



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

SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPLEJOS BASE DE
SCHIFF QUE CONTIENEN CEFOTAXIMA Y SALICILALDEHÍDO
(Modalidad: Tesis de Grado)

JOHAN ANDRÉS CALVO FIGUERA

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

CUMANÁ, 2012

ÍNDICE

| | |
|---|-----|
| DEDICATORIA | i |
| AGRADECIMIENTO | ii |
| LISTA DE TABLAS | iii |
| LISTA DE FIGURAS..... | iv |
| RESUMEN | vii |
| INTRODUCCION..... | 1 |
| METODOLOGÍA..... | 15 |
| SÍNTESIS DE LA BASE DE SCHIFF Y DE LOS COMPLEJOS METÁLICOS CON LIGANDO BASE SCHIFF | 15 |
| SÍNTESIS DEL LIGANDO BASE DE SCHIFF [H ₂ (CEFO-SALICIL)]..... | 15 |
| SÍNTESIS DE LOS COMPLEJOS METÁLICOS CON LIGANDO BASE DE SCHIFF | 16 |
| CARACTERIZACIÓN DE LA ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS COMPLEJOS METÁLICOS..... | 17 |
| ANÁLISIS ELEMENTAL | 18 |
| ANÁLISIS TÉRMICO DEL CONTENIDO DE METAL | 18 |
| MEDIDAS DE SUSCEPTIBILIDAD MAGNÉTICA | 18 |
| ESPECTROSCOPÍA ULTRAVIOLETA-VISIBLE..... | 18 |
| ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA..... | 19 |
| ESPECTROSCOPÍA DE RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA.. | 19 |
| CONDUCTIVIDAD MOLAR | 19 |
| ENSAYO MICROBIOLÓGICO | 19 |
| PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR DIFUSIÓN EN AGAR..... | 20 |
| PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR DIFUSIÓN EN AGAR A DIFERENTES CONCENTRACIONES..... | 21 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 22 |
| ANÁLISIS ELEMENTAL | 22 |
| ANÁLISIS TÉRMICO DEL CONTENIDO DE METAL | 23 |
| MEDIDAS DE SUSCEPTIBILIDAD MAGNÉTICA | 23 |

| | |
|---|----|
| MOMENTOS MAGNÉTICOS | 24 |
| ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISIBLE (UV-VISIBLE)..... | 26 |
| ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)..... | 31 |
| ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA (RPE) | 38 |
| MEDIDAS DE CONDUCTIVIDAD MOLAR..... | 39 |
| ACTIVIDAD BIOLÓGICA | 40 |
| CONCLUSIONES | 58 |
| BIBLIOGRAFÍA | 60 |
| HOJAS DE METADATOS | 67 |

DEDICATORIA

A

Dios Todopoderoso, mi Padre amado, ejemplo de perfección y fuente inagotable de amor y sabiduría. No me alcanzará la vida para agradecerte todo lo que has hecho en mí. Guíame siempre a través de tus preceptos y por favor, nunca abandones la obra de tus manos.

Mis padres Juan y Luisa, por darme un hogar, amor, confianza y comprensión, por apoyarme en todo momento, por labrar en mí a un hombre lleno de virtudes, esto es tanto de ustedes, como mío. No encuentro palabras para describirlos, son sencillamente extraordinarios, los amo y llenaré sus vidas de alegría como ustedes lo han hecho con la mía.

Mis hermanos Liliana y Julian, están en cada latido de mi corazón, son parte de mí y espero contar siempre con su apoyo.

Mi hermosa abuela Rosa Westalia, por ser un modelo de constancia y perseverancia, por consentirme y demostrarme todo su cariño, te amo.

Mi tía Rosa, por brindarme instantes de felicidad y estar siempre tan pendiente de mí.

Ustedes, mis amigos Alba Vargas, Asdays Henríquez, Greisy Márquez, Henry Díaz, Cecilia Brito, Marbella Cárdenas, Javier Oliveros, Armileidis Licet, Lérica Montaña, Zamara Yépez y especialmente Uslany Lozada; más que amigos son mi otra familia. Nunca los olvidaré, permanecerán en mí como uno de mis más preciados recuerdos “Amigos por Docena”.

AGRADECIMIENTO

A

El Ph D. Juan Anacona, un hombre digno, excelente y dedicado investigador, mi asesor y padre académico, quien con su sabiduría, paciencia y orientación hizo posible este trabajo de investigación. Mi admiración para usted, por ser un modelo de científico ejemplar que pone en alto a esta casa de estudio.

La profesora Alina Bravo, mi madre académica; de verdad mil gracias por su guía, apoyo y preocupación. Personas como usted, educada y con una gran sensibilidad humana, son las que tanto necesita esta sociedad.

Todos los profesores altamente capacitados que hacen vida en el Departamento de Bioanálisis, en especial a los profesores Yoleida Rodríguez, Erasto Bastardo, Henry De Freitas, Sara Centeno, Elsa Salazar, Rosa Martínez, Carmen Rosa Flores, María Milagros Bermúdez, Olga Bianchi y Del Valle Guilarte, por su excelente participación en la formación académica de mi carrera universitaria.

El Laboratorio de Bacteriología Clínica del Departamento de Bioanálisis, a sus profesores José G. Betancourt y Militza Guzmán, por abrirme sus puertas y prestarme su valiosa colaboración.

Mis compañeros de Tesis del laboratorio 306 del Departamento de Química, Yaricruz Pineda, Daniela Marpa, Karen Ruiz y Juan Rodríguez, gracias por compartir conmigo sus conocimientos y ayudarme a llevar a cabo la realización de mi trabajo de grado.

Nubia González y Andrea Devera, quienes son para mí un tesoro y gran apoyo. Gracias por haberme acompañado en esta maravillosa etapa de la vida, mi afecto y bendiciones para ustedes.

LISTA DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Análisis elemental de los complejos metálicos con ligando base de Schiff. | 22 |
| Tabla 2. Análisis térmico de los complejos metálicos con ligando base de Schiff. | 23 |
| Tabla 3. Medidas de susceptibilidad magnética de los complejos metálicos con ligando base de Schiff. | 24 |
| Tabla 5. Resumen de las transiciones electrónicas en la cefotaxima, la base de Schiff y los complejos metálicos. | 27 |
| Tabla 6. Principales bandas IR de la cefotaxima, la base de Schiff y los complejos metálicos (cm^{-1}). | 32 |
| Tabla 7. Conductividad molar de la base de Schiff y los complejos metálicos. | 40 |
| Tabla 8. Halos de inhibición en mm producidos por la cefotaxima y los complejos metálicos con ligando base de Schiff sintetizados ante las especies bacterianas ensayadas. | 40 |
| Tabla 9. Halos de inhibición en mm de la cefotaxima y complejos metálicos con ligando base de Schiff sintetizados utilizando discos a diferentes concentraciones frente a las especies bacteriana ensayadas. | 46 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Anillo betalactámico..... | 2 |
| Figura 2. Núcleo de las cefalosporinas (ácido 7-aminocefalosporánico). R1 y R2.- sustituyentes grupos químicos. | 3 |
| Figura 3. Fórmula estructural de la cefotaxima. | 6 |
| Figura 4. Distintos mecanismos de resistencia a las cefalosporinas..... | 8 |
| Figura 5. Formación de la base de Schiff. | 14 |
| Figura 6. Esquema sugerido para la formación del ligando base de Schiff..... | 16 |
| Figura 7. Esquema sugerido de formación de los complejos base de Schiff [M= Ni ²⁺ , Cu ²⁺ , Co ²⁺ , Zn ²⁺ y Ag ²⁺]. | 17 |
| Tabla 4. Momentos magnéticos de los complejos metálicos con ligando base de Schiff. | 26 |
| Figura 8. Espectro UV-visible de la cefotaxima..... | 27 |
| Figura 9. Espectro UV-visible de la base Schiff [H ₂ (cefo-salicil)]. | 28 |
| Figura 10. Espectro UV-visible del [Co(cefo-salicil)]...... | 28 |
| Figura 11. Espectro UV-visible del [Ni(cefo-salicil)(H ₂ O) ₁₃]...... | 29 |
| Figura 12. Espectro UV-visible del [Cu(cefo-salicil)]...... | 29 |
| Figura 13. Espectro UV-visible del [Zn(cefo-salicil)]...... | 30 |
| Figura 14. Espectro UV-visible del [Ag ₂ (cefo-salicil)(Ac) ₂ (H ₂ O)]...... | 30 |
| Figura 15. Espectro UV-visible del [Ni ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆]. | 31 |
| Figura 16. Espectro UV-visible del [Cu ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆]. | 31 |
| Figura 17. Espectro IR de la cefotaxima..... | 33 |
| Figura 18. Espectro IR de la base de Schiff [H ₂ (cefo-salicil)]. | 34 |
| Figura 19. Espectro IR del [Co(cefo-salicil)]. | 34 |
| Figura 20. Espectro IR del [Ni(cefo-salicil)(H ₂ O) ₁₃]...... | 35 |
| Figura 21. Espectro IR del [Cu(cefo-salicil)]. | 35 |
| Figura 22. Espectro IR del [Zn(cefo-salicil)]...... | 36 |
| Figura 23. Espectro IR del [Ag ₂ (cefo-salicil)(Ac) ₂ (H ₂ O)]. | 36 |
| Figura 24. Espectro IR del [Ni ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆]...... | 37 |

| | |
|--|----|
| Figura 25. Espectro IR del $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ | 37 |
| Figura 26. Espectro RPE del $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ | 39 |
| Figura 27. Halos de inhibición de la cefotaxima comercial (1) y del $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ (2) frente a la cepa <i>S. aureus</i> (ATCC 25923). | 41 |
| Figura 28. Halos de inhibición de la cefotaxima comercial (1) y del $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ (2) frente a la cepa <i>S. epidermidis</i> (ATCC 14990). | 42 |
| Figura 29. Halos de inhibición de la cefotaxima comercial (1) y del $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ (2) ante la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922). | 43 |
| Figura 30. Halos de inhibición de la cefotaxima comercial (1), complejo $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ (2), complejo $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ (3), complejo $[\text{Co}(\text{cefo-salicil})]$ (4) y complejo $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ (5) frente a la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922). ... | 43 |
| Figura 31. Halos de inhibición de la cefotaxima comercial (1), complejo $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ (2), complejo $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ (3), complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ (4) y el complejo $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ (5) ante la cepa <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853). | 44 |
| Figura 32. Halos de inhibición del complejo $[\text{Co}(\text{cefo-salicil})]$ frente a la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones. | 47 |
| Figura 33. Halos de inhibición del complejo $[\text{Co}(\text{cefo-salicil})]$ ante la cepa <i>K. pneumoniae</i> (ATCC 700603) a diferentes concentraciones. | 47 |
| Figura 34. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ni}(\text{cefo-salicil})(\text{H}_2\text{O})_{13}]$ ante la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones. | 48 |
| Figura 35. Halos de inhibición del complejo $[\text{Cu}(\text{cefo-salicil})]$ frente a la cepa <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853) a diferentes concentraciones. | 49 |
| Figura 36. Halos de inhibición del complejo $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ frente a la cepa <i>S. epidermidis</i> (ATCC 14990) a diferentes concentraciones. | 49 |
| Figura 37. Halos de inhibición del complejo $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ ante la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones. | 50 |
| Figura 38. Halos de inhibición del complejo $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ frente a la cepa <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853) a diferentes concentraciones. | 50 |
| Figura 39. Halos de inhibición del complejo $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ ante la cepa | |

| | |
|--|----|
| <i>K. pneumoniae</i> (ATCC 700603) a diferentes concentraciones..... | 51 |
| Figura 40. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ frente a la cepa <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) a diferentes concentraciones..... | 51 |
| Figura 41. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ ante la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones. | 52 |
| Figura 42. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ ante la cepa <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) a diferentes concentraciones..... | 53 |
| Figura 43. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ frente a la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones. | 53 |
| Figura 44. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ ante la cepa <i>K. pneumoniae</i> (ATCC 700603) a diferentes concentraciones..... | 54 |
| Figura 45. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ frente a la cepa .. | 54 |
| <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853) a diferentes concentraciones. | 54 |
| Figura 46. Halos de inhibición del complejo $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ ante la cepa <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) a diferentes concentraciones..... | 55 |
| Figura 47. Halos de inhibición del complejo $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ frente a la cepa.. | 56 |
| <i>S. epidermidis</i> (ATCC 14990) a diferentes concentraciones..... | 56 |
| Figura 48. Halos de inhibición del complejo $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ ante la cepa <i>E. coli</i> (ATCC 25922) a diferentes concentraciones..... | 56 |

RESUMEN

Se sintetizó la base de Schiff [H₂(cefo-salicil)] mediante la reacción entre la cefotaxima sódica comercial y salicilaldehído. La base se hizo reaccionar con metales de la primera serie de transición para obtener los complejos mononucleares [Co(cefo-salicil)], [Ni(cefo-salicil)(H₂O)₁₃], [Cu(cefo-salicil)], [Zn(cefo-salicil)], y polinucleares [Ag₂(cefo-salicil)(Ac)₂(H₂O)], [Ni₄(cefo-salicil)(OH)₆] y [Cu₄(cefo-salicil)(OH)₆]. La caracterización de los complejos se realizó utilizando técnicas de espectroscopía infrarroja, espectroscopía UV-Visible, espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica, medidas de conductividad molar, susceptibilidad magnética, análisis elemental y análisis térmico del contenido de metal. La actividad antibacteriana de los compuestos sintetizados fue ensayada frente a las cepas certificadas *S. aureus* (ATCC 25923), *S. epidermidis* (ATCC 14990), *E. coli* (ATCC 25922), *K. pneumoniae* (ATCC 700603) y *P. aeruginosa* (ATCC 27853), utilizando las técnicas de difusión en agar y sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones. El complejo [Zn(cefo-salicil)] superó la acción del antibiótico comercial en algunas de sus concentraciones ante las cepas *S. epidermidis* (ATCC 14990), *E. coli* (ATCC 25922) y *P. aeruginosa* (ATCC 27853). Por otra parte, el complejo [Cu(cefo-salicil)] a las concentraciones de 200 y 100 µg/disco tuvo mayor eficacia frente a la cepa de *P. aeruginosa* (ATCC 27853) en comparación con la cefotaxima comercial, a pesar de que ésta última cepa puede presentar resistencia natural a las cefalosporinas.

INTRODUCCION

La quimioterapia antimicrobiana se inició en 1935, con el descubrimiento de las sulfonamidas. En 1940 se demostró que la penicilina, descubierta en 1929, podía ser una sustancia terapéutica eficaz. En los siguientes años, las investigaciones sobre agentes quimioterápicos se centró principalmente alrededor de las sustancias de origen microbiano, denominadas antibióticos. Considerando que en la actualidad las infecciones por cepas bacterianas resistentes son cada vez más frecuentes, ha surgido la necesidad de incrementar la actividad antimicrobiana de los antibióticos, mediante modificaciones en su estructura. Las investigaciones dirigidas a la elaboración de nuevos derivados antimicrobianos, tienen como base los descubrimientos de Paul Ehrlich, realizados en el primer decenio del siglo XX. Ehrlich formuló los principios de la toxicidad selectiva e identificó las relaciones químicas específicas entre microorganismos patógenos y fármacos, y la función de la terapéutica combinada (1).

Los antibióticos son sustancias de baja masa molecular, producidas como metabolitos secundarios por cierto grupo de microorganismos, utilizadas en el tratamiento de las infecciones y que pueden tener efecto bacteriostático o bactericida frente a otros microorganismos (2). En la naturaleza los microorganismos productores de los diferentes antimicrobianos juegan un papel importante en la regulación de las poblaciones microbiológicas del suelo, el agua, las aguas servidas y el estiércol. Las propiedades químicas, físicas y farmacocinéticas de estas sustancias son variadas, al igual que su efecto antimicrobiano y su mecanismo de acción (1, 3).

Los antimicrobianos deben reunir las siguientes características para su mejor efectividad: a) ser más bactericidas que bacteriostáticos; b) mantenerse activos en presencia de plasma y líquidos corporales; c) ser efectivos contra un amplio espectro de microorganismos; d) los microorganismos susceptibles no se deben volver resistentes fenotípica o genéticamente; e) no deben ser tóxicos para el hospedero y los efectos colaterales adversos tienen que ser mínimos para éste; y f) ser hidrosolubles y

liposolubles (1, 4).

La eficacia de los antimicrobianos depende de muchos factores: la vía de administración y la localización de la infección, la presencia de sustancias que interfieren con el fármaco, la concentración del fármaco en el cuerpo, la naturaleza del patógeno, la existencia de alergias y la resistencia de los microorganismos al fármaco (5).

Los antimicrobianos se pueden clasificar, dependiendo de su estructura química, en: betalactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, sulfamidas, macrólidos, entre otros. Según el mecanismo de acción sobre las estructuras celulares de la bacteria, se clasifican en inhibidores de la síntesis de la pared celular, de las funciones de la membrana celular, de la síntesis proteica y de la síntesis de ácidos nucleicos (6, 7). Los betalactámicos se caracterizan por tener en su estructura un anillo betalactámico, que está compuesto por tres átomos de carbono y un átomo de nitrógeno (figura 1). En esta categoría se incluyen: penicilinas, clavanas (ácido clavulánico y derivados), cefalosporinas, monobactamas y carbapenemas (8).

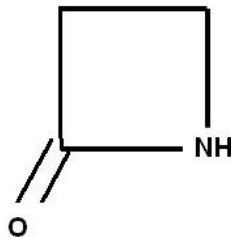


Figura 1. Anillo betalactámico.

Todos los fármacos betalactámicos son inhibidores selectivos de la síntesis de la pared celular bacteriana y, por lo tanto, son activos contra las bacterias en crecimiento. La acción del fármaco en la etapa inicial consiste en su unión a receptores celulares (proteínas de unión a penicilinas, PBP; algunas de las cuales son enzimas de transpeptidación). Entonces, cuando el fármaco se adhiere a uno o más receptores inhibe la reacción de transpeptidación e interrumpe la síntesis de peptidogluano. La siguiente etapa, tal vez implica retirar o inactivar un inhibidor de enzimas autolíticas en la pared

celular. Esto activa la enzima lítica, y si el ambiente es isotónico produce la lisis (1).

Las cefalosporinas constituyen uno de los más importantes grupos de antibióticos que se han producido en el devenir de los años, ya que son ampliamente utilizadas, y porque muchas de ellas tienen ventajas propias, debido a que los sustituyentes químicos adicionales les confieren diferencias en actividad antimicrobiana, en la susceptibilidad a la hidrólisis ácida y enzimática, y en la biodisponibilidad; permitiendo así, que los miembros de este grupo de antibióticos sean los fármacos de elección para el tratamiento de un gran número de enfermedades infecciosas. Por otra parte, éstas en su estructura básica presentan el ácido 7-aminocefalosporánico, el cual, está compuesto por un anillo tiazolidina unido a un anillo betalactámico (figura 2). La integridad estructural del núcleo del ácido 7-aminocefalosporánico es esencial para la actividad biológica de las cefalosporinas, por lo que su transformación metabólica o alteración química implicaría la pérdida de toda actividad (6).

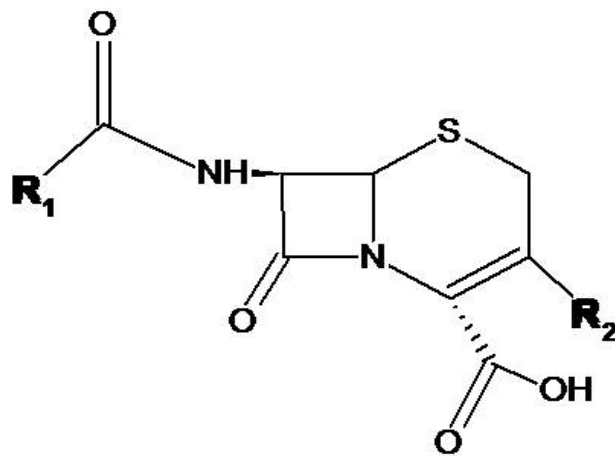


Figura 2. Núcleo de las cefalosporinas (ácido 7-aminocefalosporánico). R1 y R2.-sustituyentes grupos químicos.

Las cefalosporinas se aislaron por primera vez de cultivos del hongo *Cephalosporium acremonium*. Posteriormente al aislamiento del núcleo activo de las cefalosporinas y al agregado de cadenas laterales, fue posible producir compuestos

semisintéticos con actividad antibacteriana muy superior a la de la sustancia original (6). Además, dada sus características: actividad bactericida, parámetros farmacocinéticos, penetración a diferentes parénquimas, baja toxicidad y sinergia con otros antibacterianos, las cefalosporinas son muy utilizadas en el tratamiento de una serie de infecciones comunitarias e intrahospitalarias (9, 10).

Existen diferentes formas de clasificar las cefalosporinas, pudiéndose encontrar estos compuestos agrupados de acuerdo a sus propiedades estructurales, microbiológicas y desarrollo histórico, siendo ésta última, desde el punto de vista clínico, la clasificación más utilizada. Ella agrupa a las cefalosporinas en generaciones que van de la primera a la cuarta, de acuerdo al orden de aparición en el mercado (9).

Las cefalosporinas de primera generación presentan mejor actividad sobre cocos Gram positivos y su actividad sobre bacilos Gram negativos es limitada (9). Ellas son de administración oral y parental. Las orales son llamadas fenilglicinas o derivados hidroxifenilglicinas que incluyen la cefalexina, cefadroxilo y cefradina (11); entre las parentales se cuenta con la cefalotina, cefazolina, cefradina (también de administración oral) y cefapirina. Este grupo de antibacterianos incluye sustitutos de la penicilina G, que son resistentes a las penicilinasas de los estafilococos, por tanto tienen una buena actividad contra bacterias aerobias Gram positivas (con excepción de *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus* 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*) (12).

Los miembros de 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. La característica microbiológica definitiva de las cefalosporinas de segunda generación es su actividad sobre *Haemophilus influenzae*, *Moraxella*

catarrhalis, *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae*. En este grupo se encuentran los siguientes antibióticos: cefamandol, cefuroxima, cefaclor y cefoxitina (11).

Las cefalosporinas de tercera generación constituyen uno de los grupos de antimicrobianos de mayor uso en la actualidad. Los compuestos de ésta generación se caracterizan por presentar las siguientes características: en C-7 del núcleo **Cefem**, la presencia de un anillo 2-aminotiazolil, como cadena lateral, y una elevada actividad sobre miembros de la familia Enterobacteriaceae, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria* spp, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (13, 14). A pesar de que estas cefalosporinas son eficaces sobre un 50-75% de especies de *P. aeruginosa*, no deben ser usadas solas en el tratamiento de infecciones producidas por estos microorganismos, debido a la rápida presentación de resistencia. Las cefalosporinas de tercera generación son el tratamiento de elección en la meningitis por bacilos Gram negativos y se utilizan también para combatir otras infecciones por bacilos Gram negativos. Todo este grupo es extremadamente activo contra la mayoría de las bacterias Gram negativas (excepto *Enterobacter* sp. y *Citrobacter* sp.). Al igual que en los grupos anteriores hay orales y parenterales (15).

Las cefalosporinas de cuarta generación incluyen al cefepime y al cefpirone, ambos de administración parenteral, tienen un extenso espectro de acción comparadas con las de tercera generación (15). Estas cefalosporinas se comportan como iones bipolares, presentando un balance entre sus cargas positivas y negativas en los rangos de pH encontrados *in vivo* (16). Ésta característica químico estructural explica por qué dichas cefalosporinas presentan una penetración a través de las porinas que le permiten alcanzar altas concentraciones en el espacio periplásmico de bacilos Gram negativos (17). Las cefalosporinas de ésta generación suelen resultar más eficaces *in vitro* frente a los bacilos Gram negativos y frente a los cocos Gram positivos resistentes a las cefalosporinas de tercera generación (10-11).

Cefalosporinas que integran el grupo de la cuarta generación se están produciendo

en forma constante, con las cuales se ha logrado minimizar la resistencia bacteriana y los efectos adversos al hospedero. Su amplio espectro antimicrobiano contra microorganismos Gram positivos y Gram negativos es ventajoso en el tratamiento de una variedad de infecciones, desde las moderadas hasta las potencialmente fatales. También son altamente ventajosas en el tratamiento empírico de infecciones intrahospitalarias graves (18).

La cefotaxima (figura 3) fue la primera de las cefalosporinas de tercera generación disponible comercialmente en Estados Unidos de América. Ésta es activa contra muchas bacterias aerobias Gram positivas y Gram negativas. Tiene, además, una vida media plasmática de alrededor de 1 hora y debe ser administrada cada 4 a 8 horas para las infecciones graves. Éste fármaco se metaboliza *in vivo* a desacetilcefotaxima (excretada luego por los riñones), que es menos activa que el compuesto original contra la mayoría de los microorganismos (6).

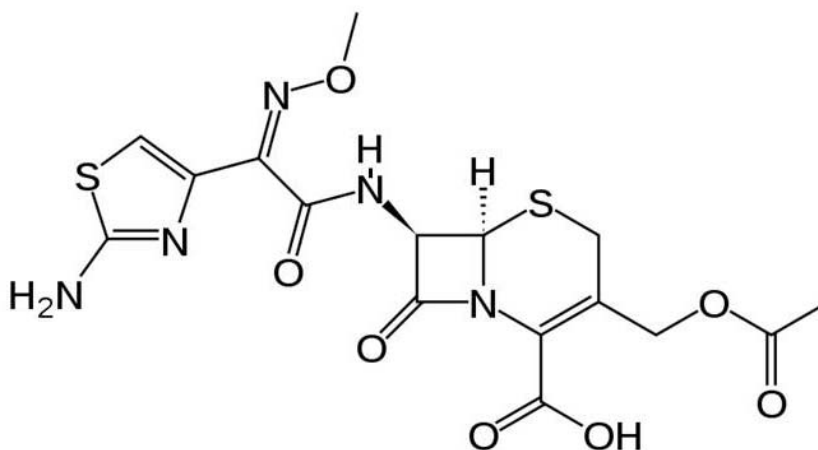


Figura 3. Fórmula estructural de la cefotaxima.

La cefotaxima es un antimicrobiano frecuentemente usado en el tratamiento de meningitis, debido a su actividad antimicrobiana (contra *H. influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* sensible, *Neisseria meningitidis* y enterobacterias), buena

penetración en sistema nervioso central, y gran eficacia de éxito clínico. Además, es utilizada comúnmente en el tratamiento de neumonías adquiridas en la comunidad (19, 20).

El amplio uso, mal uso y abuso de los antibióticos, no solamente en el tratamiento y la prevención de infecciones bacterianas en el ser humano; sino también, en medicina veterinaria, como promotores de crecimiento en la producción animal y en agricultura, han ejercido una inmensa presión de selección para el surgimiento y la diseminación de los mecanismos de resistencia entre diversas poblaciones bacterianas. Ésta diseminación no conoce barreras geográficas, biológicas ni sociales. La letalidad de muchas infecciones causadas por bacterias multirresistentes es similar a la observada antes de la introducción de los antibióticos como agentes terapéuticos (21, 22). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha reconocido la situación de la pérdida de eficacia de los tratamientos con antibióticos y ha propuesto una estrategia global para enfrentar el problema (23).

En las bacterias, el mecanismo de resistencia más importante, desde el punto de vista clínico, es la producción de betalactamasas. Éstas, son enzimas que cumplen una función fisiológica en el metabolismo intermediario de la pared celular de la bacteria, contribuyendo, a través de la síntesis de peptidoglucano, al mantenimiento de la integridad estructural y de la forma de la bacteria (24). Las betalactamasas son enzimas que hidrolizan el anillo betalactámico de los antibióticos, de esta manera destruyen el sitio activo e impiden su actividad. Se caracterizan por su capacidad de inhibir determinados subgrupos de betalactámicos; es por esto, que algunas subclasificaciones las denominan, penicilinasas, cefalosporinasas o carbapenemasas, dependiendo de la familia de betalactámicos que tenga mayor susceptibilidad a ser atacadas por la enzima. Así mismo, estas enzimas son susceptibles de ser inhibidas por los inhibidores de betalactamasas como el clavulanato, el sulbactam y el tazobactam, aunque no todas son susceptibles ni responden de igual forma a esta inhibición (21-23).

Las betalactamasas se encuentran tanto en microorganismos Gram positivos como en

Gram negativos y son las responsables de que numerosas cepas sean altamente resistentes. Muchas bacterias Gram positivas liberan grandes cantidades de betalactamasas, mientras que los organismos Gram negativos producen menor cantidad, aunque con el uso creciente de cefalosporinas se ha observado en forma progresiva el aislamiento de bacilos Gram negativos multiresistentes productores de betalactamasas (25, 26).

La localización de éstas enzimas en el espacio periplásmico pueden hacerla más efectiva en la destrucción de las cefalosporinas cuando ellas intentan llegar a la membrana interna (6). Sin embargo, las bacterias también pueden alterar el sitio blanco del antibiótico para dificultar su acción. Además, pueden modificar las porinas de sus paredes para impedir la entrada de las cefalosporinas o expulsar las mismas a través del aumento de bombas de expulsión (figura 4) (27-29).

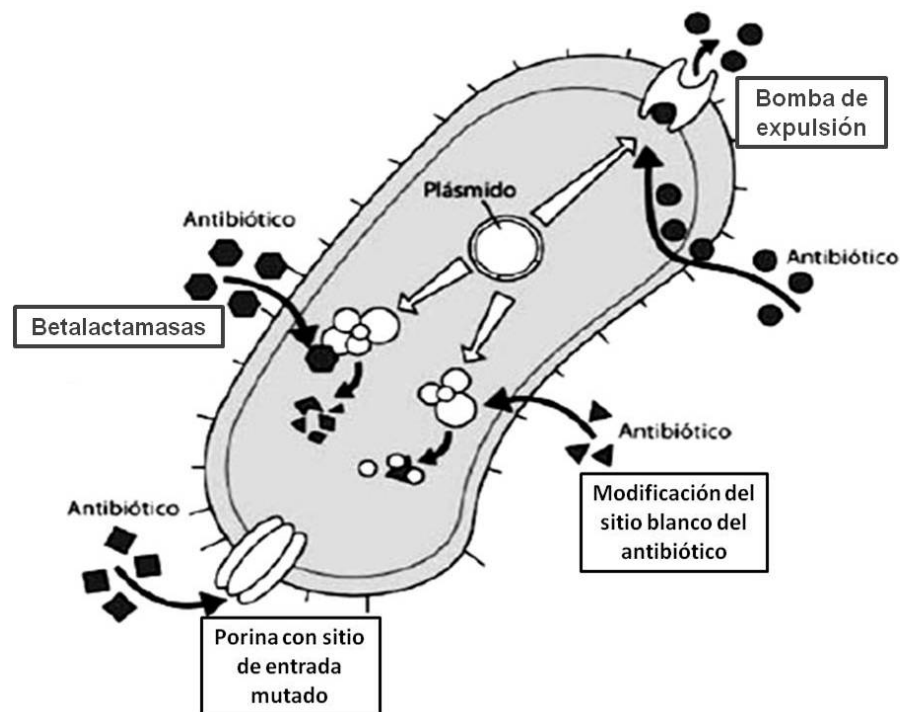


Figura 4. Distintos mecanismos de resistencia a las cefalosporinas.

Las porinas son proteínas transmembranales que se ubican en la membrana externa de las bacterias y cumplen diversas funciones. Su papel primitivo es permitir la captación pasiva de aminoácidos básicos a través de la membrana externa. Se sabe además, que son capaz de permitir la entrada de algunos antibióticos como carbapenémicos, meropenem, imipenem, entre otros; siendo éste último, el de mayor afinidad y capacidad de difusión a través de las porinas (30).

Las bombas de expulsión son complejos enzimáticos de membrana, que expulsan de la célula sustancias antipáticas que de otra manera destruirían la bacteria. Antes de la era de los antibióticos, *P. aeruginosa* ya poseía estos complejos enzimáticos. Este complejo se compone de una proteína en la membrana citoplasmática, una proteína ligadora en el espacio periplásmico y un canal de salida en la membrana externa. Tiene la capacidad de expulsar al exterior de la bacteria y contra un gradiente de concentración, betalactámicos, cloranfenicol, quinolonas, macrólidos, novobiocina, sulfonamidas, tetraciclinas y trimetoprim. Estos sistemas de expulsión son los responsables de la impermeabilidad a la mayoría de los antibióticos (30).

Por otra parte, las variaciones génicas pueden dar origen a poblaciones bacterianas resistentes a los agentes antimicrobianos, a través de mutaciones espontáneas y/o por la adquisición de elementos genéticos como plásmidos que codifican determinantes de resistencia (betalactamasas de tipo plasmídicas y/o cromosómicas) (31). La adquisición de elementos genéticos es considerada uno de los principales problemas a nivel hospitalario, debido a su fácil diseminación en cepas bacterianas (32).

Las infecciones bacterianas pueden ser severas y difíciles de tratar, debido a que las bacterias son capaces de desarrollar mecanismos de resistencia a los antimicrobianos como se ha venido observando. Se debe tener en cuenta que la presencia de bacterias resistentes es el ejemplo más claro del proceso adaptativo al que está sujeto todo ser

vivo, ya que a través del desarrollo de diferentes mecanismos para evadir la acción antimicrobiana, las bacterias han logrado sobrevivir a la acción de estos fármacos (33). La resistencia bacteriana es un tema muy importante en el estudio de los antibióticos, porque su comprobación implica el fracaso de la terapéutica. Un aumento en el uso de los antibióticos desde la década de 1940 se ha acompañado de la creciente resistencia, cuya principal causa es la destrucción del antibiótico por la bacteria responsable de la infección (34).

En términos generales, existe una clara tendencia al incremento de los perfiles de resistencia, lo que irremediamente conducirá a una pérdida en la eficacia de los tratamientos con antibióticos actuales y a la necesidad de incorporar antibióticos de mayor costo. Sin duda, es preocupante el incremento constante en la resistencia a antibióticos betalactámicos en bacterias Gram positivas, particularmente a la oxacilina en *Staphylococcus aureus*, así como a la amikacina, ceftazidima, cefotaxima y ciprofloxacina en bacilos Gram negativos y, muy especialmente, la resistencia a imipenem en *P. aeruginosa* y *Actinobacter baumannii* (35).

Otro aspecto de gran relevancia es la necesidad de implementar diversas metodologías en los laboratorios clínicos y/o de investigación, para la detección de mecanismos de resistencia (35). Entre las estrategias para prevenir ó sostener la emergencia de resistencia, se destaca la implementación del programa WHONET, que es un software para el análisis de datos de laboratorio de microbiología, elaborado por un centro colaborador de la OMS para la vigilancia de la resistencia antimicrobiana (36). En este punto se hace necesario seguir estudiando con mayor detalle la producción de betalactamasas en bacterias Gram negativas, particularmente en especies de *Klebsiella*, *Enterobacter* y otras de la familia Enterobacteriaceae, y la resistencia a vancomicina en *Enterococcus* y *Staphylococcus* (35).

La actividad de ciertos antibióticos puede mejorarse aprovechando los cambios observados, en las propiedades farmacocinéticas de las cefalosporinas al sustituirles

diferentes radicales en el anillo betalactámico. Estos cambios también se han observado en antibióticos betalactámicos unidos a metales de la primera serie de transición, formando complejos metálicos (37-40). En estudios anteriores, se ha podido observar hasta un 60% más de efectividad bactericida utilizando compuestos sintetizados que contienen cefalosporinas unidas a metales (41-43).

Existen antibióticos que requieren iones metálicos para funcionar adecuadamente, tal es el caso de la bleomicina, estreptonigrina y bacitracina. La coordinación de los iones metálicos en estos antibióticos juega un papel importante en el mantenimiento de una estructura adecuada o en el funcionamiento de ellos. Por lo tanto, la remoción de los iones metálicos de estos complejos implica cambios en su estructura y además en su actividad (44).

El enlace de los iones metálicos a las moléculas de antibióticos puede dar origen a cambios químicos y bioquímicos, sin afectar significativamente la estructura del antibiótico, tal es el caso de las tetraciclinas, antraciclinas y quinolonas (45). Estos antibióticos unidos a metales pueden ser denominados metaloantibióticos, los cuales, suelen unirse con diferentes clases de biomoléculas tales como ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN), proteínas receptoras y lípidos modificando su bioactividad única y específica, e inhibiendo al mismo tiempo procesos bioquímicos o biofísicos asociados con las mismas (3). Además, muchos de estos derivados y complejos metálicos de ligandos sintéticos también muestran actividad antibacteriana, antifúngica y antineoplásica que amplían el término de metaloantibióticos (46).

Es importante destacar que los iones metálicos que se encuentran fácilmente disponibles *in vivo*, pueden ser enlazados por los fármacos de la misma manera como lo hacen algunas proteínas, enzimas, ácidos nucleicos y otros bioligandos para formar complejos. Por lo que se puede decir, que la formación de un complejo metálico es una manera simple de modificar las propiedades farmacológicas y toxicológicas de un fármaco (47).

En estudios sobre la estructura y actividad de complejos metálicos con antibióticos, la penicilina y la ampicilina se hicieron reaccionar separadamente con diversos iones metálicos tales como: Hg^{2+} , Fe^{3+} , Ru^{2+} , Ni^{2+} y Cd^{2+} , para formar complejos metálicos a los cuales se le evaluó su actividad antibacteriana frente a cepas de *P. aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *E. coli* y *S. aureus*; encontrándose que los complejos de Fe^{3+} y Hg^{2+} mostraron actividad antibacteriana mayor que las penicilinas comerciales (48, 49).

En otro estudio realizado sobre la estructura y actividad de complejos mononucleares con ligandos betalactámicos, la cefalotina se puso a reaccionar con sales que contenían iones metálicos tales como: Co^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} y Pd^{2+} ; donde se observó que los complejos de Ni^{2+} , Mn^{2+} y Cu^{2+} presentaron una mayor actividad biológica que el antibiótico comercial (38).

En una investigación realizada con cefixima, ésta se hizo reaccionar con iones metálicos como Mn^{2+} , Fe^{2+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} , determinando que el antimicrobiano actuaba como un ligando tridentado monoaniónico. En este estudio los complejos de Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} y Cd^{2+} resultaron tener menor acción antimicrobiana sobre cepas de *S. aureus*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *E. faecalis* y *K. pneumoniae* en comparación con el antibiótico comercial. El complejo de Co^{2+} , logró ser el más potente, pero con igual actividad que la cefixima frente a la cepa de *E. coli* (43).

Actualmente se han desarrollado estudios basados en la síntesis de base de Schiff, los cuales también han arrojado buenos resultados. Tal es el caso de la base de Schiff formada mediante la reacción entre el cefadroxilo comercial y el salicilaldehído, la cual interacciona con metales de la primera serie de transición (Mn^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Ag^{2+}) para la formación de complejos metálicos; donde el complejo $[\text{Ag}(\text{sal-cefa})\text{NO}_3]$ presentó mayor actividad antibacteriana frente a cepas de *S. epidermidis*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli* e incluso *P. aeruginosa*, que posee resistencia natural (50). Por otra parte, se tiene que la base de Schiff obtenida mediante la reacción entre la amoxicilina y

el salicilaldehído sobrepasa la actividad antimicrobiana de la amoxicilina comercial en las cepas de *S. aureus* y *E. coli*. Además, ésta base de Schiff se colocó en reacción con los metales Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} y Ag^{2+} , en donde el complejo $[\text{Ni}(\text{amoxi-sal})(\text{Ac})]$ presenta mayor actividad en *E. faecalis*, *S. aureus* y *E. coli* que el antibiótico comercial, y los complejos $[\text{Ag}^1(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})]$ y $[\text{Ag}^2(\text{amoxi-sal})(\text{H}_2\text{O})_6]$ superaron la actividad del antibiótico comercial frente a *P. aeruginosa*, cepa que presenta una resistencia natural a la amoxicilina (51).

Las bases de Schiff son compuestos que contienen en su estructura un grupo azometino o imino ($-\text{R}-\text{C}=\text{N}-$) y son formados por la condensación entre una amina primaria y un grupo carbonilo activo. Son llamadas así en honor a Hugo Schiff, quien fue el primero en reportar este tipo de complejo en el año 1864. La reacción de formación de la base de Schiff es reversible, procediendo a través de la formación de una carbolamina intermediaria (figura 5) (52).

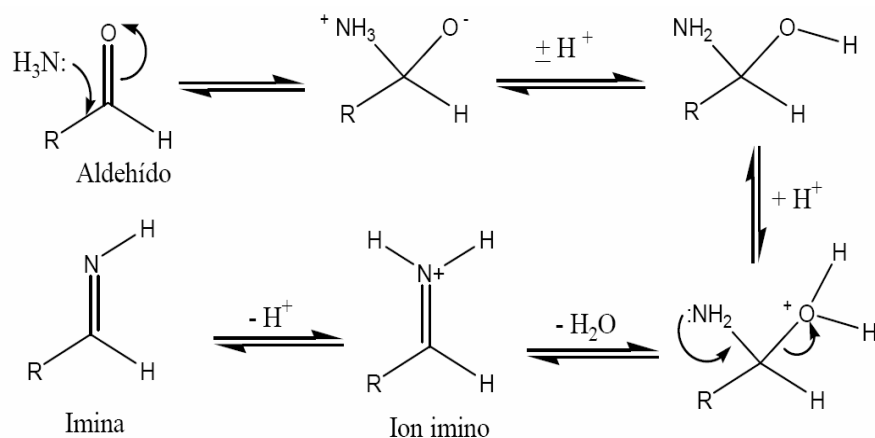


Figura 5. Formación de la base de Schiff.

Las bases de Schiff en la última década han jugado rol importante en el desarrollo de la química de coordinación y en la formación de complejos sumamente estables que pueden desempeñarse como modelos sintéticos de cofactores y enzimas que poseen sitios activos para iones metálicos. Por tal razón, el presente trabajo de investigación estuvo dirigido a conocer la actividad antibacteriana de nuevos complejos metálicos con ligando base de Schiff, el cual, se forma al reaccionar el grupo amino de la cefotaxima con el grupo carbonilo del salicilaldehído. Además, se procedió a la caracterización de dichos complejos mediante la aplicación de técnicas espectroscópicas y fisicoquímicas, con la finalidad de lograr describir las posibles estructuras de los nuevos complejos metálicos sintetizados.

METODOLOGÍA

SÍNTESIS DE LA BASE DE SCHIFF Y DE LOS COMPLEJOS METÁLICOS CON LIGANDO BASE SCHIFF

Para la síntesis de la base de Schiff y los complejos metálicos se empleó la cefalosporina de tercera generación cefotaxima, salicilaldehído y distintas sales metálicas: acetato de níquel (II) tetrahidratada ($\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), acetato de cobre (II) monohidratada ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), acetato de cobalto (II) tetrahidratada ($\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), acetato de cinc monohidratada ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) y nitrato de plata (AgNO_3). La reacción de la cefotaxima y el salicilaldehído con las sales metálicas se realizó a diferentes relaciones estequiométricas, temperatura, pH y tiempo de reacción, hasta que se logró las condiciones óptimas para la síntesis de los complejos con ligando base de Schiff (53). Los pasos requeridos para la obtención de los compuestos de coordinación se muestran a continuación

SÍNTESIS DEL LIGANDO BASE DE SCHIFF [$\text{H}_2(\text{CEFO-SALICIL})$]

Para la síntesis del ligando, se añadieron 173 mg de cefotaxima comercial, correspondiente a 0,5 mmol de éste antibiótico, en un beaker de 50 ml con 10 ml de agua destilada agitándose hasta su homogenización. Luego se adicionó 0,5 mmol de salicilaldehído (3 gotas), ocurriendo una reacción espontánea. Una vez obtenido el ligando base de Schiff, se ajustó el pH aproximadamente a 7 con una solución acuosa de hidróxido de sodio (NaOH) $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$. Posteriormente la reacción fue sometida a una temperatura de 65°C durante 10 min, y después se dejó secar a temperatura ambiente durante una semana para obtener un precipitado amarillo, el cual fue filtrado y lavado varias veces con etanol, con la finalidad de extraer las impurezas presentes. Éste precipitado fue guardado a temperatura ambiente en un frasco pequeño estéril y rotulado, hasta su posterior utilización. La figura 6 muestra la reacción para la formación del ligando base de Schiff (54).

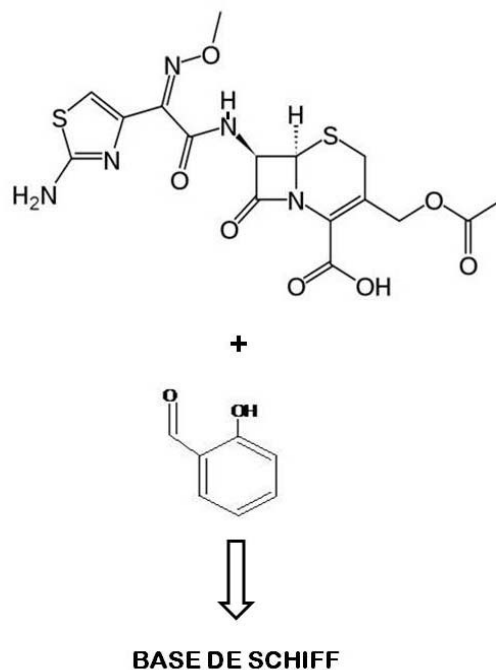


Figura 6. Esquema sugerido para la formación del ligando base de Schiff.

SÍNTESIS DE LOS COMPLEJOS METÁLICOS CON LIGANDO BASE DE SCHIFF

Se prepararon compuestos de níquel, cobre, cobalto, cinc y plata utilizando la base de Schiff que contiene cefotaxima y salicilaldehído. Para ello se pesaron 0,2 mmol de cada una de las sales $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y AgNO_3 , y se disolvieron por separado en un beaker de 50 ml con 5 ml de agua destilada. Cada una de estas soluciones se mezcló con 0,2 mmol de la base Schiff previamente disueltos en un beaker de 100 ml con 10 ml de agua destilada, ocurriendo una reacción espontánea en donde la aparición de precipitado es casi inmediata, y el cual, además presenta un color específico para cada uno de los complejos (ión Cu (II) (Cu^{2+}) verde oscuro, ión Ni (II) (Ni^{2+}) verde claro, ión Co (II) (Co^{2+}) rojo, ión Zn (II) (Zn^{2+}) naranja e ión Ag (II) (Ag^{2+}) marrón). Estos precipitados

fueron filtrados y lavados sucesivamente con agua destilada y etanol. Finalmente, se secaron al vacío y fueron guardados a temperatura ambiente en frascos pequeños estériles y rotulados. La figura 7 muestra la reacción de formación de los complejos base de Schiff (54).

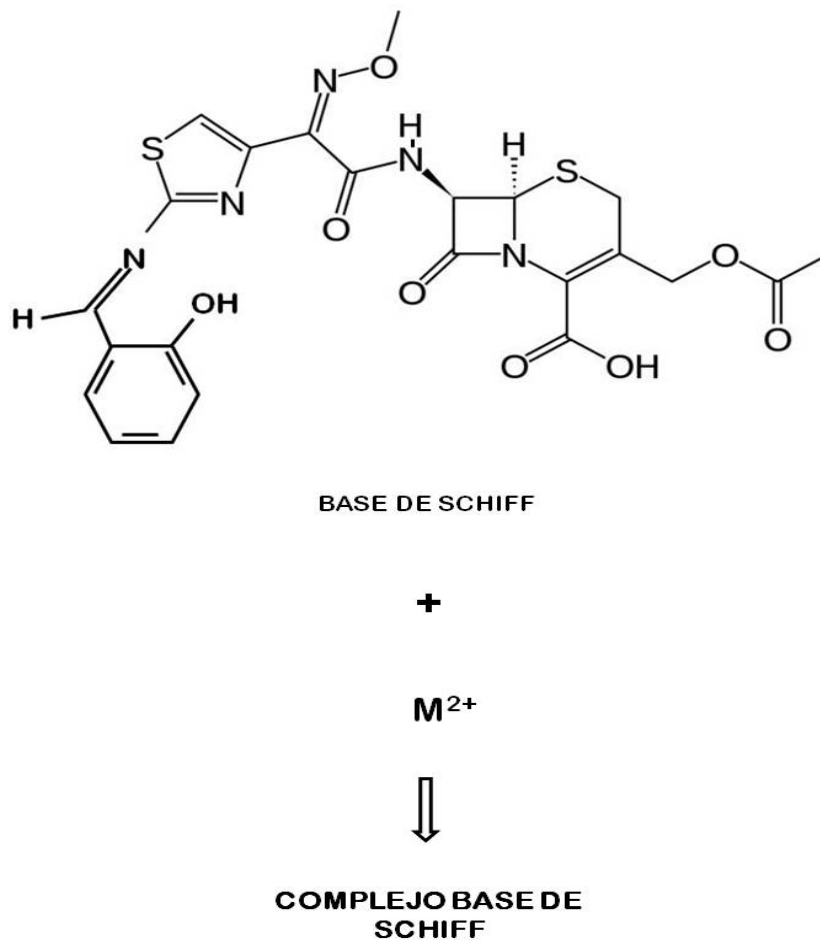


Figura 7. Esquema sugerido de formación de los complejos base de Schiff [$M = Ni^{2+}$, Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} y Ag^{2+}].

CARACTERIZACIÓN DE LA ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS COMPLEJOS METÁLICOS

Empleando técnicas específicas se caracterizaron las posibles estructuras de los diferentes complejos metálicos que contienen ligando base de Schiff:

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 del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC (53).

ANÁLISIS TÉRMICO DEL CONTENIDO DE METAL

Para determinar el contenido de metal presente en los complejos metálicos con ligando base de Schiff se pesaron aproximadamente 26 mg de muestras sólidas de éstos y luego, en un horno marca Thelco, modelo 17, fueron calcinadas alrededor de 1 100°C durante una hora en presencia de oxígeno atmosférico (54).

MEDIDAS DE SUSCEPTIBILIDAD MAGNÉTICA

Se midió la susceptibilidad magnética de los complejos sintetizados mediante el empleo de una balanza de susceptibilidad magnética marca Johnson Matthey, modelo 436; utilizando como calibrador, una muestra pulverizada de sulfato de cobre (CuSO_4) de susceptibilidad conocida. Las medidas se realizaron a temperatura ambiente con muestras pulverizadas de los complejos metálicos con ligando base de Schiff y, a partir de las medidas reportadas por la balanza se calculó el momento magnético para determinar el número de electrones desapareados presentes en cada compuesto (53).

ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISIBLE

Esta técnica mide por absorción de la radiación Ultravioleta-Visible, a que frecuencias se producen las transiciones electrónicas entre niveles de energía de la molécula. Basados en éste principio, se midió las absorbancias de soluciones

previamente preparadas de cada uno de los complejos sintetizados a una concentración de $1 \times 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ en un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Lambda 11 (55).

ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

Se evaluó la presencia de grupos funcionales y se determinaron los sitios de unión del antibiótico al metal, empleando la técnica de espectroscopia infrarroja, la cual se realizó en pastillas de bromuro de potasio (KBr) en un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Spectrum 2000 con transformada de Fourier (55).

ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA

Fue realizada en muestras sólidas a temperatura ambiente en un espectrómetro marca Bruker EC 100 perteneciente al Departamento de Física de la Universidad Autónoma de Bogotá (Colombia) utilizando la banda X de frecuencias (9,0-9,7 GHz) (55).

CONDUCTIVIDAD MOLAR

Se prepararon soluciones de los complejos sintetizados a concentraciones de $1 \times 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$, empleando dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente. Posterior a ello, se hicieron las mediciones en un conductímetro Orion 5 Star. 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 (55).

ENSAYO MICROBIOLÓGICO

Una vez caracterizados los complejos metálicos con ligando base de Schiff, se evaluó la acción antibacteriana de éstos 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: *S. aureus* (ATCC 25923), *S. epidermidis* (ATCC 14990), *E. coli* (ATCC 25922), *K. pneumoniae* (ATCC 700603) y *P. aeruginosa* (ATCC 27853).

PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR DIFUSIÓN EN AGAR

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 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 fue colocada en una incubadora a 37°C, durante 10 minutos, para que la superficie del agar se secase antes de proceder a colocar los discos. Se seleccionó un número específico de placas y se incubaron a 37°C por un lapso de 24 horas, descartando de esta manera cualquier posible contaminante en los medios empleados.

Se hicieron taxos que contenían 400 µg/disco. Para obtener ésta concentración se preparó una solución de 40 mg.ml⁻¹ de cada uno de los complejos sintetizados y de la cefotaxima, para lo cual se pesaron 20 mg de los sólidos y se disolvieron en 0,5 ml de DMSO, debido a que los complejos son insolubles en solventes orgánicos e inorgánicos comunes. Se impregnaron discos de papel Whatman N° 3 de 5 mm de diámetro, estériles, con 10 µl de las soluciones y se colocaron sobre la superficie del agar de cada uno de los cultivos de las diferentes cepas con la ayuda de una pinza estéril. Las placas fueron incubadas a 37°C, por 24 horas, en ambiente de aerobiosis, al transcurrir éste período de tiempo, se evidenció la actividad antibacteriana con la aparición de un halo de inhibición alrededor de cada disco. La lectura de los halos de inhibición se realizó

utilizando una regla graduada y los valores fueron expresados en milímetros (mm). Con estos resultados se pudo establecer una comparación entre la capacidad bactericida de la cefotaxima comercial y la capacidad bactericida de los complejos metálicos con ligando base de Schiff preparados frente a las mismas cepas bacterianas (56, 57).

PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR DIFUSIÓN EN AGAR 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 Mc Farland 0,5. Cada una de las cepas fue sembrada sobre agar Mueller Hinton, en placa de Petri, 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 la cefotaxima y cada uno de los complejos en suspensiones de concentración 40, 20, 10, 5, y 2,5 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ para así obtener una proporción de 400, 200, 100, 50, y 25 $\mu\text{g}/\text{disco}$, respectivamente. Para conseguir estas concentraciones se procedió de la siguiente manera, se preparó una solución madre de 40 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ de cefotaxima y cada uno de los complejos sintetizados, para lo cual se pesaron 20 mg de los sólidos y se disolvieron en 0,5 ml de 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 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. A partir de ésta solución se tomaron 250 μ l los cuales fueron mezclados con 250 μ l de DMSO para obtener una solución 3 de concentración 10 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, y así sucesivamente.

Finalmente frente a un mechero se colocaron los discos sobre la superficie del agar Mueller Hinton con ayuda de una pinza estéril. Posteriormente, se incubaron las placas por 24 horas en la incubadora a 37°C. La presencia de actividad antibacteriana de la cefotaxima comercial y de los compuestos sintetizados se detectó por la aparición de un halo de inhibición alrededor de cada disco. Estos ensayos se realizaron por triplicado y la lectura de los halos de inhibición se realizó con una regla graduada, reportando los valores en milímetros (57, 58).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ANÁLISIS ELEMENTAL

El análisis elemental de la base de Schiff y de los diferentes complejos metálicos sintetizados se muestra en la tabla 1. Se aprecia buena correspondencia entre los valores experimentales y los valores calculados (entre paréntesis) para cada uno de los compuestos. Los resultados obtenidos demuestran que la base de Schiff se formó en una relación estequiométrica 1:1 entre la cefotaxima y el salicilaldehído; de igual manera, sucedió en la formación de la mayoría de los compuestos sintetizados, en los cuales la proporción estequiométrica metal–ligando es 1:1 a excepción del complejo dinuclear $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ y de los complejos tetranucleares $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ y $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$, donde las relaciones molares metal:ligando son 2:1 y 4:1 respectivamente.

Tabla 1. Análisis elemental de los complejos metálicos con ligando base de Schiff.

| Complejos | % C | % H | % N | % S |
|--|--------|-------|--------|--------|
| $[\text{H}_2(\text{cefo-salicil})]$ | 49,1 | 4,1 | 12,3 | 11,2 |
| $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_2$ | (49,4) | (3,8) | (12,5) | (11,5) |
| $[\text{Co}(\text{cefo-salicil})]$ | 44,5 | 3,5 | 11,0 | 10,1 |
| $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_2\text{Co}$ | (44,8) | (3,1) | (11,4) | (10,4) |
| $[\text{Ni}(\text{cefo-salicil})(\text{H}_2\text{O})_{13}]$ | 32,7 | 5,6 | 7,9 | 7,8 |
| $\text{C}_{23}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_{21}\text{S}_2\text{Ni}$ | (32,5) | (5,3) | (8,2) | (7,5) |
| $[\text{Cu}(\text{cefo-salicil})]$ | 44,1 | 2,7 | 10,9 | 9,8 |
| $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_2\text{Cu}$ | (44,5) | (3,1) | (11,3) | (10,3) |
| $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ | 44,7 | 2,8 | 10,9 | 10,6 |
| $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_2\text{Zn}$ | (44,4) | (3,1) | (11,2) | (10,3) |
| $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ | 35,9 | 3,3 | 8,1 | 6,7 |
| $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}_2\text{Ag}_2$ | (35,7) | (3,0) | (7,7) | (7,1) |
| $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ | 31,3 | 2,9 | 8,1 | 7,5 |
| $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_{14}\text{S}_2\text{Ni}_4$ | (30,9) | (2,8) | (7,8) | (7,2) |
| $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ | 29,8 | 3,1 | 7,5 | 6,6 |
| $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_{14}\text{S}_2\text{Cu}_4$ | (30,2) | (2,8) | (7,7) | (7,0) |

%C: porcentaje de Carbono; %H: porcentaje de Hidrógeno; %N: porcentaje de Nitrógeno; %S: porcentaje de azufre

Los complejos polinucleares se obtuvieron en condiciones experimentales muy similares a las de los complejos mononucleares y la diferencia entre unos y otros fue posible

apreciarla por las medidas de susceptibilidad magnética y del análisis térmico del contenido de metal.

ANÁLISIS TÉRMICO DEL CONTENIDO DE METAL

Los resultados del análisis térmico del contenido de metal se muestran en la tabla 2, donde se puede apreciar una buena correspondencia entre los valores medidos expresados como óxidos tipo MO y los valores teóricos obtenidos considerando la fórmula molecular establecida.

Tabla 2. Análisis térmico de los complejos metálicos con ligando base de Schiff.

| Complejos | Masa inicial (mg) | Masa final (mg) | %metal medido | %metal teórico |
|--|----------------------|--------------------|------------------|-------------------|
| [Co(cefo-salicil)] | 26,5 | 3,2 | 9,51 | 9,75 |
| [Ni(cefo-salicil)(H ₂ O) ₁₃] | 26,5 | 2,4 | 7,17 | 7,00 |
| [Cu(cefo-salicil)] | 26,1 | 3,3 | 10,11 | 10,43 |
| [Zn(cefo-salicil)] | 26,1 | 3,5 | 10,73 | 10,70 |
| [Ag ₂ (cefo-salicil)(Ac) ₂ (H ₂ O)] | 26,1 | 7,2 | 24,02 | 24,04 |
| [Ni ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 26,6 | 9,0 | 26,62 | 26,61 |
| [Cu ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 26,1 | 9,2 | 28,16 | 28,19 |

=: porcentaje.

MEDIDAS DE SUSCEPTIBILIDAD MAGNÉTICA

En la tabla 3 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 diferencia entre el peso del capilar vacío con el capilar con muestra (Δm), y la susceptibilidad específica medida por gramos (X_g). C_{bal} es la constante de calibración de la balanza (1,2219). La ecuación que relaciona estos parámetros es:

$$X_g = \frac{C_{bal} l (R - R_0)}{\Delta m \times 10^9}$$

La susceptibilidad magnética molar X_M se obtiene multiplicando la X_g por la masa molecular. La susceptibilidad molar corregida, (X_M^{corr}), se calcula tomando en cuenta las

correcciones diamagnéticas del ligando utilizando las constantes de Pascal (59).

Tabla 3. Medidas de susceptibilidad magnética de los complejos metálicos con ligando base de Schiff.

| Complejos | (mg) | XR _O | XR | l(cm) | Xg | X _M ^{corr} |
|--|-------|-----------------|------|-------|------------------------|--------------------------------|
| [Co(cefo-salicil)] | 54,6 | -55 | 356 | 1,6 | 14,72x10 ⁻⁶ | 9,12x10 ⁻³ |
| [Ni(cefo-salicil)(H ₂ O) ₁₃] | 69,3 | -50 | 2040 | 1,4 | 51,59x10 ⁻⁶ | 43,65x10 ⁻³ |
| [Cu(cefo-salicil)] | 115,5 | -50 | 2620 | 1,7 | 48,02x10 ⁻⁶ | 29,48x10 ⁻³ |
| [Zn(cefo-salicil)] | 41,0 | -57 | 50 | 1,6 | 5,10x10 ⁻⁶ | 3,34x10 ⁻³ |
| [Ag ₂ (cefo-salicil)(Ac) ₂ (H ₂ O)] | 73,4 | -50 | 570 | 1,5 | 15,48x10 ⁻⁶ | 14,22x10 ⁻³ |
| [Ni ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 43,2 | -57 | 262 | 1,7 | 15,34x10 ⁻⁶ | 13,87x10 ⁻³ |
| [Cu ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 67,2 | -57 | 100 | 1,6 | 4,57x10 ⁻⁶ | 4,45x10 ⁻³ |

mg: peso de la muestra; XR_O: susceptibilidad magnética del tubo vacío; XR: susceptibilidad magnética del tubo con muestra; l: longitud de la muestra en el tubo (cm); Xg: susceptibilidad específica medida por gramos; X_M^{corr}: susceptibilidad molar corregida.

MOMENTOS MAGNÉTICOS

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 X_M 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.

Con el valor del momento magnético efectivo (μ_{eff}) se puede determinar el estado de oxidación del metal, el número de electrones desapareados y su posible estereoquímica (59). En el presente caso, la correspondencia que existe entre los valores medidos con los valores reportados en compuestos octaédricos, sugiere que posiblemente los complejos sintetizados poseen esta geometría en torno al metal. Los momentos magnéticos fueron calculados a partir de las medidas de susceptibilidad magnética y se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Momentos magnéticos de los complejos metálicos con ligando base de Schiff.

| Complejos | μ_{eff} medidos | μ_{eff} teóricos | Electrones desapareados | μ_{eff} reportados |
|--|-------------------------------|--------------------------------|----------------------------|----------------------------------|
| [Co(cefo-salicil)] | 4,7 | 3,9 | 3 | 4,3 - 5,2 |
| [Ni(cefo-salicil)(H ₂ O) ₁₃] | 10,3 | 2,8 | 2 | 2,9 - 3,9 |
| [Cu(cefo-salicil)] | 8,4 | 1,7 | 1 | 1,9 - 2,1 |
| [Zn(cefo-salicil)] | 2,8 | 0,0 | 0 | 0,0 - 0,0 |
| [Ag ₂ (cefo-salicil)(Ac) ₂ (H ₂ O)] | 5,9 | 1,7 | 1 | 1,9 - 2,1 |
| [Ni ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 5,8 | 2,8 | 2 | 2,9 - 3,9 |
| [Cu ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 3,3 | 1,7 | 1 | 1,9 - 2,1 |

μ_{eff} reportados (59).

ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISIBLE (UV-VISIBLE)

La espectroscopia UV-visible se utiliza, de manera general, en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados. El espectro de los complejos de metales de transición depende de la transición de electrones desapareados desde un estado fundamental hasta un estado excitado (60).

En la tabla 5 se resumen las transiciones de los espectros UV-visible de la cefotaxima, base de Schiff y los complejos metálicos, disueltos en DMSO. Los espectros fueron tomados utilizando DMSO como solvente, ya que los compuestos sintetizados resultaron ser insolubles en otros solventes orgánicos. Las bandas d-d en los complejos aparecen más débiles que las debidas al ligando, sugiriendo la presencia de estructuras octaédricas. Los espectros UV-visible de la cefotaxima, base de Schiff y los complejos metálicos se aprecian desde la figura 8 a la 16.

En el espectro UV-visible de la base de Schiff y de los complejos metálicos se puede apreciar una banda, en el rango 325-345 nm, correspondiente a una transición electrónica del enlace imino, C=N, del ligando base Schiff. Además, en los espectros de los complejos de [Ni(cefo-salicil)(H₂O)₁₃], [Cu(cefo-salicil)], [Ag₂(cefo-salicil)(Ac)₂(H₂O)], [Ni₄(cefo-salicil)(OH)₆] y [Cu₄(cefo-salicil)(OH)₆] se observan

bandas desde 350 nm en adelante, correspondientes a las transiciones electrónicas d-d debidas al metal. En el resto de los complejos metálicos con ligando base de Schiff estas transiciones del metal no fueron detectadas probablemente por ser muy débiles o estar fuera del rango y de la sensibilidad del equipo.

Tabla 5. Resumen de las transiciones electrónicas en la cefotaxima, la base de Schiff y los complejos metálicos.

| Complejos | Transiciones electrónicas (nm) | |
|--|--------------------------------|---------------|
| | En el ligando | En el metal |
| Cefotaxima | 231, 262, 280, 302 | — |
| [H ₂ (cefo-salicil)] | 230, 263, 284, 305, 331 | — |
| [Co(cefo-salicil)] | 230, 262, 273, 280, 330 | — |
| [Ni(cefo-salicil)(H ₂ O) ₁₃] | 230, 260, 283, 302, 332 | 370, 438 |
| [Cu(cefo-salicil)] | 230, 263, 293, 309, 332 | 375 |
| [Zn(cefo-salicil)] | 233, 262, 280, 300, 325 | — |
| [Ag ₂ (cefo-salicil)(Ac) ₂ (H ₂ O)] | 231, 260, 280, 302, 325 | 370, 420 |
| [Ni ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 232, 258, 280, 303, 343 | 368, 453 |
| [Cu ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 233, 262, 282, 304, 332 | 350, 375, 420 |

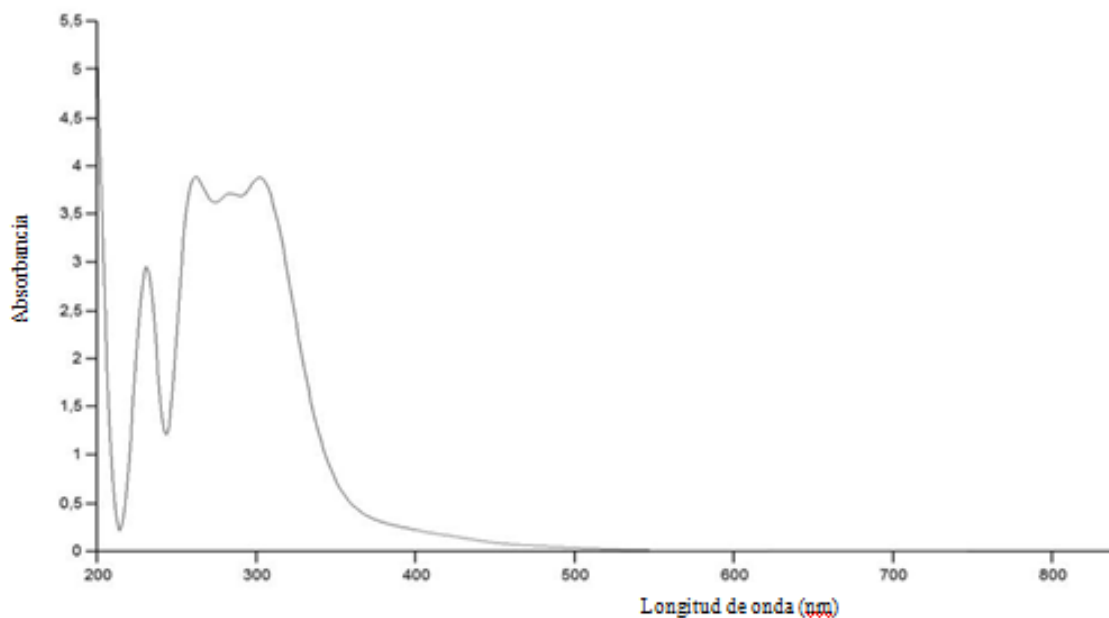


Figura 8. Espectro UV-visible de la cefotaxima

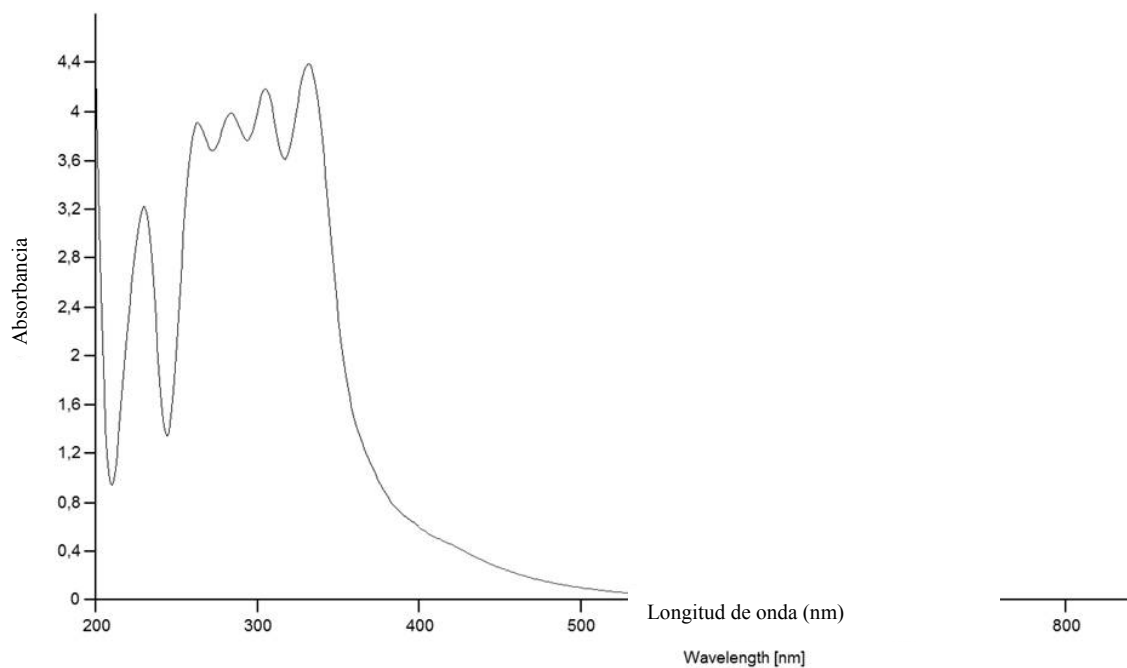


Figura 9. Espectro UV-visible de la base Schiff [$H_2(\text{cefo-salicyl})$].

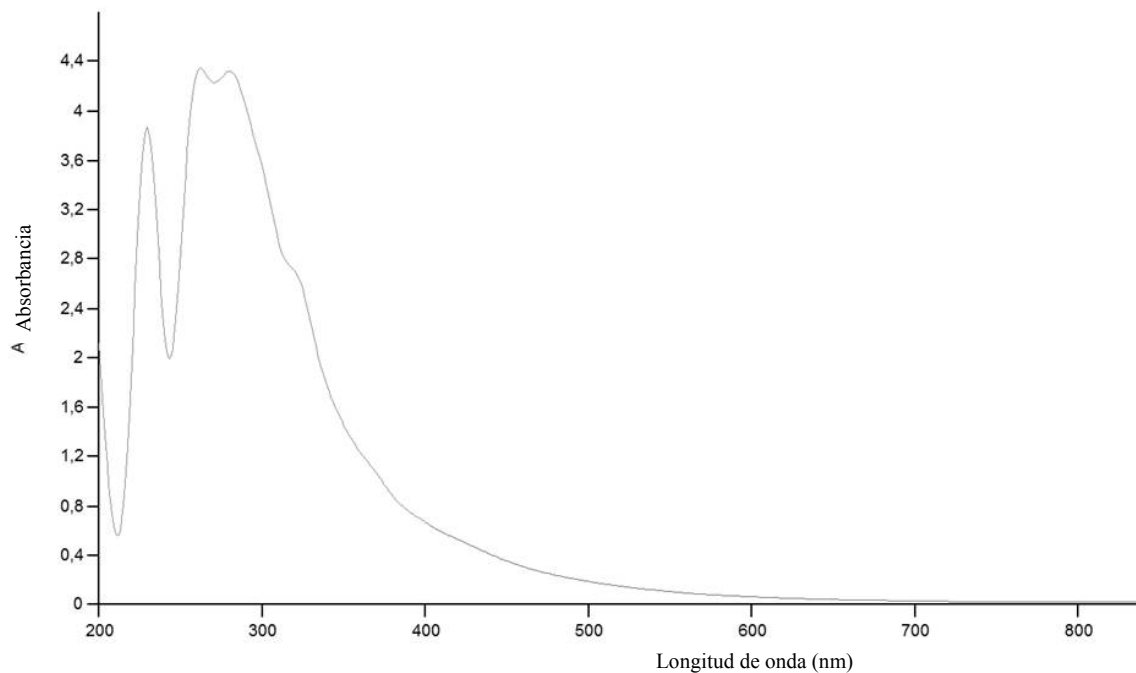


Figura 10. Espectro UV-visible del [$\text{Co}(\text{cefo-salicyl})$].

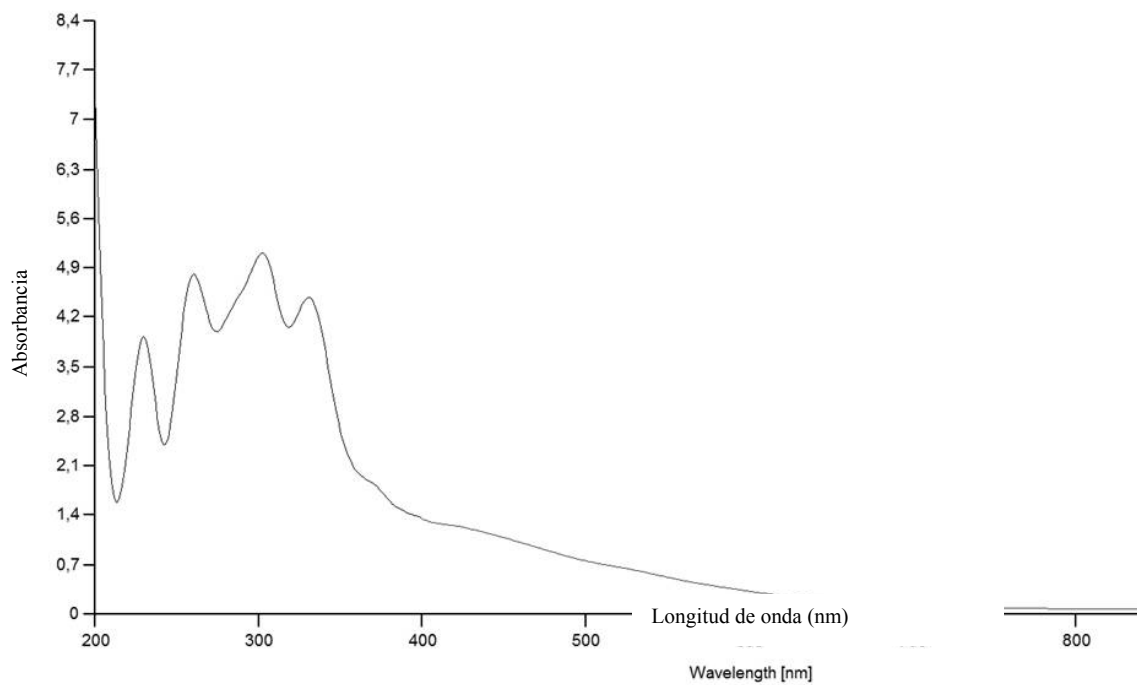


Figura 11. Espectro UV-visible del $[\text{Ni}(\text{cefo-salicyl})(\text{H}_2\text{O})_{13}]$.

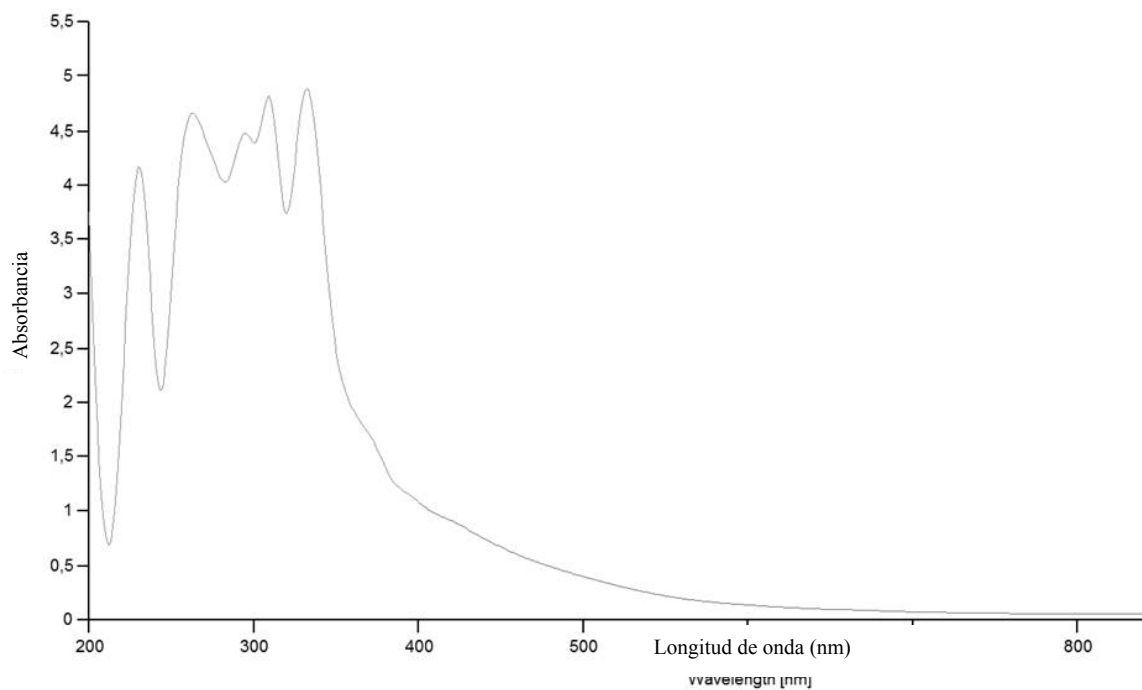


Figura 12. Espectro UV-visible del $[\text{Cu}(\text{cefo-salicyl})]$.

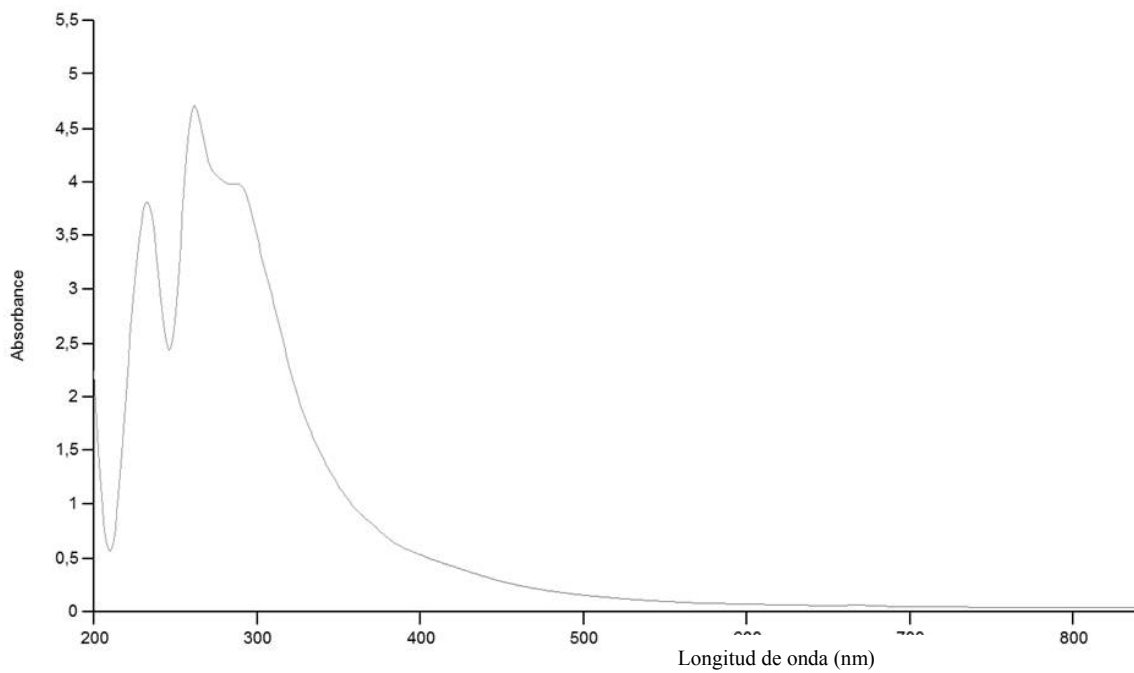


Figura 13. Espectro UV-visible del [Zn(cefo-salicyl)].

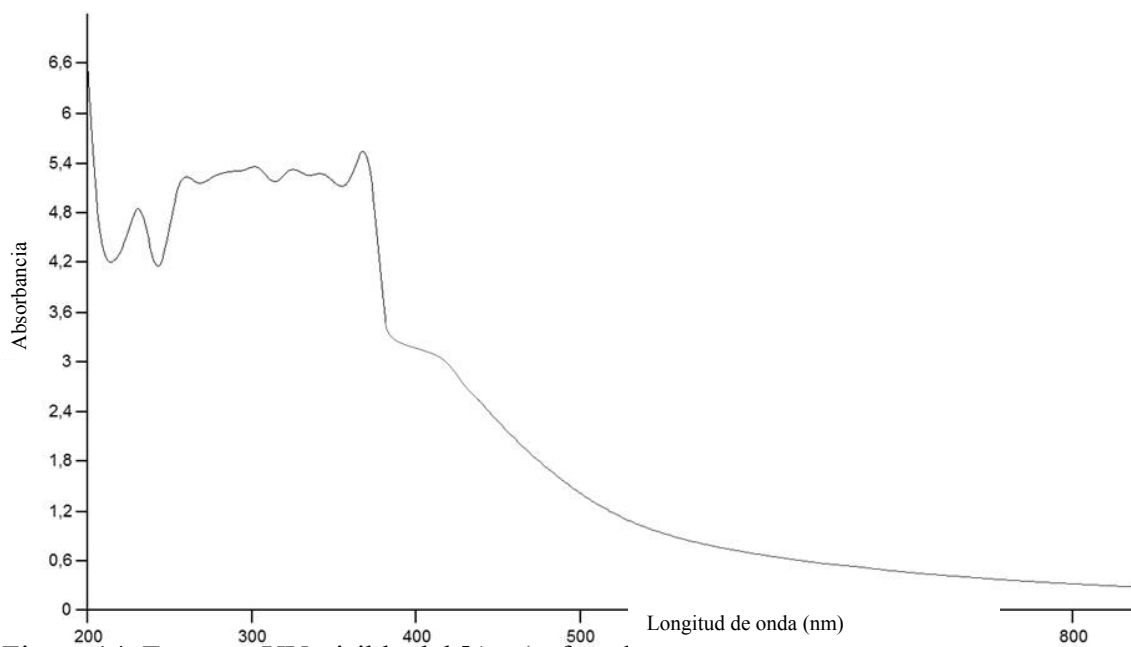
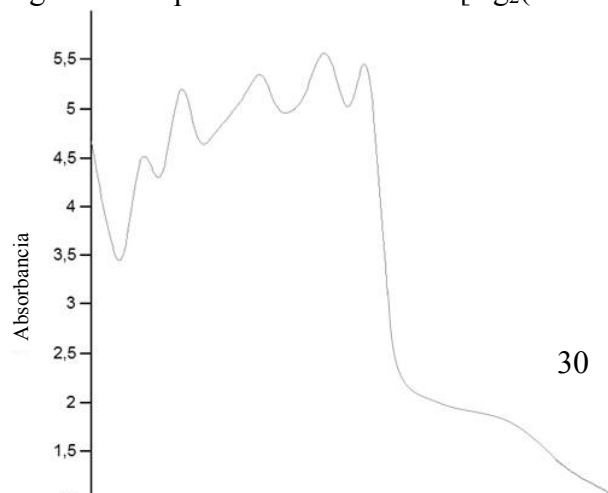


Figura 14. Espectro UV-visible del [Ag₂(cefo-salicyl)(Ac)₂(H₂O)].



Longitud de onda (nm)

Figura 15. Espectro UV-visible del $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$.

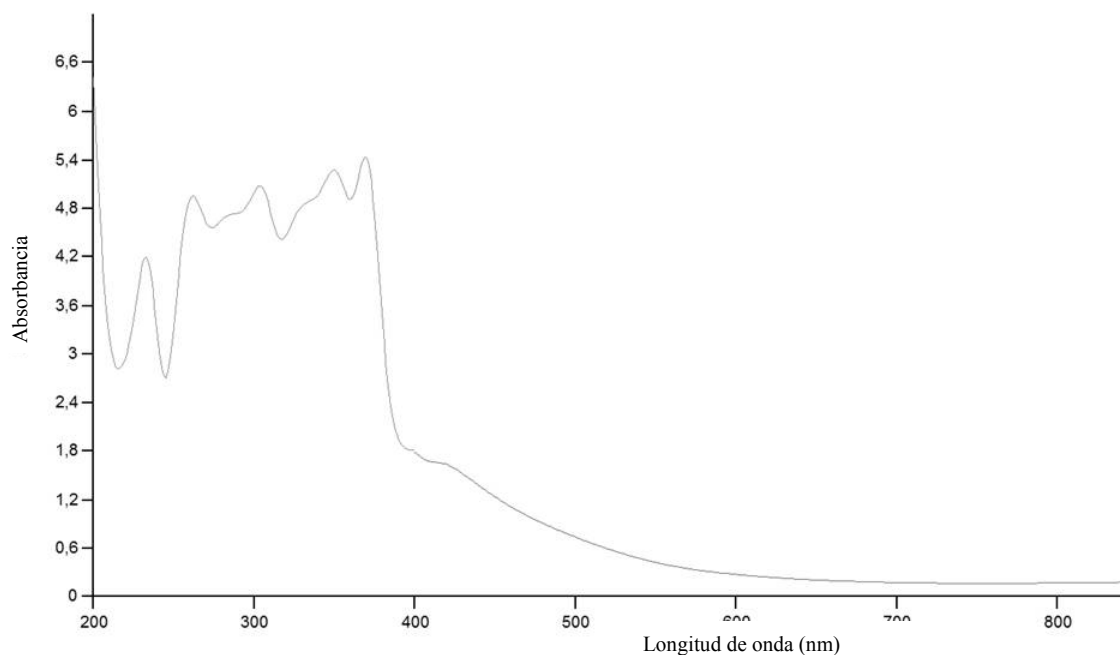


Figura 16. Espectro UV-visible del $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$.

ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)

La espectroscopia infrarroja (IR) tiene su aplicación más inmediata en la detección de las moléculas presentes en un material. Cada molécula presenta un espectro IR característico, debido a que todas (excepto las especies diatómicas homonucleares) tienen algunas vibraciones que, al activarse, provocan la absorción a una determinada

longitud de onda en la zona del espectro electromagnético correspondiente al infrarrojo (61).

De esta forma, analizando cuales son las longitudes de onda que absorbe una sustancia en esta zona, se puede obtener información acerca de los grupos funcionales que componen dicha sustancia. Los valores de las bandas IR del antibiótico cefotaxima, la base de Schiff y los complejos sintetizados se encuentran resumidas en la tabla 6. Los espectros relacionados se muestran desde la figura 17 a la figura 25.

Tabla 6. Principales bandas IR de la cefotaxima, la base de Schiff y los complejos metálicos (cm^{-1}).

| Complejos | $\gamma(\text{C}=\text{O})$ lactámico | $\gamma(\text{C}=\text{O})$ amida | $\gamma(\text{C}=\text{N})$ imino | $\gamma(\text{COO})$ asimétrico | $\gamma(\text{COO})$ simétrico | $\Delta\gamma$ (COO) |
|--|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| Cefotaxima | 1 730 | 1 700 | 1 610 | 1 590 | 1 370 | 220 |
| [H ₂ (cefo-salicil)] | 1 740 | 1 700 | 1 650 | 1 570 | 1 370 | 200 |
| [Co(cefo-salicil)] | 1 730 | 1 690 | 1 630 | 1 550 | 1 340 | 210 |
| [Ni(cefo-salicil)(H ₂ O) ₁₃] | 1 740 | 1 680 | 1 630 | 1 580 | 1 360 | 220 |
| [Cu(cefo-salicil)] | 1 730 | 1 700 | 1 630 | 1 580 | 1 360 | 220 |
| [Zn(cefo-salicil)] | 1 750 | 1 680 | 1 640 | 1 580 | 1 370 | 210 |
| [Ag ₂ (cefo-salicil)(Ac) ₂ (H ₂ O)] | 1 740 | 1 680 | 1 640 | 1 590 | 1 380 | 210 |
| [Ni ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 1 750 | 1 710 | 1 640 | 1 580 | 1 370 | 210 |
| [Cu ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 1 750 | 1 710 | 1 650 | 1 570 | 1 360 | 210 |

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

El espectro IR de la cefotaxima, que se muestra en la figura 17 presenta una banda de absorción a $1\,730\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a la vibración stretching C=O del anillo lactámico, una banda a $1\,700\text{ cm}^{-1}$ correspondiente al stretching C=O del grupo amida. De igual manera, se evidencia una banda de absorción a $1\,610\text{ cm}^{-1}$, atribuida a la tensión stretching C=N-R del grupo amínico. Además, el grupo carboxilato COO^- , se presenta a través de dos bandas de absorciones debidas a los estiramientos de los enlaces O-C-O, uno antisimétrico ($1\,590\text{ cm}^{-1}$) y otro simétrico ($1\,370\text{ cm}^{-1}$). Tanto la base de Schiff, como los complejos metálicos presentan bandas de absorción muy cercanas a la de la cefotaxima comercial, debido a las variaciones en las frecuencias vibracionales del ligando durante la coordinación del metal.

Es importante destacar, que en el espectro IR de la cefotaxima se muestra una banda de absorción a $1\ 610\ \text{cm}^{-1}$ correspondiente al stretching $\text{C}=\text{N}-\text{R}$ del grupo imino, la cual aparece levemente desplazada hacia la zona de mayor intensidad de energía en los complejos metálicos, lo que podría estar evidenciando el estiramiento del enlace $\text{C}=\text{N}$ producto de la unión del átomo de nitrógeno del grupo imino al ión metálico.

Por otra parte, las bandas pertenecientes al grupo carboxilato COO^- del espectro IR de la cefotaxima aparecen ligeramente desplazadas hacia la zona de menor energía en los complejos metálicos al producirse la coordinación del ligando al metal. Esto se debe a que las frecuencia vibracionales activas en el infrarrojo del ligando varían cuando coordina al metal. Además, la diferencia entre los números de onda de ambos stretching de éste grupo (antisimétrico y simétrico) es de alrededor $200\ \text{cm}^{-1}$, lo que sugiere una coordinación del grupo carboxilato al metal a través de un solo átomo de oxígeno (62).

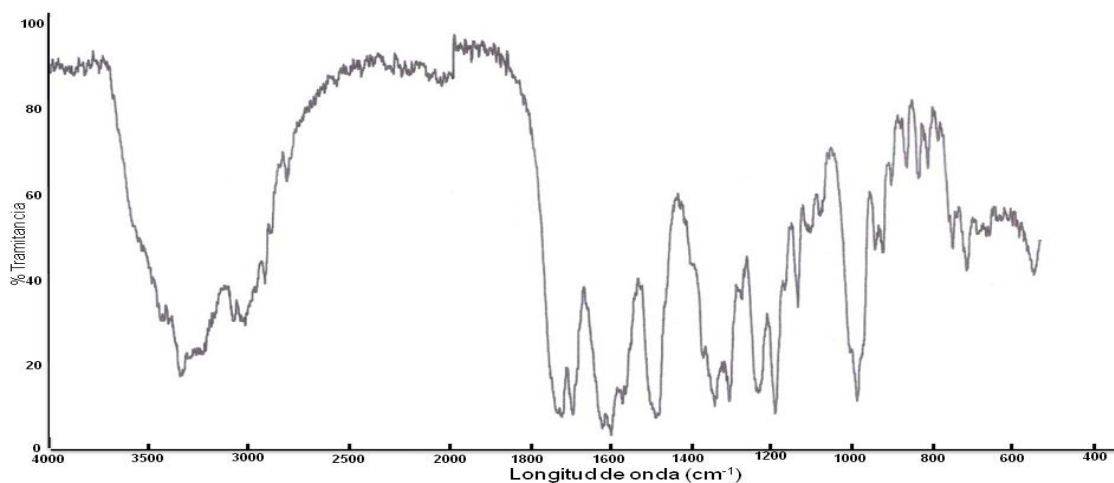


Figura 17. Espectro IR de la cefotaxima.

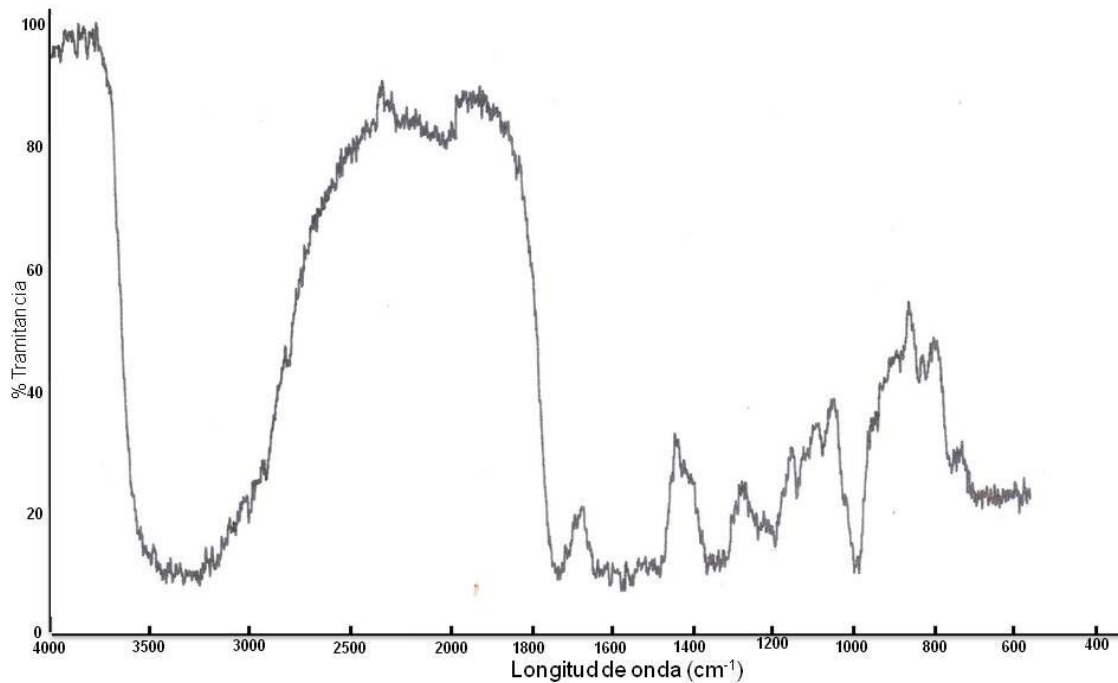


Figura 18. Espectro IR de la base de Schiff [$H_2(\text{cefo-salicil})$].

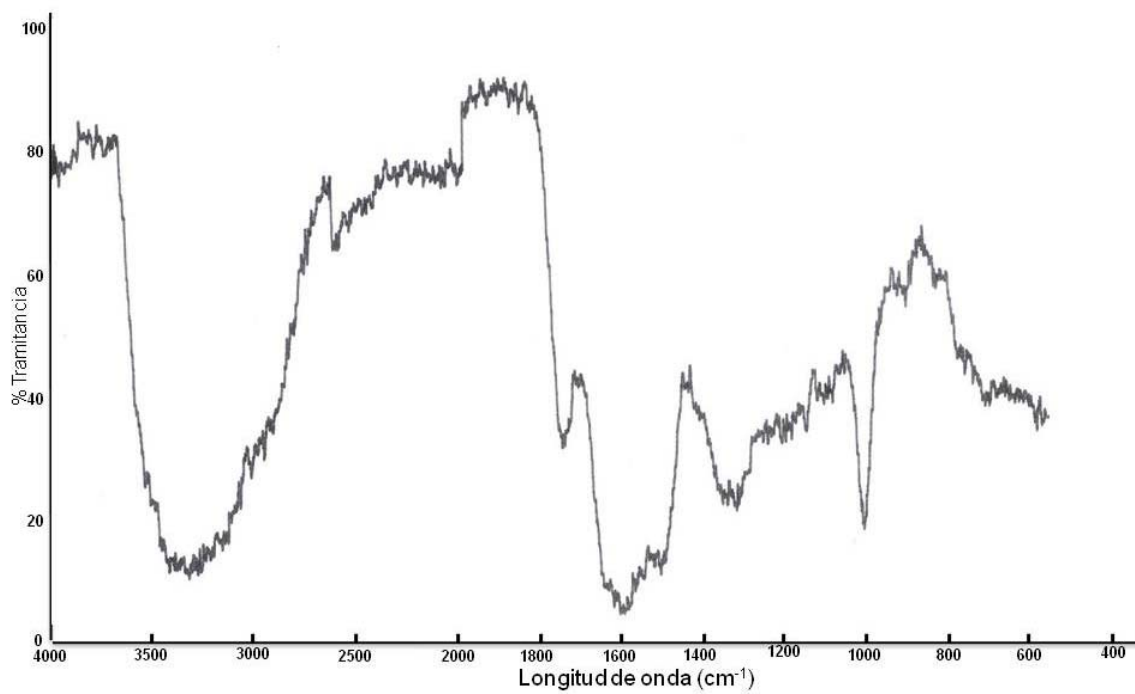


Figura 19. Espectro IR del [$\text{Co}(\text{cefo-salicil})$].

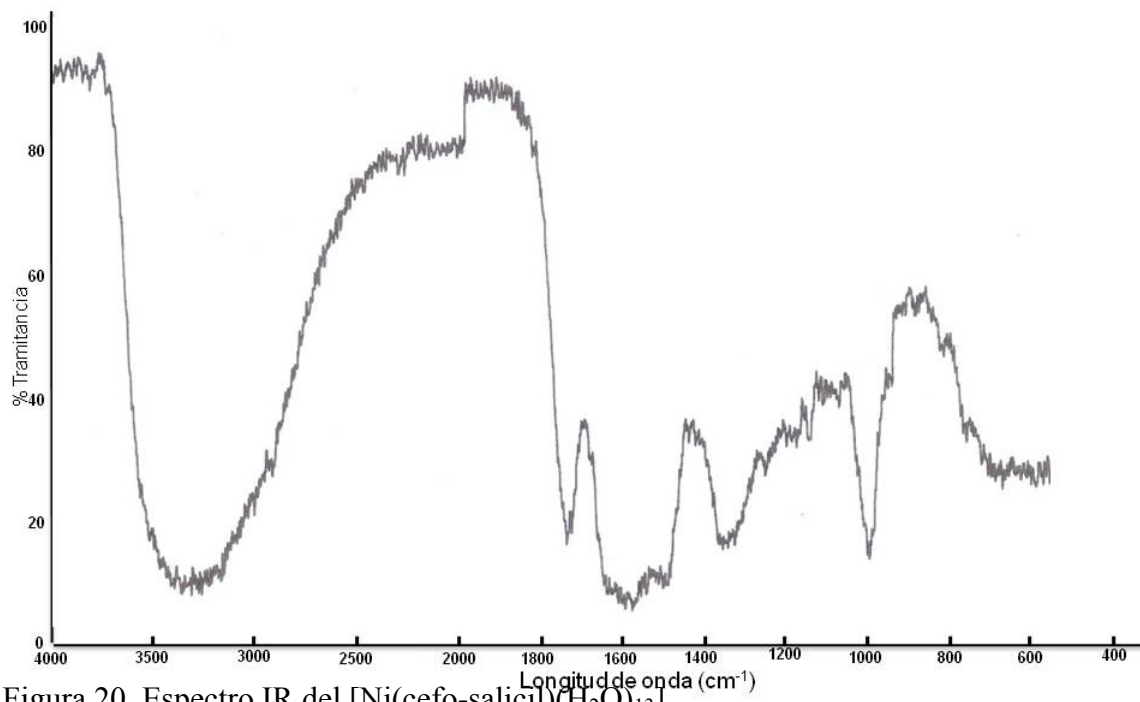


Figura 20. Espectro IR del $[\text{Ni}(\text{cefo-salicil})(\text{H}_2\text{O})_{13}]$.

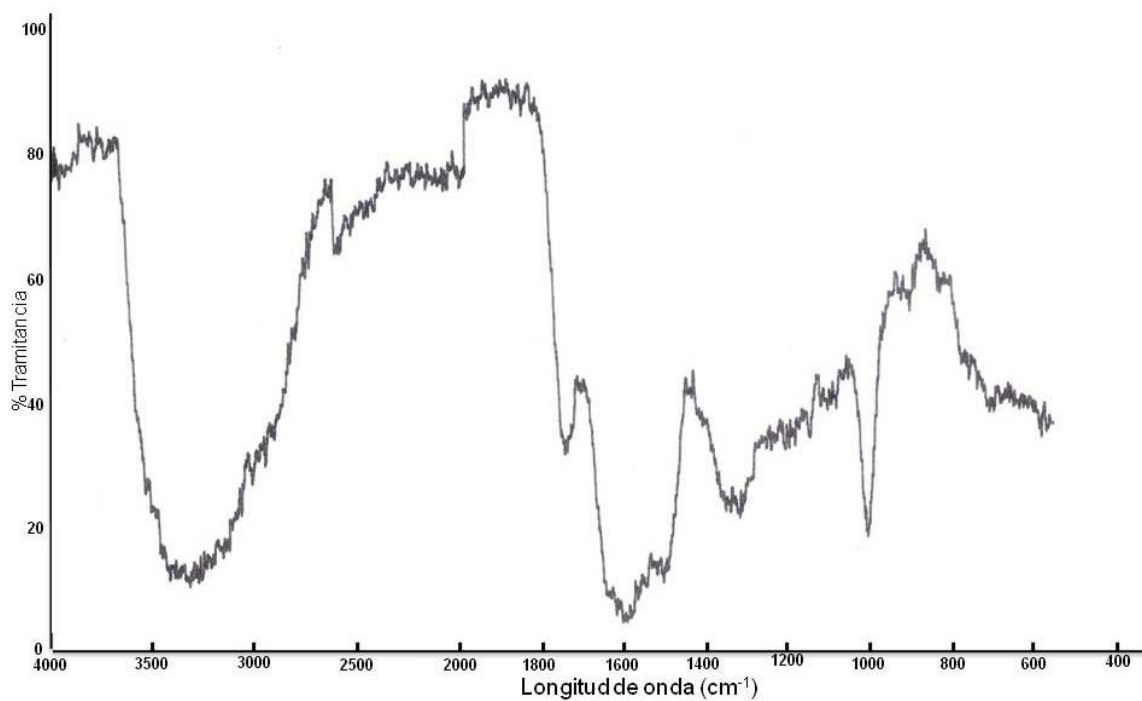


Figura 21. Espectro IR del $[\text{Cu}(\text{cefo-salicil})]$.

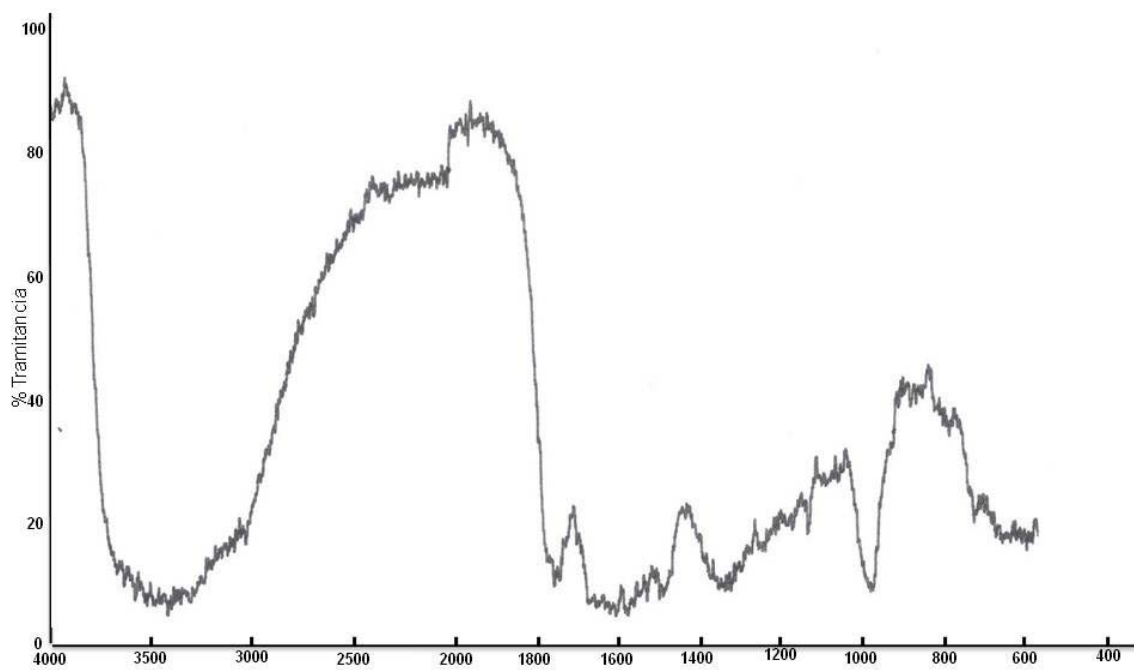


Figura 22 Espectro IR del [Zn(cefo-salich)].

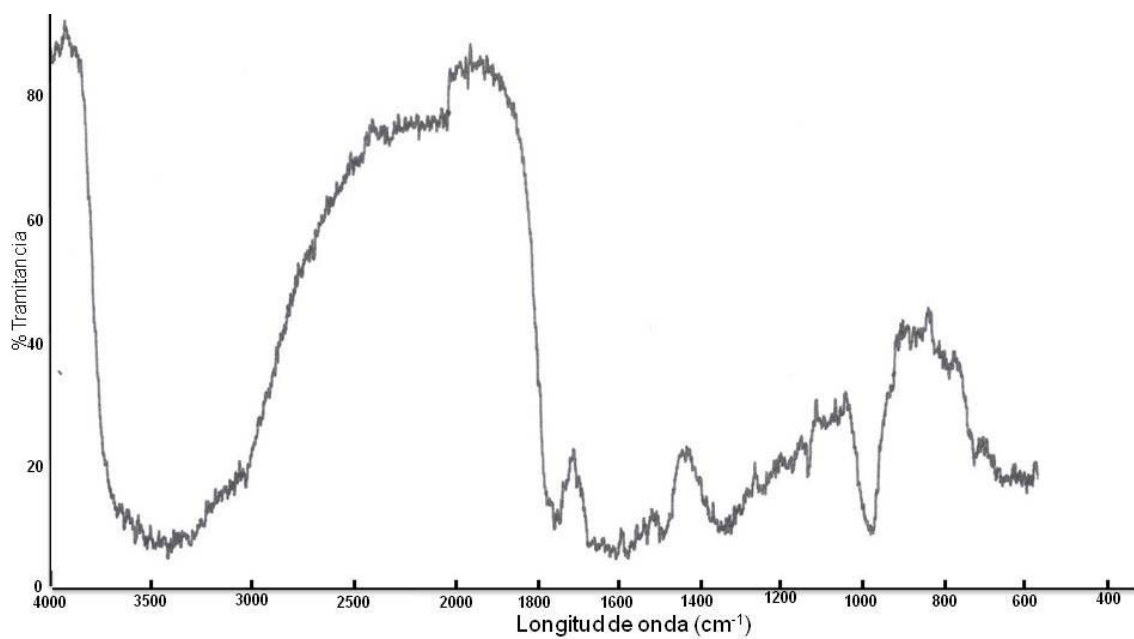


Figura 23. Espectro IR del [Ag₂(cefo-salicyl)(Ac)₂(H₂O)].

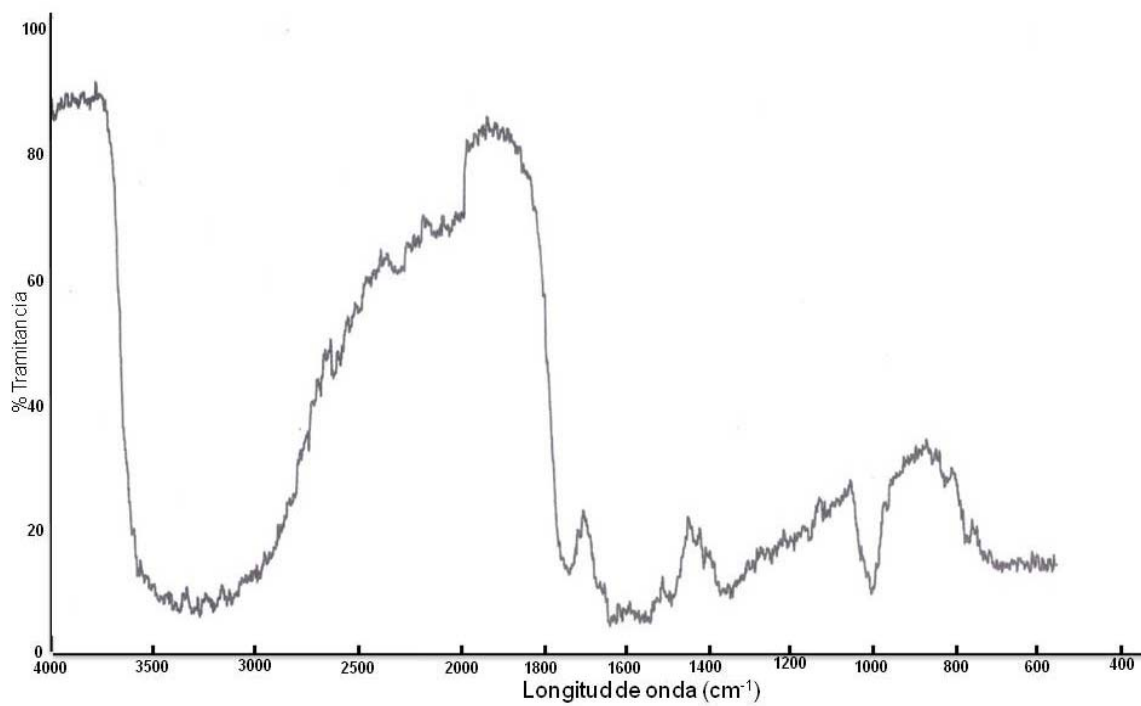


Figura 24. Espectro IR del $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$.

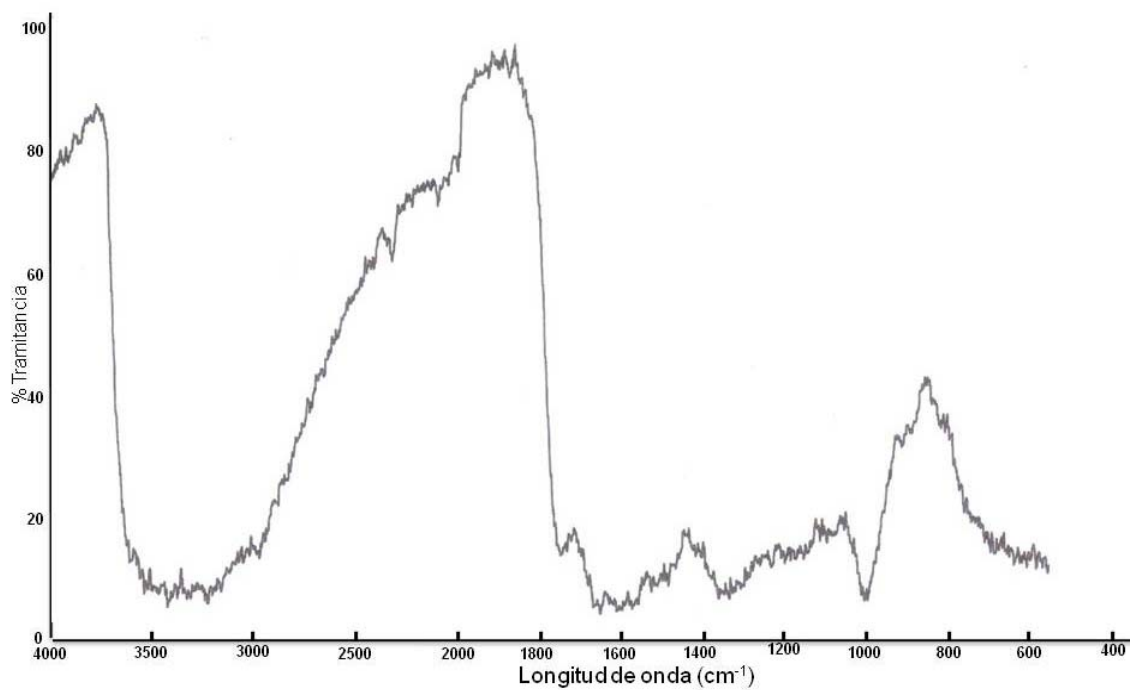


Figura 25. Espectro IR del $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$.

ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA (RPE)

Esta técnica permite estudiar todas aquellas especies que poseen uno o más electrones desapareados. La presencia de un momento neto de spin electrónico es en principio la condición que debe cumplir un material para ser sometido a este tipo de espectroscopia. Muchos iones paramagnéticos en sólidos cristalinos se comportan como si su efecto magnético fuera debido a un único espín electrónico y vienen caracterizados por un número cuántico $S = 1/2$. Si sus núcleos tienen espín nuclear I ($I_{Ag} = 1/2$) surge un desdoblamiento hiperfino debido a la interacción interna entre los momentos nucleares y electrónicos. En un campo externo B_0 , cada uno de los dos niveles electrónicos $m_s = \pm 1/2$, se desdobra en $2I+1$ contribuciones diferentes al campo local, por consiguiente los espectros RPE aparecen frecuentemente desdoblados en multipletes denominados estructuras hiperfinas. Para una frecuencia de microondas dada se encuentran $2I+1$ picos de absorción a medida que aumenta el campo. Se produce la absorción de energía entre dos niveles cuando la energía aplicada ($h\nu$) es igual a la diferencia de energía entre los niveles ($g\beta H$), es decir, la condición resonante viene dada por: $h\nu = g\beta$ (55).

El espectro RPE del complejo $[Ag_2(\text{cefo-salicil})(Ac)_2(H_2O)]$ (figura 26), tomado a la muestra sólida a temperatura ambiente evidenció dos resonancias a través del campo, siendo la de campo bajo (1 660 gauss) de menor intensidad en comparación con las de campo alto, causadas por la interacción entre los núcleos metálicos. La estructura hiperfina debida a la interacción del electrón con los núcleos de Ag (II) ($I = 1/2$) sólo se muestra parcialmente. En medio de la banda se aprecia la resonancia de un radical libre producido por la reacción.

MEDIDAS DE CONDUCTIVIDAD MOLAR

En la tabla 7, se muestran los valores de conductividad molar medidos para los complejos metálicos utilizando como solvente DMSO. Los valores de conductividad molar reflejan que el compuesto $[\text{Ni}(\text{cefo-salicil})(\text{H}_2\text{O})_{13}]$ sintetizado conduce la corriente eléctrica cuando está disuelto en DMSO, es decir, se comporta como un electrolito conductor 1:1. Las medidas observadas concuerdan con los valores sugeridos por Geary para electrolitos 1:1 en dimetilsulfóxido (63). Además, el complejo $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$, según los valores obtenidos, también actúa como un electrolito conductor. Esto revela que dichos complejos metálicos con ligando base de Schiff poseen en su estructura química iones dissociables, en éste caso un ión acetato (Ac) que puede ser desplazado desde la esfera de coordinación, por el solvente utilizado. La presencia de iones dissociables sugiere que la base de Schiff se comporta como ligando monoaniónico, sin embargo, la presencia de impurezas no debería ser descartada. Los complejos $[\text{Co}(\text{cefo-salicil})]$, $[\text{Cu}(\text{cefo-salicil})]$, $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$, $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ y $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ son no conductores considerando los bajos valores de conductividad. La ausencia de iones dissociables en éstos complejos sugiere que la base de Schiff se comporta como un ligando dianiónico.

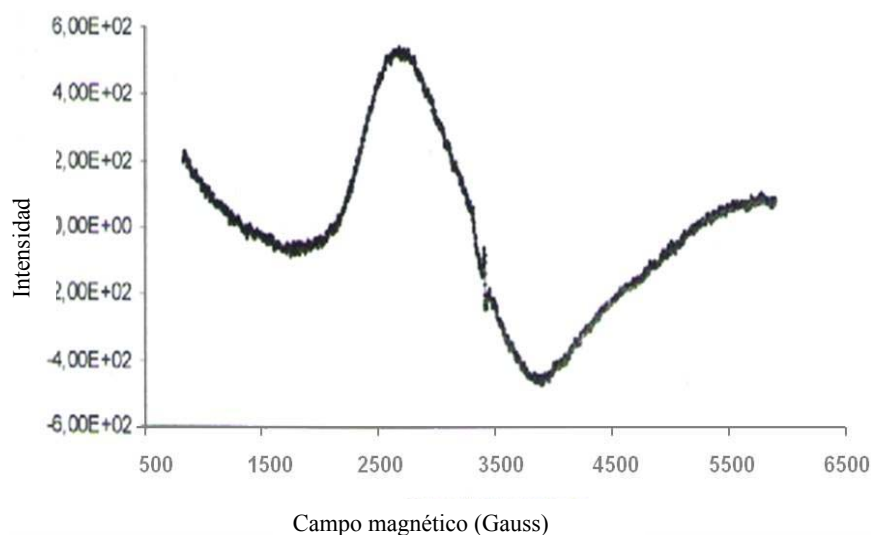


Figura 26. Espectro RPE del $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$.

Tabla 7. Conductividad molar de la base de Schiff y los complejos metálicos.

| Complejos | Λ_m (S.cm ² .mol ⁻¹) | T(°C) | Tipo de electrolito |
|--|---|-------|---------------------|
| [H ₂ (cefo-salicil)] | 16,65 | 30,5 | Conductor |
| [Co(cefo-salicil)] | 13,84 | 30,0 | No conductor |
| [Ni(cefo-salicil)(H ₂ O) ₁₃] | 28,98 | 31,1 | Conductor |
| [Cu(cefo-salicil)] | 13,71 | 30,5 | No conductor |
| [Zn(cefo-salicil)] | 6,95 | 30,6 | No conductor |
| [Ag ₂ (cefo-salicil)(Ac) ₂ (H ₂ O)] | 11,15 | 30,3 | No conductor |
| [Ni ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 15,09 | 30,7 | No conductor |
| [Cu ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 26,25 | 30,4 | Conductor |

Λ_m : conductividad molar, T: temperatura, S: siemens (ohm⁻¹).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA

La actividad antibacteriana presentada por la cefotaxima y sus complejos metálicos con ligando base de Schiff, frente a las distintas cepas bacterianas, utilizando el método de difusión en agar se muestra en la tabla 8.

Tabla 8. Halos de inhibición en mm producidos por la cefotaxima y los complejos metálicos con ligando base de Schiff 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> |
|--|------------------|-----------------------|----------------|----------------------|----------------------|
| Cefotaxima | 38 | 38 | 34 | 25 | 18 |
| [Co(cefo-salicil)] | 28 | 24 | 25 | 10 | 14 |
| [Ni(cefo-salicil)(H ₂ O) ₁₃] | 22 | 21 | 20 | – | – |
| [Cu(cefo-salicil)] | 28 | 25 | 31 | 17 | 16 |
| [Zn(cefo-salicil)] | 36 | 40 | 39 | 15 | 27 |
| [Ag ₂ (cefo-salicil)(Ac) ₂ (H ₂ O)] | 28 | 20 | 25 | 9 | 12 |
| [Ni ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 32 | 28 | 30 | 13 | 16 |
| [Cu ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 30 | 26 | 29 | 14 | 13 |

–: sin inhibición de crecimiento.

Los resultados obtenidos de los ensayos para determinar la posible actividad biológica de cefotaxima y de los complejos metálicos con ligando base de Schiff sintetizados,

según el método de difusión en agar, permite afirmar que la mayoría de los complejos poseen actividad antibacteriana sobre las cepas ensayadas.

La cefotaxima mostró actividad contra las cinco cepas bacterianas utilizadas, presentando una actividad máxima sobre las cepas de *S. aureus* y *S. epidermidis* con un halo de inhibición de 38 mm y una mínima actividad ante *P. aeruginosa* con un halo de inhibición de 18 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 el complejo [Zn(cefo-salicil)] mostró un halo de inhibición de 36 mm (figura 27); representado así, al complejo que obtuvo mayor actividad antibacteriana frente a dicha cepa, mientras que el complejo [Ni(cefo-salicil)(H₂O)₁₃] fue el que presentó una menor actividad con un halo de inhibición de 22 mm. No obstante, la cefotaxima comercial fue la que mostró mayor actividad antibacteriana frente a *S. aureus* con un halo de inhibición de 38 mm.

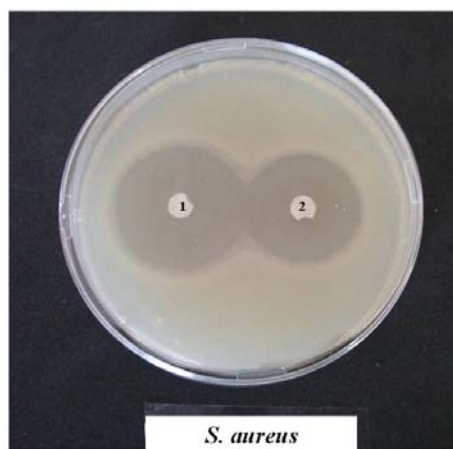


Figura 27. Halos de inhibición de la cefotaxima comercial (1) y del [Zn(cefo-salicil)] (2) frente a la cepa *S. aureus* (ATCC 25923).

S. epidermidis frente al complejo [Zn(cefo-salicil)] demostró un halo de inhibición de 40 mm, el cual es 2 mm mayor que el halo alcanzado por la cefotaxima comercial,

indicando de esta forma, que dicho complejo presenta una actividad antibacteriana mayor a la del antibiótico en estudio (figura 28). El resto de los complejos presentan una actividad menor que la mostrada por la cefotaxima comercial, que va desde un halo de inhibición de 28 mm por parte del complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ hasta un halo de inhibición de 20 mm mostrado por el complejo $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ ante dicha cepa.

E. coli ante el complejo $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ mostró un halo de inhibición de 39 mm, evidenciando de tal forma que la actividad antibacteriana de éste complejo es mayor a la mostrada por la cefotaxima comercial que presentó un halo de inhibición de tan sólo 34 mm (figura 29). De los complejos restantes, el que arrojó un halo de inhibición menor al del antibiótico frente a ésta cepa fue el complejo $[\text{Cu}(\text{cefo-salicil})]$, cuyo halo es de 3 mm menor que el de la cefotaxima comercial, luego le sigue el complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ con una diferencia de 4 mm y así sucesivamente hasta llegar a los complejos $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ y $[\text{Co}(\text{cefo-salicil})]$ que mostraron un halo de 25 mm (figura 30).

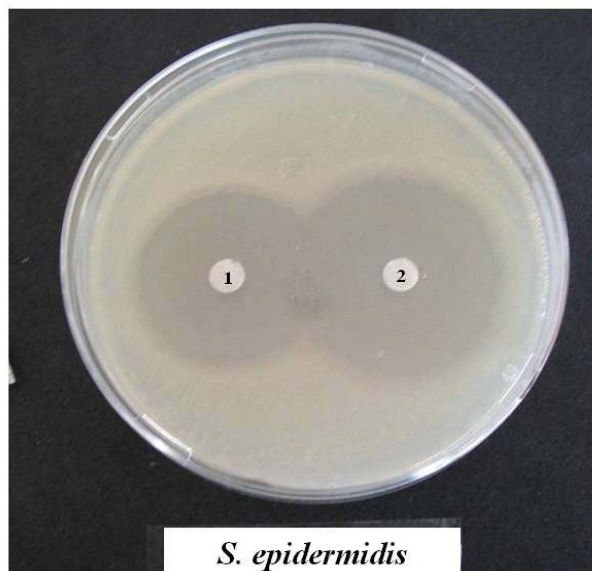


Figura 28. Halos de inhibición de la cefotaxima comercial (1) y del $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ (2) frente a la cepa *S. epidermidis* (ATCC 14990).

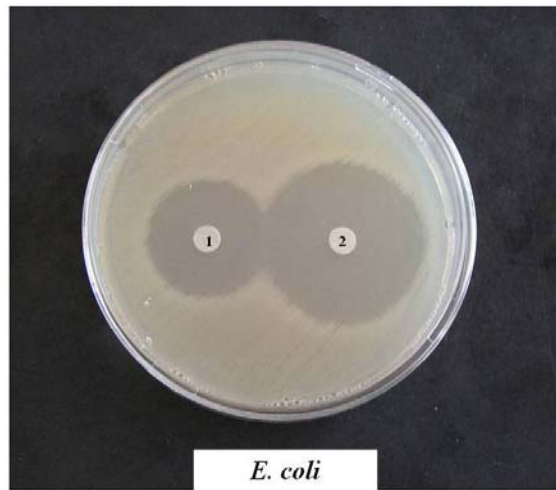


Figura 29. Halos de inhibición de la cefotaxima comercial (1) y del [Zn(cefo-salicil)] (2) ante la cepa *E. coli* (ATCC 25922).

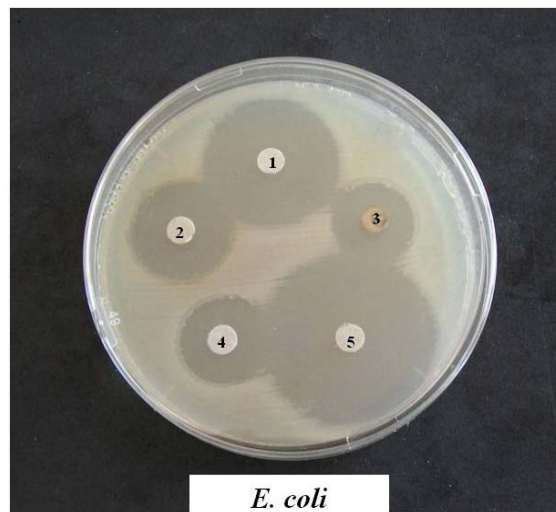


Figura 30. Halos de inhibición de la cefotaxima comercial (1), complejo $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ (2), complejo $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ (3), complejo $[\text{Co}(\text{cefo-salicil})]$ (4) y complejo $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ (5) frente a la cepa *E. coli* (ATCC 25922).

En la cepa de *K. pneumoniae* el halo de inhibición de mayor tamaño que se observó fue de 25 mm, y es el correspondiente a la cefotaxima comercial, luego le siguieron halos de 17 y 15 mm presentados por los complejos $[\text{Cu}(\text{cefo-salicil})]$ y $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$

respectivamente, y así sucesivamente hasta llegar al halo de menor tamaño (9 mm) mostrado por el complejo $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$; siendo $[\text{Ni}(\text{cefo-salicil})(\text{H}_2\text{O})_{13}]$ el único complejo que no mostró actividad antibacteriana ante dicha cepa. En este caso, es notorio que la mayor actividad antibacteriana está representada por la cefotaxima comercial en comparación a la mostrada por los complejos metálicos con ligando base de Schiff. Posiblemente, esto es el resultado de complejos con una estructura molecular más susceptible a la hidrólisis de betalactamasas de espectro expandido SHV-18 (BLEE SHV-18) presentes en esta cepa.

Por otra parte, en la cepa de *P. aeruginosa* se pudo comprobar, una vez más, la elevada actividad del complejo $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ con respecto a la cefotaxima comercial, ya que el halo de inhibición arrojado por éste complejo es de 27 mm, marcando 9 mm de diferencia en comparación a la respuesta obtenida por parte del taxo preparado con el antibiótico en estudio; sin embargo complejos como $[\text{Cu}(\text{cefo-salicil})]$ y $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ a pesar de que no superan el halo de inhibición mostrado por la cefotaxima comercial, la diferencia que los separa es 2 mm (figura 31). El resto de los complejos mostraron una menor actividad antibacteriana frente a dicha cepa en comparación con los complejos anteriormente mencionados.

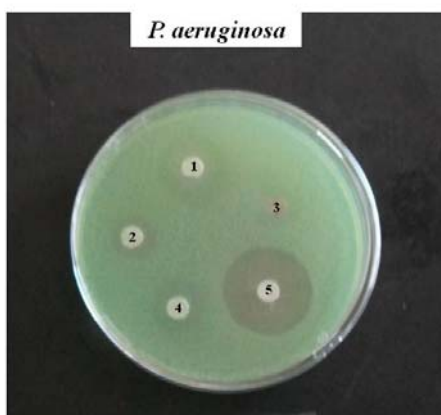


Figura 31. Halos de inhibición de la cefotaxima comercial (1), complejo $[\text{Cu}_4(\text{cefosalicil})(\text{OH})_6]$ (2), complejo $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicil})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ (3), complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ (4) y el complejo $[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ (5) ante la cepa *P. aeruginosa* (ATCC 27853).

Es importante resaltar que la cepa de *P. aeruginosa* presenta resistencia natural a las cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación (cefotaxima y ceftriaxone), debido a su propiedad de producir enzimas (betalactamasas tipo AmpC) que degradan el anillo betalactámico, característico de estos antibióticos, inactivando su mecanismo de acción (15). Luego de obtener los resultados presentados se puede afirmar que el complejo [Zn(cefo-salicil)] sintetizado reporta una respuesta satisfactoria, ya que muestra una mayor actividad en contra del ataque de las enzimas betalactamasas de estas bacterias en comparación con la cefotaxima comercial.

En la tabla 9 se pueden apreciar los resultados obtenidos para la prueba de sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones. Inicialmente se observó que la cefotaxima comercial presentó actividad antibacteriana hasta la concentración de 25 µg/disco frente a las cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* y *K. pneumoniae*, mientras que la cepa de *P. aeruginosa* se mantuvo inhibida hasta una concentración de 100 µg/disco.

El complejo [Co(cefo-salicil)] logró tener actividad antibacteriana ante las cepas de *S. aureus* y *E. coli* (figura 32) hasta la concentración de 25 µg/disco. Sin embargo, en la cepa de *P. aeruginosa* la mínima concentración de éste complejo que pudo inhibir el crecimiento bacteriano fue de 100 µg/disco, seguido de 200 µg/disco para las cepas de *S. epidermidis* y *K. pneumoniae* (figura 33). En este caso, los resultados obtenidos muestran que la actividad antibacteriana de la cefotaxima comercial a diferentes concentraciones es mayor a la evidenciada por las distintas concentraciones del complejo [Co(cefo-salicil)].

El complejo [Ni(cefo-salicil)(H₂O)₁₃] hasta la concentración de 50 µg/disco demostró actividad en las cepas de *S. epidermidis* y *E. coli* (figura 34); mientras que, en la cepa de *S. aureus* se pudieron evidenciar halos de inhibición hasta una concentración de 100 µg/disco. De manera general, éste complejo fue el de menor acción antibacteriana al no presentar actividad frente a las cepas de *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*.

Tabla 9. Halos de inhibición en mm de la cefotaxima y complejos metálicos con ligando base de Schiff sintetizados utilizando discos a diferentes concentraciones frente a las especies bacteriana ensayadas.

| Complejos | $\mu\text{g}/\text{disco}$ | <i>S. aureus</i> | <i>S. epidermidis</i> | <i>E. coli</i> | <i>K. pneumoniae</i> | <i>P. aeruginosa</i> |
|--|----------------------------|------------------|-----------------------|----------------|----------------------|----------------------|
| Cefotaxima | 400 | 38 | 38 | 34 | 25 | 18 |
| | 200 | 35 | 35 | 33 | 22 | 14 |
| | 100 | 33 | 30 | 32 | 21 | 12 |
| | 50 | 30 | 25 | 30 | 18 | – |
| | 25 | 28 | 23 | 29 | 16 | – |
| [Co(cefo-salicil)] | 400 | 28 | 24 | 25 | 10 | 14 |
| | 200 | 24 | 17 | 23 | 8 | 12 |
| | 100 | 19 | – | 17 | – | 10 |
| | 50 | 11 | – | 11 | – | – |
| | 25 | 10 | – | 10 | – | – |
| [Ni(cefo-salicil)(H ₂ O) ₁₃] | 400 | 22 | 20 | 20 | – | – |
| | 200 | 17 | 17 | 17 | – | – |
| | 100 | 12 | 15 | 14 | – | – |
| | 50 | – | 9 | 9 | – | – |
| | 25 | – | – | – | – | – |
| [Cu(cefo-salicil)] | 400 | 28 | 25 | 31 | 17 | 16 |
| | 200 | 25 | 24 | 29 | 9 | 15 |
| | 100 | 20 | 21 | 26 | – | 14 |
| | 50 | 15 | 13 | 23 | – | 10 |
| | 25 | 11 | – | 20 | – | – |
| [Zn(cefo-salicil)] | 400 | 36 | 40 | 39 | 13 | 27 |
| | 200 | 33 | 38 | 34 | 8 | 25 |
| | 100 | 29 | 20 | 29 | – | 18 |
| | 50 | 24 | 18 | 25 | – | 14 |
| | 25 | 16 | 13 | 20 | – | – |
| [Ag ₂ (cefo-salicil)(Ac) ₂ (H ₂ O)] | 400 | 28 | 18 | 25 | 9 | 12 |
| | 200 | 24 | 12 | 20 | – | – |
| | 100 | 21 | 12 | 17 | – | – |
| | 50 | 18 | – | 12 | – | – |
| | 25 | 10 | – | 10 | – | – |
| [Ni ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 400 | 32 | 28 | 30 | 13 | 14 |
| | 200 | 30 | 20 | 28 | 10 | – |
| | 100 | 28 | 16 | 25 | – | – |
| | 50 | 26 | – | 23 | – | – |
| | 25 | 20 | – | 18 | – | – |
| [Cu ₄ (cefo-salicil)(OH) ₆] | 400 | 30 | 26 | 30 | 14 | 13 |
| | 200 | 26 | 24 | 28 | 11 | – |
| | 100 | 22 | 22 | 25 | – | – |
| | 50 | 18 | 19 | 24 | – | – |
| | 25 | 14 | 12 | 19 | – | – |

–: sin inhibición de crecimiento.

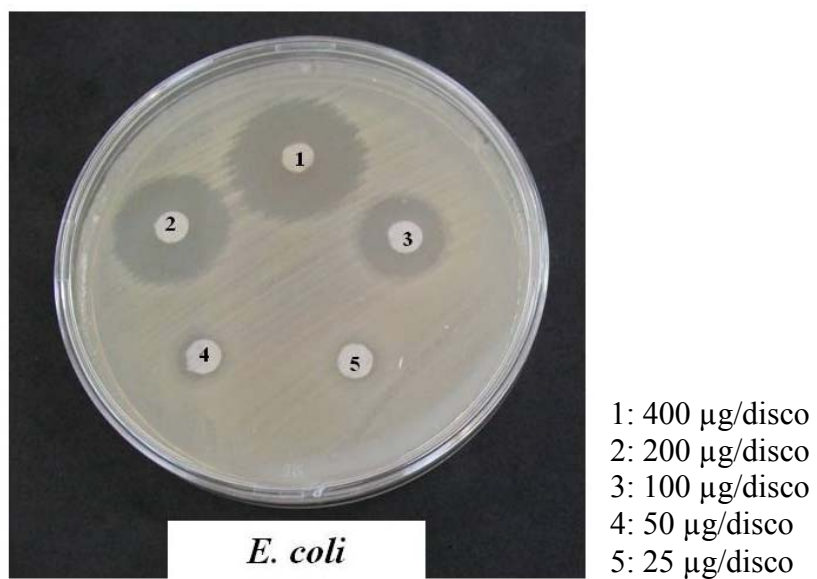


Figura 32. Halos de inhibición del complejo [Co(cefo-salicyl)] frente a la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

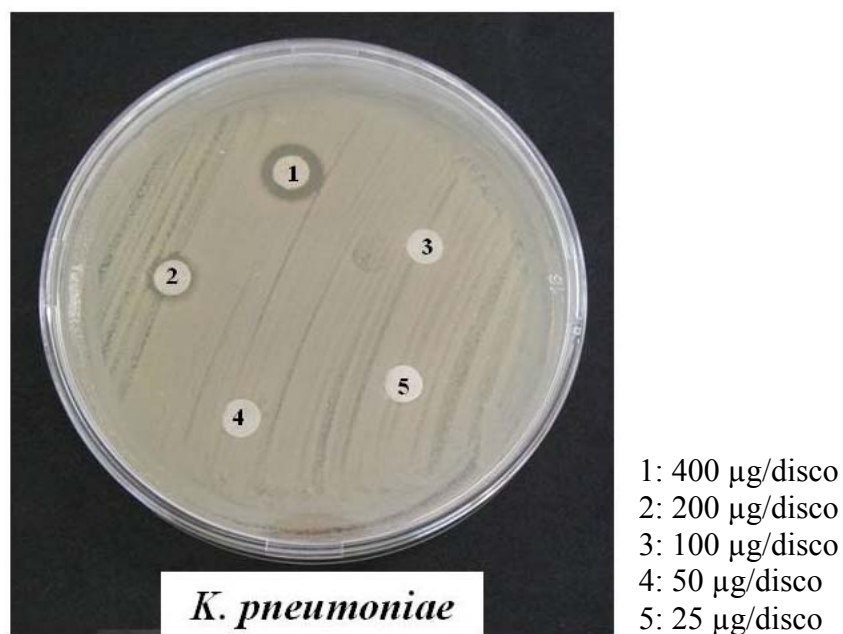


Figura 33. Halos de inhibición del complejo [Co(cefo-salicyl)] ante la cepa *K. pneumoniae* (ATCC 700603) a diferentes concentraciones.

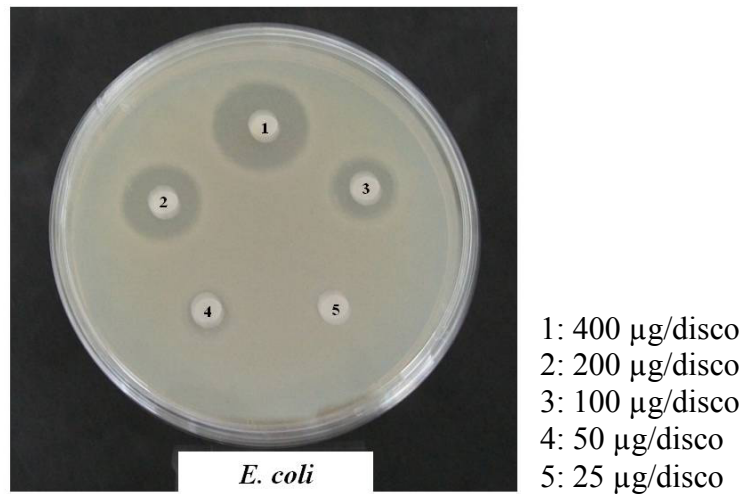


Figura 34. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ni}(\text{cefo-salicil})(\text{H}_2\text{O})_{13}]$ ante la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

El complejo $[\text{Cu}(\text{cefo-salicil})]$ ante las cepas de *S. aureus* y *E. coli* mostró actividad antibacteriana hasta una concentración de 25 µg/disco, y a una de 50 µg/disco en la cepa de *S. epidermidis*. Por otra parte, en *K. pneumoniae* se pudo evidenciar inhibición hasta una concentración de 200 µg/disco, y a una de 50 µg/disco frente a *P. aeruginosa* (figura 35). En ésta última cepa, fue donde se demostró que éste complejo a las concentraciones de 200 y 100 µg/disco presentó una mejor actividad antibacteriana en comparación con la cefotaxima comercial a esas mismas concentraciones, debido a que los halos obtenidos por dicho complejo a las concentraciones descritas superan por 1 y 2 mm respectivamente a los halos mostrados por el antibiótico.

$[\text{Zn}(\text{cefo-salicil})]$ fue el único complejo que presentó una elevada actividad antibacteriana a una concentración de hasta 200 µg/disco frente a las cepas de *S. epidermidis* (figura 36) y *E. coli* (figura 37), y hasta 50 µg/disco en la cepa de *P. aeruginosa* (figura 38), en comparación a la actividad mostrada por la cefotaxima comercial a esas concentraciones en dichas cepas. A pesar de que éste complejo inhibió el crecimiento de *S. aureus* a una concentración mínima de 25 µg/disco, no mejoró la actividad evidenciada por el antibiótico en estudio frente a ésta cepa; de igual modo,

ocurrió en la cepa de *K. pneumoniae* (figura 39), con la diferencia de que el complejo alcanzó inhibir el crecimiento bacteriano a una concentración de 200 µg/disco.

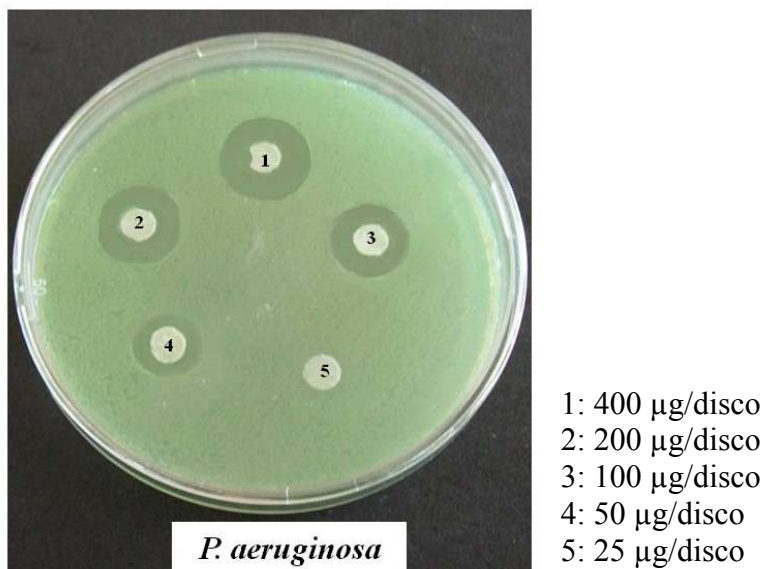


Figura 35. Halos de inhibición del complejo [Cu(cefo-salicyl)] frente a la cepa *P. aeruginosa* (ATCC 27853) a diferentes concentraciones.

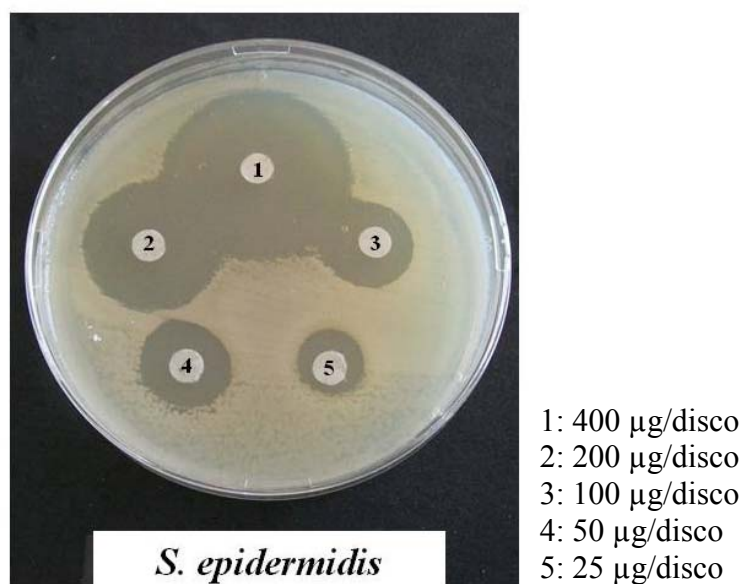


Figura 36. Halos de inhibición del complejo [Zn(cefo-salicyl)] frente a la cepa *S. epidermidis* (ATCC 14990) a diferentes concentraciones.

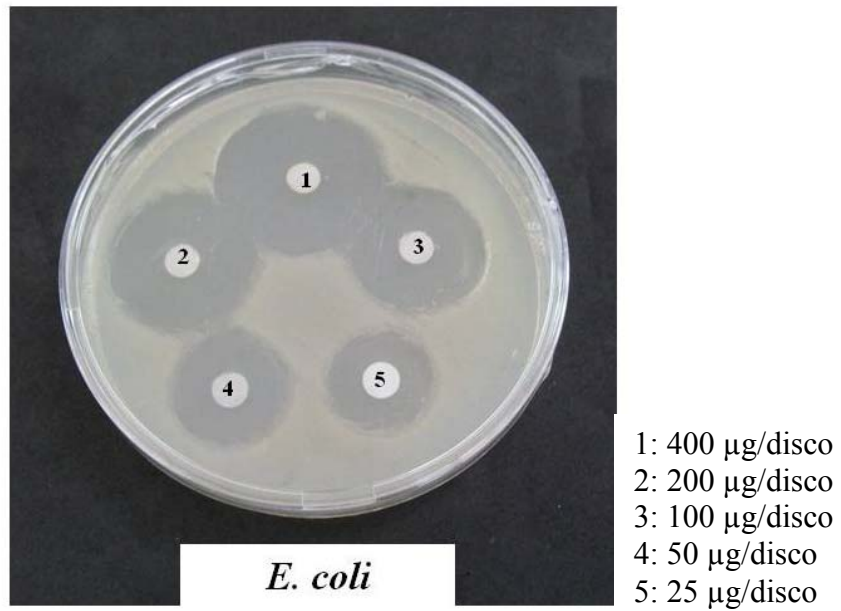


Figura 37. Halos de inhibición del complejo [Zn(cefo-salicil)] ante la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

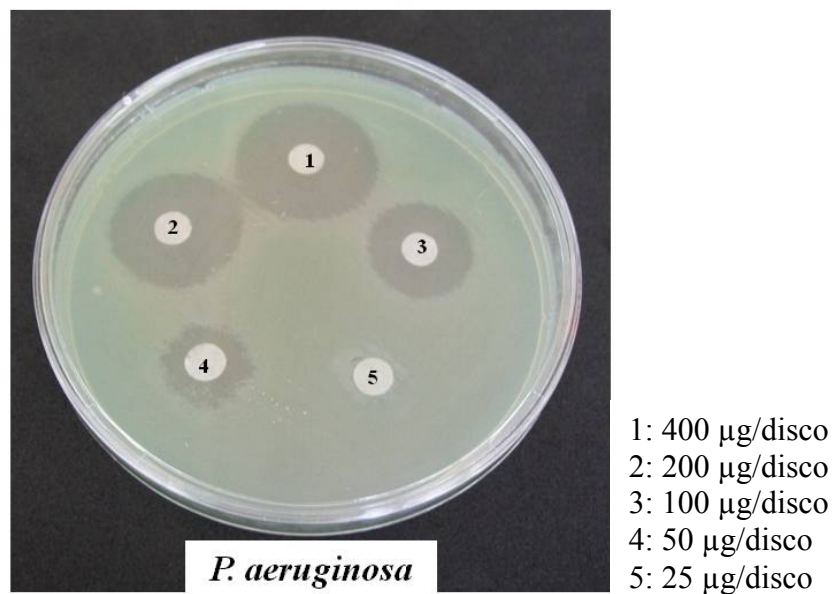


Figura 38. Halos de inhibición del complejo [Zn(cefo-salicil)] frente a la cepa *P. aeruginosa* (ATCC 27853) a diferentes concentraciones.

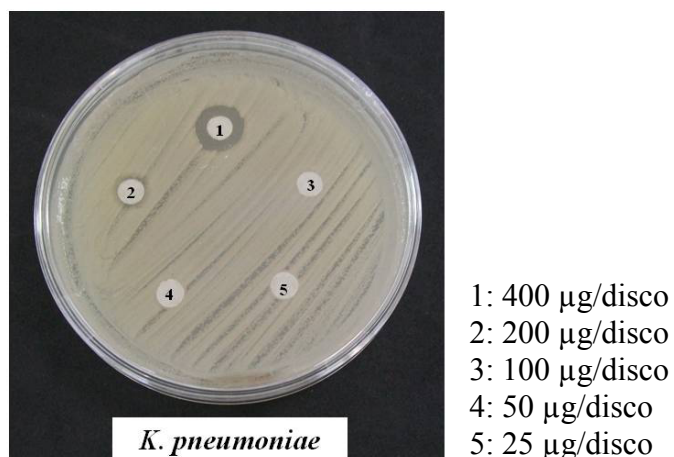


Figura 39. Halos de inhibición del complejo [Zn(cefo-salicil)] ante la cepa *K. pneumoniae* (ATCC 700603) a diferentes concentraciones.

El complejo [Ag₂(cefo-salicil)(Ac)₂(H₂O)] manifestó inhibición bacteriana a una concentración de 25 µg/disco ante las cepas de *S. aureus* (figura 40) y *E. coli* (figura 41). En cuanto a la cepa de *S. epidermidis* éste complejo mostró actividad hasta la concentración de 100 µg/disco; sin embargo, en las cepas de *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* sólo logró tener actividad antibacteriana a una concentración de 400 µg/disco. Aunque dicho complejo mantuvo actividad, ésta no supero a la mostrada por la cefotaxima comercial.

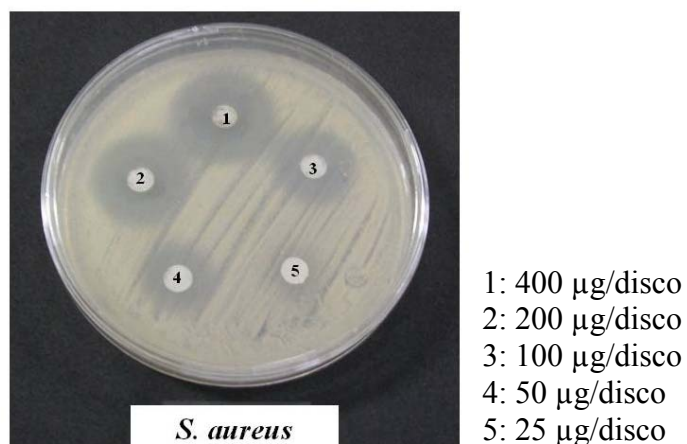


Figura 40. Halos de inhibición del complejo [Ag₂(cefo-salicil)(Ac)₂(H₂O)] frente a la cepa *S. aureus* (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.

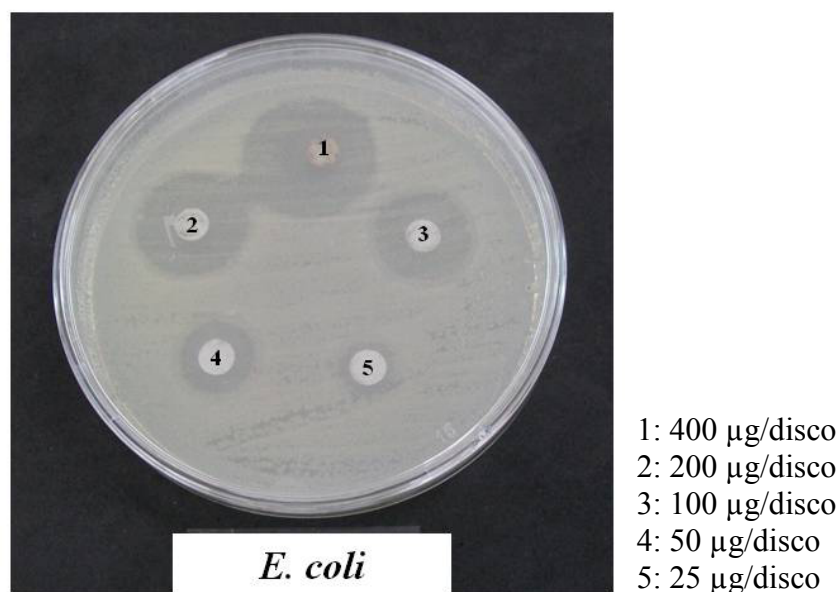


Figura 41. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ag}_2(\text{cefo-salicyl})(\text{Ac})_2(\text{H}_2\text{O})]$ ante la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

$[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$ presentó una mejor actividad antibacteriana en comparación con $[\text{Ni}(\text{cefo-salicyl})(\text{H}_2\text{O})_{13}]$, debido a que éste complejo arrojó halos de inhibición hasta una concentración de 25 µg/disco en las cepas de *S. aureus* (figura 42) y *E. coli* (figura 43); a pesar de que los halos de inhibición obtenidos en la cepa de *S. epidermidis* utilizando $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$ son de mayor tamaño que los producidos por $[\text{Ni}(\text{cefo-salicyl})(\text{H}_2\text{O})_{13}]$, dicho complejo sólo logró tener actividad hasta una concentración de 50 µg/disco. Además $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$ mostró actividad antibacteriana a una concentración de 200 µg/disco y 400 µg/disco frente a las cepas de *K. pneumoniae* (figura 44) y *P. aeruginosa* (figura 45) respectivamente. Como se observó con anterioridad, $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$ presenta una mejor acción antibacteriana que $[\text{Ni}(\text{cefo-salicyl})(\text{H}_2\text{O})_{13}]$, aunque ambos compuestos presenten casi la misma masa molecular, posiblemente esto puede ser el producto de una estructura molecular que protege al anillo betalactámico del complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$ de la acción de las betalactamasas. Éste complejo al igual que $[\text{Ni}(\text{cefo-salicyl})(\text{H}_2\text{O})_{13}]$ no superó la actividad antibacteriana evidenciada por la cefotaxima comercial.

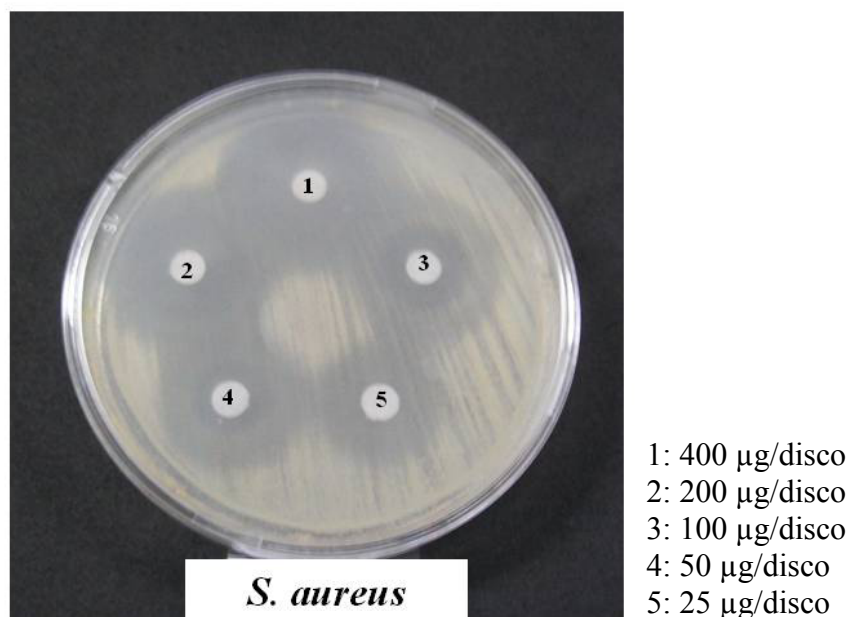


Figura 42. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$ ante la cepa *S. aureus* (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.

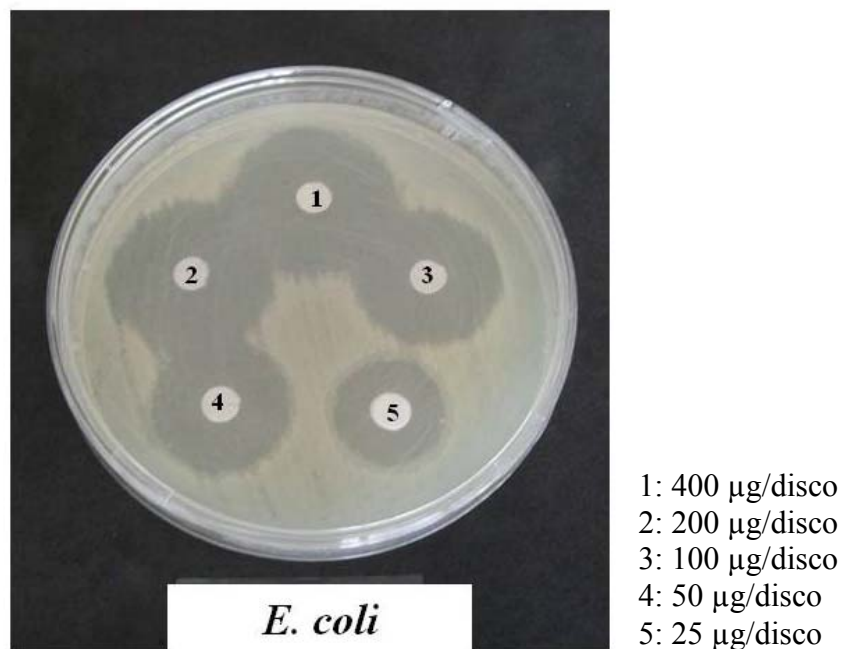


Figura 43. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$ frente a la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

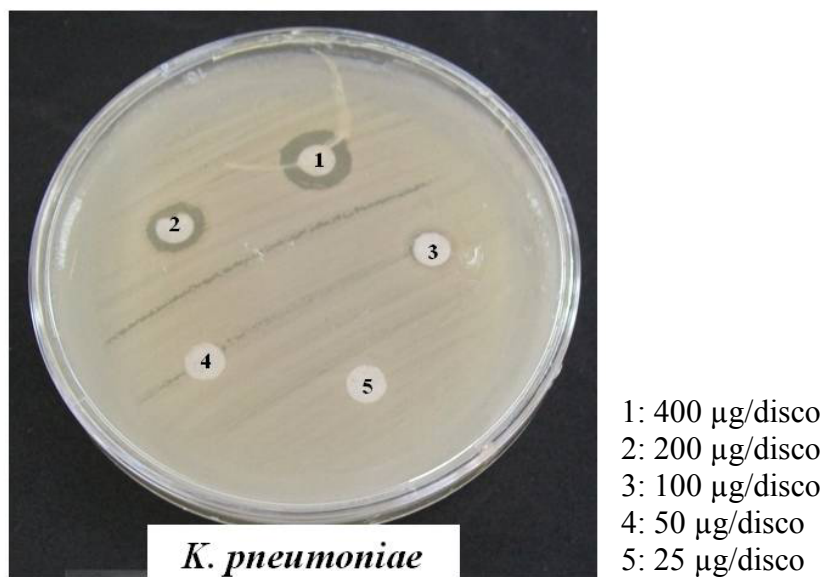


Figura 44. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$ ante la cepa *K. pneumoniae* (ATCC 700603) a diferentes concentraciones.

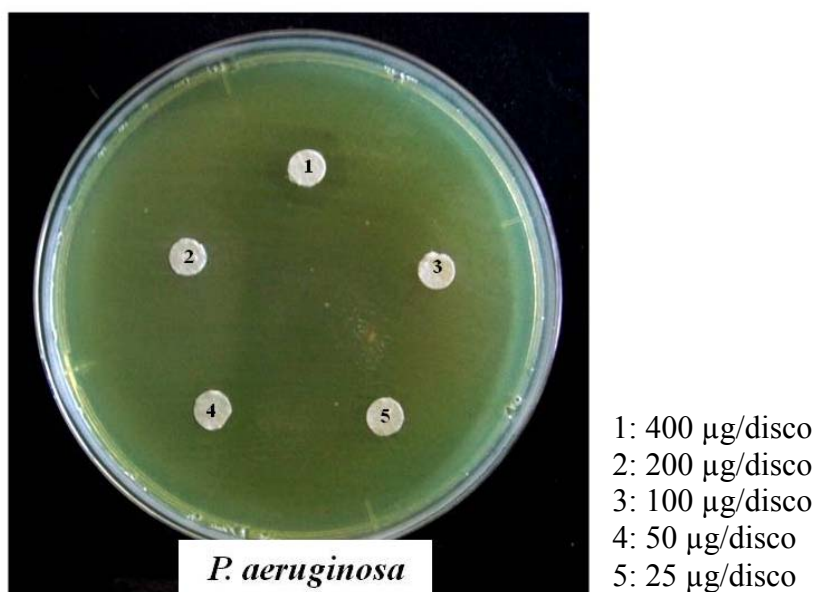


Figura 45. Halos de inhibición del complejo $[\text{Ni}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$ frente a la cepa *P. aeruginosa* (ATCC 27853) a diferentes concentraciones.

Por último, se tiene que $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ produjo halos de inhibición hasta una concentración 25 $\mu\text{g}/\text{disco}$ en las cepas de *S. aureus* (figura 46), *S. epidermidis* (figura 47) y *E. coli* (figura 48). En cuanto a la concentración mínima necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano en la cepa de *K. pneumoniae* fue de 200 $\mu\text{g}/\text{disco}$ y de 400 $\mu\text{g}/\text{disco}$ en la cepa de *P. aeruginosa*. A pesar de que la actividad antibacteriana de éste complejo es muy similar a la de $[\text{Cu}(\text{cefo-salicil})]$ ante las cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* y *K. pneumoniae*, difiere en la de *P. aeruginosa*, lo cual, posiblemente, sea el resultado de que el complejo $[\text{Cu}(\text{cefo-salicil})]$ presente una estructura de un menor tamaño molecular que facilite su paso a través de la membrana bacteriana o posee una estructura que protege al anillo betalactámico de la acción de las betalactamasas. Al igual que el complejo anterior, no se logró superar la acción antibacteriana del antibiótico en estudio.

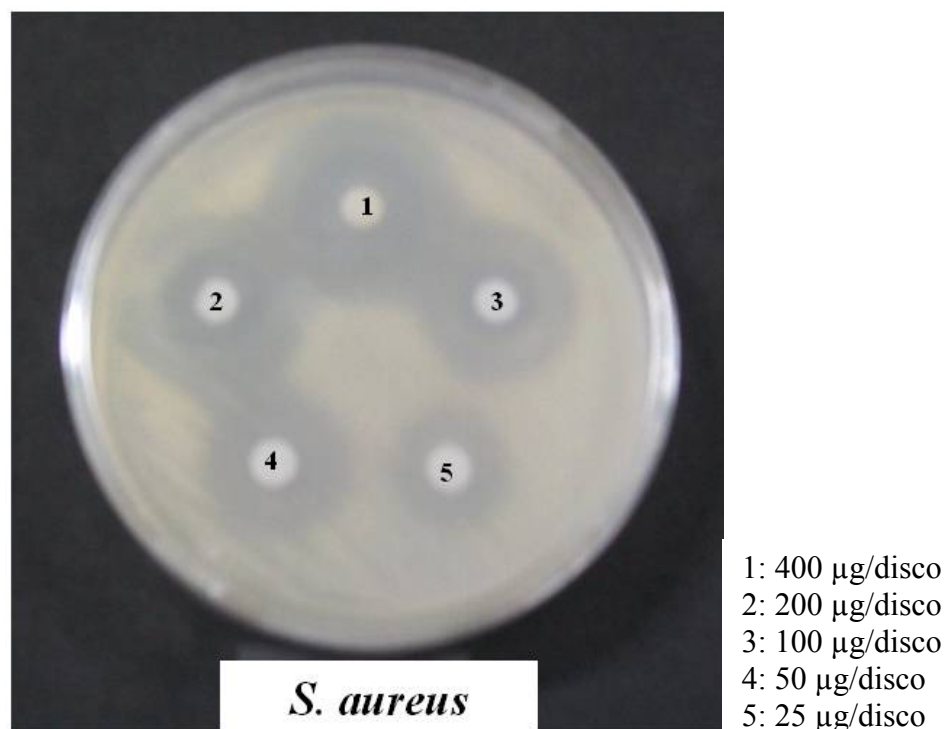


Figura 46. Halos de inhibición del complejo $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicil})(\text{OH})_6]$ ante la cepa *S. aureus* (ATCC 25923) a diferentes concentraciones.

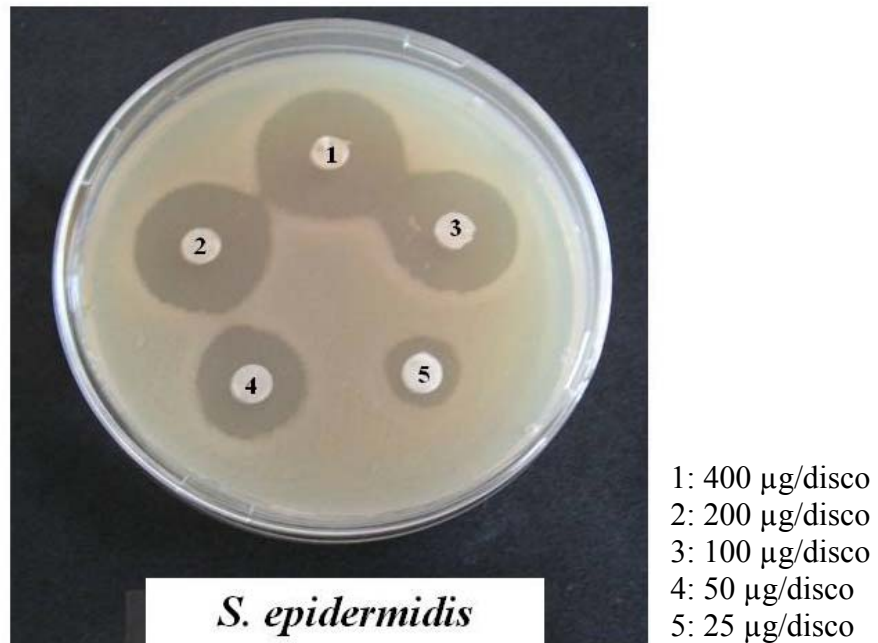


Figura 47. Halos de inhibición del complejo $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$ frente a la cepa *S. epidermidis* (ATCC 14990) a diferentes concentraciones.

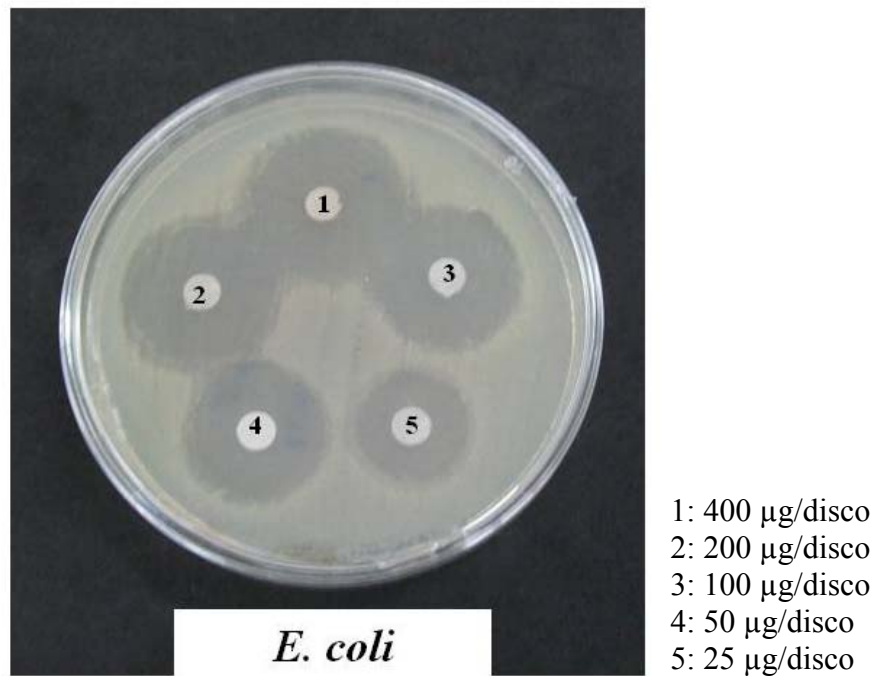


Figura 48. Halos de inhibición del complejo $[\text{Cu}_4(\text{cefo-salicyl})(\text{OH})_6]$ ante la cepa *E. coli* (ATCC 25922) a diferentes concentraciones.

Es importante resaltar que el complejo [Zn(cefo-salicil)] frente algunas de las cepas utilizadas fue el que presentó una mayor actividad antibacteriana con respecto a la cefotaxima comercial y el resto de los complejos metálicos con ligando base de Schiff sintetizados. Por tal motivo se puede afirmar que la base de Schiff en dicho complejo se desempeñó en la reacción como un modelo cefalo-amino que aportó sitios activos para el ión metálico (Zn^{2+}) y a su vez estabilizó el complejo sintetizado brindándole un óptimo mecanismo de acción.

A pesar de que la base de Schiff en el complejo [Zn(cefo-salicil)] consiguió mejorar la acción de la cefotaxima, en los complejos restantes pudo disminuirla al hacer de ellos moléculas de un mayor tamaño que la del antibiótico por sí sólo, lo cual disminuye la velocidad de difusión y altera el mecanismo de transporte activo de éstos compuestos a través de la membrana bacteriana (64). Otro factor que pudo disminuir la eficacia de la actividad antimicrobiana de los compuestos sintetizados, fue el hecho de que todos éstos fueron insolubles en solventes orgánicos e inorgánicos comunes, por lo que se hizo necesario su disolución en DMSO, el cual, pudo haber disminuido la difusión en las concentraciones y proporciones adecuadas de los complejos sobre la superficie del agar (51).

CONCLUSIONES

Se obtuvieron los complejos [Co(cefo-salicil)], [Ni(cefo-salicil)(H₂O)₁₃], [Cu(cefo-salicil)], [Zn(cefo-salicil)], [Ag₂(cefo-salicil)(Ac)₂(H₂O)], [Ni₄(cefo-salicil)(OH)₆] y [Cu₄(cefo-salicil)(OH)₆], a través de la reacción de la base de Schiff [H₂(cefo-salicil)] con metales de la primera serie de transición. Dicha base Schiff se obtuvo al hacer reaccionar la cefotaxima comercial con salicilaldehído.

La base de Schiff y los complejos fueron caracterizados mediante análisis elemental, análisis térmico del contenido de metal, susceptibilidad magnética, espectroscopía UV-Visible, espectroscopía infrarroja, espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica y medidas de conductividad molar; lo cual, permitió sugerir en base a su comportamiento espectroscópico y fisicoquímico que la base Schiff en los complejos mononucleares actúa como un ligando hexadentado dianiónico, confiriéndole a dichos complejos una posible estructura octaédrica.

La actividad antibacteriana de los compuestos sintetizados se pudo medir utilizando la técnica de difusión en agar y sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones.

La técnica de difusión en agar evidenció que, todos los complejos metálicos sintetizados mostraron actividad antibacteriana frente a las cepas ensayadas, y en el caso de [Zn(cefo-salicil)] la actividad fue mayor a la manifestada por la cefotaxima comercial sobre las cepa *S. epidermidis* (ATCC 14990), *E. coli* (ATCC 25922) y *P. aeruginosa* (ATCC 27853).

Utilizando la prueba de sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones se determinó que [Zn(cefo-salicil)] superó la actividad de la cefotaxima hasta la concentración de 200 µg/disco ante la cepa *S. epidermidis* (ATCC 14990), a 400 µg/disco en *E. coli* (ATCC 25922) y hasta 50 µg/disco frente a la cepa *P. aeruginosa*

(ATCC 27853). Por otra parte, el complejo [Cu(cefo-salicil)] superó la acción de la cefotaxima comercial a las concentraciones de 200 y 100 $\mu\text{g}/\text{disco}$ frente a la cepa *P. aeruginosa* (ATCC 27853).

[Zn(cefo-salicil)], fue el complejo que mayor actividad antibacteriana presentó ante las cepas ensayadas en comparación con el cefotaxima comercial y el resto de los complejos metálicos con ligando base de Schiff sintetizados, siendo [Ni(cefo-salicil)(H₂O)₁₃] el complejo de menor acción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jawetz, E.; Melnick, J. y Adelberg, E. 1992. *Microbiología médica*. Décima cuarta edición. Editorial El Manual Moderno. México.
2. Wall, S. 1998. “Resistencia a los antibióticos”. “Novedades”. <http://www.Medsch.Educ/clinsci/ameg.htm> (26/05/05).
3. Joklik, W.; Willett, H.; Amos, B. y Wilfert, C. 1995. *Microbiología Zinsser*. Veinteava edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina.
4. Sollet, L. 1998. “Antibióticos y cefalosporinas de tercera generación”. “Fármacos”. <http://www.Sanitas.cedimcat.com/imas/antimic/index> (18/03/02).
5. Lansing, P.; Harley, J. y Donald, K. 2004. *Microbiología*. Quinta edición. Editorial McGraw Hill Interamericana. España.
6. Goodman, A.; Rall, T.; Nies, A. y Taylor, P. 1991. Las bases farmacológicas de la terapéutica. En: *Agentes antimicrobianos*. Sande, M. (ed). Octava edición. Editorial Médica Panamericana, Argentina. Págs. 1050-1062.
7. Davis, B. y Dulbecco, R. 1985. *Tratado de microbiología*. Tercera edición. Salvat Editores, S.A. España.
8. Sanders, C. 1992. Betalactamasas de bacterias Gram negativas: Nuevos desafíos para nuevas drogas. *Clin. Infect. Dis.*, 14: 1089-1099.
9. 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.
10. Adu, A. y Armour, L. 1995. Drug utilization review (DUR) of third generation cephalosporins. *Drugs*, 50: 423-439.

11. Zemelman, R.; Bello, H.; Domínguez, M.; González, G.; Mella, S. y Gracia, A. 1993. Activity of imipenem. Third-generation cephalosporins, aztreonam, and ciprofloxacin against multi-resistant Gram negative bacilli isolated from Chilean hospitals. *J. Antim. Chem.*, 32: 413-419.
12. Iañes, E. 1996. "Agentes microbianos y microorganismos". "Microbiología". <<http://www.edu.Micro.Usal.Es/mg2F96/tema20.html>> (09/08/04).
13. López, F. y Garrido, J. 1989. Química y relación estructura-actividad de los antibióticos cefalosporínicos. *Rev. Col. Quim. Farm.*, 41: 5-14.
14. Klein, N. y Cunha, B. 1995. Cefalosporinas de tercera generación. *Clin. Med. Nort. Am.*, 79: 693-707.
15. Rivas, K.; Rivas, M.; Dávila, E. y Rodríguez, M. 2002. Cefalosporinas de la primera generación a la cuarta generación. *Rev. Fac. Med.*, 25: 142-153.
16. Barradel, L. y Bryson, H. 1994. Cefepime. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic. *Use. Drugs*, 47: 471-505.
17. Pitout, J.; Sanders, C. y Sanders, W. 1997. Antimicrobial resistance with focus on β -lactam resistance in Gram negative bacilli. *Am. J. Med.*, 103: 51-59.
18. Summers, A. 1993. Antimicrobial agents and chemotherapy. *Mundo científico*, 197(1): 51-52.
19. Pfizer, R. 2000. "Cefalosporinas de tercera generación". "Biociencias". <<http://bus.sld.cu/sint/voll-2-95/5295.htm>> (13/02/02).
20. Bal, C. 1999. Increasing antimicrobial resistance in STDs and the need for surveillance: *Neisseria gonorrhoeae* as a model. *Inmunol. Med. Microbiol.*, 24(4): 447-453.

21. Ambler, R.; Coulson, A.; Frère, J.; Ghuysen, J.; Joris, B.; Forsman, M. *et al.* 1991. A standard numbering scheme for the class a β -lactamases. *Biochem. J.*, 276: 269-272.
22. Ambler, R. 1980. The structure of beta-lactamases. *Philos. Trans. Soc. Lond., Serie B. Biological. Scs.*, 289: 321-331.
23. Bush, K.; Jacoby, G. y Medeiros, A. 1995. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, 39: 1211-1233.
24. Bush, K. 1988. Betalactamase inhibitors from laboratory to clinic. *Rev. Clin. Microbiol.*, 1: 109-123.
25. Jones, R. 1998. Important and emerging β -lactamase mediated resistances in hospital-based pathogens: the Amp. C enzymes. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 31: 461-466.
26. Davies, V. "Antibióticos y bacterias Libran batalla del bien contra el mal". El Nacional, 5 de febrero de 2006. Pág. B/19.
27. 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.
28. Daza, R. 1998. Información terapéutica del sistema nacional de salud. *Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria*, 22: 58-59.
29. Silva, J. 2006. Resistencia a antibióticos. *Rev. lat. Microbiol.*, 48(2): 105-112.
30. Perez, A.; Garcia, P.; Poggi, H.; Braun, S.; Castillo, C.; Ramos, J.; Lagos, M.; Romero, E.; Porte, L.; Labarca, J. y Gonzales, G. 2008. Presencia de metalo β -lactamasa en *P. aeruginosa* resistente al imipenem. *Rev. Med. Chilean*, 136: 423-432.

31. Gupta, A.; Ampolo, K.; Rubenstein, D. y Saiman, L. 2003. Extended spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* infections: a review of the literature. *J. perinatol.*, 23: 439-443.
32. Facinelli, B.; Montanari, M. y Calegari, L. 1985. Plasmid -S- pecified aminoglycoside-modifying enzymes clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Eur. J. Epidemiol.*, 1: 48-53.
33. Fajardo, A.; Colombet, M.; Verde, J. y Nivanda, Z. 2000. Resistencia antimicrobiana de bacterias Gram negativas en la UCI. *Med. Crit. Venez.*, 16: 22-25.
34. Madigan, M.; Martinko, J. y Parker, J. 2000. *Brock. Biología de los microorganismos*. Octava edición. Prentice Hall Hispanoamérica, S.A. Madrid, España.
35. Garcia, F. 2001. Resistencia antibacteriana a antibióticos. *Act. Med. Cost.*, 43:101-102.
36. Caron, W. y Mousa, S. 2010. Prevention strategies for antimicrobial resistance: a systematic review of the literature. *Infect. Drug Resist.*, 3: 25-33.
37. Balant, L.; Dayer, P. y Auckenthaler, R. 1985. Clinical pharmacokinetics of the third generation cephalosporins. *Clin. Pharmacol.*, 10: 101-143.
38. Anacona, J. y Álvarez, P. 2002. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of cefazolin. *Trans. Metal Chem.*, 27: 856-860.
39. Anacona, J. y Serrano, J. 2003. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of cephalothin. *J. Coord. Chem.*, 56: 313-320.

40. Anacona, J. y Rodríguez, I. 2004. Synthesis and antibacterial activity of cephalixin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 57: 1263-1269.
41. Anacona, J. y Gil, C. 2005. Synthesis and antibacterial activity of cefoxitin metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 30: 605-609.
42. Anacona, J. y Rodríguez, A. 2005. Synthesis and antibacterial activity of ceftriaxone metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 30: 897-901.
43. Anacona, J. y Estacio, J. 2006. Synthesis and antibacterial activity of cefixime metal complexes. *Trans. Metal Chem.*, 31: 227-231.
44. Stryer, L. 1992. *Biochemistry*. Tercera edición. W. H. Freeman. New York.
45. Zayed, M. y Abdullah, S. 2005. Structure investigation of amoxicillin using mass spectrometry, thermal analysis and M-O calculation. *Spectrochem.*, 61: 2231-2238.
46. Petri, W. 2003. Antimicrobianos: penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos. En: *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Goodman, A.; Hardman, J. y Limbird, L. (eds). McGraw-Hill Interamericana. México D.F.
47. Anacona, J. 2001. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of beta-lactamic antibiotics. *J. Coord. Chem.*, 54: 355-365.
48. Bravo, A. y Anacona, J. 1998. Synthesis and characterization of metal complexes with ampicillin. *J. Coord. Chem.*, 44: 173-182.
49. Anacona, J. y Figueroa, E. 1999. Synthesis and characterization of metal complexes penicillin. *J. Coord. Chem.*, 48: 181-189.
50. Barrios, V. 2011. Actividad antibacteriana de compuestos metálicos con una base de Schiff que contiene cefadroxilo y salicilaldehído. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.
51. Marpa, D. 2011. Actividad antibacteriana de complejos base de Schiff que contienen amoxicilina y salicilaldehído. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

52. Collinsom, S. y Fenton, E. 1996. Metal complexes of bibracchial Schiff base macrocycles. *Coord. Chem. Rev.*, 148: 19-40.
53. Pass, G. y Sutcliffe, H. 1979. *Practical inorganic chemistry*. Segunda edición. Chapman and Hall. London.
54. Skoog, D.; Holler, J. y Nieman, T. 2001. *Principios de análisis instrumental*. Quinta edición. Editorial McGraw Hill. Madrid.
55. Drago, R. 1965. *Physical methods in inorganic chemistry*. Editorial Reinhold Chemistry Textbook Series. U.S.A.
56. Liu, D. y Kwasniewska, K. 1981. An improved agar plate method for rapid assessment of chemical inhibition to microbial populations. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 29: 289-292.
57. Lynch, M.; Rápale, S.; Mello, L.; Spare, P. y Imwood, M. 1980. *Métodos de laboratorio 2*. Segunda edición. Nueva Editorial Interamericana. México.
58. Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P. y Winn, W. 2004. *Diagnóstico microbiológico*. Quinta edición. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires.
59. Angelici, J. 1979. *Técnicas y síntesis en química inorgánica*. Segunda edición. Editorial Reverte, S.A. Barcelona, España.
60. Mehan, E.; Elving, P. y Kolthoff, I. 1981. *Treatise on analytical chemistry*. Segunda edición. Editorial Interscience Encyclopedia. New York.
61. Silverstein, A.; Robert, M.; Clayton, G. y Morrill, T. 1981. *Identificación espectrométrica de compuestos orgánicos*. Segunda edición. Editorial Diana. México.
62. Nakamoto, K. 1986. *Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds*. Cuarta edición. Wiley, New York.

63. Geary, J. 1971. The use conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. *Coord. Chem. Rev.*, 7: 81.
64. Pla, M. 1990. Mecanismos de acción de los agentes antimicrobianos. *Act. Infectol.*, 1: 2-3.

HOJAS DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

| | |
|------------------|--|
| Título | SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPLEJOS BASE DE SCHIFF QUE CONTIENEN CEFOTAXIMA Y SALICILALDEHÍDO |
| Subtítulo | |

Autor(es)

| Apellidos y Nombres | Código CVLAC / e-mail | |
|----------------------------|------------------------------|--|
| CALVO, JOHAN | CVLAC | 19.092.427 |
| | e-mail | Johan_calvo@hotmail.com |
| | e-mail | |
| | CVLAC | |
| | e-mail | |
| | e-mail | |
| | CVLAC | |
| | e-mail | |
| | e-mail | |
| | CVLAC | |
| | e-mail | |
| | e-mail | |

Palabras o frases claves:

| |
|---------------------|
| Bases de Schiff |
| Complejos metálicos |
| Cefotaxima |

Líneas y sublíneas de investigación:

| Área | Subárea |
|----------|-------------|
| Ciencias | Bioanálisis |
| | |
| | |

Resumen (abstract):

Se sintetizó la base de Schiff [H₂(cefo-salicil)] mediante la reacción entre la cefotaxima sódica comercial y salicilaldehído. La base se hizo reaccionar con metales de la primera serie de transición para obtener los complejos mononucleares [Co(cefo-salicil)], [Ni(cefo-salicil)(H₂O)₁₃], [Cu(cefo-salicil)], [Zn(cefo-salicil)], y polinucleares [Ag₂(cefo-salicil)(Ac)₂(H₂O)], [Ni₄(cefo-salicil)(OH)₆] y [Cu₄(cefo-salicil)(OH)₆]. La caracterización de los complejos se realizó utilizando técnicas de espectroscopía infrarroja, espectroscopía UV-Visible, espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica, medidas de conductividad molar, susceptibilidad magnética, análisis elemental y análisis térmico del contenido de metal. La actividad antibacteriana de los compuestos sintetizados fue ensayada frente a las cepas certificadas *S. aureus* (ATCC 25923), *S. epidermidis* (ATCC 14990), *E. coli* (ATCC 25922), *K. pneumoniae* (ATCC 700603) y *P. aeruginosa* (ATCC 27853), utilizando las técnicas de difusión en agar y sensibilidad por difusión en agar a diferentes concentraciones. El complejo [Zn(cefo-salicil)] superó la acción del antibiótico comercial en algunas de sus concentraciones ante las cepas *S. epidermidis* (ATCC 14990), *E. coli* (ATCC 25922) y *P. aeruginosa* (ATCC 27853). Por otra parte, el complejo [Cu(cefo-salicil)] a las concentraciones de 200 y 100 µg/disco tuvo mayor eficacia frente a la cepa de *P. aeruginosa* (ATCC 27853) en comparación con la cefotaxima comercial, a pesar de que ésta última cepa puede presentar resistencia natural a las cefalosporinas.

Contribuidores:

| Apellidos y Nombres | ROL / Código CVLAC / e-mail | |
|---------------------|-----------------------------|--|
| Anacona, Juan | ROL | CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> |
| | CVLAC | 13.631.187 |
| | e-mail | juananacona@hotmail.com |
| | e-mail | |
| Brito, Liangel | ROL | CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> |
| | CVLAC | |
| | e-mail | |
| | e-mail | |
| Guzmán, Militza | ROL | CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> |
| | CVLAC | |
| | e-mail | |
| | e-mail | |

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

| | | |
|------|----|----|
| 2012 | 01 | 27 |
|------|----|----|

Lenguaje: spa

Archivo(s):

| Nombre de archivo | Tipo MIME |
|--------------------------|-------------------------|
| Tesis-CalvoJ.doc | Application/Word |

Alcance:

Espacial: Internacional (Opcional)

Temporal: Temporal (Opcional)

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

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNVELO
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009): "Los trabajos de grados son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y solo podrá ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Concejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Concejo Universitario, para su autorización".



Autor 1



Asesor