



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

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE
COMPLEJOS POLINUCLEARES DE IONES METÁLICOS A PARTIR DE
FLUCONAZOL
(Modalidad: Tesis de Grado)

GREISNALDYS DEL CARMEN RINCONES RÍOS

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

CUMANÁ, 2018

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE
COMPLEJOS POLINUCLEARES DE IONES METÁLICOS A PARTIR DE
FLUCONAZOL

APROBADO POR:

Juan Roberto Anacona, *Ph.D*
Asesor

Jurado

Jurado

INDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTO.....	ii
LISTA DE TABLAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN	v
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA.....	10
Síntesis de complejos polinucleares	10
Síntesis del complejo $[\text{Mn}_{51}\text{O}_{47}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_4(\text{H}_2\text{O})_4]$	10
Síntesis del complejo $[\text{Fe}_{32}\text{O}_{30}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_6]$	10
Síntesis del complejo $[\text{Co}_{12}\text{O}_{10}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2]$	11
Síntesis del complejo $[\text{Ni}_{13}\text{O}_{11}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_{11}]$	11
Síntesis del complejo $[\text{Cu}_{35}\text{O}_{32}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_3]$	11
Síntesis del complejo $[\text{Pd}_{11}\text{O}_4(\text{FCZ})(\text{Cl})_4]$	12
Síntesis del complejo $[\text{Ag}_{11}\text{O}_{10}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)(\text{H}_2\text{O})_2]$	12
Caracterización de los complejos polinucleares	12
Análisis elemental	12
Análisis térmico del contenido de metal	13
Determinación de metal con tiocetamida	13
Determinación de metal con dimetilglioxima	13
Análisis térmico del contenido de agua	14
Determinación de sulfato	14
Determinación de cloruro.....	14
Solubilidad	15
Espectroscopía ultravioleta visible.....	15
Espectroscopía infrarroja	15
Determinación de la susceptibilidad a los antifúngicos	15

Prueba de difusión en agar con discos de antifúngicos (antifungigrama).....	16
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
Análisis elemental	19
Análisis térmico del contenido del metal	19
Determinación analítica de los metales.....	20
Análisis térmico del contenido de agua	22
Determinación de sulfato	22
Determinación de cloruro.....	23
Solubilidad	23
Espectroscopia ultravioleta visible (UV-Visible)	23
Espectroscopía infrarroja (IR).....	29
Actividad biológica	34
CONCLUSIONES	42
BIBLIOGRAFÍA	43
HOJAS DE METADATOS.....	47

DEDICATORIA

A

Dios, por ser todo en mí en cada momento de mi vida.

Mis padres, Carmen Ríos y Reinaldo Rincones, por ser mi mayor inspiración y orgullo.

Mis hermanos, en especial a Greicyskellys Rincones, por estar siempre a disposición en cada paso, durante mi carrera universitaria. El mejor ejemplo a seguir.

Mis sobrinos (a), y a mis padrinos, Luis Silveira y Norma Mundarai, un amor incondicional.

Mi mejor amigo y compañero de vida, Daniel Jonas Gallardo, su amor genuino es infinito.

AGRADECIMIENTO

A

El profesor, Juan Roberto Anacona. Más que un profesor, una excelente persona que sólo inspira respeto y admiración. Gracias, por ser paciente, tolerante y todo aquello que sólo la sabiduría puede otorgar. Sus conocimientos y apoyo fueron mi guía para la realización de este trabajo de investigación. Salud.

Mis compañeros del laboratorio 306 del Departamento de Química, en especial a Cesar Medina, siempre a la disposición de brindar ayuda a mi persona.

El Instituto Oceanográfico de Venezuela por facilitar sus instalaciones, en la realización de algunos análisis requeridos en este trabajo.

La profesora Evis Parra, por su apoyo y asesoría, así como a las compañeras del laboratorio ECB-3, Cristina Zavala, Alexandra Ocque y Taylis Gianfrancesco por su colaboración en todo momento.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis elemental de carbono, nitrógeno y azufre en los complejos metálicos.	19
Tabla 2. Contenido de metal por análisis térmico de los complejos sintetizados.....	20
Tabla 3. Determinación analítica del metal.	21
Tabla 4. Contenido de agua en los complejos metálicos.	22
Tabla 5. Contenido de sulfato en los complejos sintetizados.	23
Tabla 6. Contenido de cloruro en los complejos sintetizados.....	23
Tabla 7. Principales transiciones ultravioleta visible del fluconazol y los complejos metálicos (nm).	25
Tabla 8. Principales frecuencias vibracionales (cm^{-1}) de los complejos sintetizados.	30
Tabla 9. Interpretación de la CMI al fluconazol por la técnica de difusión en agar.	34
Tabla 10. Actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a <i>Candida albicans</i>	35
Tabla 11. Actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a <i>Candida parapsilosis</i>	37
Tabla 12. Actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a <i>Candida tropicalis</i>	38
Tabla 13. Actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a <i>Candida krusei</i>	39
Tabla14. Concentraciones y halos de inhibición del complejo Ag frente a <i>Candida krusei</i>	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del fluconazol.	2
Figura 2. Estructuras químicas de triazoles.	2
Figura 3. Diagrama esquemático de las cinco capas de la pared celular de <i>Candida albicans</i>	4
Figura 4. Reacción de la dimetilglioxima con M^{2+} ($M^{2+} = Ni^{2+}$ y Pd^{2+}).....	21
Figura 5. Espectro ultravioleta visible del fluconazol.	25
Figura 6. Espectro ultravioleta visible del complejo $[Fe_{32}O_{30}(FCZ)(SO_4)_2(H_2O)_6]$	26
Figura 7. Espectro ultravioleta visible del complejo $[Cu_{35}O_{32}(FCZ)(SO_4)_3]$	26
Figura 8. Espectro ultravioleta visible del complejo $[Ni_{13}O_{11}(FCZ)(SO_4)_2(H_2O)_{11}]$	27
Figura 9. Espectro ultravioleta visible del complejo $[Mn_{51}O_{47}(FCZ)(SO_4)_4(H_2O)_4]$	27
Figura 10. Espectro ultravioleta visible del complejo $[Ag_{11}O_{10}(FCZ)(SO_4)(H_2O)_2]$	28
Figura 11. Espectro ultravioleta visible del complejo $[Co_{12}O_6(FCZ)(SO_4)_2]$	28
Figura 12. Espectro ultravioleta visible del complejo $[Pd_{11}O_4(FCZ)(Cl)_4]$	29
Figura 13. Espectro infrarrojo del fluconazol. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.	30
Figura 14. Espectro infrarrojo del complejo $[Fe_{32}O_{30}(FCZ)(SO_4)_2(H_2O)_6]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.	31
Figura 15. Espectro infrarrojo del complejo $[Cu_{35}O_{32}(FCZ)(SO_4)_3]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.	31
Figura 16. Espectro infrarrojo del complejo $[Ni_{13}O_{11}(FCZ)(SO_4)_2(H_2O)_{11}]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.	32
Figura 17. Espectro infrarrojo del complejo $[Mn_{51}O_{47}(FCZ)(SO_4)_4(H_2O)_4]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.	32
Figura 18. Espectro infrarrojo del complejo $[Ag_{11}O_{10}(FCZ)(SO_4)(H_2O)_2]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.	33
Figura 19. Espectro infrarrojo del complejo $[Co_{12}O_6(FCZ)(SO_4)_2]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.	33
Figura 20. Espectro infrarrojo del complejo $[Pd_{11}O_4(FCZ)(Cl)_4]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.	34
Figura 21. Actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a <i>Candida albicans</i>	36
Figura 22. Actividad antimicótica del fluconazol y la nistatina frente a <i>Candida albicans</i>	36
Figura 23. Actividad antimicótica del fluconazol y la nistatina frente a <i>Candida parapsilosis</i>	37
Figura 24. Actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a <i>Candida tropicalis</i>	39
Figura 25. Gráfica de la actividad antimicótica del complejo plata frente a <i>Candida krusei</i>	41

RESUMEN

Con el propósito de evaluar la actividad antimicótica contra *Candida albicans*, de nuevos complejos polinucleares que contienen fluconazol (FCZ), fueron sintetizados siete complejos polinucleares haciendo reaccionar FCZ de tipo comercial como ligando y sales metálicas de metales de transición. Los complejos resultantes $[\text{Fe}_{32}\text{O}_{30}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_6]$, $[\text{Cu}_{35}\text{O}_{32}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_3]$, $[\text{Ni}_{13}\text{O}_{11}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_{11}]$, $[\text{Mn}_{51}\text{O}_{47}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)(\text{H}_2\text{O})_4]$, $[\text{Ag}_{11}\text{O}_{10}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)(\text{H}_2\text{O})]$, $[\text{Co}_{10}\text{O}_{10}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2]$, y $[\text{Pd}_{11}\text{O}_4(\text{FCZ})(\text{Cl})_4]$, fueron caracterizados empleando diferentes técnicas, tales como: análisis elemental, espectroscopía infrarroja, espectroscopía ultravioleta visible y determinaciones analíticas. Empleando distintas concentraciones, se evaluó la actividad antimicótica de los compuestos sintetizados mediante la técnica de difusión en agar, frente a distintas cepas de *Candida* (C.): *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei*. Se comparó la actividad antimicótica entre dichos complejos polinucleares así como la actividad antifúngica del FCZ y de la nistatina (NIS) de tipo comercial. Frente a la cepa de *C. albicans*, los complejos de cobre, níquel, plata cobalto y paladio presentaron actividad antimicótica, a diferencia de los complejos de hierro y manganeso, los cuales no evidenciaron dicha actividad. Contra las cepas de *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*, los compuestos evidenciaron una modesta respuesta antimicótica, excepto el complejo de manganeso, el cual no obtuvo actividad antifúngica para *C. parapsilosis*, así como también los complejos de cobre y níquel no presentaron acción antifúngica para *C. tropicalis*. Contra *C. krusei*, todos los compuestos sintetizados mostraron respuesta antimicótica. Esta respuesta fue mayor en el complejo de plata, a diferencia de hierro y manganeso, los cuales no tuvieron ningún tipo de acción antifúngica. En cuando al fluconazol y la nistatina de uso comercial, esta última tuvo mejor actividad antimicótica en las cepas estudiadas, excepto contra *C. albicans*, donde dicha actividad fue menor.

INTRODUCCIÓN

La era de los antibióticos se inicia con el descubrimiento de la penicilina, obtenida a partir del hongo *Penicillium notatum*, por el científico escocés Alexander Fleming, descubrimiento que revolucionó los tratamientos médicos y la implementación de antibióticos así como antimicóticos en distintas infecciones (1).

Después de la introducción de las primeras medicaciones antimicóticas en los años cincuenta con la aparición de los polienos, como la griseofulvina, nistatina y la anfotericina B, el surgimiento de nuevos medicamentos para infecciones micóticas sistémicas ha sido muy modesto si lo comparamos con el desarrollo de los agentes antibacterianos. El posterior surgimiento de los azoles en la década de los setenta y los triazoles con su representante más importante, el fluconazol (FCZ) a partir de los años ochenta, ha permitido su uso más generalizado, entre otras razones porque coincidió con la pandemia de sida y las indicaciones terapéuticas derivadas de ésta (2). La disponibilidad en el mercado facilitó su uso, sin embargo como consecuencia de su uso tan generalizado, se ha desarrollado en levaduras como *Candida* sp. el riesgo potencial de resistencia (3).

El FCZ (Figura 1), es uno de los agentes antifúngicos más vastamente utilizados debido a su excelente farmacocinética, espectro de actividad, biodisponibilidad, baja toxicidad y falta de interacción con otros medicamentos. Un agente antifúngico ampliamente usado, por ser una droga clínica popular. El ligando fluconazol puede ser usado para construir polímeros de coordinación con diversidad estructural y propiedades interesantes y prometedoras en el tratamiento de las enfermedades causadas por infecciones de hongos y bacterias (4). Como todos los triazoles, tiene dos anillos que contienen tres átomos de nitrógeno. El anillo bencénico presenta dos átomos de flúor. Su masa molar es relativamente bajo, 306, 277 g/mol. Es una molécula polar y simétrica, lo que favorece su hidrosolubilidad. Su aspecto es de polvo blanco y cristalino, siendo una base extraordinariamente débil, pKa (3,7) y no ionizable a pH fisiológico. Su buena

solubilidad en agua le hace apto para administración endovenosa, penetrando muy bien en fluidos corporales (5). En la figura 2 se puede apreciar la estructura química de los triazoles.

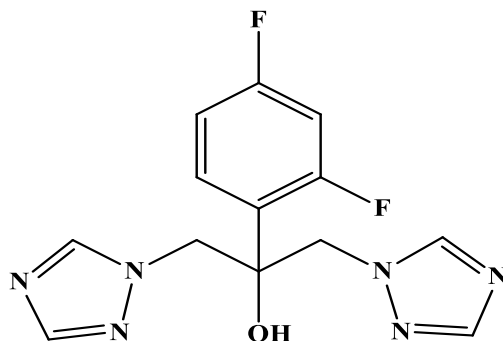


Figura 1. Estructura química del fluconazol.

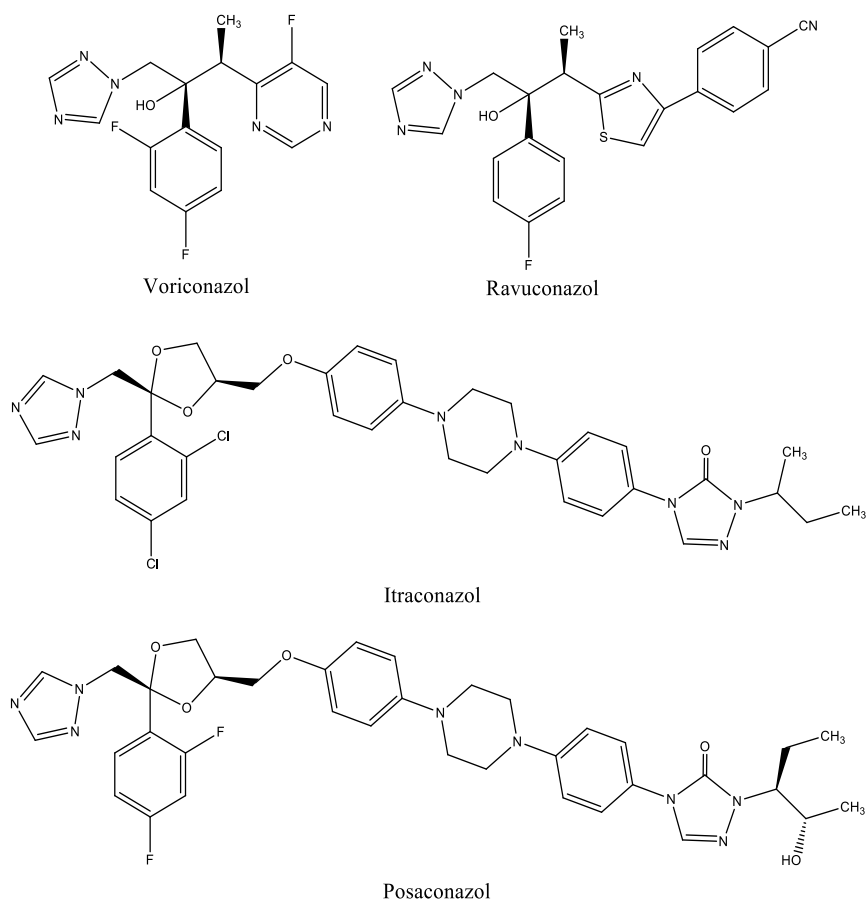


Figura 2. Estructuras químicas de triazoles.

El mecanismo de acción del fármaco, es la inhibición de la síntesis del ergosterol, al inhibir la conversión de lanosterol a ergosterol, produciendo cambios en la membrana celular del hongo. Este cambio estructural altera la permeabilidad celular y finalmente resulta en disrupción osmótica o inhibición del crecimiento de la célula fúngica. Adicionalmente, puede inhibir la síntesis de triglicéridos y fosfolípidos del hongo, así como la actividad de enzimas oxidativas y peroxidativas, lo que favorece la acumulación intracelular tóxica de peróxido de hidrógeno, que daña las organelas celulares y promueve la lisis fúngica (6).

El FCZ es considerado una droga de primera línea para el tratamiento de la candidiasis, una micosis causada por diversas especies de levaduras del género *Candida*, en donde cualquier tejido puede ser afectado, por lo que se presentan diversos cuadros clínicos, cada uno de ellos asociado directamente al estado inmunológico del paciente. Las candidosis de mucosas y piel son las más frecuentes, mientras que las sistémicas son de evolución aguda o crónica y generalmente severas. Las múltiples ventajas de dicho fármaco lo han convertido en uno de los antifúngicos más empleados en la terapia y profilaxis de la micosis (7).

Existen más de 200 especies del género *Candida* y corresponden a hongos con un modo de desarrollo predominantemente unicelular. Solamente una docena de estas especies poseen la facultad de adaptarse a una temperatura de 37°C y pueden ser ocasionalmente patógenas para el hombre, estas son entre otras: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. guilliermondi*, y *C. parapsilosis*. La especie más importante, *C. albicans*, es parte de la flora normal de las vías gastrointestinales, la mucosa bucal (31 a 55%) y vaginal (13% de mujeres), así como de la piel de individuos sanos (25 a 50%) (8). Vive en equilibrio con otros microorganismos del cuerpo humano, y coexiste como comensal, pero cuando este equilibrio se pierde son oportunistas y se convierten en patógenos como consecuencia de cambios fisiológicos de la flora normal (9). En forma de levadura *Candida albicans* presenta un aspecto de células redondas u ovaladas, de 3-8 micras de tamaño, agrupadas en pequeños grupos, mientras que, en forma de hongo filamentoso,

las células se alargan y se diversifican tomando la apariencia de filamentos, pseudohifas o pseudomicelio (10). Este dimorfismo le permite evadir los mecanismos de defensa relacionados con la inmunidad celular del huésped. En forma de levadura se comporta como saprófita, conviviendo en simbiosis con el huésped, mientras que, en forma de hongo filamentos, se comporta como un parásito patógeno produciendo síntomas en el huésped. Se reproducen asexualmente por un proceso específico de división celular conocido como gemación (11).

La composición química de *C. albicans* está representada por un 20-40% de proteínas y 30-50% de polisacáridos, mientras que la proporción de lípidos es variable. La fracción lipídica va a depender de la cepa, edad del cultivo, condiciones ambientales y del origen de la fuente de carbono. La pared celular está constituida por β -(1,3)-d-glucano (40 a 50%), manano (20%), quitina (10 a 20%), proteínas (3 a 6%) y lípidos (1 a 5%). El número de capas y su morfología varían, esta variación está relacionada con varios factores tales como: la etapa de crecimiento celular, la forma de crecimiento (como levadura o como tubo germinal), la capa seleccionada para su estudio, el medio de cultivo empleado para el crecimiento celular y los procedimientos de fijación. La mayoría de los investigadores han descrito cinco capas dentro de la pared celular, las cuales son (de adentro hacia afuera): manoproteínas, β -Glucán-Quitina, β -Glucán, manoproteínas y una capa de fibrillas (12). En la figura 3 se observa el diagrama esquemático de las cinco capas de la pared celular de *C. albicans*.

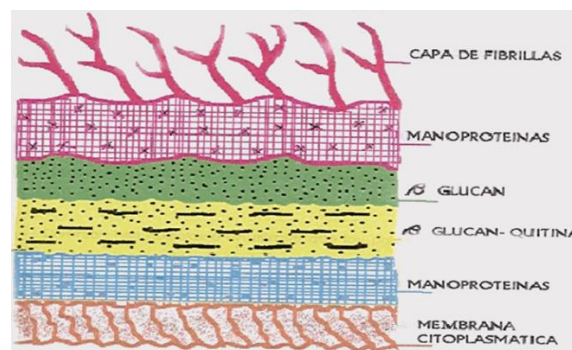


Figura 3. Diagrama esquemático de las cinco capas de la pared celular de *Candida albicans*.

La membrana citoplasmática presenta una doble capa compuesta por lípidos y posee invaginaciones, que se observan como surcos de 200 a 300 nanómetros de longitud, por 35 a 40 nanómetros de espesor, así como grandes cantidades de proteínas y carbohidratos en menor proporción. Es una estructura que reviste gran importancia, ya que los antimicóticos actúan a nivel de la misma, además de contener las enzimas responsables de la síntesis de la pared celular. Así como es capaz de formar biopelículas (biofilms), mediante polímeros que les permiten una fuerte unión, les confieren capacidad defensiva y mayor resistencia a los antifúngicos (13).

Las infecciones producidas por especies del género *Candida* ocurren como resultado de alteraciones de la defensa del hospedero, por factores iatrogénicos, luego de la administración de antibióticos de amplio espectro, tratamiento con esteroides, drogas citotóxicas, y enfermedades de base (14). La identificación de las especies que causan la infección, permite indicar un tratamiento específico para la erradicación del hongo, lo cual podría evitar que esta levadura, en un momento determinado, pudiera causar infección recurrente en los pacientes. Situación preocupante ya que la resistencia de dichos hongos representa un reto terapéutico que deja un menor número de posibilidades para el tratamiento de estas infecciones que se traducen a su vez por una alta morbilidad (15).

El objetivo principal de la terapia con antimicóticos es controlar las enfermedades infecciosas producidas por hongos, tarea que ha resultado difícil en la actualidad, debido a que cada vez son más frecuentes las circunstancias donde éstos resisten a los tratamientos y, en ocasiones, plantean una amenaza mortal a los infectados (16). El fluconazol, ha sido ampliamente utilizado para tratar una gran gama de dichas infecciones. Sin embargo, una creciente resistencia de los microorganismos en el tratamiento conduciría al descubrimiento de nuevos fármacos o modificaciones de los ya existentes (17).

La resistencia a los antifúngicos puede dividirse en dos categorías: *in vitro* (primaria o

secundaria) y clínica. La resistencia *in vitro* primaria, también llamada intrínseca o innata, es la que presenta el microorganismo de forma natural, por ejemplo *C. krusei* frente a fluconazol. La resistencia *in vitro* secundaria es la que aparece cuando un microorganismo inicialmente sensible se hace resistente. Esta última forma de resistencia aparece con frecuencia en los pacientes inmunodeprimidos (infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH)), con candidiasis orofaríngea y en tratamiento prolongado con fluconazol. La resistencia clínica es aquella que aparece cuando el fracaso del tratamiento antifúngico no se asocia con una disminución de la sensibilidad *in vitro*, la misma puede deberse a varios factores, tanto relacionados con el paciente (estado inmunitario, presencia de catéteres intravasculares o prótesis infectadas) como con el antifúngico (farmacocinética, interacciones farmacológicas), entre otros. Asimismo, deben tomarse en cuenta los factores relacionados con la propia virulencia del microorganismo que ocasiona la infección (18).

Las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos constituyen en la actualidad una de las principales líneas de investigación en muchos laboratorios de referencia debido, entre otras causas, al incremento del número de micosis en el mundo entero, (19). La disponibilidad de nuevos agentes antifúngicos, la aparición de nuevas especies de hongos patógenos emergentes y los cada vez más frecuentes reportes de resistencia asociados a fallos terapéuticos, especialmente en pacientes inmunodeprimidos o con determinadas enfermedades de base, en los cuales las infecciones por *Candida* se encuentran entre las más frecuentes (20).

Con la formación de complejos metálicos que contienen fármacos en su estructura, se buscan usualmente varios efectos, uno de ellos es mejorar la biodisponibilidad de los fármacos, produciendo moléculas que ingresen con mayor facilidad a las células que los fármacos libres, lo que provoca por una parte, aumentar la actividad, y por otra, disminuir el desarrollo de resistencia a los fármacos (21).

Muchos fármacos poseen propiedades toxicológicas y farmacológicas modificadas

cuando se unen a los metales formando complejos metálicos. Los compuestos de coordinación o complejos metálicos son sustancias químicas con uno o más átomos metálicos centrales, enlazados a moléculas orgánicas denominadas ligandos (22).

La química de coordinación de metales de transición con antibióticos betalactámicos ha sido estudiada, y se ha observado que éstos pueden actuar como ligandos bi, tri, tetra o pentadentado frente a diferentes iones metálicos. La naturaleza multidentada de los antibióticos mencionados puede ser utilizada para formar complejos polinucleares. Siempre que un ligando se encuentre unido a dos o más iones metálicos se le denomina ligando puente. El complejo resultante se llama frecuentemente complejo polinuclear o multinuclear, donde el prefijo “poli” o “multi” se usa, habitualmente, para indicar la presencia de varios centros metálicos iguales o diferentes (23).

La interacción de iones metálicos y fármacos representa un interesante campo de estudio. Los iones metálicos que se encuentran fácilmente disponibles en sistemas biológicos pueden ser enlazados por fármacos, de igual forma como lo hacen las proteínas, enzimas, ácidos nucleicos y otros tipos de bioligandos, para formar complejos. (22). De esta forma, se modifican las propiedades farmacológicas y toxicológicas de un fármaco, simplemente con la formación de un complejo metálico con el mismo (24).

El gran interés que existe por la formación de complejos polinucleares de metales de transición, generalmente llamados “*clusters* de espín”, viene dado fundamentalmente, por las propiedades eléctricas y magnéticas que presentan algunos de estos compuestos (25). La importancia en sus propiedades magnéticas radica en las potenciales aplicaciones tecnológicas de estos complejos de dimensiones nanométricas, en los que los espines de los iones metálicos pueden interaccionar entre sí, dando lugar a lo que se conoce como “imanes unimoleculares” (26).

Los metales más ampliamente estudiados con este propósito son el cobre y la plata, que han demostrado ser beneficiosos en enfermedades tales como la tuberculosis, úlceras

gástricas, la artritis reumatoide y el cáncer. Estos resultados animan a investigar la química de coordinación de los antimicrobianos con metales de transición para examinar sus propiedades y las modalidades de las estructuras formadas en estado sólido (27).

La síntesis y caracterización de complejos polinucleares ha adquirido una gran relevancia en los últimos años, debido a la inclinación que existe por conocer y simular las estructuras y funciones de los centros activos polinucleares, presentes en algunas metaloenzimas que regulan los procesos biológicos, así como la búsqueda de aplicaciones potenciales para estos nuevos materiales (28). Estructuralmente, estos compuestos presentan una porción central en la que varios iones paramagnéticos, iguales o diferentes, se encuentran unidos generalmente por ligandos oxo, carboxilato, sulfato, entre otros; formando puentes, rodeada a su vez por una capa exterior de distintos ligandos terminales (29).

Entre las publicaciones relacionadas con el tema se puede citar un estudio realizado en Japón, donde se evaluó si la coordinación de iones cobre Cu (II) a fluconazol afecta su actividad antifúngica. Los ensayos *in vitro* de susceptibilidad y estudios antifúngicos se realizaron con especies de *Candida* sp. *C. glabrata* y *C. albicans*. En general, 34 cepas de la primera y 16 cepas de esta última fueron tratadas con fluconazol, y el complejo de iones de Cu (II) con fluconazol. Los valores obtenidos de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en 16 casos de *C. glabrata* y en 5 casos de *C. albicans* fueron menores para el complejo en comparación con el fármaco. Esto implica que el complejo es más eficaz contra las cepas particulares que el fármaco original. Observándose la mejoría más significativa en la eficacia del fármaco-complejo para las especies resistentes a FCZ (30).

El creciente interés en los complejos de iones metálicos como agentes antimicóticos, de diagnóstico o quimioterapéuticos se ha observado durante muchos años. Continuando con esta iniciativa, la actual investigación se enfoca en la síntesis de complejos polinucleares de fluconazol y su evaluación en la actividad antimicótica contra *C.*

albicans, sensible a dicho antimicótico, estudios que se vienen realizando en el Laboratorio de Química de Coordinación, perteneciente al Departamento de Química, en la Universidad de Oriente.

METODOLOGÍA

Síntesis de complejos polinucleares

Para la síntesis de los complejos metálico se hizo reaccionar el FCZ de uso comercial con diferentes sales hidratadas que contienen iones metálicos: sulfato de hierro heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), sulfato de cobre (II) pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), sulfato de níquel (II) hexahidratado ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), sulfato de manganeso (II) monohidratado ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), sulfato de plata (Ag_2SO_4), sulfato de cobalto (II) hexahidratado ($\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y cloruro de paladio (PdCl_2). Las reacciones se realizaron en proporción molar FCZ: sales metálicas 1:4, a temperatura ambiente, utilizando como solvente agua, ajustando las mejores condiciones de pH con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) $1,0 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ y tiempo de agitación de la reacción, con el fin de obtener el mayor rendimiento y la mejor respuesta magnética posible en la síntesis de dichos complejos. Los pasos requeridos para la obtención de los compuestos de coordinación se muestran a continuación (31).

Síntesis del complejo $[\text{Mn}_{51}\text{O}_{47}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_4(\text{H}_2\text{O})_4]$

Se disolvieron 0,4 mmol de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en 1 ml de agua destilada. Esta solución se mezcló con 0,1 mmol de FCZ comercial disueltos en 1ml de agua destilada. Se añadió solución de NaOH $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ para ajustar el pH a 8. Esta mezcla se agitó durante 24 horas, durante este tiempo adquirió un color marrón. El precipitado formado se lavó, filtró y secó en un vidrio reloj a temperatura ambiente por 48 horas. Finalmente se guardó en un vial para su análisis y caracterización.

Síntesis del complejo $[\text{Fe}_{32}\text{O}_{30}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_6]$

Se disolvieron 0,4 mmol de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 1 ml de agua destilada se mezclaron con 0,1 mmol de FCZ disueltos en 1 ml de agua destilada. Posteriormente a esta solución se le ajustó el pH con una solución de NaOH $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ hasta alcanzar un pH 8. Luego se agitó durante 24 horas, observándose la formación de un precipitado color naranja. El precipitado se dejó en un vidrio de reloj a temperatura ambiente durante 24 horas, para

eliminar la humedad. El sólido fue filtrado, lavado con agua destilada en repetidas ocasiones y se secó a 30°C por 20 minutos. Finalmente, fue almacenado en viales para su posterior análisis y caracterización.

Síntesis del complejo $[\text{Co}_{12}\text{O}_{10}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2]$

Se disolvieron 0,1 mmol de FCZ comercial en 1 ml de agua destilada mediante agitación constante, luego se le agregó una solución que contenía 0,4 mmol de $\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ disuelto en 1 ml del mismo solvente. Ambas soluciones se unieron e instantáneamente hubo una reacción química, revelándose un color purpura, luego se elevó el pH a 8 con solución $\text{NaOH } 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Esta solución fue dejada a temperatura ambiente en un vidrio de reloj durante 2 días para eliminar la humedad y así obtener el precipitado. Finalmente este precipitado se filtró, lavó, secó a 30°C y guardó en viales estériles y rotulados, para su posterior análisis y caracterización.

Síntesis del complejo $[\text{Ni}_{13}\text{O}_{11}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_{11}]$

Fueron disueltos 0,4 mmol de $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ previamente pesados, en 1ml de agua destilada. Esta solución se mezcló con 0,1 mmol de FCZ comercial disueltos en 1ml de agua destilada. Posteriormente, se ajustó su pH con una solución de $\text{NaOH } 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ hasta alcanzar un pH 8. Esta mezcla se agitó durante 24 horas formándose un precipitado color verde, el cual se dejó secar en un vidrio reloj a temperatura ambiente durante 24 horas. Luego el sólido obtenido fue lavado con agua destilada y filtrado. Por último se dejó secar a temperatura ambiente y se almacenó en un vial estéril para su posterior análisis y caracterización.

Síntesis del complejo $[\text{Cu}_{35}\text{O}_{32}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_3]$

Fueron mezclados 0,4mmol de sal $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ disueltos en 1 ml de agua y 0,1 mmol del antimicótico (FCZ) también disueltos en 1 ml de agua. A la solución resultante se le ajustó el pH a 6 con $\text{NaOH } 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, y se dejó agitando durante 24 horas, obteniéndose un precipitado color azul turquesa. Transcurrido este tiempo, se colocó en un vidrio de reloj para eliminar la humedad. Luego, fue lavado con agua destilada en repetidas

ocasiones, filtrado y secado a 30°C. Luego fue almacenado en viales para su posterior análisis y caracterización.

Síntesis del complejo [Pd₁₁O₄(FCZ)(Cl)₄]

Se pesaron 0,4 mmol de sal PdCl₂ y se disolvieron en 1 ml de agua destilada por agitación magnética, esta solución se mezcló con 0,1 mmol de FCZ comercial disueltos en 1 ml de agua destilada. Se elevó su pH con una solución de NaOH 1 mol·l⁻¹ hasta llegar a un pH de 8. Luego, se colocó en agitación durante 24 horas, obteniéndose un precipitado marrón oscuro. Este precipitado fue lavado, filtrado y secado en una estufa a 30°C durante 20 minutos. Finalmente se almacenó en viales estériles para su posterior análisis y caracterización.

Síntesis del complejo [Ag₁₁O₁₀(FCZ)(SO₄)(H₂O)₂]

Se pesaron 0,4 mmol de sal Ag₂SO₄ y se disolvieron en 1 ml de agua destilada, esta solución se mezcló con 0,1 mmol de FCZ comercial disueltos en 1 ml de agua destilada. Se ajustó su pH con una solución de NaOH 1 mol·l⁻¹ hasta llegar a un pH de 7. Luego, se colocó en agitación durante 24 horas, obteniéndose un precipitado negro. Este precipitado fue dejado en un vidrio de reloj durante dos días a temperatura ambiente, lavado y filtrado. Finalmente se almacenó en viales estériles para su posterior análisis y caracterización.

Caracterización de los complejos polinucleares

Empleando técnicas específicas fueron caracterizados los diferentes complejos metálicos que contienen fluconazol y sales metálicas:

Análisis elemental

Se realizaron análisis de los complejos sintetizados con el fin de determinar los porcentajes de carbono, nitrógeno y azufre, utilizando un analizador elemental (LECO, modelo CHNS-932), perteneciente al laboratorio 306 del Departamento de Química de la Universidad de Oriente (32).

Análisis térmico del contenido de metal

El contenido de metal en los complejos sintetizados, se obtuvo calcinando entre 25 y 30 mg de muestra a 900°C por 1 hora, con la finalidad de obtener los óxidos metálicos tipo MO. Luego mediante cálculos estequiométricos, se determinó el porcentaje del metal. Para ello, se utilizó una mufla marca Thermolyne, modelo 1300, perteneciente al Instituto Oceanográfico de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre (33).

Determinación de metal con tiocetamida

Mediante esta técnica se determinó el porcentaje de metal de los complejos manganeso, hierro, cobalto, cobre y plata. Para ello, fueron pesados entre 20-25 mg de cada complejo, por separado. Luego a todos los complejos se les añadieron 2 ml de ácido nítrico (HNO_3) y 2 ml de agua destilada respectivamente. Se calentó, siendo atento, para evitar el secado. A medida que transcurrió el tiempo de calentamiento, los complejos adoptaron el color inicial del metal en estudio. A los complejos tratados se les ajustó el pH entre 7-8 con solución $\text{NaOH } 2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ y se agregó 2 ml de una solución de tiocetamida $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Las soluciones formadas fueron colocadas por separado en un tubo de ensayo y centrifugadas durante 2 minutos, obteniéndose así la formación de un precipitado negro que indicó la presencia de sulfuros metálicos. El precipitado formado fue lavado con agua y secado a 120°C por 30 minutos. Se pesó el producto final y mediante cálculos estequiométricos se determinó el porcentaje de metal (34).

Determinación de metal con dimetilglioxima

Esta técnica se empleó para determinar el porcentaje de metal de los complejos níquel y paladio. Para esto, se pesaron 20 mg de cada complejo por separado en un beaker, los cuales fueron tratados con 2 ml de HNO_3 concentrado, seguidamente a estas soluciones se les ajustó el pH, entre 7-8 con solución $\text{NaOH } 2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Se les agregó gota a gota una solución de dimetilglioxima $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$, hasta la aparición de un precipitado rojo indicativo de la formación del complejo níquel y color marrón para el complejo de paladio. Las soluciones se lavaron con agua y metanol. Se dejaron secar a 120°C durante

30 minutos. Transcurrido el tiempo se pesó el precipitado final y así mediante cálculos estequiométricos se determinó el porcentaje de metal (34).

Análisis térmico del contenido de agua

Para determinar el contenido de agua total de los complejos sintetizados, se pesaron entre 15 a 20 mg de cada complejo y fueron colocados en crisoles de cerámica. Todos se sometieron a temperaturas entre 120°C y 250°C en una estufa durante intervalos de tiempo de 30 minutos. El proceso fue repetido varias veces hasta que se obtener un peso constante de la muestra. Finalmente, por diferencia de masas, se determinó el porcentaje de agua total en los complejos (35).

Determinación de sulfato

Se pesó 30 mg de muestra y se trató con 1 ml de ácido clorhídrico (HCl) concentrado, luego, se agregó 3 ml de agua destilada, se ajustó el pH entre 6-7 con NaOH 2 mol·l⁻¹, la solución se calentó suavemente y se le agregó gota a gota una solución de cloruro de bario (BaCl₂) 0,1 mol·l⁻¹, se mantuvo en calentamiento suave por 30 minutos. La formación de un precipitado blanco, indicó la presencia de sulfato como sulfato de bario, se decantó la solución y se lavó el precipitado con una solución 1:1 de HCl. El sólido fue llevado en una estufa a 120°C, fue pesado y mediante cálculos estequiométricos se determinó la cantidad de sulfato presente (36).

Determinación de cloruro

Se pesó 15 mg de complejo paladio y se trató con 1 ml de HNO₃ concentrado, luego, se agregó 3 ml de agua destilada, se ajustó el pH entre 6-7 con NaOH 4 mol·l⁻¹, la solución se calentó suavemente y se le agregó gota a gota una solución de 0,1 mol·l⁻¹ AgNO₃, se mantuvo en calentamiento suavemente por 30 minutos. La formación de un precipitado blanco, indicó la presencia de cloruro como cloruro de plata, se decantó la solución y se lavó el precipitado con agua. El sólido fue llevado, en una estufa, a 120 °C, fue pesado y mediante cálculos estequiométricos se determinó la cantidad de cloruro presente (36).

Solubilidad

Fueron realizados ensayos de solubilidad a todos los complejos sintetizado en solventes orgánicos (acetona, etanol, metanol, acetato de etilo, nitrometano, 1,4-dioxano y dimetilsulfóxido). Para ello, cada solvente fue colocado a calentar en un beaker por separado, de manera tal que cada complejo se añadió poco a poco a cada uno de ellos, agitándose de forma constante.

Espectroscopía ultravioleta visible

Esta técnica mide la absorción de la radiación UV-Visible que sirve para determinar a qué frecuencias se producen las transiciones electrónicas entre los niveles de energía característicos de cada molécula (37). Basados en este principio, fueron medidas las absorbancias de cada uno de los complejos sintetizados a una concentración de $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ en un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Lambda 25 perteneciente al Departamento de Química de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.

Espectroscopía infrarroja

Los espectros infrarrojos de los complejos sintetizados, fueron realizados en pastillas de bromuro de potasio (KBr), haciendo uso de un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Spectrum 2000, con transformada de Fourier, perteneciente al Departamento de Química de la Universidad de Santiago de Chile. Con lo cual, se evaluó la presencia de grupos funcionales y se determinaron los sitios de unión del antimicótico al metal (37).

Ensayo micológico

Determinación de la susceptibilidad a los antifúngicos

Una vez sintetizados todos los complejos polinucleares de FCZ con las diversas sales metálicas, se definió la acción antimicótica de éstos, a través del método de difusión en disco, siguiendo los lineamientos establecidos por el Comité Internacional de Estándares de Laboratorio Clínico (CLSI), en el documento M44-A (2008), el cual utiliza discos estándar de 25 μg de FCZ (38). Para ello, fueron preparadas soluciones madres a

concentraciones de 50 mg/ml de fluconazol de tipo comercial, 150 mg/ml para la nistatina comercial (NIS) y de cada uno de los complejos sintetizados. Para determinar las concentraciones de los complejos polinucleares, se consideraron dos grupos, aquellos que presentaron el 20% de FCZ en su composición ($[\text{Pd}_{11}\text{O}_4(\text{FCZ})(\text{Cl})_4]$, $[\text{Ag}_{11}\text{O}_{10}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Co}_{12}\text{O}_6(\text{FCZg})(\text{SO}_4)_2]$ y $[\text{Ni}_{13}\text{O}_{11}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_{11}]$) y los que tenían un 10% del fármaco en su estructura ($[\text{Fe}_{32}\text{O}_{30}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_6]$, $[\text{Cu}_{35}\text{O}_{32}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_3]$ y $[\text{Mn}_{51}\text{O}_{47}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_4(\text{H}_2\text{O})_4]$). Para el control de calidad de las pruebas de sensibilidad para *C. albicans*, se utilizó la cepa de referencia de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC, por sus siglas en inglés), recomendadas por el CLSI: *C. albicans* ATCC 90028, donada por el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”, Caracas, que presenta un rango de inhibición de 28-39mm para el fluconazol.

Prueba de difusión en agar con discos de antifúngicos (antifungigrama)

Para los compuestos que presentan el 20% del FCZ en su estructura como el caso de ($[\text{Pd}_{11}\text{O}_4(\text{FCZ})(\text{Cl})_4]$, $[\text{Ag}_{11}\text{O}_{10}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Co}_{12}\text{O}_6(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2]$ y $[\text{Ni}_{13}\text{O}_{11}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_{11}]$), se pesaron 5,0 mg del complejo y se disolvieron en 0,5 ml del solvente orgánico, resultando así una concentración de 10 mg/ml. Para los compuestos que presentaban 10% de FCZ en su estructura, como en el caso de $[\text{Fe}_{32}\text{O}_{30}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_6]$, $[\text{Cu}_{35}\text{O}_{32}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_3]$ y $[\text{Mn}_{51}\text{O}_{47}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_4(\text{H}_2\text{O})_4]$, se pesaron 10 mg de los complejos metálicos, y se disolvieron en 0,5 ml de DMSO, obteniendo una concentración final de 20 mg/ml. En el caso de los antimicóticos de tipo comercial, se pesaron 50 mg del fármaco FCZ y 150 mg de NIS, los cuales se diluyeron individualmente en 1 ml de DMSO. Estas soluciones se mantuvieron en un lugar limpio y a temperatura ambiente hasta su uso.

Posteriormente se impregnaron discos de papel filtro estériles con 60 µl de cada solución y se dejaron secar en la incubadora por 24 horas a 37°C, pasado este tiempo, los discos fueron impregnados nuevamente y dejados secar el mismo tiempo y temperatura, con la finalidad de obtener resultados confiables. Luego, a partir de cultivos de 24 horas a 37°C en Agar Saboroud Dextrosa (ASD) de las diferentes cepas de *Candida* utilizadas; *C.*

albicans, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. krusei*, se prepararon suspensiones en agua destilada estéril, ajustando al grado de turbidez 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/ml), siguiendo las indicaciones establecidas en documento M44-A del CLSI, para un estricto control de calidad.

Para el método de difusión se utilizaron placas de Petri de 10 cm de diámetro, con 25 ml de agar Mueller-Hinton modificado (MHm), al cual se le adicionó 2,0% de glucosa y azul de metileno hasta una concentración final de 0,5 mg/ml. Con un hisopo cargado con el inóculo correspondiente, se sembró la superficie de cada placa de Petri con MHm en tres direcciones y se dejó secar durante 15 minutos en incubadora, a 37°C. Se colocaron los discos previamente impregnados de cada solución, los discos impregnados con FCZ y NIS comercial, se colocaron de forma equidistante en una sola placa, por cada cepa y los discos impregnados con los complejos polinucleares fueron colocados en una placa por cada especie de la levadura. Estas placas inoculadas se incubaron por 24 horas a 37°C, la prueba se realizó por triplicado. Transcurrido el tiempo de incubación, se midió, con una regla milimetrada, el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento y se catalogó como, sensibles (S), sensibles dependiente de la dosis (SDD) o resistentes (R) empleando los puntos de corte para levaduras, recomendados por el CLSI.

Una vez obtenidos los primeros resultados, se realizaron distintas diluciones del complejo plata para así determinar la dilución a la que el compuesto es capaz de inhibir el crecimiento fúngico. Para ello, se tomaron 250 µL de la solución madre de dicho compuesto y se mezcló con 250 µL del solvente orgánico (DMSO) con la punta de la pipeta por aspiración y expulsión para seguidamente transferir 250 µL de esta mezcla a otro envase, mezclando la solución de la misma forma con 250 µL de DMSO y transferir 250 µL de esta segunda mezcla al siguiente envase; y así sucesivamente hasta llegar al último envase, descartando 250 µL para obtener concentraciones de 10 µg/ml, 5 µg/ml, 2,5 µg/ml, 1,25 µg/ml, 0,625 µg/ml y 0,3125 µg/ml. Luego se impregnaron discos de 60 µl con estas soluciones, dándoles el mismo tratamiento que los anteriores y fueron colocados en una placa con MHm inoculada con la cepa *C. krusei*, en tres direcciones.

Se incubó por 24 horas a 37°C. Pasado el tiempo de incubación, se midió, con una regla milimetrada, el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento y se catalogó como sensible o resistente, empleando los puntos de corte para levaduras, siguiendo los criterios recomendados en el método de referencia M44-A del CLSI para el fluconazol.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general, los complejos polinucleares obtenidos, son coloreados, estables a temperatura ambiente e insolubles en ciertos solventes orgánicos, tales como: metanol, etanol, acetato de etilo, 1,4-dioxano, nitrometano, acetona, pero solubles en DMSO.

Análisis elemental

En la tabla 1 se puede observar el contenido de carbono, nitrógeno y azufre de los complejos sintetizados expresado en porcentajes. Los porcentajes calculados a partir de la fórmula propuesta para cada complejo se muestran dentro del paréntesis. Se puede observar la buena concordancia en los porcentajes de carbono y azufre que hay entre los valores medidos y teóricos. Estos resultados sugieren la presencia del ligando en los complejos polinucleares, ya que éste (FCZ) es el único componente del complejo que posee en su estructura química carbono y nitrógeno.

Tabla 1. Análisis elemental de carbono, nitrógeno y azufre en los complejos metálicos.

Complejos	%C	%N	%S
[Fe ₃₂ O ₃₀ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₆]	5,35 (5,43)	0,36 (2,92)	2,09 (2,22)
[Cu ₃₅ O ₃₂ (FCZ)(SO ₄) ₃]	4,68 (4,69)	0,64 (2,52)	4,50 (2,88)
[Ni ₁₃ O ₁₁ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₁₁]	9,51 (9,54)	1,96 (5,13)	3,01 (3,91)
[Mn ₅₁ O ₄₇ (FCZ)(SO ₄) ₄ (H ₂ O) ₄]	3,56 (3,61)	0,84 (1,94)	0,46 (2,96)
[Ag ₁₁ O ₁₀ (FCZ)(SO ₄)(H ₂ O) ₂]	8,96 (8,74)	3,32 (4,70)	2,06 (1,79)
[Co ₁₂ O ₆ (FCZ)(SO ₄) ₂]	11,95 (11,99)	2,33 (6,46)	0,70 (4,92)
[Pd ₁₁ O ₄ (FCZ)(Cl) ₄]	9,26 (9,27)	5,60 (4,99)	0,21 (0,00)

%C= porcentaje de carbono, %N= porcentaje de nitrógeno, %S= porcentaje de azufre, FCZ= fluconazol

Análisis térmico del contenido del metal

Consiste en la calcinación de una sustancia a elevadas temperaturas, para ocasionar la

descomposición térmica o desnaturalización tanto química como física de la misma. A altas temperaturas aproximadamente 900°C, se obtuvieron los óxidos metálicos de cada uno de los complejos sintetizados.

La tabla 2 muestra los porcentajes de metal obtenidos para cada complejo. Se observa una buena correspondencia entre los valores medidos expresados como óxidos metálicos (MO) y los valores teóricos calculados siguiendo la fórmula molecular establecida. Esto indica la presencia del ion metálico en cada uno de los complejos. Cabe destacar que estos porcentajes de metales, como se apreciará más adelante, presentan similitud con los porcentajes de metales determinados analíticamente.

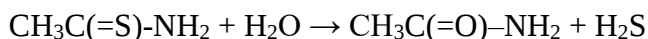
Tabla 2. Contenido de metal por análisis térmico de los complejos sintetizados.

Complejos	m inicial (mg)	m final (mg) MO	%Metal	
			Medido	Teórico
[Fe ₃₂ O ₃₀ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₆]	29,6	23,3	61,2	62,2
[Cu ₃₅ O ₃₂ (FCZ)(SO ₄) ₃]	28,9	24,4	67,5	66,7
[Ni ₁₃ O ₁₁ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₁₁]	27,7	16,6	46,9	46,7
[Mn ₅₁ O ₄₇ (FCZ)(SO ₄) ₄ (H ₂ O) ₄]	28,3	23,8	65,0	64,8
[Ag ₁₁ O ₁₀ (FCZ)(SO ₄)(H ₂ O) ₂]	28,5	19,1	66,0	66,5
[Co ₁₂ O ₆ (FCZ)(SO ₄) ₂]	27,8	16,7	54,1	54,3
[Pd ₁₁ O ₄ (FCZ)(Cl) ₄]	26,5	21,1	69,2	69,6

m_i= masa inicial, m_f= masa final, MO= masa del óxido del metal, %= porcentaje, FCZ= fluconazol

Determinación analítica de los metales

Para la determinación de hierro, cobre, manganeso, plata y cobalto se empleó la generación de sulfuro de hidrógeno (H₂S), partiendo de la tioacetamida para precipitar iones metálicos como sulfuros. La tioacetamida por acción de la temperatura en medio ácido se hidroliza mediante la siguiente reacción:



Los precipitados de esta reacción están constituidos por partículas mayores que las obtenidas por burbujeo directo de H₂S, son fácilmente sedimentados y menos contaminados. El H₂S es generado en el seno de la solución, mediante un control del pH

de la misma, se puede regular la concentración del anión S^{2-} en el equilibrio. La rapidez de hidrólisis de la tioacetamida en soluciones ácidas es proporcional a la concentración de iones H^+ , y la precipitación de los sulfuros ocurre a la rapidez de formación del H_2S .

Para la determinación de níquel y paladio se realizó utilizando como agente precipitante la dimetilglioxima, compuesto orgánico específico que en solución ligeramente alcalina sólo precipita níquel (II) y/o paladio (II). La reacción se aprecia en la figura 4.

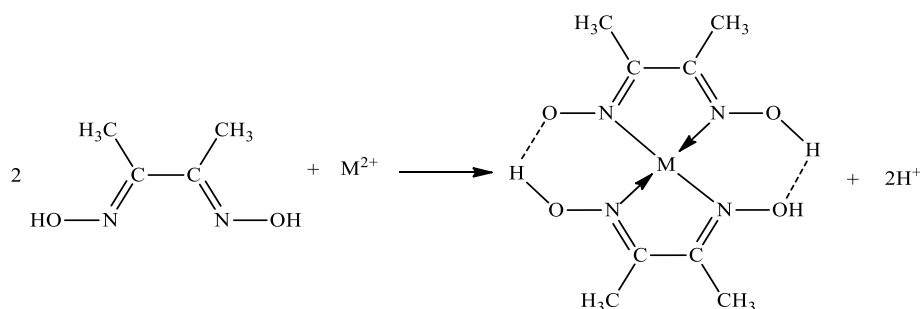


Figura 4. Reacción de la dimetilglioxima con M^{2+} ($M^{2+} = Ni^{2+}$ y Pd^{2+})

Este precipitado es tan voluminoso que sólo pueden manejarse adecuadamente en pequeñas cantidades del metal. También tienen una gran tendencia a ascender por las paredes del recipiente cuando se filtra y se lava.

En la tabla 3 se puede observar los resultados obtenidos analíticamente mediante técnicas de precipitación del metal. Existe una buena correspondencia entre los valores experimentales y los valores teóricos. También se observa que el complejo con el mayor contenido de metal es el de paladio con un porcentaje de 69,2%, mientras que el complejo con menor porcentaje de metal fue el de níquel con 46,2%.

Tabla 3. Determinación analítica del metal.

Complejos	m inicial (mg)	m final (mg)	%Metal	
			Medido	Teórico
$[Fe_{32}O_{30}(FCZ)(SO_4)_2(H_2O)_6]$	10,6	10,7	64,4	62,2
$[Cu_{35}O_{32}(FCZ)(SO_4)_3]$	14,2	14,3	67,0	66,7
$[Ni_{13}O_{11}(FCZ)(SO_4)_2(H_2O)_{11}]$	13,4	30,4	46,2	46,7
$[Mn_{51}O_{47}(FCZ)(SO_4)_4(H_2O)_4]$	14,9	15,4	65,4	64,8
$[Ag_{11}O_{10}(FCZ)(SO_4)(H_2O)_2]$	13,6	10,3	66,5	66,5
$[Co_{12}O_6(FCZ)(SO_4)_2]$	11,1	9,2	53,9	54,3

[Pd ₁₁ O ₄ (FCZ)(Cl) ₄]	12,5	27,4	69,2	69,6
---	------	------	------	------

m_i= masa inicial, m_f= masa final, %= porcentaje, FCZ= fluconazol

Análisis térmico del contenido de agua

Los complejos fueron sometidos a rangos de temperaturas entre 120 y 250°C por intervalos de 30 minutos, hasta obtener peso constante. Las variaciones de masa al someter a los compuestos a un rango de temperatura, permiten calcular el porcentaje de agua total presente en cada una de las muestras. La tabla 4 muestra el contenido de agua total en los complejos metálicos, se observa buena correlación entre los valores medidos y calculados, existiendo diferencias no significativas entre estos.

Tabla 4. Contenido de agua en los complejos metálicos.

Complejos	m _{inicial} (mg)	m _{final} (mg)	% Agua	
			Medido	Teórico
[Fe ₃₂ O ₃₀ (FCZ)(SO ₄) ₁₇ (H ₂ O) ₆]	17,4	0,6	3,4	3,8
[Ni ₁₃ O ₁₁ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₁₁]	16,2	1,0	6,0	5,9
[Mn ₅₁ O ₄₇ (FCZ)(SO ₄) ₄ (H ₂ O) ₄]	16,7	0,6	3,3	1,7
[Ag ₁₁ O ₁₀ (FCZ)(SO ₄)(H ₂ O) ₂]	19,0	0,8	4,0	2,0

m_i= masa inicial, m_f= masa final, % = porcentaje, FCZ= fluconazol

Determinación de sulfato

Para sintetizar los complejos, se emplearon sales en forma de sulfatos. Para conocer la fórmula empírica de los complejos, fue necesario determinar la presencia de éste en los mismos. Para ello se empleó el método gravimétrico, que consistió en la precipitación de BaSO₄ utilizando como agente precipitante BaCl₂, la cual ocurre según la siguiente reacción:



Mediante cálculos estequiométricos, se determinó el contenido de sulfato de los precipitados de BaSO₄ formados, los cuales se muestran en la tabla 5. Se observa una buena correspondencia entre los valores medidos y los esperados teóricamente.

Tabla 5. Contenido de sulfato en los complejos sintetizados.

Complejo	Masa complejo (mg)	Masa BaSO ₄ (mg)	Masa SO ₄ ²⁻ (mg)	m/m SO ₄ ²⁻ Medido	Teórico
[Fe ₃₂ O ₃₀ (FCZ)(SO ₄) ₁₇ (H ₂ O) ₆]	13,4	3,3	1,4	7,5	6,7
[Cu ₃ O ₃₂ (FCZ)(SO ₄) ₃]	13,4	2,7	1,1	8,3	8,6
[Ni ₁₃ O ₁₁ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₁₁]	12,0	3,5	1,4	12,0	11,7
[Mn ₅₁ O ₄₇ (FCZ)(SO ₄) ₄ (H ₂ O) ₄]	14,2	4,3	1,8	8,5	8,9
[Ag ₁₁ O ₁₀ (FCZ)(SO ₄)(H ₂ O) ₂]	10,5	2,3	0,9	7,2	5,4
[Co ₁₂ O ₆ (FCZ)(SO ₄) ₂]	11,7	3,8	1,7	13,4	14,8

%; porcentaje, FCZ= fluconazol, mg= miligramos

Determinación de cloruro

En la tabla 6, se observan los resultados del contenido de cloruro en el complejo de paladio. Se aprecia una buena concordancia entre el porcentaje de cloruro medido con el porcentaje calculado con la fórmula propuesta del complejo.

Tabla 6. Contenido de cloruro en los complejos sintetizados.

Complejo	Masa Complejo (mg)	Masa AgCl (mg)	Masa Cl ⁻ (mg)	%m/m Cl ⁻ Medido	Teórico
[Pd ₁₁ O ₄ (FCZ)(Cl) ₄]	15,0	5,0	1,3	8,7	8,4

Solubilidad

Todos los nuevos complejos metálicos resultaron ser solubles en Dimetilsulfóxido (DMSO), e insolubles en los demás solventes orgánicos.

Espectroscopia ultravioleta visible (UV-Visible)

La espectroscopia UV-Visible se utiliza para apreciar las transiciones electrónicas que tienen lugar en las moléculas al absorber radiación de la región ultravioleta y visible. La energía absorbida permite excitar los electrones compartidos y sin compartir, a niveles de energías más elevados. Las longitudes de ondas en que ocurre la absorción dependen

de la fuerza con la que están unidos los electrones a la molécula. El espectro de estos complejos polinucleares de metales de transición comprende las transiciones electrónicas debidas al ligando en este caso el FCZ y de las transiciones electrónicas de los electrones desapareados del metal, desde un estado fundamental hasta un estado excitado. Así, los complejos de metales de transición absorben radiación UV-Visible que ocasionan transiciones electrónicas que pueden ser debidas al metal, al ligando o entre el ligando y el metal o viceversa (39)

En las transiciones electrónicas del FCZ, sólo se ven involucrados orbitales de dicho ligando, las transiciones electrónicas del metal se efectúan entre los orbitales de este. Estas últimas transiciones se deben al desdoblamiento de los orbitales d del metal en orbitales t_{2g} y e_g , las cuales se conocen como transiciones d-d. También pueden ocurrir transiciones electrónicas desde orbitales del metal a orbitales del ligando (transiciones de transferencia de carga metal-ligando), también de orbitales del ligando a orbitales del metal (transiciones de transferencia de carga ligando-metal) (39). Los espectros fueron tomados utilizando DMSO como solvente, ya que los compuestos sintetizados resultaron ser solubles en este solvente orgánico.

En la tabla 7 se puede apreciar que todos los complejos polinucleares sintetizados muestran la banda característica observada en el FCZ a 260 nm, sugiriendo la presencia del FCZ comercial en el compuesto formado, además de que el FCZ no se ha descompuesto. Todos los complejos polinucleares excepto el de plata y el de manganeso, muestran una banda de absorción adicional a 330 nm que pudiera ser asignada a una banda de transferencia de carga entre el metal y el FCZ.

Tabla 7. Principales transiciones ultravioleta visible del fluconazol y los complejos metálicos (nm).

Complejos	Transiciones:	FCZ	M→FCZ
Fluconazol		260	
[Fe ₃₂ O ₃₀ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₆]		260	330
[Cu ₃₅ O ₃₂ (FCZ)(SO ₄) ₃]		260	330
[Ni ₁₃ O ₁₁ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₁₁]		260	330
[Mn ₅₁ O ₄₇ (FCZ)(SO ₄) ₄ (H ₂ O) ₄]		260	
[Ag ₁₁ O ₁₀ (FCZ)(SO ₄)(H ₂ O) ₂]		260	
[Co ₁₂ O ₆ (FCZ)(SO ₄) ₂]		260	330
[Pd ₁₁ O ₄ (FCZ)(Cl) ₄]		260	330

FCZ= fluconazol

Desde la figura 5 hasta la figura 12 se muestran los espectros ultravioleta visible tanto del FCZ como de los complejos polinucleares preparados.

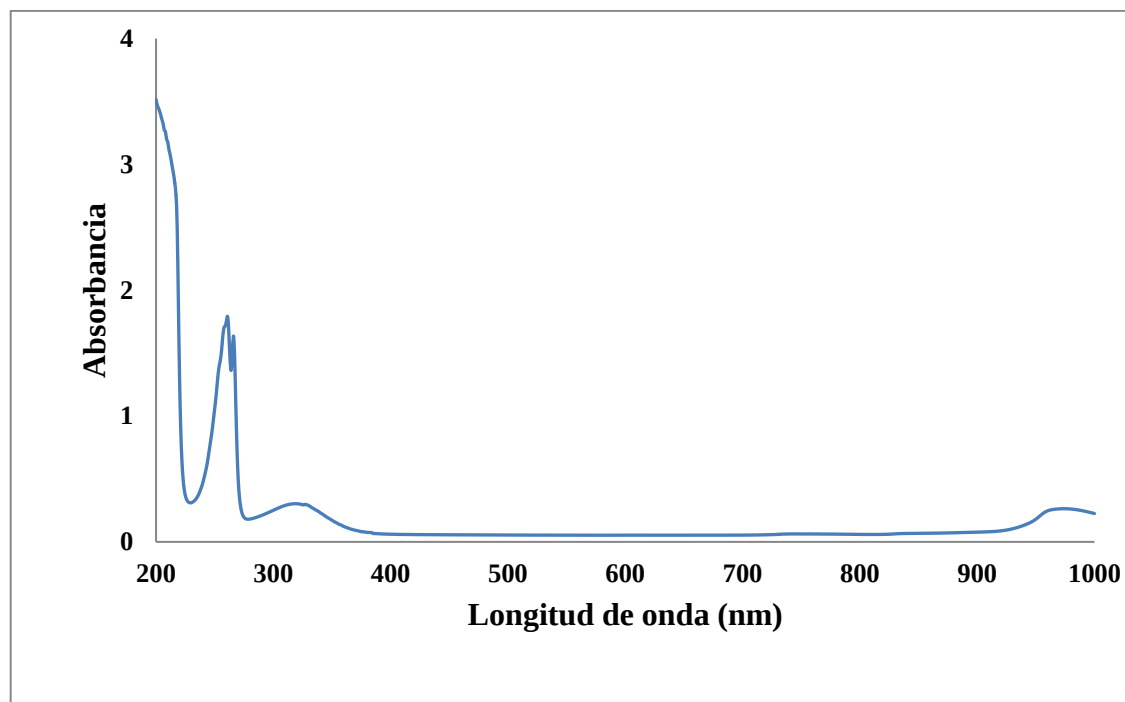


Figura 5. Espectro ultravioleta visible del fluconazol.
nm: nanómetro

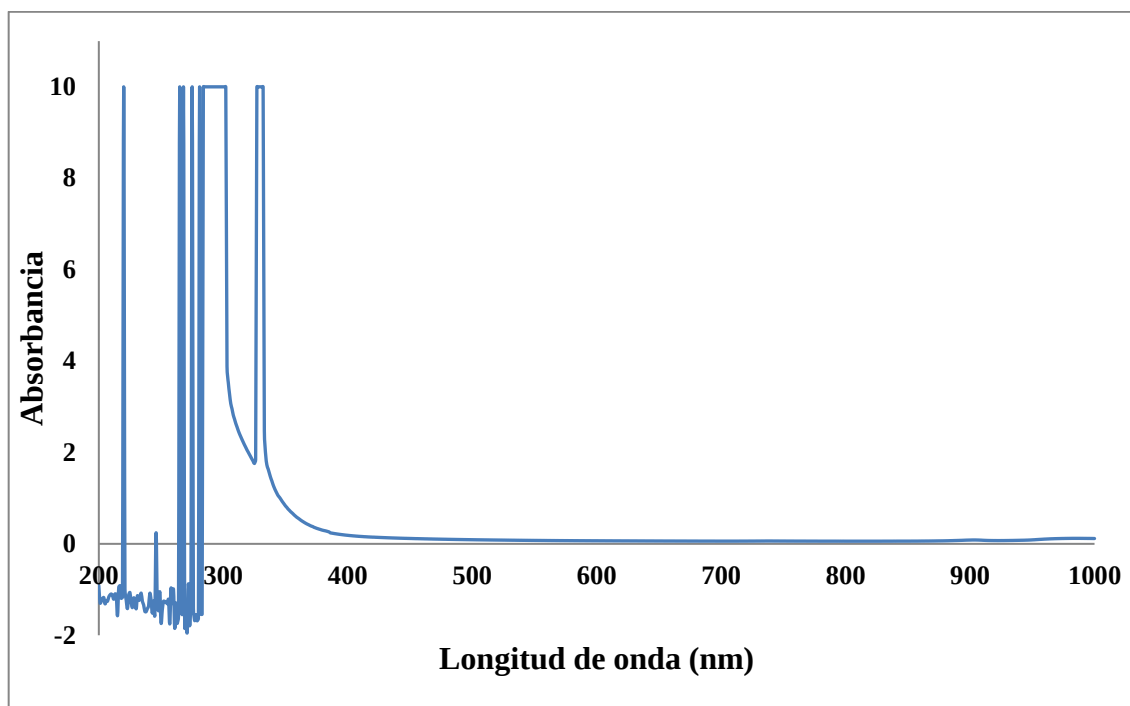


Figura 6. Espectro ultravioleta visible del complejo $[\text{Fe}_{32}\text{O}_{30}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_6]$.
nm: nanómetro

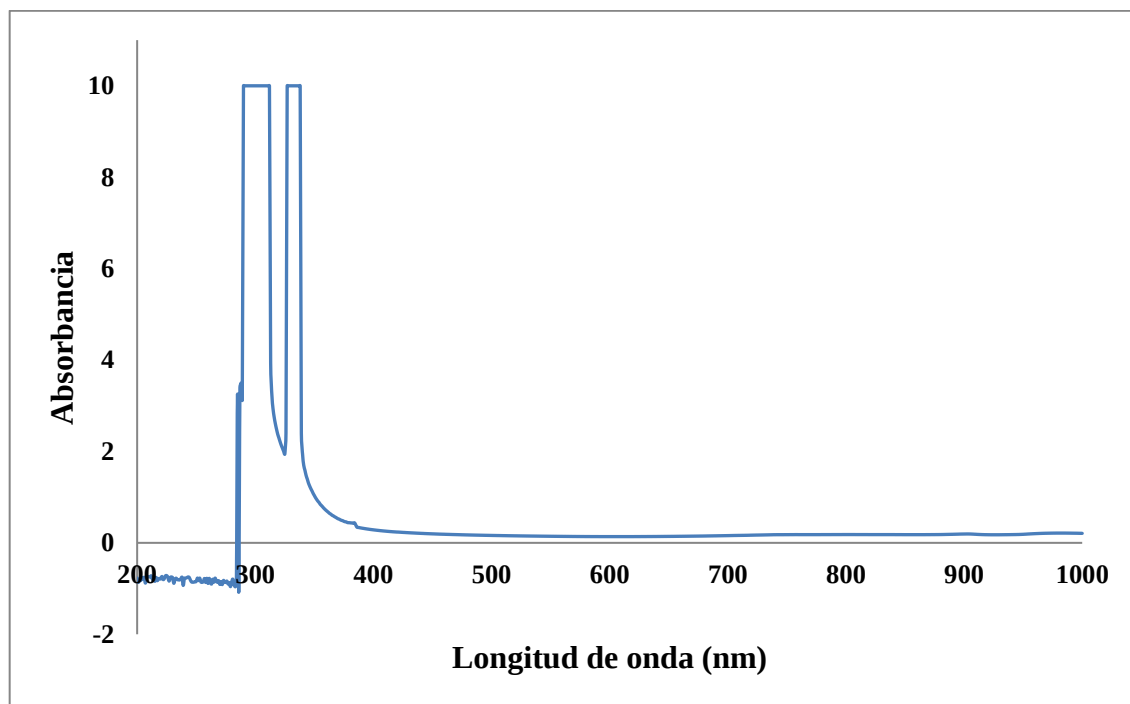


Figura 7. Espectro ultravioleta visible del complejo $[\text{Cu}_{35}\text{O}_{32}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_3]$.
nm: nanómetro

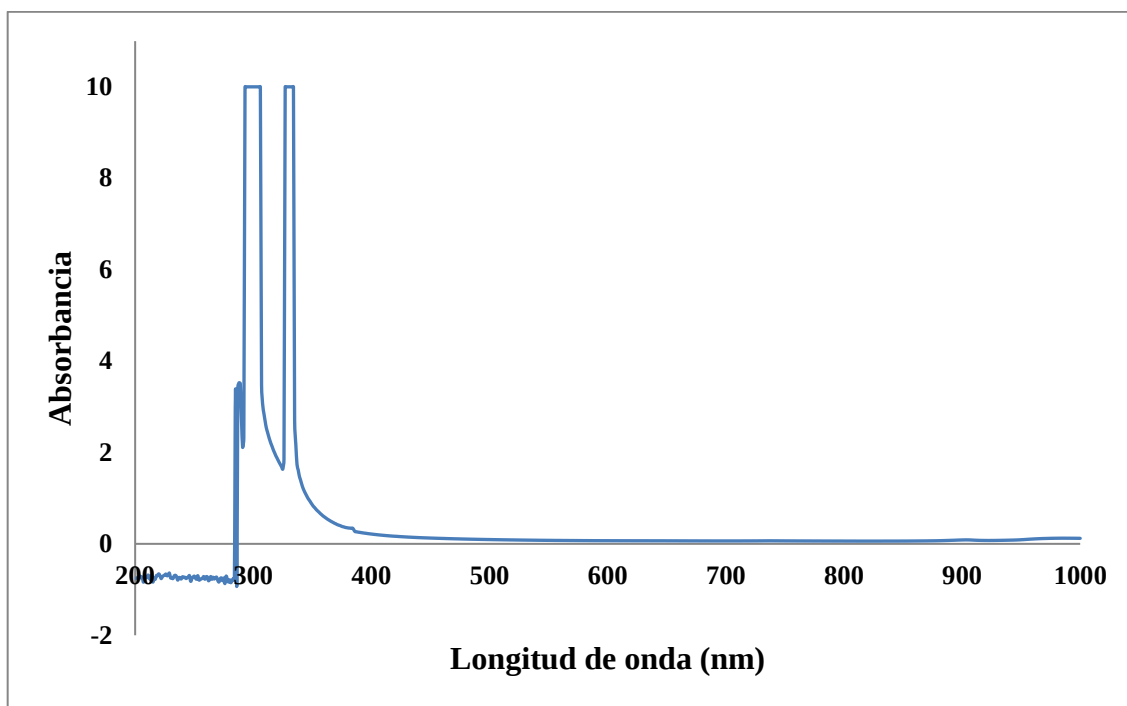


Figura 8. Espectro ultravioleta visible del complejo $[\text{Ni}_{13}\text{O}_{11}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_{11}]$.
nm: nanómetro

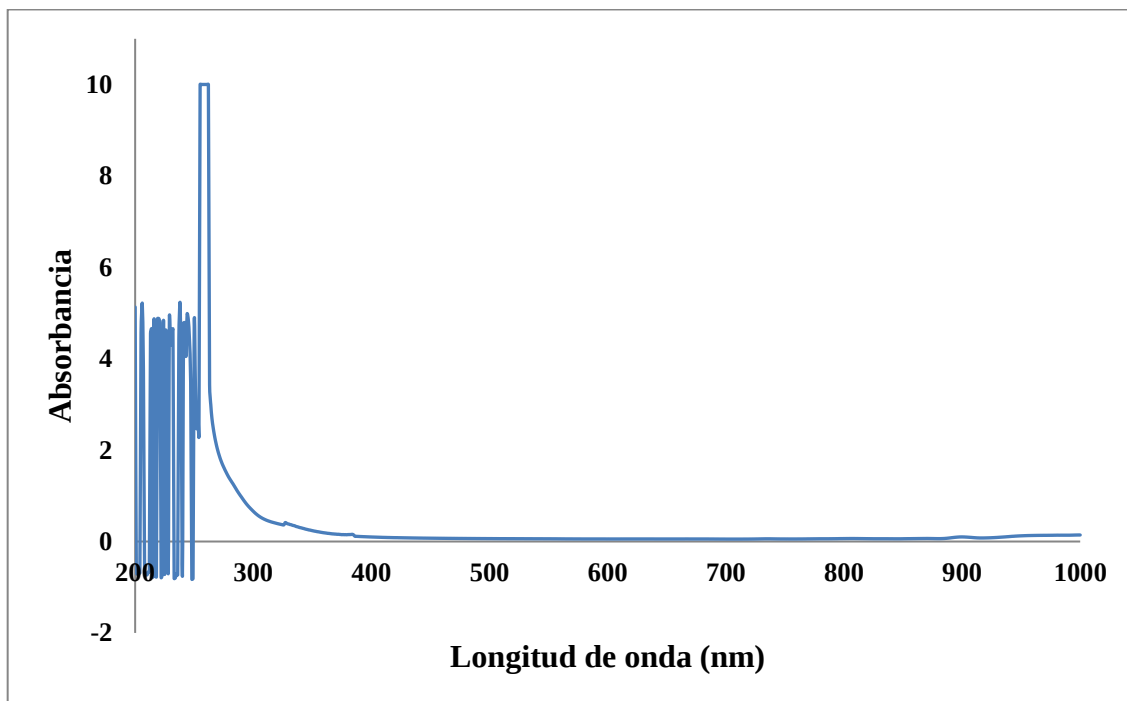


Figura 9. Espectro ultravioleta visible del complejo $[\text{Mn}_{51}\text{O}_{47}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_4(\text{H}_2\text{O})_4]$.
nm: nanómetro

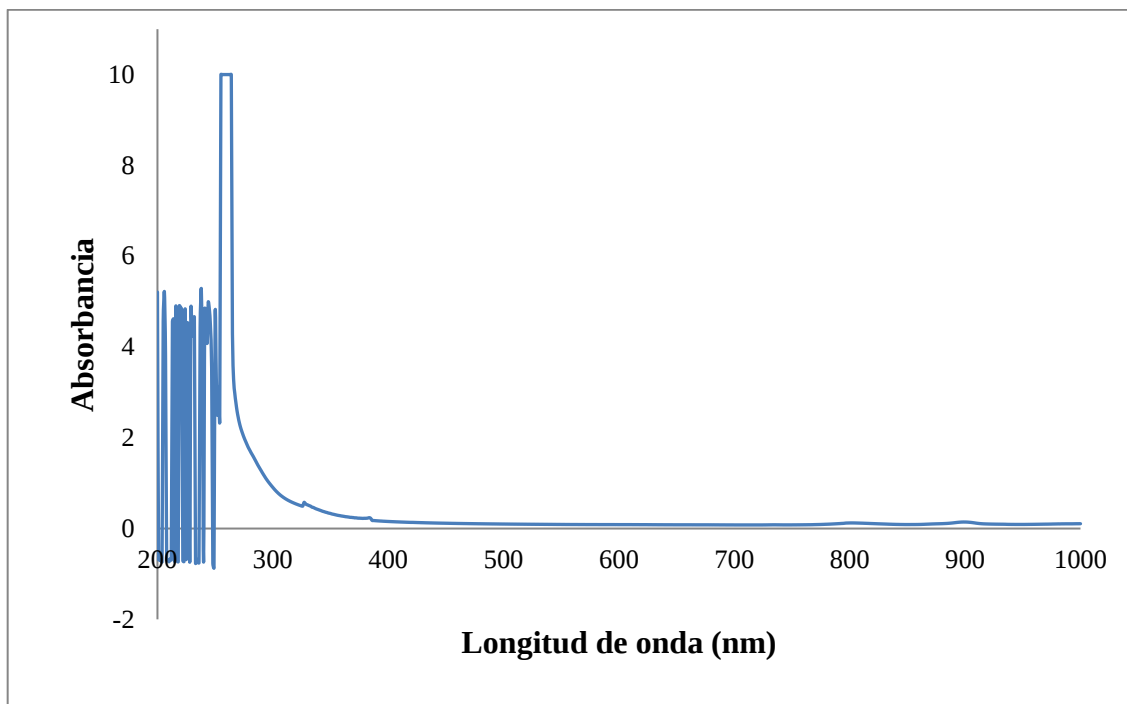


Figura 10. Espectro ultravioleta visible del complejo $[Ag_{11}O_{10}(FCZ)(SO_4)(H_2O)_2]$.
nm: nanómetro

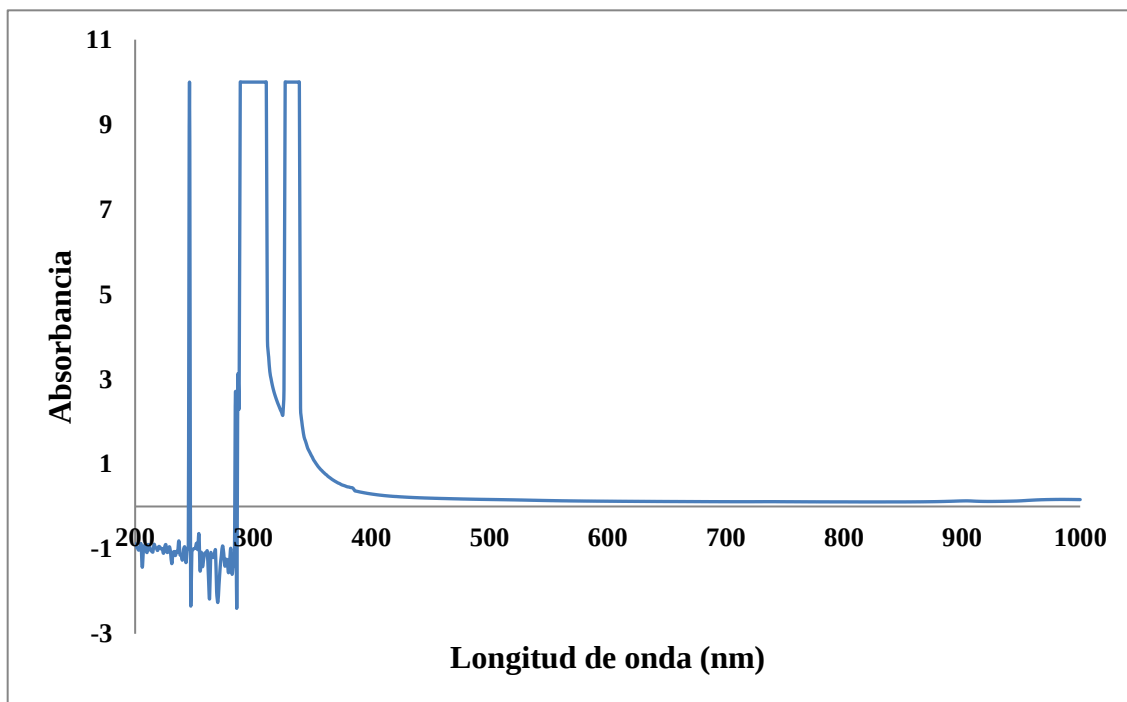


Figura 11. Espectro ultravioleta visible del complejo $[Co_{12}O_6(FCZ)(SO_4)_2]$.
nm: nanómetro

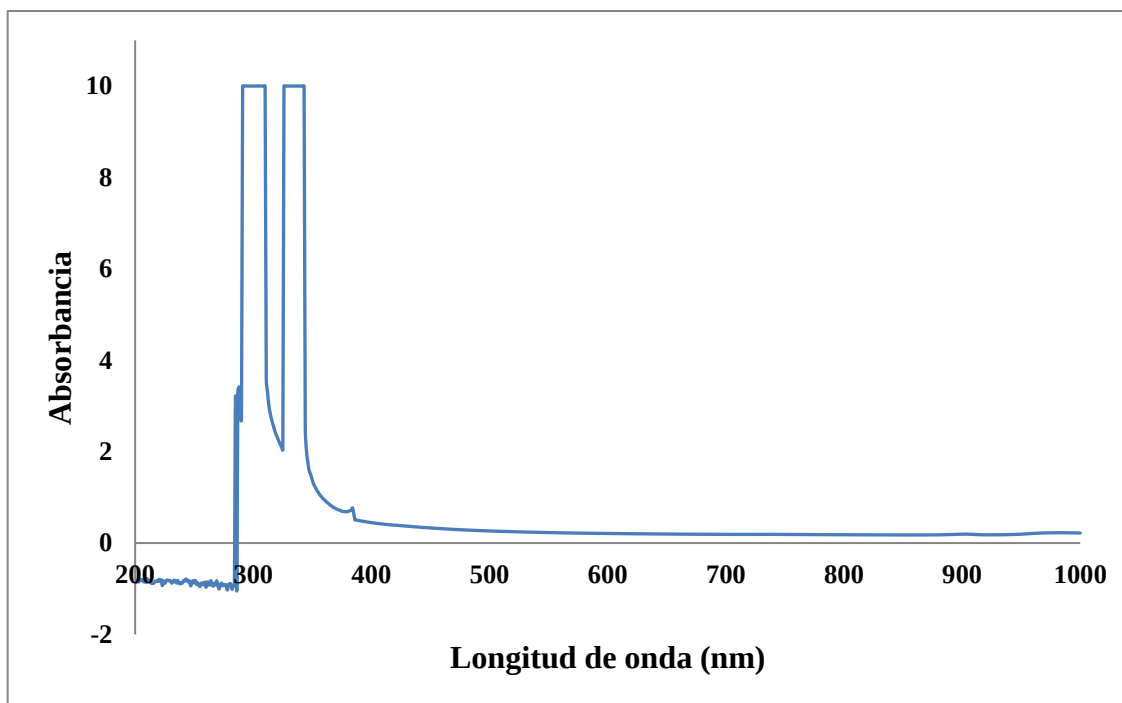


Figura 12. Espectro ultravioleta visible del complejo $[\text{Pd}_{11}\text{O}_4(\text{FCZ})(\text{Cl})_4]$.
nm: nanómetro

Espectroscopía infrarroja (IR)

Es una técnica que permite la identificación de los grupos funcionales presentes en un compuesto. Esto debido a que cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, las vibraciones moleculares con frecuencia igual que la radiación, aumentan en intensidad y lo que genera son señales características que corresponden a la vibración de un enlace específico. La región infrarroja se divide en tres regiones denominadas infrarrojo cercano (IRC $> 4000 \text{ cm}^{-1}$), infrarrojo medio (IRM $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$) e infrarrojo lejano (IRL $< 400 \text{ cm}^{-1}$) (40).

La IR tiene su aplicación más inmediata en la detección de los grupos químicos 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 (41). De esta forma,

analizando cuáles son las frecuencias vibracionales a las que absorbe una sustancia en el IR, se puede obtener información acerca de los grupos funcionales que componen dicha sustancia. Los espectros IR de los complejos sintetizados muestran las vibraciones características del esqueleto del FCZ a 3120, 1614, 1510, 1278, 1137 y 966 cm^{-1} , además de la banda debida a la presencia de agua. Los valores de las principales bandas IR del fluconazol, y los complejos sintetizados se encuentran resumidas en la tabla 8.

Tabla 8. Principales frecuencias vibracionales (cm^{-1}) de los complejos sintetizados.

Complejos	O–H	C=N	C–OH	M–O
Fluconazol	3381	1620	1278	
[Fe ₃₂ O ₃₀ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₆]	3425	1631	1318	564
[Cu ₃ O ₃₂ (FCZ)(SO ₄) ₃]		1625	1320	485
[Ni ₁₃ O ₁₁ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₁₁]	3385	1614	1324	
[Mn ₅₁ O ₄₇ (FCZ)(SO ₄) ₄ (H ₂ O) ₄]	3440	1614	1318	
[Ag ₁₁ O ₁₀ (FCZ)(SO ₄)(H ₂ O) ₂]	3422	1616	1304	616
[Co ₁₂ O ₆ (FCZ)(SO ₄) ₂]		1614	1308	
[Pd ₁₁ O ₄ (FCZ)(Cl) ₄]		1629	1314	616

Los respectivos espectros IR del fluconazol y los complejos polinucleares sintetizados se encuentran desde la figura 13 a la figura 20.

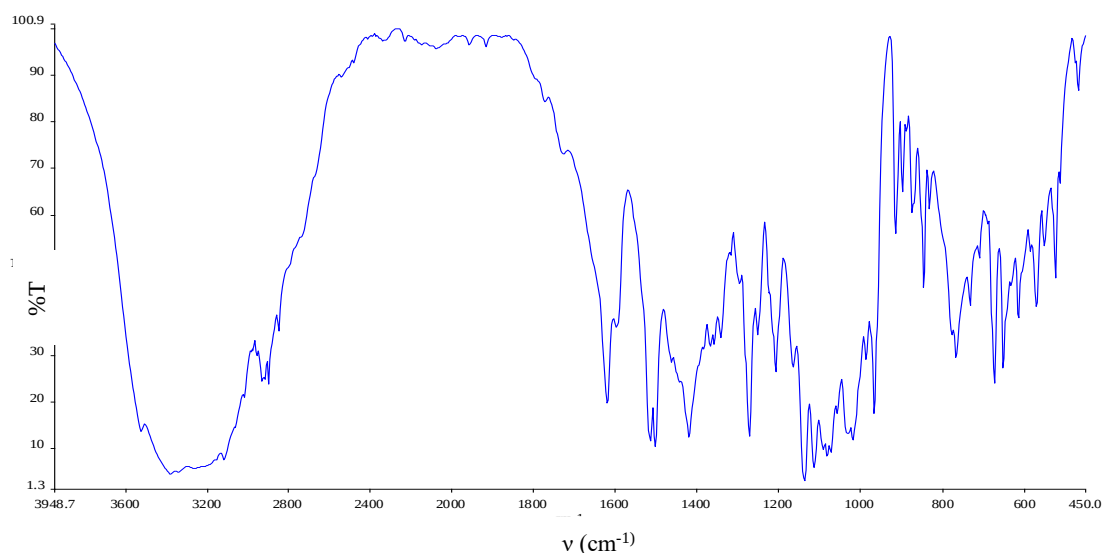


Figura 13. Espectro infrarrojo del fluconazol. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.

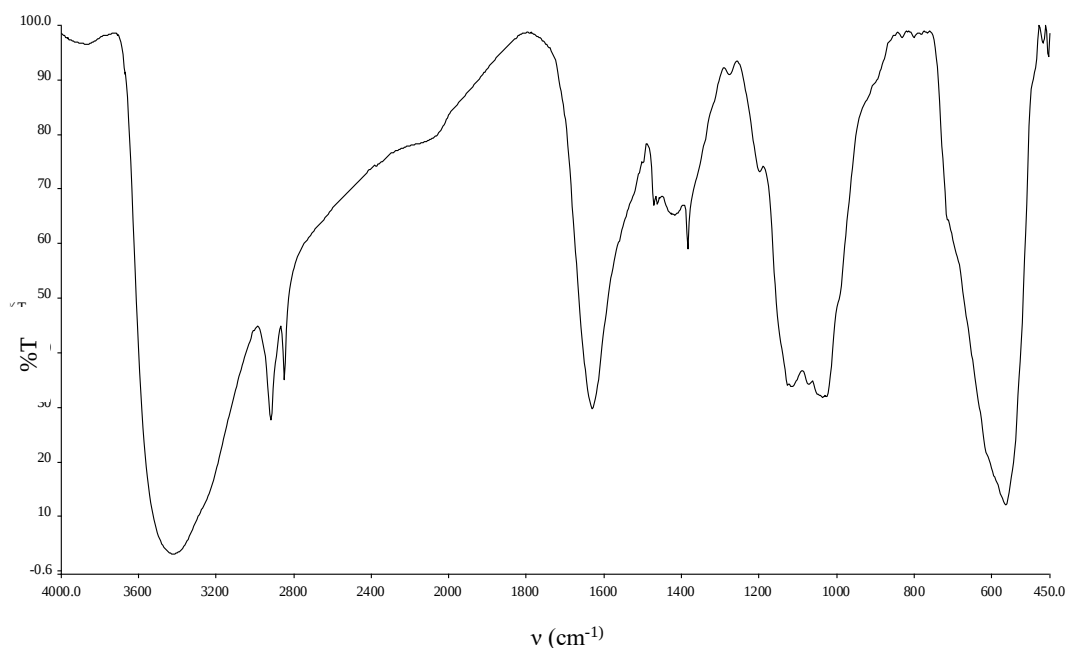


Figura 14. Espectro infrarrojo del complejo $[\text{Fe}_{32}\text{O}_{30}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_6]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.

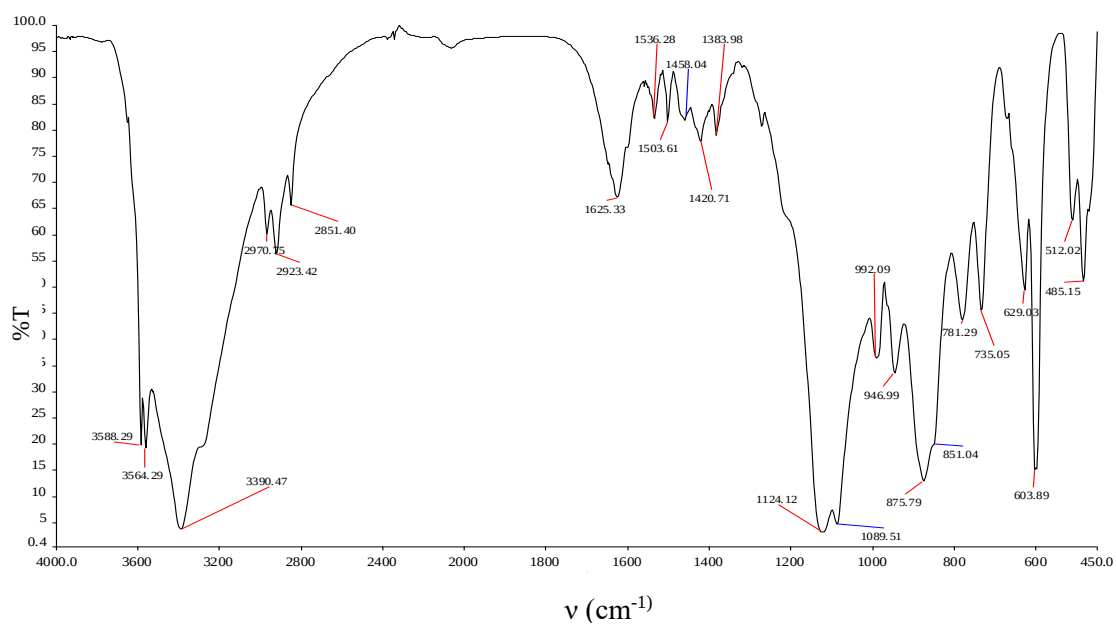


Figura 15. Espectro infrarrojo del complejo $[\text{Cu}_{35}\text{O}_{32}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_3]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.

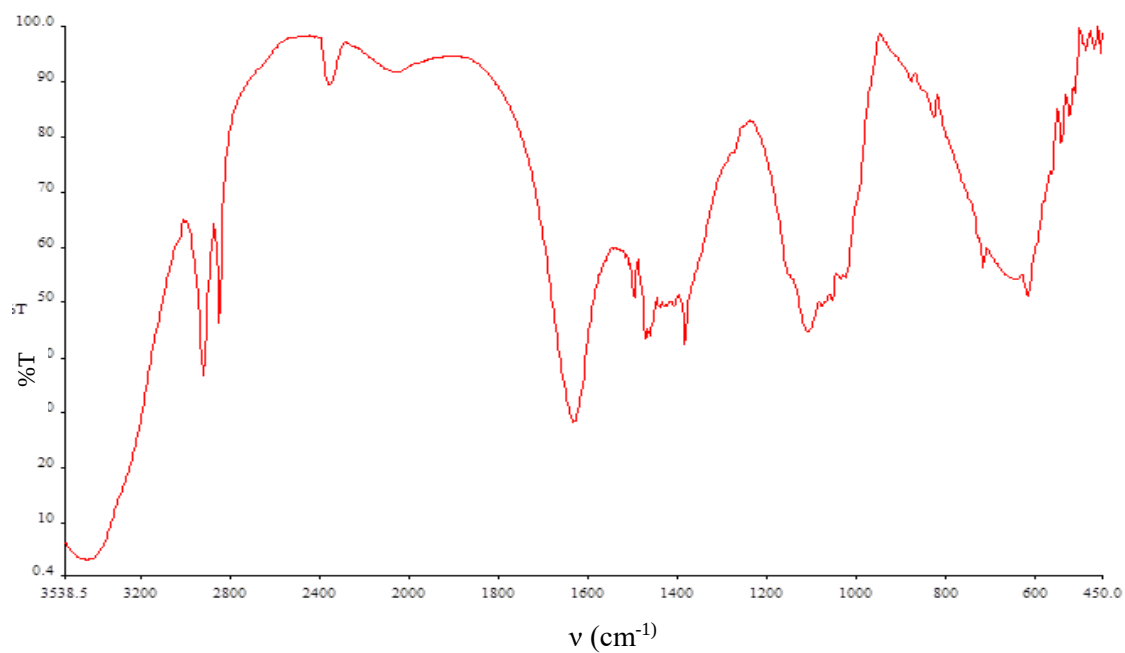


Figura 16. Espectro infrarrojo del complejo $[\text{Ni}_{13}\text{O}_{11}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_{11}]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.

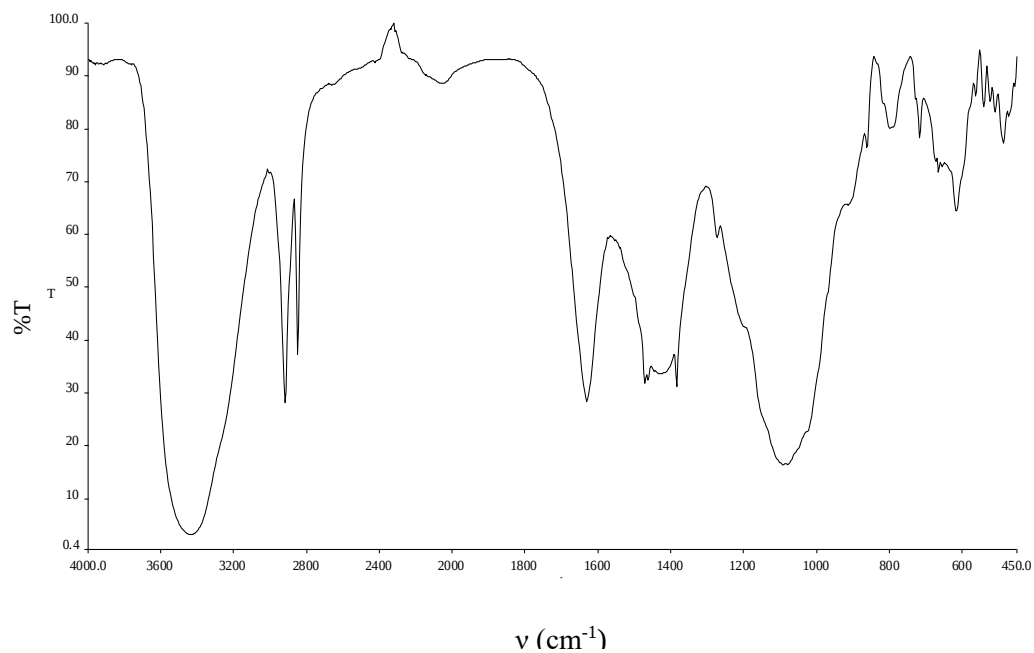


Figura 17. Espectro infrarrojo del complejo $[\text{Mn}_{51}\text{O}_{47}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_4(\text{H}_2\text{O})_4]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.

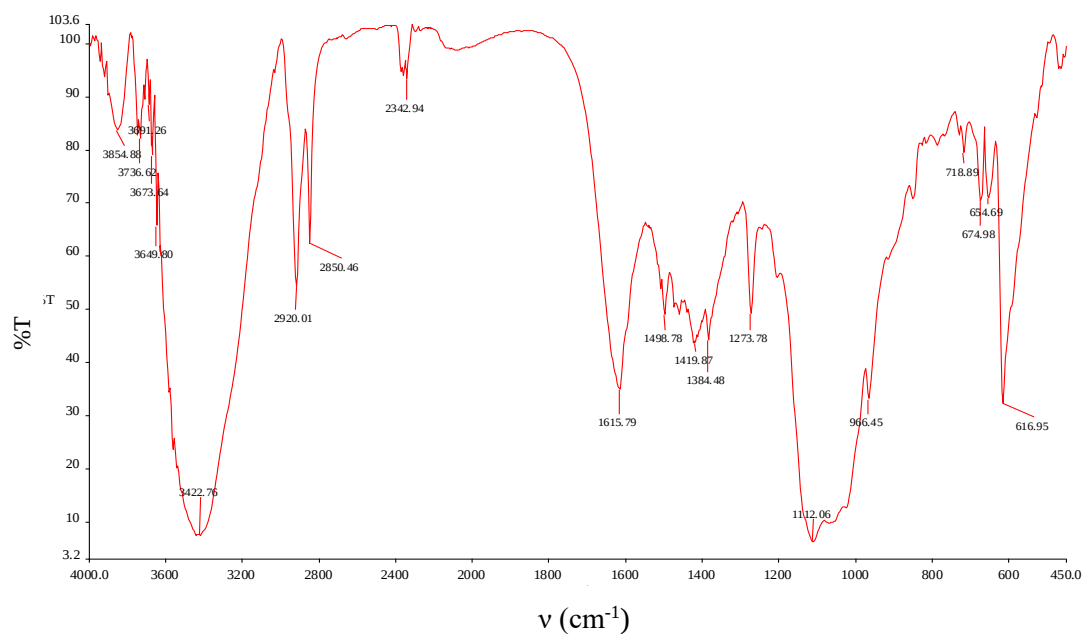


Figura 18. Espectro infrarrojo del complejo $[Ag_{11}O_{10}(FCZ)(SO_4)(H_2O)_2]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.

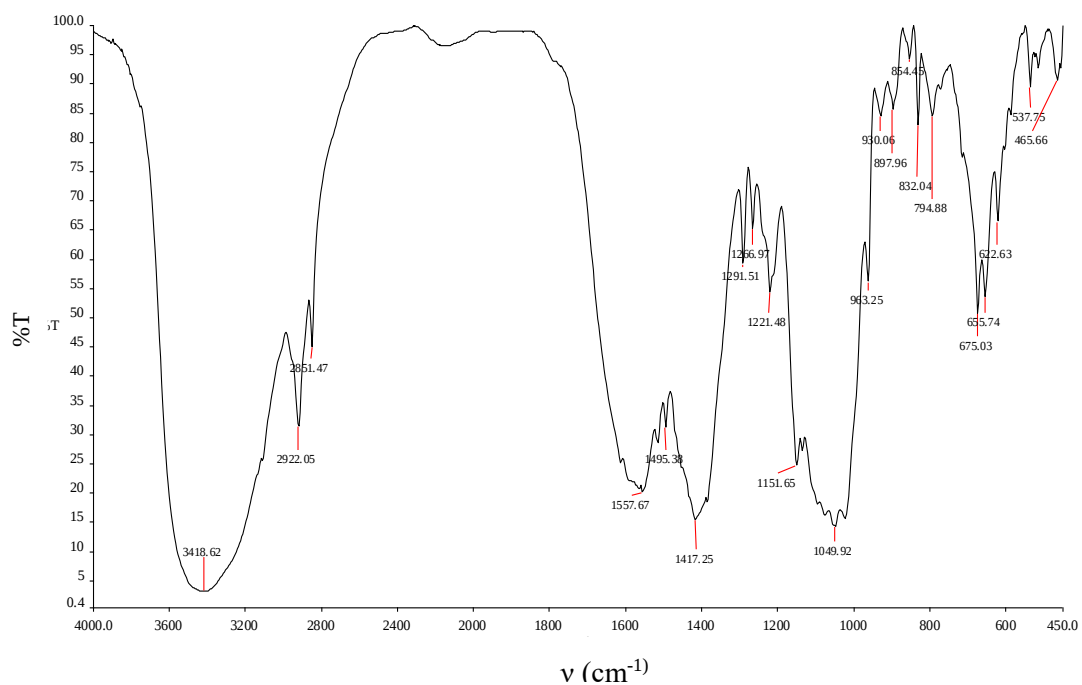


Figura 19. Espectro infrarrojo del complejo $[Co_{12}O_6(FCZ)(SO_4)_2]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.

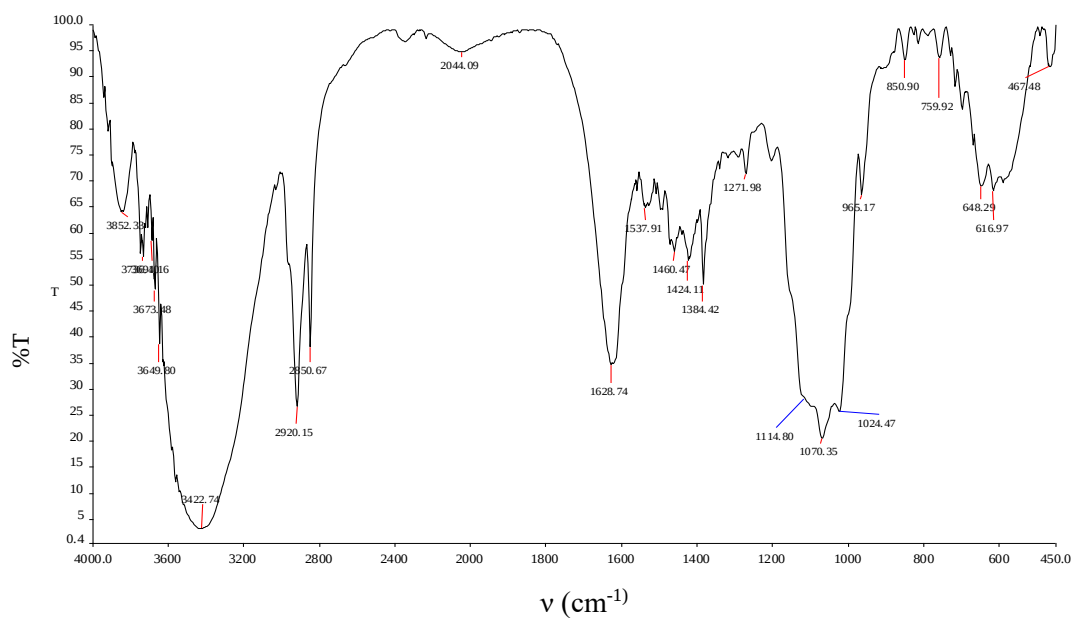


Figura 20. Espectro infrarrojo del complejo $[Pd_{11}O_4(FCZ)(Cl)_4]$. %T: porcentaje de transmitancia, ν : frecuencia.

Actividad biológica

Los aislamientos se clasificaron según los valores de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), como sensibles (S), sensibles dependiente de la dosis (SDD) o resistentes (R) al antifúngico estudiado, que se correlacionó con los criterios recomendados en el método de referencia M44-A del CLSI para el fluconazol, como se muestra en la tabla 9 (42)

Tabla 9. Interpretación de la CMI al fluconazol por la técnica de difusión en agar.

	Sensible	SDD	Resistente
Puntos de corte CMI	$\leq 8 \mu\text{g/ml}$	$16\text{-}32 \mu\text{g/ml}$	$> 64\mu\text{g/ml}$
zona de inhibición	$\geq 19 \text{ mm}$	$15\text{-}18 \text{ mm}$	$\leq 14\text{mm}$

CMI= concentración mínima Inhibitoria, SDD= sensibles dependiente de la dosis

Los resultados de las pruebas de sensibilidad antifúngica, permitieron apreciar cuáles complejos metálicos a una determinada concentración, podrían presentar inhibición

antimicótica frente a diferentes cepas de *Candida* (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei*), utilizando el método estandarizado, difusión en disco.

En la Tabla 10 se puede apreciar la actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a *C. albicans*. En la cepa ensayada, los complejos de hierro y manganeso, no presentaron halos de inhibición a diferencia de los complejos de cobre, níquel, plata, cobalto y paladio, los cuales evidenciaron cierta acción antimicótica. El complejo de níquel resultó ser el de mejor actividad antifúngica, obteniendo un halo de inhibición de 11 mm. Los complejos de cobre y paladio, reflejaron un halo de inhibición de 8 mm. Mientras que los complejos plata y cobalto, tuvieron la menor actividad antimicótica, produciendo halos de inhibición de 6 mm y 5 mm respectivamente. La especie considerada es resistente a los complejos estudiados. El FCZ de uso comercial produjo un halo de 19 mm, siendo la especie estudiada sensible al antimicótico. La NIS comercial, presentó un halo de inhibición de 14 mm, teniendo así una buena respuesta antimicótica pero inferior al FCZ. En las figuras 21 y 22 se aprecian los halos de inhibición de los complejos y los antimicóticos comerciales frente a la cepa *C. albicans*, respectivamente.

Tabla 10. Actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a *Candida albicans*

Complejos	Halos de inhibición (mm)		
FCZ comercial	19	19	19
NIS comercial	14	14	13
[Fe ₃₂ O ₃₀ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₆]	R	R	R
[Cu ₃₅ O ₃₂ (FCZ)(SO ₄) ₃]	7	8	8
[Ni ₁₃ O ₁₁ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₁₁]	10	11	11
[Mn ₅₁ O ₄₇ (FCZ)(SO ₄) ₄ (H ₂ O) ₄]	R	R	R
[Ag ₁₁ O ₁₀ (FCZ)(SO ₄)(H ₂ O) ₂]	6	6	6
[Co ₁₂ O ₆ (FCZ)(SO ₄) ₂]	5	4	5
[Pd ₁₁ O ₄ (FCZ)(Cl) ₄]	7	7	8

FCZ= fluconazol, NIS= nistatina, R= resistente, mm= milímetro

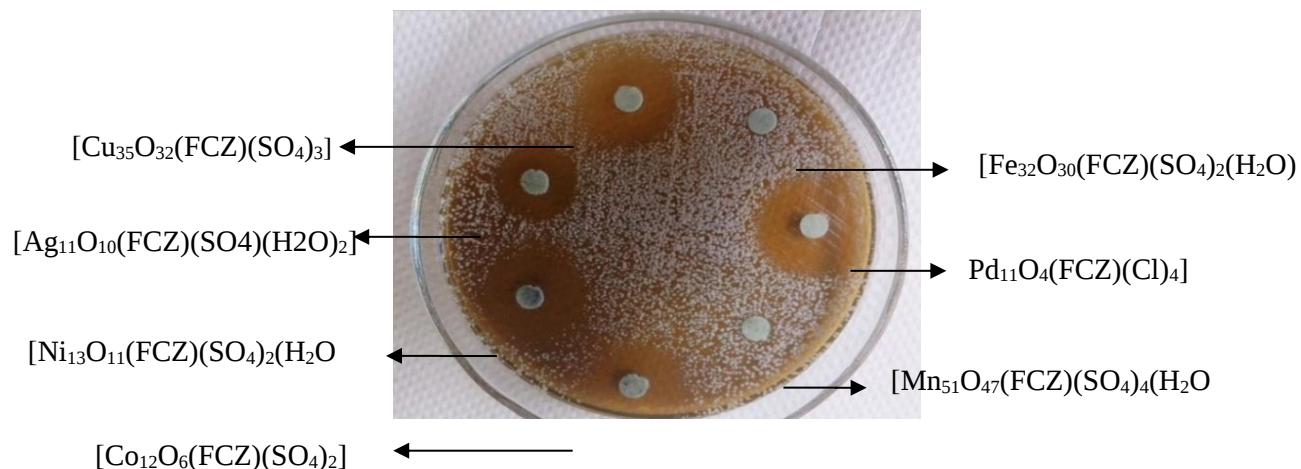


Figura 21. Actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a de *Candida albicans*

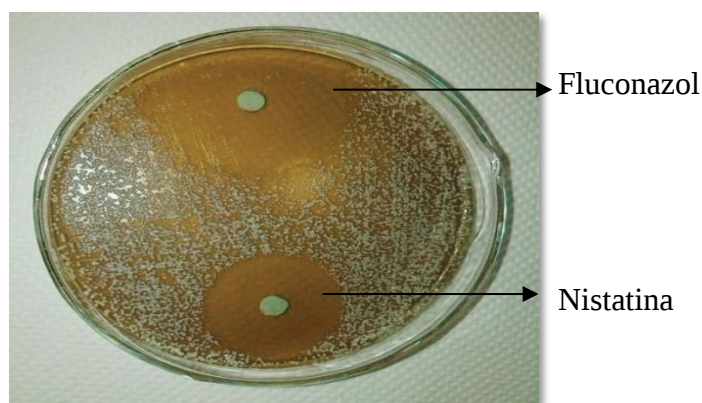


Figura 22. Actividad antimicótica del fluconazol y la nistatina frente a *Candida albicans*

En la tabla 11 se puede apreciar la *actividad* antimicótica de los complejos polinucleares frente a la cepa *C. parapsilosis*. El complejo de manganeso no presentó halo de inhibición, mientras que los demás complejos evidenciaron una modesta actividad antimicótica, resultando así el complejo de plata el de mayor actividad antifúngica, produciendo un halo de inhibición de 10 mm, seguidamente del complejo de cobre y

cobalto con un halo de inhibición de 8 mm. El complejo de hierro produjo un halo de inhibición de 4 mm y los complejos de níquel y paladio un halo de 5 mm. La especie considerada es resistente a los complejos estudiados. La NIS de uso comercial produjo un halo inhibitorio de 19 mm mientras que el FCZ de uso comercial reflejó un halo de inhibición de 16 mm frente a la cepa estudiada. Los valores indican que la especie considerada es sensible frente a la NIS y sensible según la dosis, frente al FCZ.

En la figura 23 se aprecian los halos de inhibición del fluconazol y la nistatina frente a la cepa *C. parapsilosis*.

Tabla 11. Actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a *Candida parapsilosis*.

Complejos	Halos de inhibición (mm)		
FCZ comercial	16	16	16
NIS comercial	19	19	19
[Fe ₃₂ O ₃₀ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₆]	3	4	3
[Cu ₃₅ O ₃₂ (FCZ)(SO ₄) ₃]	8	8	7
[Ni ₁₃ O ₁₁ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₁₁]	5	4	5
[Mn ₅₁ O ₄₇ (FCZ)(SO ₄) ₄ (H ₂ O) ₄]	R	R	R
[Ag ₁₁ O ₁₀ (FCZ)(SO ₄)(H ₂ O) ₂]	10	10	10
[Co ₁₂ O ₆ (FCZ)(SO ₄) ₂]	8	8	7
[Pd ₁₁ O ₄ (FCZ)(Cl) ₄]	5	5	5

FCZ= fluconazol, NIS= nistatina, R= resistente, mm= milímetro

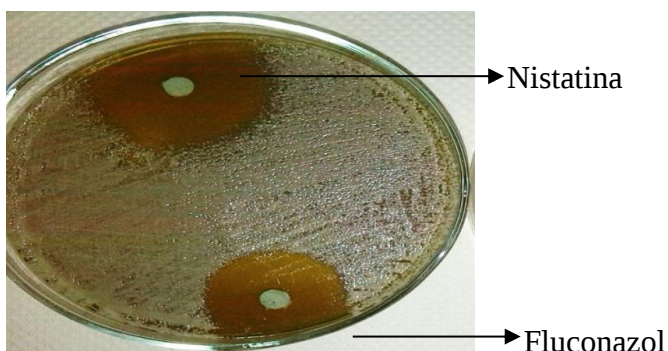


Figura 23. Actividad antimicótica del fluconazol y la nistatina frente a *Candida parapsilosis*.

En la tabla 12 se aprecia la actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a la cepa *C. tropicalis*. Los complejos de cobre y níquel no presentaron halos de inhibición. El complejo de mayor actividad antimicótica resultó ser el de paladio, obteniendo un halo de inhibitorio de 10 mm. Los complejos polinucleares de plata y cobalto presentaron halos de inhibición de 9 mm y 8 mm respectivamente. Los compuestos de menor actividad antifúngica fueron los de hierro y manganeso, produciendo halos de inhibición no mayor a 5 mm. Atendiendo a los resultados, se puede decir que la especie considerada es resistente a los complejos estudiados. La NIS comercial evidenció un halo inhibitorio de 20 mm y el FCZ un halo de inhibición de 19 mm, siendo la especie considerada sensible a los antimicóticos comerciales.

Tabla 12. Actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a *Candida tropicalis*.

Complejos	Halos de inhibición (mm)		
FCZ comercial	19	19	19
NIS comercial	20	20	20
[Fe ₃₂ O ₃₀ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₆]	5	5	4
[Cu ₃₅ O ₃₂ (FCZ)(SO ₄) ₃]	R	R	R
[Ni ₁₃ O ₁₁ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₁₁]	R	R	R
[Mn ₅₁ O ₄₇ (FCZ)(SO ₄) ₄ (H ₂ O) ₄]	5	5	5
[Ag ₁₁ O ₁₀ (FCZ)(SO ₄)(H ₂ O) ₂]	9	8	9
[Co ₁₂ O ₆ (FCZ)(SO ₄) ₂]	8	8	7
[Pd ₁₁ O ₄ (FCZ)(Cl) ₄]	10	10	9

FCZ= fluconazol, NIS= nistatina, R= resistente, mm= milímetro

En la figura 24 se aprecian los halos de inhibición de los complejos polinucleares frente a *C. tropicalis*.

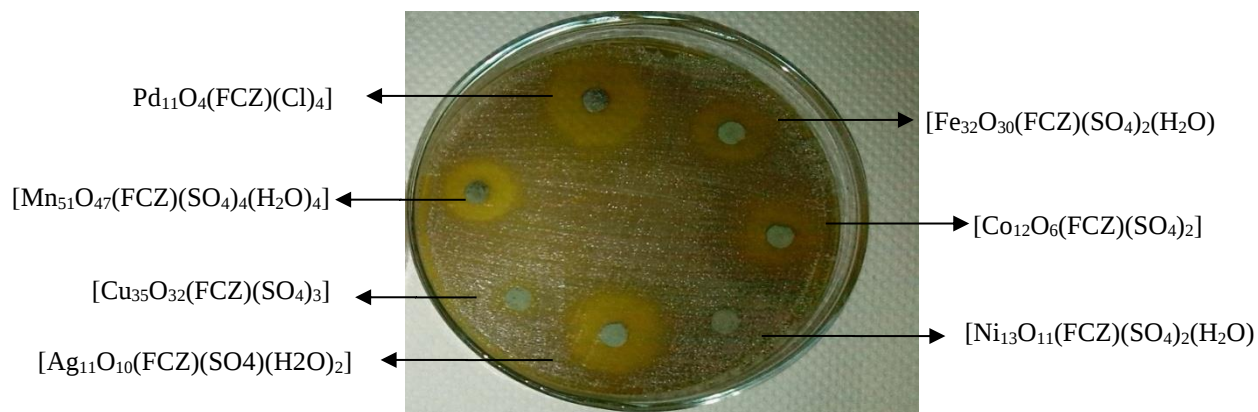


Figura 24. Actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a *Candida tropicalis*.

En la tabla 13 se aprecian los resultados de la actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a la cepa *C. krusei*. Los complejos de hierro y cobalto no presentaron halos de inhibición. El complejo de mayor actividad antimicótica resultó ser el de plata, produciendo un halo de inhibición de 16 mm. El complejo de cobre produjo un halo de inhibición de 7 mm. Los complejos de níquel, manganeso y paladio presentaron halos de inhibitorios no mayores a 6 mm. Atendiendo a los resultados se puede decir que la cepa considerada resultó ser resistente frente a los complejos sintetizados, con excepción del complejo polinuclear de plata donde resultó ser sensible según la dosis. La NIS de uso comercial presentó un halo de inhibición de 4 mm, a diferencia del FCZ de tipo comercial, el cual no presenta actividad antimicótica frente a la cepa estudiada ya que la misma es resistente natural al fármaco.

Tabla 13. Actividad antimicótica de los complejos polinucleares frente a *Candida krusei*.

Complejos	Halos de inhibición (mm)		
	RN	RN	RN
FCZ comercial			
NIS comercial	4	4	4
[Fe ₃₂ O ₃₀ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₆]	R	R	R
[Cu ₃₅ O ₃₂ (FCZ)(SO ₄) ₃]	7	6	7
[Ni ₁₃ O ₁₁ (FCZ)(SO ₄) ₂ (H ₂ O) ₁₁]	6	5	6
[Mn ₅₁ O ₄₇ (FCZ)(SO ₄) ₄ (H ₂ O) ₄]	6	6	6
[Ag ₁₁ O ₁₀ (FCZ)(SO ₄)(H ₂ O) ₂]	16	16	16

[Co ₁₂ O ₆ (FCZ)(SO ₄) ₂]	R	R	R
[Pd ₁₁ O ₄ (FCZ)(Cl) ₄]	5	5	4

FCZ= fluconazol, NIS= nistatina, RN= resistencia natural, R = resistente, mm= milímetro

Resumiendo la actividad antimicótica presentada por los complejos polinucleares es posible concluir: 1. Considerando los criterios recomendados en el método de referencia M44-A del CLSI para el FCZ, las especies, *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* resultaron ser resistentes para los nuevos complejos polinucleares sintetizados. *C. krusei* resultó ser SDD para el complejo de plata. 2. Atendiendo a los resultados obtenidos para los complejos polinucleares, es posible apreciar que los compuestos menos voluminosos, que contienen en su estructura un 20% de FCZ de la masa molar, presentaron mayor actividad antimicótica que los compuestos más voluminosos, que contienen en su estructura un 10% de FCZ de la masa molar. Esto permite inferir que debiera existir una relación óptima entre tamaño, % de FCZ del complejo polinuclear y su actividad antimicótica. 3. De todos los complejos polinucleares estudiados en el presente trabajo, se puede apreciar que solamente los complejos de plata y paladio fueron los únicos que mostraron actividad antimicótica contra todas las cepas estudiadas. Este resultado es muy significativo y permite sugerir mayores estudios en este tipo de compuestos por sus posibles aplicaciones en la química medicinal.

El excelente resultado obtenido con el complejo polinuclear de plata formado con FCZ, frente a la cepa *C. krusei* también ha sido observado con polímeros de plata con FCZ frente a otros tipos de hongos (4). Pareciera ser que la actividad antimicótica estuviera relacionada con la forma de estas estructuras polinucleares sin menoscabar la posibilidad de que, el efecto antimicótico se deba a un efecto sinérgico entre los iones de plata y el FCZ. En la tabla número 14 y en la figura 25, se ve reflejado el comportamiento antimicótico del complejo de plata a las distintas concentraciones ensayadas. Se puede apreciar que a la concentración de 0.31 µg/ml no hay inhibición micótica.

Tabla14. Concentraciones y halos de inhibición del complejo Ag frente a *Candida krusei*

Complejo	Concentración / Halos de inhibición					
	10µg/ml	5,0µg/ml	2,5µg/ml	1,25µg/ml	0,62µg/ml	0,31µg/ml
[Ag ₁₁ O ₁₀ (FCZ)(SO ₄)(H ₂ O) ₂]	16 mm	9 mm	7 mm	5 mm	2 mm	0 mm

FCZ= fluconazol, mm=milímetro

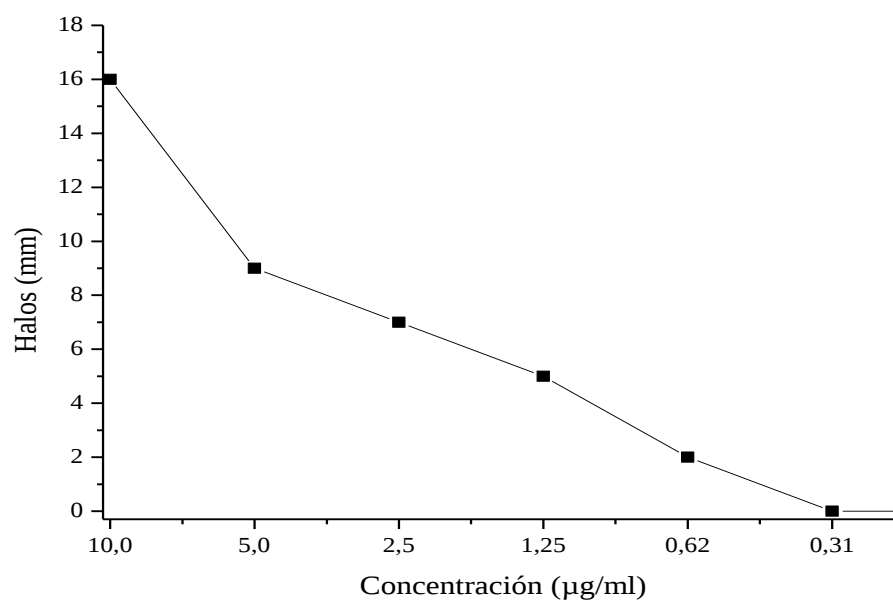


Figura 25. Gráfica de la actividad antimicótica del complejo plata frente a *Candida krusei*.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron los complejos polinucleares $[\text{Fe}_{32}\text{O}_{30}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_6]$, $[\text{Cu}_{35}\text{O}_{32}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_3]$, $[\text{Ni}_{13}\text{O}_{11}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_{11}]$, $[\text{Mn}_{51}\text{O}_{47}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_4(\text{H}_2\text{O})_4]$, $[\text{Ag}_{11}\text{O}_{10}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{Co}_{12}\text{O}_6(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2]$, $[\text{Pd}_{11}\text{O}_4(\text{FCZ})(\text{Cl})_4]$ haciendo reaccionar fluconazol con metales de transición.

Los complejos polinucleares de fluconazol fueron caracterizados mediante análisis elemental, espectroscopía UV-Visible, espectroscopía infrarroja y determinaciones analíticas, lo cual permitió sugerir la posible composición de los complejos polinucleares.

La sensibilidad antimicótica de los complejos polinucleares sintetizados con fluconazol fue evaluada por triplicado, mediante el método difusión en agar, frente a diferentes especies de *Candida* (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*).

La NIS de tipo comercial presentó mayor actividad antimicótica que el FCZ de uso comercial en las cepas estudiadas, excepto contra *C. albicans* donde el FCZ resultó ser más efectivo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ryckelynck, J. 1993. Clinical pharmacokinetics of fluconazole. *Clin. Pharmacokinet.*, 24:10-27.
2. Arechavala, A.; Bianchi, M.; Robles, A.; Santiso, G. y Negroni, R. 2007. Identificación y sensibilidad frente a fluconazol y albaconazol de 100 cepas de levaduras aisladas de flujo vaginal. *Rev. Iberoam. Micol.*, 24: 305-308.
3. Goswami, D.; Goswami, U.; Banerjee, V.; Dadhwal, S.; Miglani, A.; Lattif, A. y Kochupillai, N. 2006. Pattern of *Candida* species isolated from patients with diabetes mellitus and vulvovaginal candidiasis and their response to single dose oral fluconazole. *J. Infect.*, 52: 111-117.
4. Zhang, L., Ling, Y. Du, M. 2007. Synthesis, crystal structures and *in vitro* anti-fungal activities of two silver (I) coordination polymers with fluconazole. *Inorg .Chem. Acta*, 360: 3182-3188.
5. Koneman, R. y Roberts, D. *Practical Laboratory Mycology*. Williams and Wilkins, USA. 1998.
6. Arenas, R. 2008. *Micología Médica Ilustrada*. Interamericana Mcgraw-Hill. Tercera Edición. México.
7. Arenas, R. 2014. *Micología Médica Ilustrada*. Interamericana Mcgraw-Hill. Quinta Edición. México.
8. Gatica, J.; Goic, I. y Martínez, M. 2002. Utilidad del agar cromocándida para el diagnóstico diferencial de *Candida* spp. aisladas de muestras vaginales. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.*, 67: 300-305.
9. Ferrer, J. 2000. Vaginal candidosis: epidemiological and etiological factors. *Int. J. Gynecol. Obstet.*, 71: 21-27.
10. Saballs, P.; Torres, J. y Salvadó, M. 2000. La candidemia en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Estudio retrospectivo de nueve casos. *Rev. Iberoam. Micol.*, 17: 2-5.

11. Panizo, M. y Reviákina, V. 2001. *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 21 (2): 39-45.
12. Braun, H.; Vera, C.; Belmar, C. y Carvajal, J. 2003. Consecuencias perinatales de la infección intrauterina por *Candida*. *Rev. Chil. Obst. Ginecol.*, 68: 343-348.
13. Llovera, V. y Perurena, M. 2004. Identificación de levaduras de exudados vaginales, características clínicas asociadas a la candidiasis. *Rev. Cub. Med. Trop.*, 56: 21-25.
14. Mendoza, M. 2005. Importancia de la identificación de levaduras. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 25: 13-21.
15. Paul, L. y Fidel, J. 2005. Immunity in vaginal candidiasis. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 18: 107: 10-15.
16. Panizo, M. y Pérez C. 2000. Susceptibilidad in vitro a los antifúngicos de *Candida* sp. y serotipos de *Candida albicans* aisladas de pacientes con vaginitis primaria y recurrente. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 16: 22-27.
17. Viudes, A.; Perea, J. y López, R. 2001. identification of continuous B-cell epitopes on the potein moiety of the 58-kiloDalton cell wall mannoprotein of *Candida albicans* belonging to a family of immunodominant fungal antigens. *Inf. Immun.*, 69: 2909-2919.
18. Rodero, L.; Córdoba, S.; Vivot, W.; Campo, M.; Corfield, P. y Olguín, C. 2006. Método de difusión con discos para la determinación de sensibilidad a fluconazol en aislamientos de *Candida* sp. *Rev. Arg. Microbiol.*, 38: 155-163.
19. Braun, H.; Vera, C.; Belmar, C. y Carvajal, J. 2003. Consecuencias perinatales de la infección intrauterina por *Candida*. *Rev. Chil. Obst. Ginecol.*, 68: 343-348.
20. Anacona, J. y Alvarez, P. 2000. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of cefazolin. *Transition Met. Chem.*, 44: 173-182.
21. Gambino, D. y Torre, M. 2011. Complejos de hierro como fármacos antituberculosos. *RCU.*, 13: 18-19.
22. Anacona, J. 2001. Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of betalactamic antibiotics. *J. Coord. Chem.*, 54: 355-365.
23. Anacona, J. y Serrano, J. 2003. Synthesis and antibacterial activity of metal

complexes of cephalothin. *J. Coord. Chem*, 56: 313-320.

24. Fred, R. 1980. *Química de los compuestos de coordinación*. Tercera edición. Editorial Reverté. España.

25. Castiñeiras, A. y Vázquez, E. 2004. 11ª *Reunión científica de química inorgánica*. Publicacións. Santiago de Compostela, España.

26. Anacona, J. y Gil, C. 2005. Synthesis and antibacterial activity of cefoxitin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 30: 605-609.

27. Mar, M. y Francesc, G. 2003. Anillos betalactámicos. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin*, 21(1): 42-55.

28. Cortes, P.; Atria, A.; Contreras, M.; Peña, O. y Corsini, G. 2006. Magnetic properties and antibacterial activity of tetranuclear copper complex bridged by oxo group. *J. Coord. Chem.*, 3 (51): 104-108.

29. Gurdeep, R. 2013. *Advanced practical inorganic chemistry*. GOEL Publishing House. London.

30. Zabek, A., Nagaj, J., Grabowiecki, A., Dworniczek, E., Nawrot, U., Mlynarz, P., Jezowska, M. 2015. Activity of fluconazole and its Cu (II) complex towards *Candida species*. *Med. Chem. Res.* 24: 2005-2010.

31. Pass, G. y Sutcliffe, H. 1979. *Practical inorganic chemistry*. Segunda edición. Chapman and Hall. London.

32. Charlot, G. 1971. *Química analítica general*. Segunda edición. Toray-Masson, S. A. Madrid.

33. Drago, R. 1965. Physical methods in inorganic chemistry. Editorial Reinhold Chemistry Textbook Series. USA.

34. Housecroft, C. y Sharpe, A. 2012. *Inorganic chemistry*. Cuarta edición. Pearson. Inglaterra.

35. Nakamoto, K. 1986. *Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds*. Cuarta edición. John Wiley. New York, USA.

36. Escobar, L.; Fabio, A. y Aristizábal, G. 2010. Aplicación de un método fluorométrico para evaluar la proliferación celular en líneas celulares tumorales. *Vitae*, 17: 173-180.

37. Burriel, F.; Lucena, F. y Arribas, S. 2008. *Química analítica cualitativa*. Quinta edición. Editorial Paraninfo S.A. España.
38. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). 2008. Method for broth dilution antifungal. Susceptibility testing of yeast. Tercera edición. M44-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.
39. Figgis, B. 1966. *Introduction to ligands field*. Interscience Publishers. New York, USA
40. Colthup, D. y Wiberie, S. 1990. *Introduction to infrared and raman spectroscopy*. Tercera edición. Academic Press. San Diego, USA.
41. Silverstein, A.; Robert, M.; Clayton, G. y Morrill, T. 1981. *Identificación espectrofotométrica de compuestos orgánicos*. Segunda edición. Editorial Diana. Mexico.
42. Rodríguez, A; Gómez, C. y Restrepo C. 2007. Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de especies de *Candida* aisladas de pacientes provenientes de unidades de cuidados intensivos en Medellín, Colombia. *Rev. Iberoam.*, 27:125-129.

HOJAS DE METADATOS

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

Título	SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE COMPLEJOS POLINUCLEARES DE IONES METÁLICOS A PARTIR DE FLUCONAZOL
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Rincones Greisnaldys	CVLAC	20.992.309
	e-mail	Greyrincones@hotmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

síntesis
caracterización
magnetismo
Antimicótico

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Resumen

Con el propósito de evaluar la actividad antimicótica contra *Candida albicans*, de nuevos complejos polinucleares que contienen fluconazol (FCZ), fueron sintetizados siete complejos polinucleares haciendo reaccionar FCZ de tipo comercial como ligando y sales metálicas de metales de transición. Los complejos resultantes $[\text{Fe}_{32}\text{O}_{30}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_6]$, $[\text{Cu}_{35}\text{O}_{32}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_3]$, $[\text{Ni}_{13}\text{O}_{11}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_{11}]$, $[\text{Mn}_{51}\text{O}_{47}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)(\text{H}_2\text{O})_4]$, $[\text{Ag}_{11}\text{O}_{10}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)(\text{H}_2\text{O})]$, $[\text{Co}_{10}\text{O}_{10}(\text{FCZ})(\text{SO}_4)_2]$, y $[\text{Pd}_{11}\text{O}_4(\text{FCZ})(\text{Cl})_4]$, fueron caracterizados empleando diferentes técnicas, tales como: análisis elemental, espectroscopía infrarroja, espectroscopía ultravioleta visible y determinaciones analíticas. Empleando distintas concentraciones, se evaluó la actividad antimicótica de los compuestos sintetizados mediante la técnica de difusión en agar, frente a distintas cepas de *Candida* (C.): *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei*. Se comparó la actividad antimicótica entre dichos complejos polinucleares así como la actividad antifúngica del FCZ y de la nistatina (NIS) de tipo comercial. Frente a la cepa de *C. albicans*, los complejos de cobre, níquel, plata cobalto y paladio presentaron actividad antimicótica, a diferencia de los complejos de hierro y manganeso, los cuales no evidenciaron dicha actividad. Contra las cepas de *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*, los compuestos evidenciaron una modesta respuesta antimicótica, excepto el complejo de manganeso, el cual no obtuvo actividad antifúngica para *C. parapsilosis*, así como también los complejos de cobre y níquel no presentaron acción antifúngica para *C. tropicalis*. Contra *C. krusei*, todos los compuestos sintetizados mostraron respuesta antimicótica. Esta respuesta fue mayor en el complejo de plata, a diferencia de hierro y manganeso, los cuales no tuvieron ningún tipo de acción antifúngica. En cuando al fluconazol y la nistatina de uso comercial, esta última tuvo mejor actividad antimicótica en las cepas estudiadas, excepto contra *C. albicans*, donde dicha actividad fue menor.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail								
Ph.D Anacona Juan	ROL	CA	☐	A S	☒	T U	☐	J U	☒
	CVLA C								
	e-mail								
	e-mail								
Bastardo Erasto	ROL	CA	☐	A S	☒	T U	☐	J U	☒
	CVLA C								
	e-mail								
	e-mail								
Salazar Luz	ROL	CA	☐	A S	☐	T U	☐	J U	☒
	CVLA C								
	e-mail								
	e-mail								

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2018	07	25

Lenguaje: SPA

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_RinconesG.doc	Aplication/word

Alcance:

Espacial: UNIVERSAL

Temporal: INTEMPORAL

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciatura en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado

Área de Estudio:

Licenciatura en 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

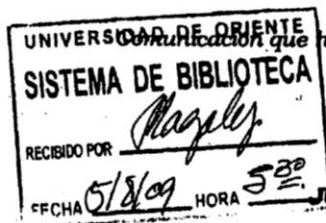
Cumaná, 04 AGO 2009

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 CUAPEL
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”.

Greisnaldys Rincones
AUTOR

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Juan Anaconda', is centered on a light-colored rectangular background.

Juan Anaconda
TUTOR