ₆	98,8	-57	123	1,5	2,73x10 ⁻⁶	1 550,6x10 ⁻⁶
[Zn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃] .PF ₆	40,9	-57	-52	1,6	0,19x10 ⁻⁶	127,0x10 ⁻⁶

XR₀: susceptibilidad magnética del tubo vacío; XR: susceptibilidad magnética del tubo con muestra; mg: peso de la muestra.

Momentos magnéticos

Los momentos magnéticos fueron calculados a partir de las medidas de susceptibilidad magnética y se muestran en la tabla 3. El momento magnético efectivo (μ_{eff}) es una medida de considerable interés para la caracterización de los complejos preparados. Conociendo este valor, se puede saber, según sea el caso, el estado de oxidación del metal, el número de electrones desapareados que presenta el metal y posible geometría molecular. El momento magnético efectivo experimental se calcula con la siguiente ecuación:

$$\mu_{\text{eff}}(\text{exp}) = 2,84 (X_M^{\text{Corr}})^{1/2} T^{1/2}$$

Donde:

X_M^{Corr} : susceptibilidad molar corregida utilizando las constantes de Pascal.

T: temperatura (K).

2,84: constante, para una sustancia constituida por centros paramagnéticos que no influyen recíprocamente (como en los compuestos de coordinación en que los ligandos aíslan los iones del metal entre sí), la susceptibilidad magnética sigue la ley de Curie, la cual establece:

$$X_M = C/T,$$

Donde C es la constante de Curie. Si la XM de un compuesto obedece a esta ley, el momento magnético efectivo (en magnetones de Bohr) puede ser calculada a partir de la siguiente expresión:

$$\mu_{\text{eff}} = (3K \cdot X_M \cdot T/N \cdot \beta^2)^{1/2} = 2,84 (X_M \cdot T)^{1/2}$$

Donde, K es la constante de Boltzmann, β es el magnetón de Bohr, N es el número de Avogadro y T es la temperatura absoluta.

La ecuación empleada en el cálculo del momento magnético teórico, considerando solo la contribución de espín, es la siguiente:

$$\mu_{\text{eff}}(\text{teórico}) = \sqrt{n(n+2)}$$

Donde:

n: número de electrones desapareados que posee el ión metálico. Se asume que no hay contribución del momento magnético orbital.

De acuerdo al momento magnético efectivo (μ_{eff}), se puede sugerir según sea el caso, el estado de oxidación del metal y el número de electrones desapareados que presenta el mismo. Esto permite predecir una posible geometría octaédrica de acuerdo al valor de μ_{eff} obtenido (Angelici, 1979).

Tabla 3. Momentos magnéticos (μ_{ef}) de los complejos metálicos de la cefalexina.

Complejos	μ_{ef} calculados	μ_{ef} teóricos	Electrones Desapareados	μ_{ef} observados
[Mn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	5,80	5,91	5	5,7 - 6,0
[Co(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	4,59	3,87	3	4,3 - 5,2
[Ni(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	3,74	2,83	2	2,9 - 3,9
[Cu(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	2,12	1,73	1	1,9 - 2,1
[Zn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	0,89	0,00	0	0,0 - 0,0

Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-visible)

En la tabla 4 se resumen las transiciones de los espectros UV-visible de la

cefalexina y algunos complejos metálicos representativos. Los espectros fueron tomados en suspensiones de dimetilsulfóxido.

En esta tabla se aprecia que las transiciones electrónicas de la base Schiff también se muestran en el ligando, dichas transiciones están ligeramente desplazadas por efecto de la coordinación del metal. Los complejos de $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ y $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ son los que muestran transiciones electrónicas en el metal. Las transiciones en el complejo $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ no fueron detectadas probablemente por ser muy débiles y quedan fuera de la sensibilidad del equipo.

Tabla 4. Resumen de los espectros UV-visible de la cefalexina y algunos compuestos metálicos.

Complejos	Transiciones electrónicas (nm)	
	En el ligando	En el metal
$[(\text{Hcefa-hexa})]$	308 – 369 – 422	-----
$[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$	311 – 369 – 422	-----
$[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$	300 – 380 – 440	-----
$[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$	312 – 363 – 410	465
$[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$	304 – 437	575 – 666
$[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$	310 – 358 – 420	-----

Los complejos de $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ y $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ no manifestaron transiciones electrónicas debidas al metal ya que ambos no presentan estados electrónicos de igual multiplicidad que el estado fundamental; ${}^6\text{A}_1$ y ${}^1\text{S}_0$ respectivamente.

Los espectros del ligando y los complejos sintetizados se pueden apreciar desde la figura 6 a la 12.

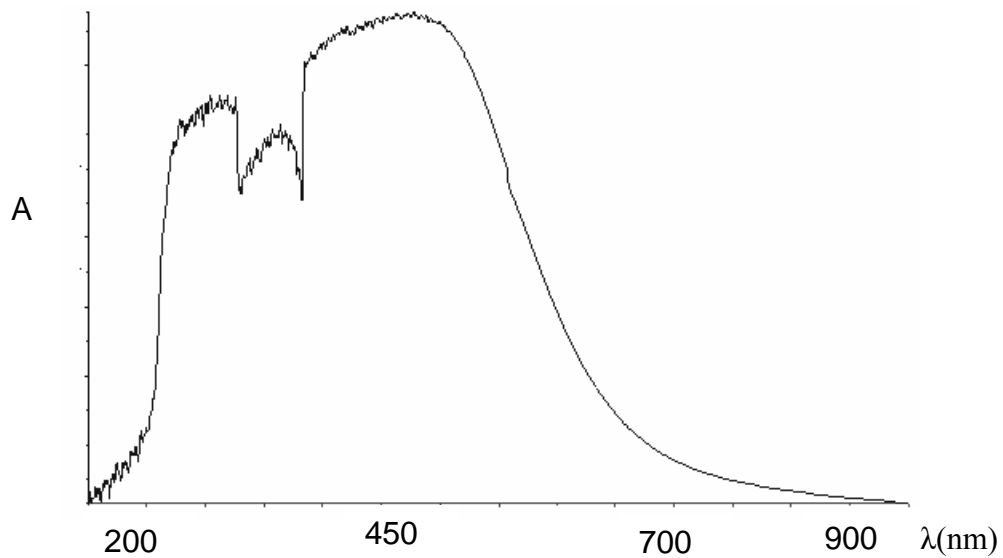


Figura 6. Espectro UV-visible de la cefalexina

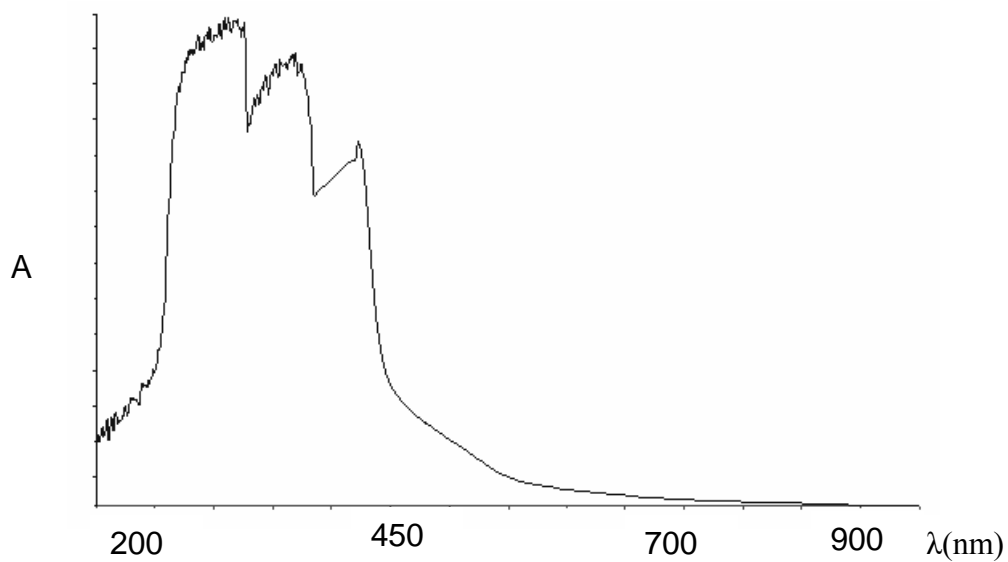


Figura 7. Espectro UV-visible de la base Schiff [(Hcefa-hexa)]

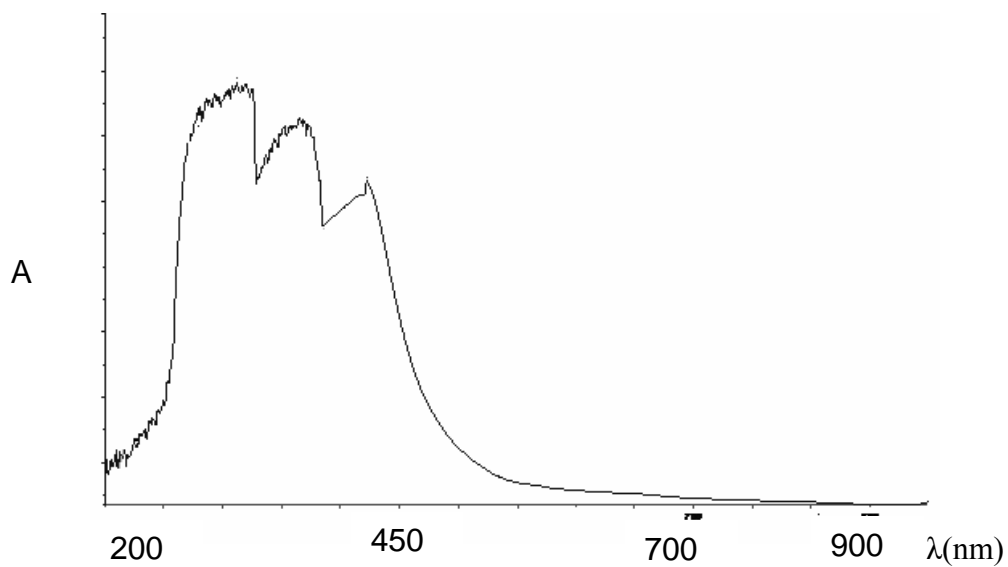


Figura 8. Espectro UV-visible del [Mn(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆

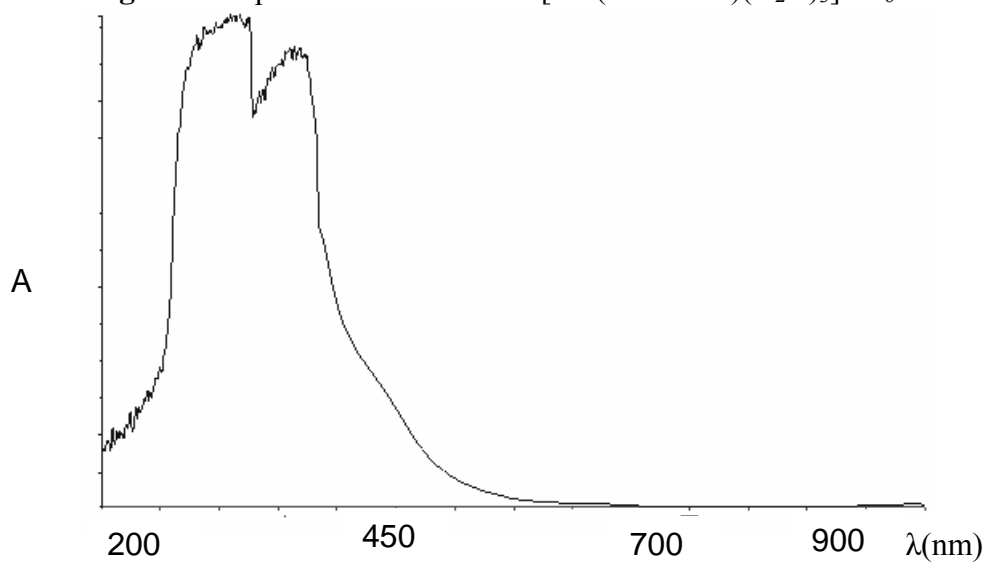


Figura 9. Espectro UV-visible del [Co(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆

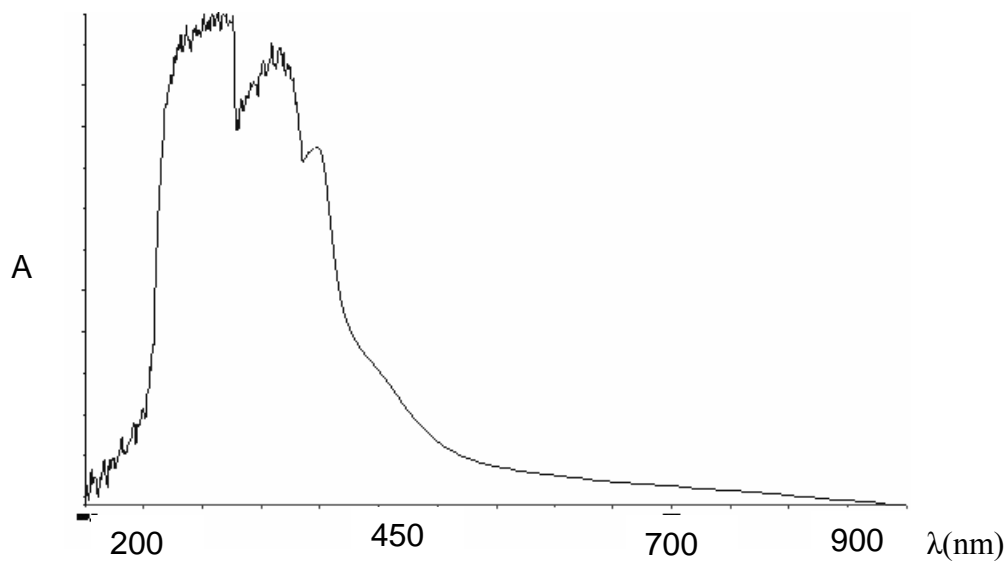


Figura 10. Espectro UV-visible del $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3]\cdot\text{PF}_6$

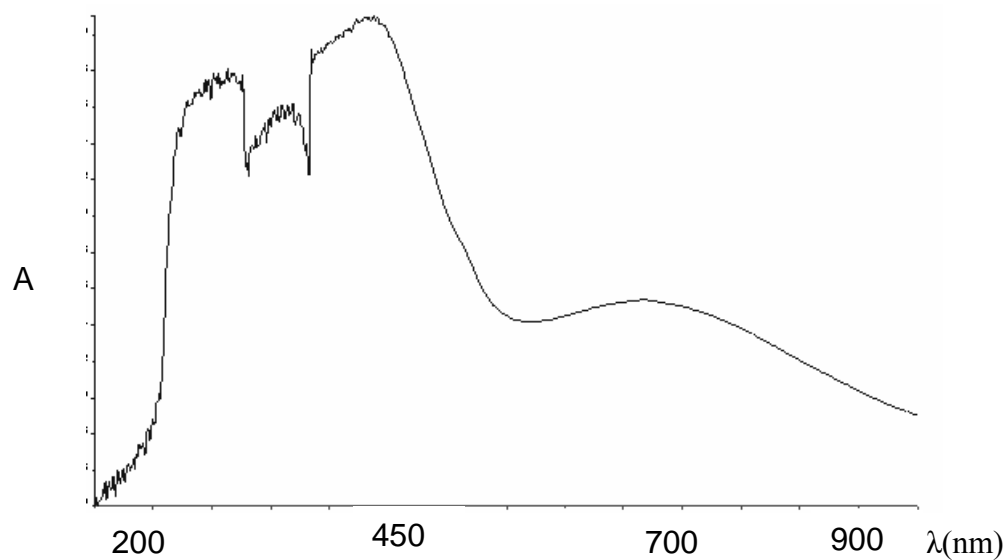


Figura 11. Espectro UV-visible del $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3]\cdot\text{PF}_6$

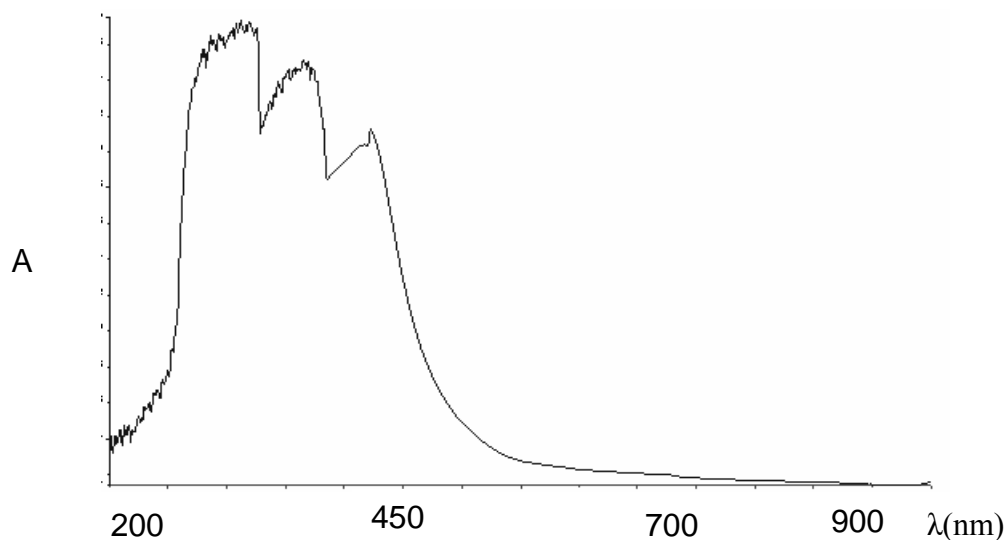


Figura 12. Espectro UV-visible del $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$

Espectroscopía infrarroja

En la tabla 5 se resumen las principales bandas IR de la cefalexina y los complejos sintetizados; los espectros relacionados se muestran desde la figura 13 a la 19.

Tabla 5. Principales bandas IR de la cefalexina y sus complejos (cm^{-1}).

Complejos	$\gamma(\text{C}=\text{O})$ Lactámico (cm^{-1})	$\gamma(\text{C}=\text{O})$ amida (cm^{-1})	$\gamma(\text{C}=\text{O})$ imino (cm^{-1})	$\gamma(\text{COO})$ asimétrico (cm^{-1})	$\gamma(\text{COO})$ simétrico (cm^{-1})	$\Delta\gamma(\text{COO})$ (cm^{-1})
Cefalexina	1 755	1 700	-----	-----	-----	-----
[(Hcefa-hexa)]	-----	1 676	1 644	-----	-----	-----
[Mn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	-----	1 667	1 644	1 611	1 422	189
[Ni(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	-----	1 677	1 644	1 611	1 401	210
[Co(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	-----	1 677	1 644	1 611	1 389	222
[Cu(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	-----	1 666	1 644	1 611	1 411	200
[Zn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	-----	1 677	1 644	1 600	1 388	212

γ : frecuencia; $\Delta\gamma$: diferencia de frecuencia.

La cefalexina presenta una banda intensa de absorción a $1\,755\text{ cm}^{-1}$ debido al modo vibracional de estiramiento del grupo C=O lactámico, la cual desaparece en el espectro IR de la base de Schiff, sugiriendo que la formación del enlace imino C=N ha procedido a través de ese grupo carbonilo. Los complejos metálicos que reaccionan con la base de Schiff, obviamente, tampoco presentan esa banda de absorción IR.

La formación del enlace imino C=N se refleja en la absorción IR que presenta la base de Schiff, [(Hcefa-hexa)], alrededor de $1\,644\text{ cm}^{-1}$, debida al estiramiento del enlace C=N y que aparece levemente desplazada en el espectro IR de los complejos a $1\,644\text{ cm}^{-1}$ debido a que el átomo de nitrógeno estaría enlazando al ión metálico.

El grupo carboxilato COO^- , presenta dos absorciones debidas a los estiramientos de los enlaces O-C-O, uno antisimétrico ($1\,611\text{ cm}^{-1}$) y otro simétrico ($1\,400\text{ cm}^{-1}$) que al enlazar al ión metálico se separan con una diferencia de 200 cm^{-1} , lo cual sugiere que la coordinación del grupo COO al metal es monodentada, es decir, por un solo átomo de oxígeno (Nakamoto, 1986).

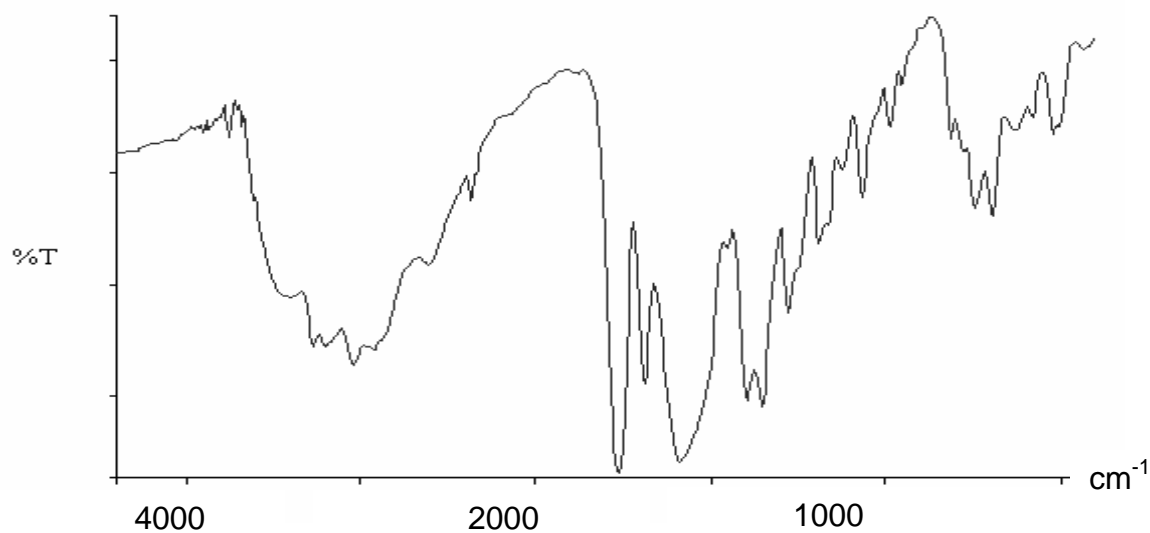


Figura 13. Espectro IR de la cefalexina·H₂O

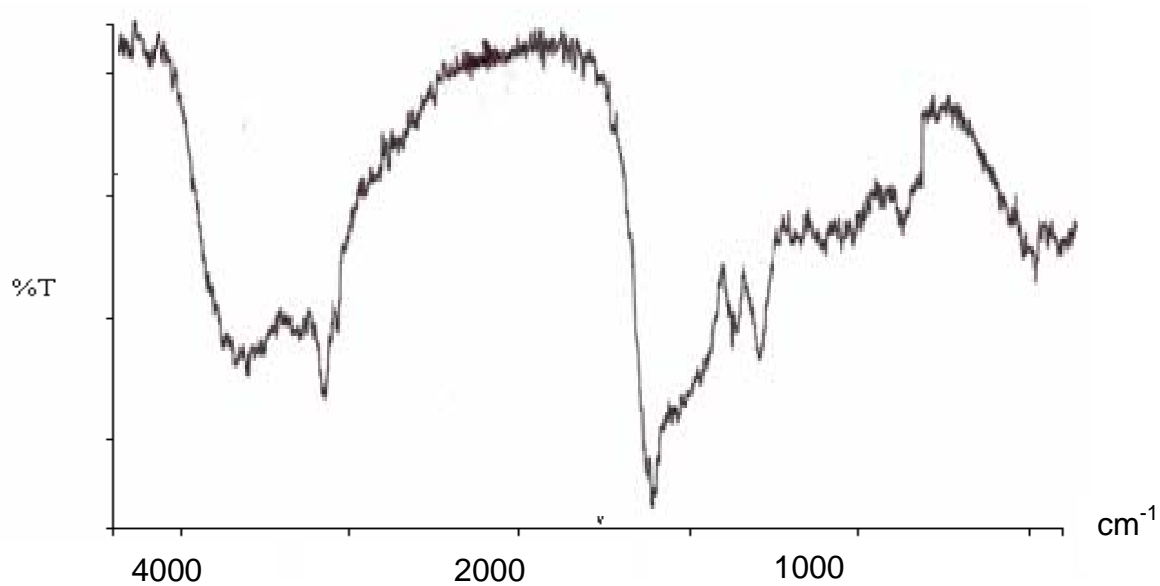


Figura 14. Espectro IR de la base Schiff [(Hcefa-hexa)]

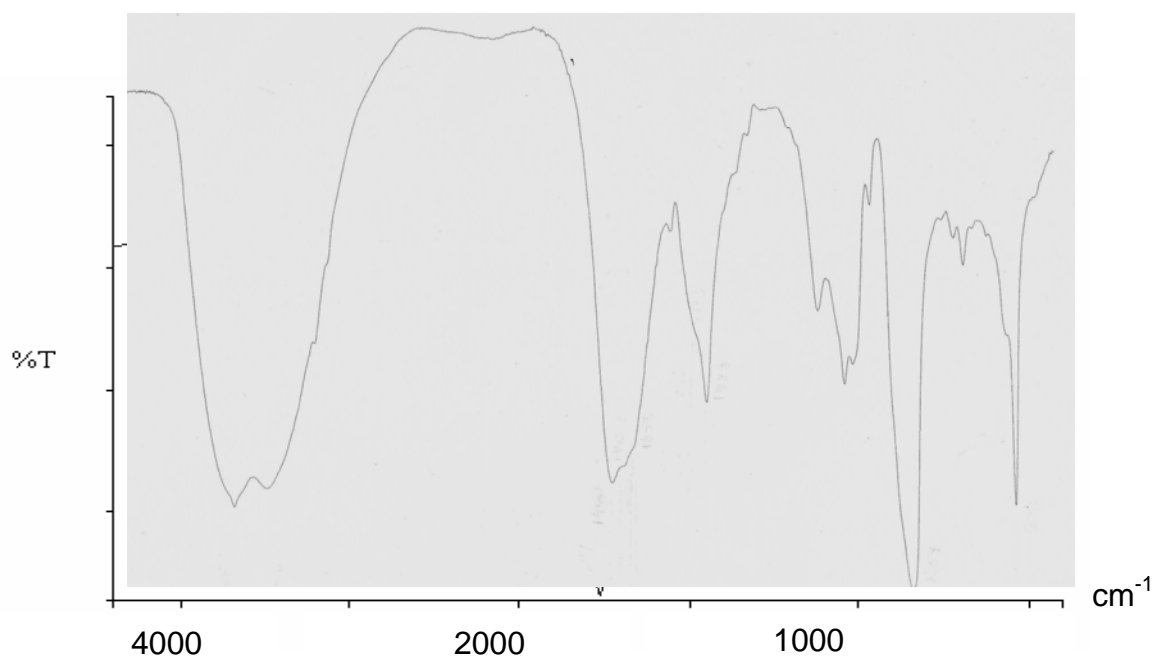


Figura 15. Espectro IR del [Mn(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆

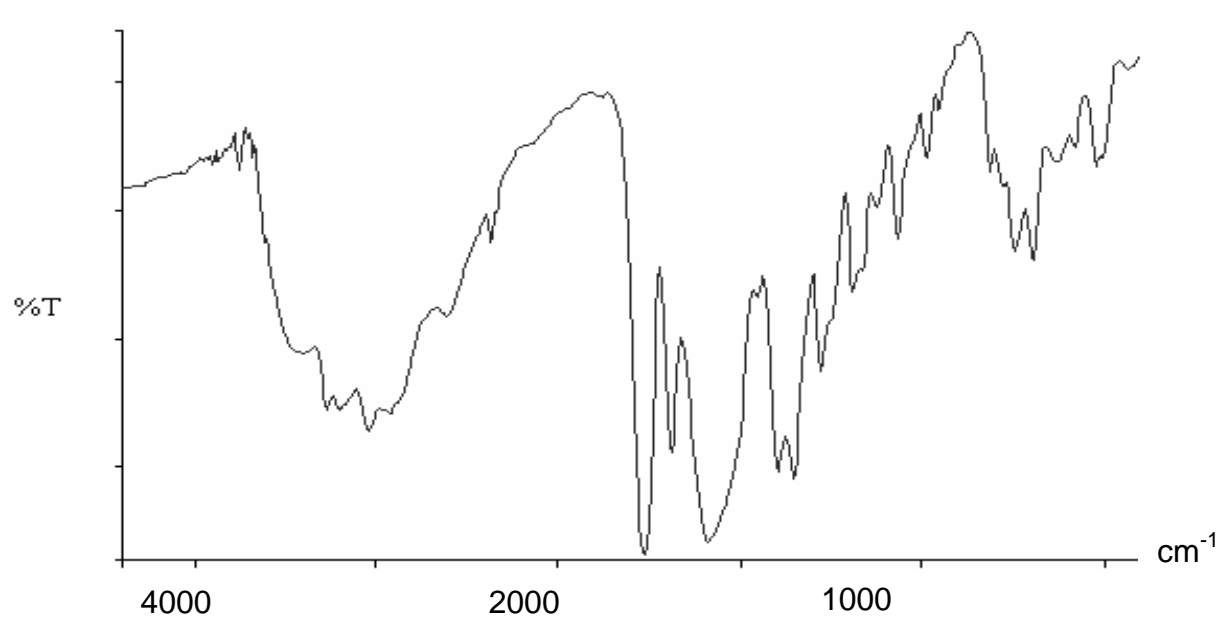


Figura 16. Espectro IR del [Co(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆

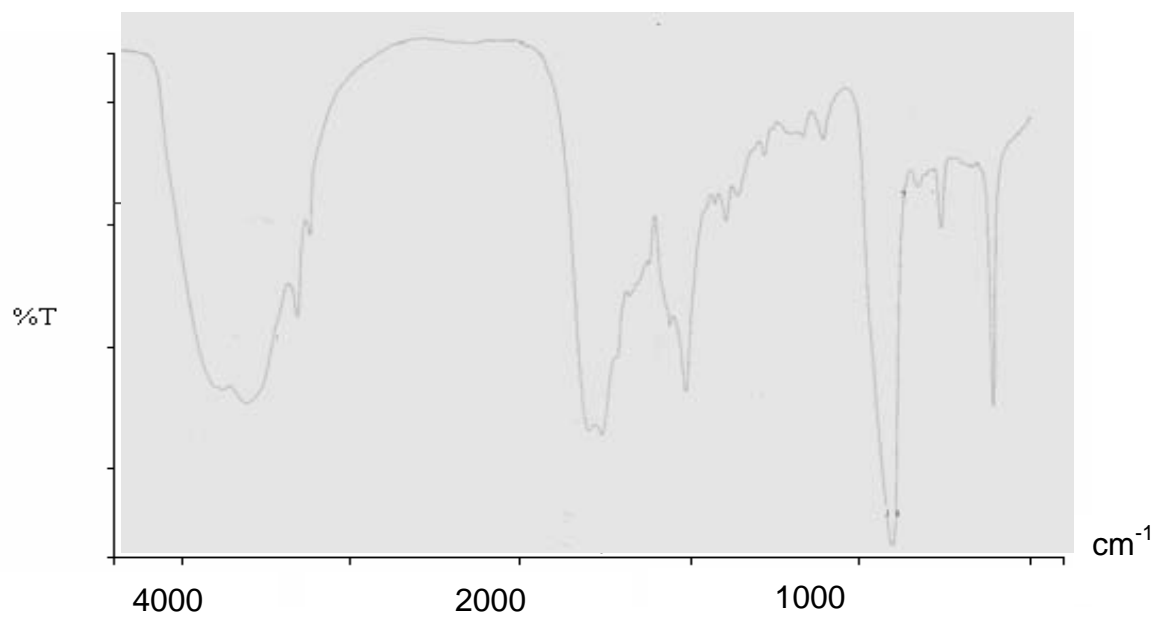


Figura 17. Espectro IR del [Ni(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆

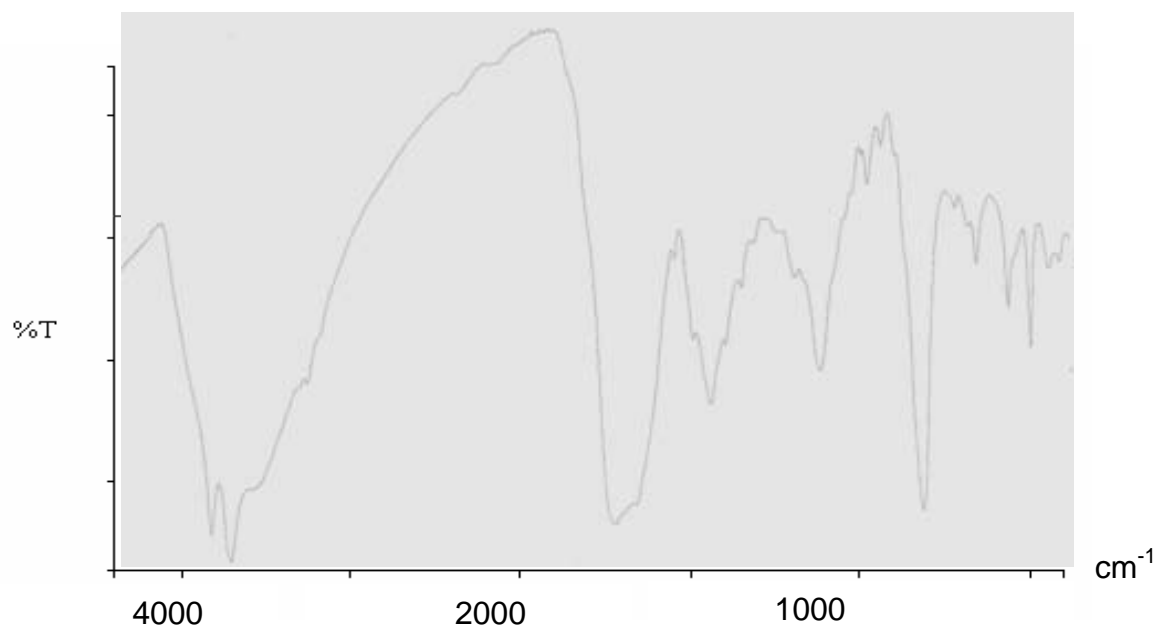


Figura 18. Espectro IR del [Cu(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆

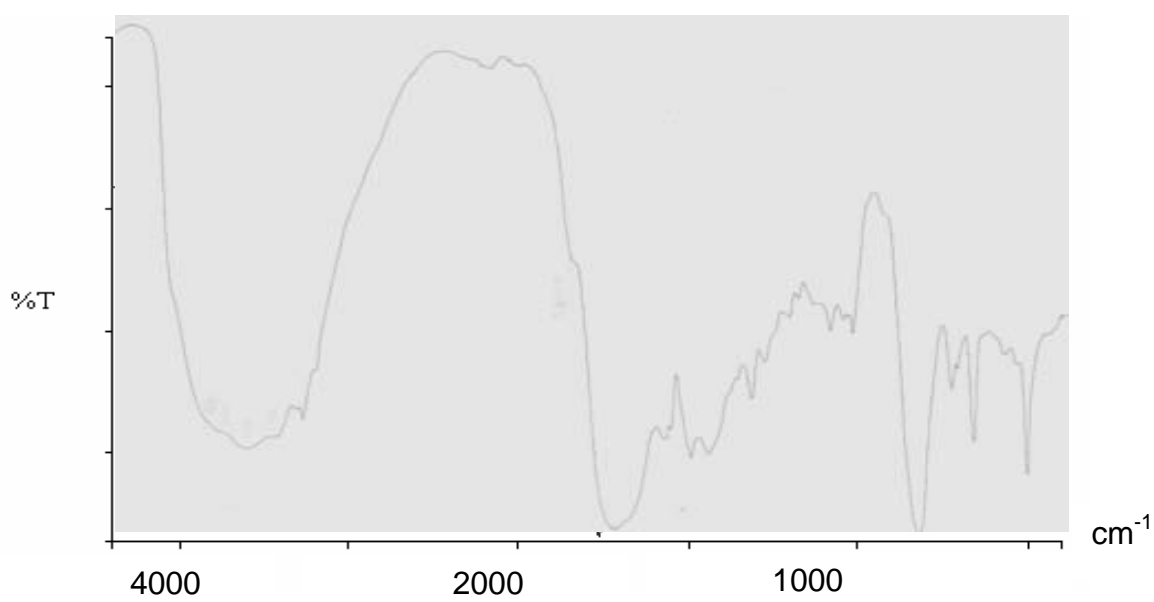


Figura 19. Espectro IR del [Zn(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆

Los resultados obtenidos permiten sugerir una posible estructura para los complejos, la cual es mostrada en la figura 20.

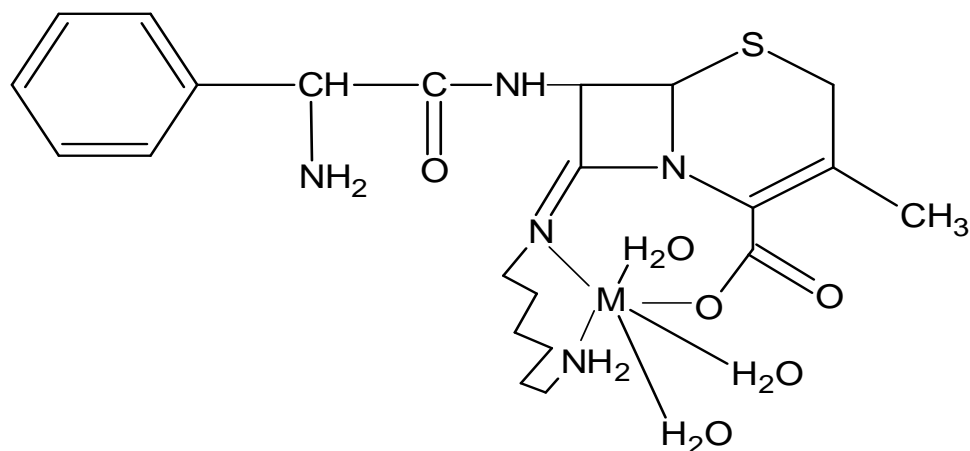


Figura 20. Estructura sugerida para los complejos. [M= Mn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺ y Zn²⁺].

Conductividad

En la tabla 6 se observa la conductividad que presentan los compuestos metálicos sintetizados utilizando dimetilsulfóxido como solvente. Para éstos se prepararon soluciones de los compuestos de coordinación a concentraciones de 1×10^{-3} mol·l⁻¹ en dimetilsulfóxido.

Tabla 6. Conductividad que presentan los compuestos metálicos sintetizados.

Complejo	Conductividad (Ω/cm)	Resistividad (Ω/cm)	T °C
[(Hcefa-hexa)]	37,90	0,026	28,8
Dimetilsulfóxido	28,30	0,024	28,8
[Co(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	40,10	0,025	27,3
[Ni(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	26,21	0,038	28,1
[Cu(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	20,89	0,048	27,6
[Zn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	19,96	0,050	28,2

Los valores de conductividad molar obtenidos muestran que los compuestos se comportan como electrolitos 1:1, es decir en solución, se disocian en el anión PF_6^- y en el complejo catiónico. Estas medidas confirman la presencia de PF_6^- en la estructura. Las medidas observadas concuerdan con los valores sugeridos por Geary para electrolitos 1:1 en dimetilsulfóxido (Geary, 1971).

Actividad biológica

Los resultados obtenidos de los ensayos para determinar posible actividad biológica de la cefalexina y de los complejos metálicos sintetizados, según el método de difusión en agar, permite afirmar que algunos de los complejos poseen actividad antibacteriana sobre determinadas cepas.

La actividad antibacteriana presentada por la cefalexina y sus complejos metálicos, frente a distintas cepas bacterianas, utilizando el método de difusión en agar se muestra en la tabla 7.

La cefalexina comercial mostró actividad contra cuatro de las cinco cepas ensayadas, las cuales fueron *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* y *K pneumoniae*, presentando una actividad máxima sobre *S. aureus* con un halo de inhibición de 30 mm y una mínima actividad contra *E. coli* con un halo de 25 mm y *K pneumoniae* con 10 mm; el significado de este halo representa la capacidad que tiene el antibiótico de inhibir las cepas bacterianas. Al evaluar los complejos sintetizados y ensayados frente a *S. aureus* encontramos que $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ mostró un halo de 33 mm y el $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ de 31 mm; 1 y 3 mm mayor que el manifestado por la cefalexina comercial (figura 22). A su vez en $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ y el $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ presentan un halo de inhibición de igual diámetro que la cefalexina comercial (figura 21-22).

Tabla 7. Halos de inhibición en mm producidos por la cefalexina y los complejos sintetizados ante las especies bacterianas ensayadas.

Complejos (400µg/disco)	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Cefalexina	30	22	25	10	–
[(Hcefa-hexa)]	21	–	1	–	–
[Mn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	33	–	28	17	–
[Co(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	29	–	23	1	15
[Ni(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	30	26	30	9	–
[Cu(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	31	35	27	16	26
[Zn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	30	–	29	16	–



Figura 21. Halos de inhibición de la cefalexina, [Ni(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆, [Co(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆, frente a la cepa *S. aureus* (ATCC 25923).



Figura 22. Halos de inhibición de, $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ frente a la cepa *S. aureus* (ATCC 25923).

E. coli frente al complejo $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ demostró un halo de 30 mm, 5 mm mayor que el alcanzado por la cefalexina, seguido del $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ con un tamaño de 29 mm, $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, con 28 mm y el $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ 27 mm respectivamente, todos los compuestos manifestaron mayor actividad inhibitoria que la mostrada por la cefalexina comercial (figura 23-24); con excepción del $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ y la base de Schiff.



Figura 23. Halos de inhibición de la cefalexina, $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, frente a la cepa *E. coli* (ATCC 25922).



Figura 24. Halos de inhibición de $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ frente a la cepa *E. coli* (ATCC 25922).

S. epidermidis ante la cefalexina evidenció un halo de 22 mm, el cual fue superado por el compuesto de $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ con 35 mm, marcando 13 mm de diferencia en comparación a la respuesta obtenida por parte del taxo preparado con la cefalexina comercial, figura 25.



Figura 25. Halos de inhibición de la cefalexina, $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, frente a la cepa *S. epidermidis*. (ATCC 14990).

En la cepa *K. pneumoniae* se distinguió un halo de 10 mm el cual fue superado por los complejos metálicos $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, y $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ (figuras 26 y 27).



Figura 26. Halos de inhibición de la cefalexina, $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, frente a la cepa *K. pneumoniae* (ATCC 700603).



Figura 27. Halos de inhibición de $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ frente a la cepa *K. pneumoniae* (ATCC 700603).

En *P. aeruginosa* la cefalexina comercial no presentó muestra de inhibición bacteriana, sin embargo; el $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ y el $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ destacaron halos de 26 mm y 15 mm respectivamente (figura 28-29); Es importante mencionar que, esta cepa bacteriana presenta resistencia natural a las cefalosporinas debido a su propiedad de producir enzimas que degradan el anillo betalactámico característico de estos antibióticos inactivando el mecanismo de acción del mismo. Luego de obtener dichas respuestas podemos afirmar que, los compuestos

synthesized report satisfactory results as they show certain antibacterial activity against the attack of beta-lactamase enzymes of these bacteria, a quality that is not observed with the commercial antibiotic.

Studies performed by Anacona and Rodríguez on cefalexin agree with the results obtained in this investigation where the Schiff base behaves as a tridentate monoanionic ligand and the complexes show to be high spin, probably octahedral, however, there is a lack of studies where antimicrobial tests are applied against this first-generation cephalosporin, preventing comparison with previous work, at the same time it serves as support for future investigations (Anacona and Rodríguez, 2004).



Figura 28. Halos de inhibición de la cefalexina, $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3]\cdot\text{PF}_6$, $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3]\cdot\text{PF}_6$, frente a la cepa *P. aeruginosa* (ATCC 27853).



Figura 29. Halos de inhibición de $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3]\cdot\text{PF}_6$, $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3]\cdot\text{PF}_6$, $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3]\cdot\text{PF}_6$ frente a la cepa *P. aeruginosa* (ATCC 27853).

Tabla 8. Halos de inhibición en mm de la cefalexina y complejos sintetizados utilizando discos a diferentes concentraciones frente a las especies bacteriana ensayadas.

Complejos	Conc. µg/disco	<i>S.</i> <i>aureus</i>	<i>S.</i> <i>epidermidis</i>	<i>E.</i> <i>coli</i>	<i>K.</i> <i>pneumoniae</i>	<i>P.</i> <i>aeruginosa</i>
Cefalexina	400	30	22	25	10	-
	200	21	-	-	-	-
	100	20	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-
[(Hcefa-hexa)]	400	21	-	1	-	-
	200	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-
[Mn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	400	33	-	28	17	-
	200	23	-	17	-	-
	100	14	-	13	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-
[Co(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	400	29	23	23	1	15
	200	18	20	14	-	-
	100	11	13	1	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-
[Ni(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	400	32	26	30	9	-
	200	22	-	17	-	-
	100	14	-	11	-	-
	50	8	-	1	-	-
	25	-	-	-	-	-
[Cu(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	400	31	35	27	16	26
	200	19	26	18	-	-
	100	13	23	11	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-
[Zn(cefa-hexa)(H ₂ O) ₃].PF ₆	400	30	-	29	15	-
	200	13	-	13	-	-
	100	-	-	1	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-

-: sin inhibición de crecimiento.

En la tabla 8 se pueden apreciar los resultados obtenidos para la prueba de sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones. Inicialmente se observó que la cefalexina comercial presentó actividad antibacteriana a las concentraciones de 100 µg/disco frente a la cepa *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis* y *K. pneumoniae* mostraron inhibición a una concentración de 400 µg/disco mientras que *P. aeruginosa* no manifestó inhibición alguna.

[Mn(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆ mantuvo inhibición bacteriana a 100 µg/disco con las bacterias *S. aureus* y *E. coli*, en *K. pneumoniae* a 400 µg/disco con halos superiores a los alcanzados con la cefalexina libre y nula actividad en *P. aeruginosa* y *S. epidermidis*.

El [Zn(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆ mostró una relevante inhibición en la cepa *E. coli* con halos superiores a los alcanzados por el antibiótico comercial, hasta una concentración de 100 µg/disco, a su vez con la cepa de *K. pneumoniae* la inhibición a 400 µg/disco fue 5 mm mayor que la alcanzada por la cefalexina.

Los complejos [Cu(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆ y [Co(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆ manifestaron un comportamiento similar con una CMI a 100 µg/disco ante *S. aureus*, *S. epidermidis* y *E. coli*; en *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae* una CMI a 400 µg/disco.

El complejo [Ni(cefa-hexa)(H₂O)₃].PF₆ demostró una actividad antibacteriana hasta los 50 µg/disco ante la cepa de *S. aureus* y *E. coli*, lo cual evidencia la mayor eficacia del complejo sobre estos microorganismos, a su vez pone de manifiesto la capacidad de inhibición a una concentración menor que la alcanzada por el antibiótico comercial ensayado.

Es importante mencionar que la base Schiff sintetizada [H(cefa-hexa)] mostró baja o nula actividad antibacteriana frente a las diferentes cepas ensayadas en

comparación a la representada por los complejos metálicos. Por tal motivo se puede afirmar que, la misma se desempeñó en la reacción como un modelo cefalo-amino que aportó un sitio activo para el ion metálico y a su vez estabilizó los complejos sintetizados brindándoles un óptimo mecanismo de acción frente a las cepas utilizadas (Figuras 30 a la 38).

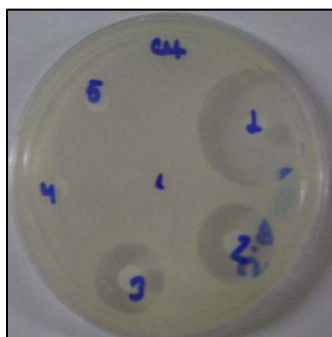


Figura 30. Halos de inhibición de la cefalexina ante la cepa *S. aureus* (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.

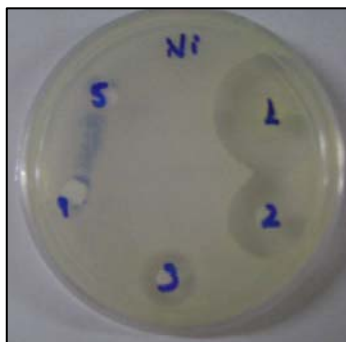


Figura 31. Halos de inhibición del $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa *S. aureus* (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.

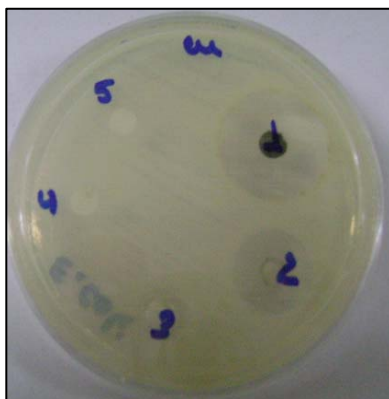


Figura 32. Halos de inhibición del $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ frente a la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

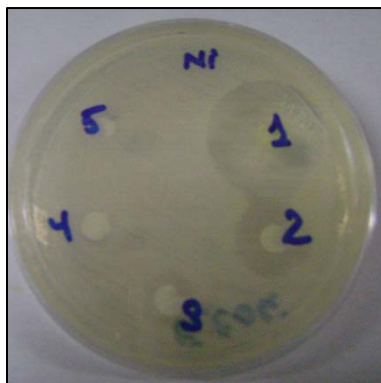


Figura 33. Halos de inhibición del $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.



Figura 34. Halos de inhibición del $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

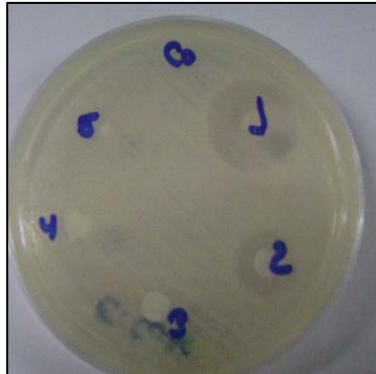


Figura 35. Halos de inhibición del $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

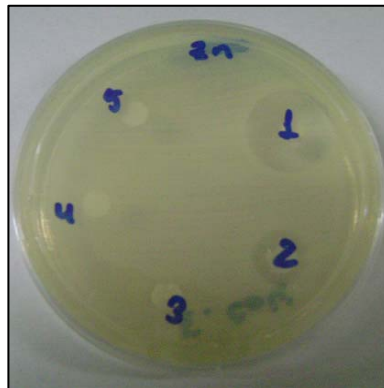


Figura 36. Halos de inhibición del $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

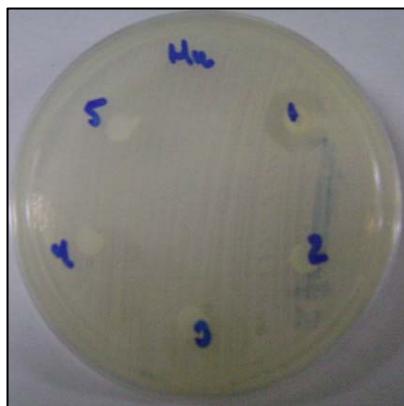


Figura 37. Halos de inhibición del $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa *K. pneumoniae* (ATCC 700603) a diferentes concentraciones.



Figura 38. Halos de inhibición del $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante la cepa *K. pneumoniae* (ATCC 700603) a diferentes concentraciones.

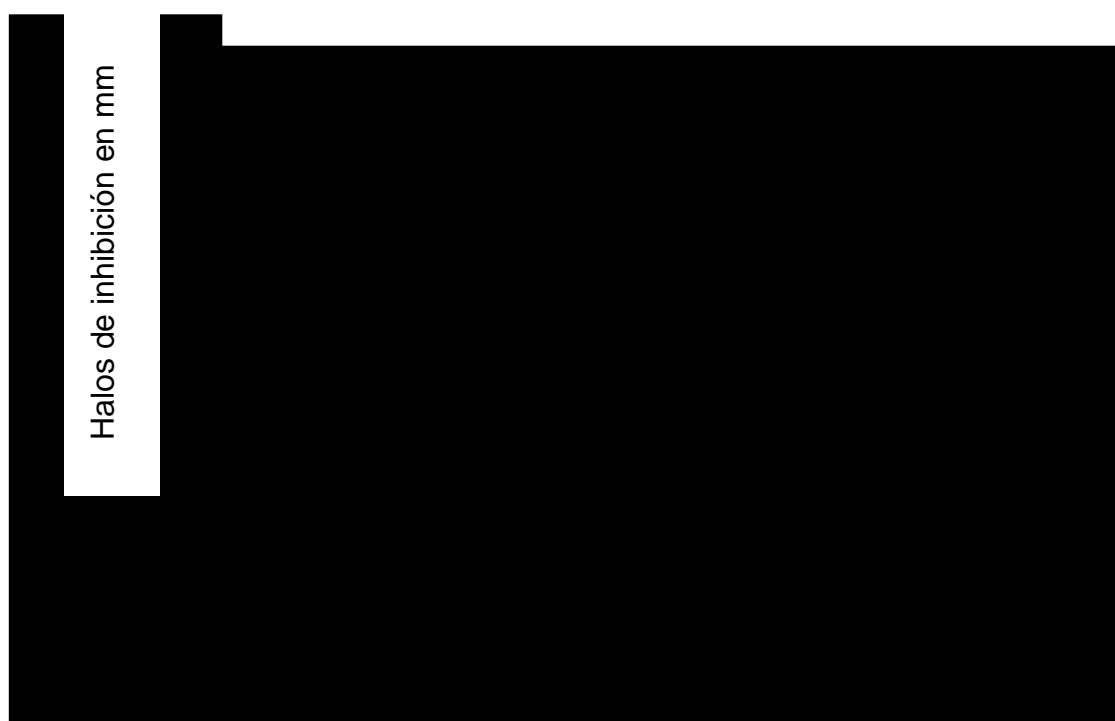


Figura 39. Halos de inhibición en mm producidos por la cefalexina comercial y los complejos sintetizados utilizando el método de difusión en agar.

La respuesta obtenida por la cefalexina se observa en el primer conjunto de barras del gráfico presentado, mostrando así la diferencia entre la misma y los complejos sintetizados que en su mayoría, reflejaron una actividad antibacteriana más

elevada que la obtenida por la cefalexina comercial, ésto se puede deber al hecho de que al formarse la base Schiff y ésta servir como puente de enlace al ión metálico, se aumentó el tamaño de la molécula sintetizada lo que pudo de una manera u otra dificultar la degradación del mismo por parte de los microorganismos experimentados. De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede afirmar que los complejos sintetizados mostraron en la mayoría de los casos mayor efectividad al momento de inhibir el crecimiento bacteriano frente a las cepas ensayadas.

CONCLUSIONES

Se sintetizó la base de Schiff [(Hcefa-hexa)] mediante la reacción entre la cefalexina comercial y la 1,6-hexanodiamina, la cual se hizo reaccionar con metales de la primera serie de transición para obtener los complejos $[M(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, donde $M = \text{Mn}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Cu}^{2+}$ y Zn^{2+} .

La base de Schiff y los complejos fueron caracterizados mediante análisis elemental, conductancia molar, susceptibilidad magnética, espectroscopía infrarroja y espectroscopía UV-Visible. La base Schiff se comporta como un ligando tridentado monoaniónico y los complejos muestran ser de alto espín, probablemente octaédricos.

La actividad antibacteriana de los compuestos sintetizados fue ensayada frente a las cepas *E. coli* (ATCC 25922), *K. pneumoniae* (ATCC 700603), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. aureus* (ATCC 25923) y *S. epidermidis* (ATCC 14990), certificadas por la Colección Americana de Cultivos y Tipos (ATCC) utilizando la técnica de difusión en agar.

La técnica de difusión en agar evidenció que, todos los complejos metálicos sintetizados mostraron una actividad antibacteriana mayor o igual a la manifestada por la cefalexina libre a excepción del $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, y $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ sobre la cepa *S. epidermidis* (ATCC 14990).

Utilizando la prueba de sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones se determinó que los complejos $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Cu}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ y $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ alcanzaron una CMI de 100 $\mu\text{g}/\text{disco}$ mientras que la cefalexina comercial mostró una CMI de 400 $\mu\text{g}/\text{disco}$.

frente a las cepas ensayadas, a excepción de *S. aureus* (ATCC 25923) donde mantuvo una inhibición hasta los 100 µg/disco y nula actividad antibacteriana ante *P. aeruginosa* (ATCC 27853). El complejo [(Hcefa-hexa)] no mostró actividad frente a ninguna de las cepas utilizadas en las dos técnicas aplicadas.

BIBLIOGRAFÍA

Adu, S. y Armour, L. 1995. Drug utilization review (DUR) of the third generation cephalosporins. *Drugs*, 50: 423-439.

Anaconda, J. y Álvarez, P. 2002. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of cefazolin. *Trans. Metal Chem.*, 27: 856-860.

Anaconda, J. y Estacio, J. 2006. Synthesis and antibacterial activity of cefixime metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 31: 227-231.

Anaconda, J. y Gil, C. 2005. Synthesis and antibacterial activity of cefoxitin metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 30: 605-609.

Anaconda, J. y Rodríguez, A. 2005. Synthesis and antibacterial activity of ceftriaxone metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 30: 897-901.

Anaconda, J. y Rodríguez I. 2004. Synthesis and antibacterial activity of cephalixin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 57: 1263-1269.

Anaconda, J. y Serrano, J. 2003. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of cephalothin. *J. Coord. Chem.*, 56: 313-320.

Anaconda, J. y Osorio, I. 2008. Synthesis and antibacterial activity of copper (II) complexes with sulphathiazole and cephalosporin ligands. *Trans. Metal Chem.*, 33: 517-521.

Angelici, J. 1979. *Técnicas y síntesis en química inorgánica*. Segunda edición. Editorial Reverté, S.A. Barcelona, España.

Barradell, L. y Bryson, H. 1994. Cefepime. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*, 47: 471-505.

Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. pathol.*, 45: 493.

Busch, H. 1993. The complete coordinations chemistry-one practitioner's perspectiva. *Chem. Rev.*, 93: 847-860.

Collinson, S. y Fenton, E. 1996. Metal complexes of bibracchial Schiff base macrocycles. *Coord. Chem. Rev.*, 148: 19-40.

Colthup, N.; Dalg, L. y Wiberle, S. 1990. *Introduction to infrared and Raman Spectros Copy*. Tercera edición. Academic press. San Diego.

Comegna, M.; Guzmán, M.; Carmona, O. y Molina, M. 2000. Resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela, Nuevos Hallazgos. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 20(1): 35-39.

Conde, C. "Microorganismos usan tres mecanismos para evitar la acción de los fármacos". El Nacional, 4 de octubre de 2008. Ciencia y Ambiente. Pág. B/8.

Davis, B.; Dulbeco, R.; Eisen, H. y Ginsberg, H. 1984. *Tratado de microbiología*. Tercera edición. Ediciones Salvat. España.

Geary, J. 1971. The use conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. *Coord. Chem. Rev.*, 7: 81.

Goddman, A.; Rall, T.; Nies, A. y Taylor, P. 1991. *Las bases farmacológicas de la terapéutica. En: Agentes Antimicrobianos, penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos β -lactámicos.* Mandell, G. (ed.) Octava edición. Editorial Médica Panamericana, Argentina.

Gómez, M.; Mariño, F.; Montes, T. y Marcano, C. 1997. *Microbiología médica de Divo.* Quinta edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Venezuela.

Ianes, E. 1996. “Agentes Microbianos y Microorganismos”. <http://www.edu.Micro.Usal.Es/mg2f96/tema20.html>> (09/08/2004).

Jawest, E.; Melnick, J. y Adelberg, E. 1981. *Manual de microbiología médica.* Novena edición. Editorial El manual Moderno, S. A. México.

Joklik, W.; Willet, H.; Amos, B. y Wilfert, C. 1995. *Microbiología Zinsser.* Veinteava edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

Jones, R. 1998. Important and emerging B-lactamase mediated resistances in hospital-based pathogens: the Amp. C enzymes. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 31: 461-466.

Klein, N. y Cunha, B. 1995. Cefalosporinas de la tercera generación. *Am. J. Méd.*, 79: 693-707.

Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P. y Winn, W. 2004. *Diagnóstico microbiológico*. Quinta edición. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires.

López, F. y Garrido, J. 1989. Química y relación estructura-actividad de los antibióticos cefalosporínicos. *Rev. Col. Quím. Farm.*, 41: 5-14.

Lynch, M.; Rápale, S.; Mello, L.; Spare, P. y Imwood, M. 1980. *Métodos de laboratorio 2*. Segunda edición. Nueva Editorial Interamericana. México.

Martin, N.; Carmona, O. y Guzmán, M. 2002. Efecto de inhibidores de B-lactamasas sobre la evolución de la resistencia a B-lactámicos en bacilos Gram negativos. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 22(1): 37-43.

Mandell, G.; Douglas, R. y Benett, J. 1985. *Anti infective therapy*. Wiley and Sons. USA.

Mechan, E.; Elving, P. y Kolthoff, I. 1981. En: *Treatise on analytical Chemistry*. Segunda edición, capítulo 3. New York.

Nakamoto, K. 1986. *Infrared and Raman Spectra of inorganic and coordination compounds*. Cuarta edición. Wiley, New York.

Neu, C. 1983. Structure-activity relations of new B-lactam compounds and *in vitro* activity against common bacteria. *Rev. Infect. Dis.*, 5(2): 319-331.

Neu, C. 1986. Beta-lactam antibiotics structural relationships affecting *in vitro* activity and pharmacological properties. *Rev. Infect. Dis.*, 8(3): 237-259.

Pitout, J.; Sanders, C. y Sanders, W. 1997. Antimicrobial resistance with focus on Beta-lactam resistance in Gram negative bacilli. *Am. J. Méd.*, 103: 51-59.

Prestayko, W. Crooke, T. y Carter, K. 1980. Cisplatin, current status and new developments. (Eds), Academic press, New York.

Pumarola, A.; Rodríguez, A.; García, R. y Piedrola, G. 1991. *Microbiología y parasitología médica. En: Antimicrobianos*. García, R. (ed.), Segunda edición. Ediciones Científicas y Técnicas, S. A. Masson. España.

Rivas, K.; Rivas, M.; Dávila, E. y Rodríguez, M. 2002. Cefalosporinas de la primera a la cuarta generación. *Rev. Fac. Med.*, 25: 98-101.

Russell, S. 1965. Physical methods in inorganic chemistry. Neinhold publishing corporation New York.

Sanders, C. 1992. Beta-lactam the bacteria Gram negative. *Clin. Infect. Dis.*, 14: 1089-1099.

Skoog, D.; Holler, J. y Nieman, T. 2001. *Principios de análisis instrumental*. Quinta edición. Editorial Mc Graw Hill. Madrid.

Sorenson, J. 1976. Copper as posible active forms of the antiarthritic agents. *J. Méd. Chem.*, 19: 135-148.

Sorenson, J. 1982. Inflammatory diseases and copper. (Ed.), Humana Press, New York.

Tomasz, A. 1986. Penicillin-binding proteins and the antibacterial effectiveness of B-lactam antibiotics. *Rev. Infect. Dis.*, 8(3): 260-278.

Turnidge, D. 1998. The pharmacodynamics of B-lactams. *Clin. Infect. Dis.*, 27: 10-22.

Zemelman, R.; Bello, H.; Domínguez, M.; González, G.; Mella, S. y García, A. 1993. Activity of imipenem. Third-generation cephalosporins, aztreonam, and ciprofloxacin against multi-resistant Gram negative bacilli isolated from Chilean hospitals. *J. Antimi. Chem.*, 32: 413-419.

Zemelman, R.; Norambuena, R.; Vergara, L. y Gacitua, R. 1987. Los antibióticos B-lactámicos: agrupación según su estructura química y sus propiedades bacteriológicas. *Rev. Méd. Chile*, 115: 983-991.

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	SÍNTESIS DE COMPLEJOS METÁLICOS CON UN LIGANDO BASE DE SCHIFF, QUE CONTIENE CEFALEXINA Y 1,6 HEXANODIAMINA PARA LA DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
YARICRUZ CAROLINA DEL VALLE PINEDA ACHIQUES	CVLAC	18.212.130
	e-mail	Yari810@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Cefalexina, complejos metálicos, ligando base de Schiff, dimetilsulfoxido

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se Comparó la acción antibacteriana de complejos metálicos unidos a un ligando base Schiff que contenga cefalexina y 1,6 hexanodiamina, sobre bacterias utilizando cepas *E. coli* (ATCC 25922), *K. pneumoniae* (ATCC 700603), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. aureus* (ATCC 25923) y *S. epidermidis*. (ATCC 14990), certificadas por la Colección Americana de Cultivos y Tipos (ATCC) utilizando la técnicas de difusión en discos; para la síntesis de complejos se formó una base de Schiff [(Hcefa-hexa)] mediante la reacción entre la cefalexina comercial y la 1,6 hexanodiamina, la cual se hizo reaccionar con metales de la primera serie de transición para obtener los complejos $[M(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, donde $M = \text{Mn}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Cu}^{2+}$ y Zn^{2+} . La base de Schiff y los complejos fueron caracterizados mediante análisis elemental, conductancia molar, susceptibilidad magnética, espectroscopía infrarroja y espectroscopía UV-Visible. La base Schiff se comportó como un ligando tridentado monoaniónico y los complejos muestran ser de alto espín, probablemente octaédricos. La actividad antibacteriana de los compuestos sintetizados fue ensayada frente a las la cual evidenció que todos los complejos metálicos sintetizados mostraron una actividad antibacteriana mayor que la manifestada por la cefalexina libre, a excepción del $[\text{Mn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$, $[\text{Zn}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ sobre la cepa *S. epidermidis* (ATCC 14990) y $[\text{Ni}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ y $[\text{Co}(\text{cefa-hexa})(\text{H}_2\text{O})_3].\text{PF}_6$ ante *K. pneumoniae* (ATCC 700603). A través de la prueba de sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones se determinó que la mayoría de los

complejos sintetizados alcanzaron una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 100 µg/disco mientras que la cefalexina comercial mostró una CMI de 400 µg/disco frente a las cepas ensayadas y nula actividad antibacteriana contra *P. aeruginosa* (ATCC 27853). El complejo [(Hcefa-hexa)] no mostró actividad frente a las cepas utilizadas en las dos técnicas aplicadas.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
ANACONA, JUAN ROBERTO	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input checked="" type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	13.631.187
	e-mail	juananacona@hotmail.com
ANAHYS MAZA	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
ROSA MARTÍNEZ ALCALÁ	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
11	06	08

Lenguaje: Spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis – pineday.doc	Application/Word

Alcance:

Espacial : Internacional

Temporal: Temporal

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciado en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado

Área de Estudio:

Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE

Derechos:

Yo Yaricruz Carolina Del Valle Pineda Achiques como autora intelectual de esta tesis le doy el derecho a la Universidad de Oriente para divulgar esta tesis siempre y cuando resguardando la patente de industria y comercio si se diera el caso

Yaricruz Pineda

AUTOR

Juan Pineda

TUTOR

Melba Arredondo

JURADO 1

Rg.

JURADO 2

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:

[Signature]

